

стенки установлено наиболее выраженное увеличение линейно-объемных показателей левого желудочка.

Ключевые слова: циркадный индекс, артериальное давление.

UDC 616.12-005.4-008.331.1-008

RATIO REMODELING ATRIUM, VENTRICLE and CIRCADIAN CHRONOTROPIC-INOTROPIC ACTIVITY of the HEART PATIENTS with ISCHEMIC HEART DISEASE in COMBINATION with HYPERTENSION

Kudrya I. P.

Summary. In 126 patients with ischemic heart disease combined with hypertension and circadian index of heart rate in the minimal range set more pronounced increase in arterial pulse pressure in day and night time, the average normalized high-frequency component of the spectrum for the day and night, in a minimal and moderate - a thickening of the posterior wall, the left ventricle and interventricular septum, an increase in average systolic blood pressure at night. At the minimal range of values of the index of the circadian heart rate, moderate and maximal level of the index of relative wall thickness was observed the highest values of minimal, average and maximal diastolic blood pressure at night. In the subgroup with a minimal value of the circadian index of heart rate and the lowest index of relative wall thickness was found the most improved increase linearly in volume indicators of the left ventricle.

Key words: circadian index, blood pressure.

Стаття надійшла 4.02 2010 р.

УДК 547.96:616-005.4:599.323.42

В.В. Ломако, Л.М. Самохіна*, О.В. Шило

СИСТЕМА ЕЛАСТАЗА- α -1-ІНГІБІТОР ПРОТЕЇНАЗ У ХОМ'ЯКІВ ПРИ ГІБЕРНАЦІЇ

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків)

***ДУ „Інститут терапії імені Л.Т.Малої АМН України” (м.Харків)**

Роботу виконано в рамках планової теми «Вивчення реакцій функціональних систем організму при різних видах холодних впливів в нормі, вікових періодах та патологічних станах» ДР № 0100U003477.

Вступ. Відомо, що в процесі еволюції, крайньою мірою, представники 8 рядів ссавців видобули здатність занурюватися в гіпометаболічні (торпідні) стани, одним з яких є природна гібернація. В такому стані метаболізм знижується до 1-5% від нормального рівня при еутермії, температура тіла різко падає, наближаючись до температури зовнішнього середовища, що дає можливість гібернуючим тваринам зберігати до 90% енергії, необхідної для перебування в активному стані [2, 6]. Сильно уповільнюється активність сер-

ця, рівень перфузії органів кров'ю складає лише 10% від нормального [9]. Показано, що виразна метаболічна депресія під час гібернації досягається за рахунок скоординованого пригнічення енергозатратних функцій (трансмембранного переносу іонів, синтезу білків), в той же час активність ряду генів, та синтез деяких білків може підвищуватися під час гібернації [17].

Вивчення особливостей реакції ферментативних систем, зокрема системи еластаза- α -1-інгібітор протеїназ, при природної гібернації є актуальним, тому що дасть можливість визначити роль цих ферментів в механізмах формування відповідних адаптивних реакцій організму. Відомо, що еластази (Ел) належать до серінових протеаз, містяться в

гладком'язових клітинах, в макрофагах, лейкоцитах и тромбоцитах, основною їх функцією є гідролізація еластина, який разом з колагеном визначає механічні властивості сполучних тканин. Основними активаторами Ел являються вільні радикали, а регуляція активності Ел відбувається головним чином за участю α -1-інгібітора протеїназ (α -1-ІП), в меншому ступені – α -2-макроглобуліна.

Тому метою роботи було вивчення активності системи еластаза- α -1-інгібітор протеїназ у хом'яків в умовах гібернації і на етапах відновлення.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проведені на статевозрілих (6-10 міс.) золотавих хом'яках самців *Mesocricetus auratus*, які є факультативними гібернаторами. Тварин утримували в умовах віварію на стандартному раціоні з доданням насіння соняшнику та пшениці. В умовах перебування в неосвітленій камері при 4-7 °С з нормальним складом повітря хом'яки гібернували, знаходились в торпідному стані 3-3,5 доби, потім пробуджувались і знову впадали в сплячку. Матеріал для досліджень отримували на 2-4 бауті (епізоді сплячки), виводячи тварин з експерименту шляхом декапітації. Досліджено 4 групи: 1 – контроль; 2 - хом'яки у стані гібернації; 3 - через 2 год та 4- через 24 год після гібернації (n=6). Експерименти проведені відповідно до загальних етичних принципів при роботі з лабораторними тваринами, схваленими 1 Національним конгресом з біоетики (17-20 вересня 2001 р., м. Київ, Україна).

У безядерних фракціях гомогенатів тканин кори мозку (КМ), гіпоталамусу, мозочку, стовбуру мозку (СМ), легень, серця, печінки і нирок визначали активність Ел (загальна активність) та еластазоінгібіторну активність (ЕІА) α -1-ІП високочутливим (10^{-10} - 10^{-12} Од./мг білка) ферментативним методом, як описано раніше [3]. Результати активності еластаза та ЕІА α -1-ІП виражали в Од./мг білка. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорда.

У дослідженнях використовували пероксидазу хрому, Ala-Ala фірми «Fluka» (Німеччина), еластазу, альбумін сироватки бика, полістиролові стріпові плашки (Росія) та фотометр-аналізатор імуноферментний Humanreader № 2106-1709 фірми «Human» (Німеччина). Статистичну обробку проводили за методом Стьюдента-Фішера з використанням програмного забезпечення Excel.

Результати досліджень та їх обговорення. У гібернуючих хом'яків (1 група) виявлено зростання активності Ел порівняно з контролем у більшості досліджених тканин окрім серця та нирок (рис. 1). Через 2 год після виходу з гібернації також відзначено зростання активності Ел у всіх досліджених зразках, в КМ, гіпоталамусі, серці та нирках вірогідно порівняно зі станом гібернації. Через 24 год активність Ел знижується і наближається до контрольного рівня у більшості тканин, окрім СМ та печінки, де її рівень лишається підвищеним.

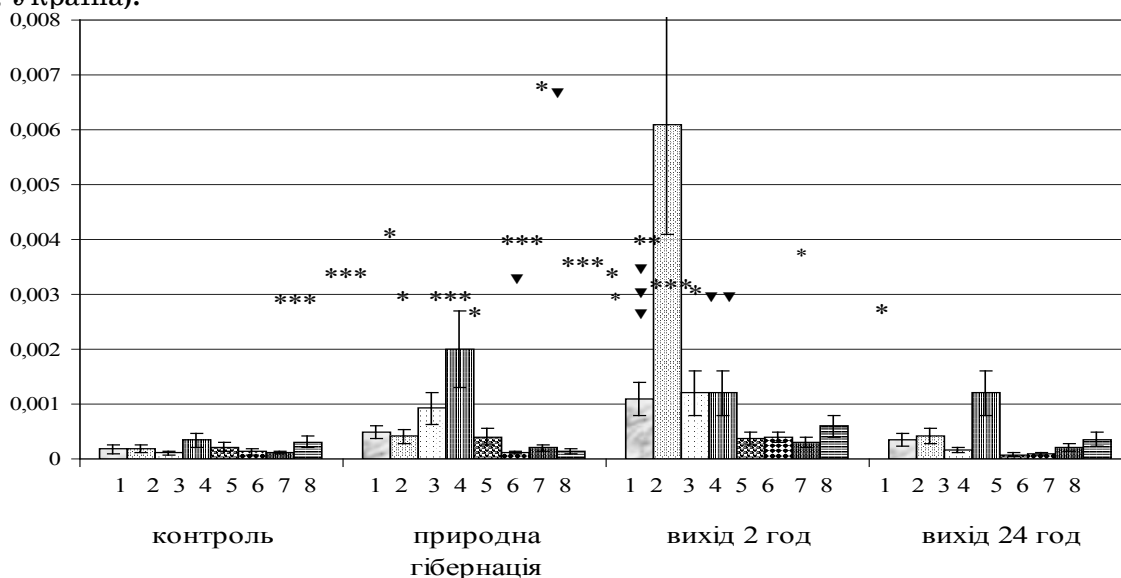


Рис. 1. Загальна активність еластаз.

Ось ординат – Од./мл білка

Ось абсцис: 1 – кора мозку, 2 – гіпоталамус, 3 – мозочок, 4 – стовбур мозку, 5 – легені, 6 – серце, 7 – печінка, 8 – нирки.

Примітка: *, **, ***, ▼, ▼▼, ▼▼▼ - ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем, порівняно з ПГ, $p < 0,05$, $< 0,01$, $< 0,001$, відповідно.

ЕІА α -1-ІІІ за умов гібернації вірогідно зростала у всіх досліджених тканинах окрім легень (рис. 2), через 2 год після виходу з гібернації – надалі підвищувалась в КМ, зни-

жалась в мозочку та СМ, в інших тканинах лишалась без змін. Через 24 год зазначені вірогідні зміни, порівняно з 2 год відновлення, у бік зниження ЕІА до контрольного рівня.

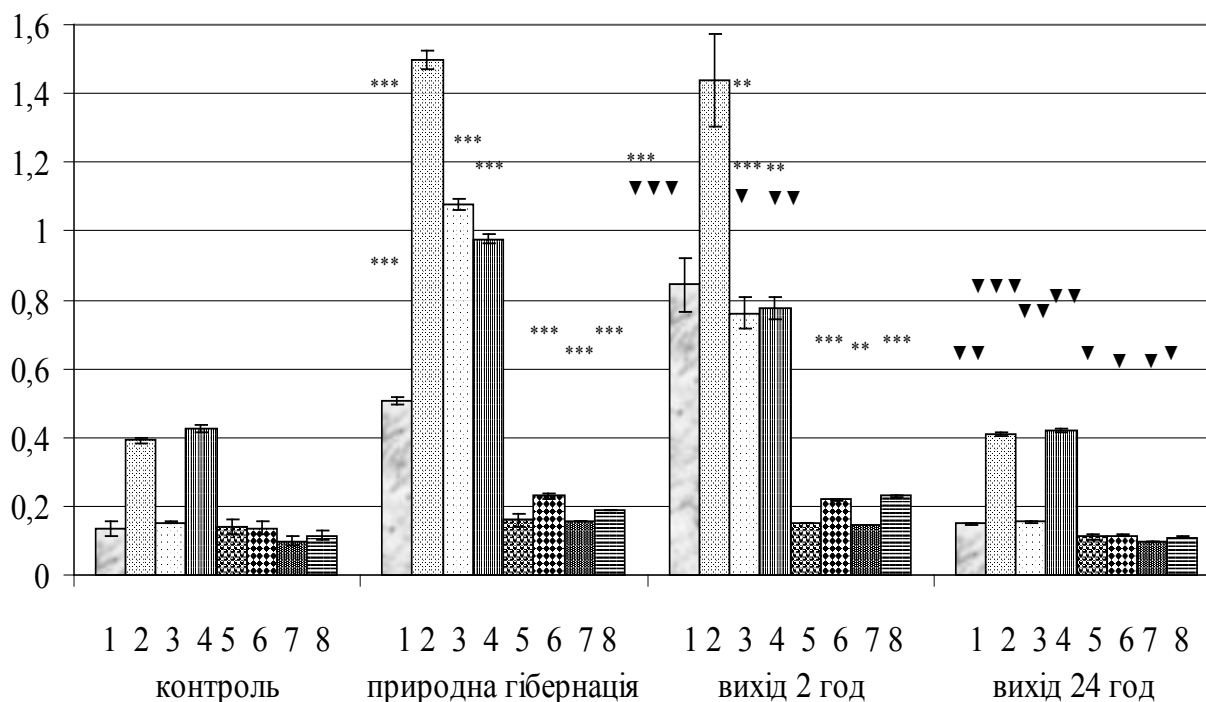


Рис. 2. Еластазоінгібіторна активність α -1-інгібітора протеїназ.

Ось ординат – Од./мл білка.

Ось абсцис: 1 – кора мозку, 2 – гіпоталамус, 3 – мозочок, 4 – стовбур мозку, 5 – легені, 6 – серце, 7 – печінка, 8 – нирки.

Примітка: *, **, ***, ▼, ▼▼, ▼▼▼ – ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем, порівняно з ПГ, $p < 0,05$, $< 0,01$, $< 0,001$, відповідно.

Таким чином, аналіз отриманих даних виявив підвищення активності Ел у хом'яків при гібернації та на ранньому етапі відновлення (через 2 год) практично у всіх зразках тканин і ці зміни є тканинспецифічними.

Дані літератури свідчать, що активація Ел призводить до значних деструктивних, навіть патологічних змін в організмі тому, що вони мають негативний вплив на біологічні структури, руйнують стінки кровоносних судин з подальшим формуванням аневризмів [1].

Відомо, що Ел вивільнюється з первинних гранул лейкоцитів, дегрануляційна активність яких при адгезії на ендотеліальних клітинах в осередку травми або в мікросудинному руслі органів-мішеней приводить к пошкодженню не тільки ендотеліальних клітин і базальних мембран, але і білків плазми крові, в тому числі факторів згортання і фібрinolізу, а також білків т.з. контактної фази активації гемостазу (високомолекулярний кініноген, прекалікрен, фактори XI і XII) [10], що може бути основою для розвитку

поліорганної та/або дихальної недостатності і тромбо-геморагічного синдрому [7, 14].

Такий руйнуючий вплив відбувається незважаючи на швидке зв'язування ферменту, що вивільнюється, інгібіторами плазми крові - α -1-ІІІ і α -макроглобуліну. Пригнічення активності Ел α -1-ІІІ в умовах *in vitro* відбувається за декілька мікросекунд [8]. Як швидко активність ферменту пригнічується в плазмі крові в присутності білків плазми – потенційних субстратів Ел – невідомо. Припускають, що розщеплення білкових субстратів Ел без доступу α -1-ІІІ може проходити локально, в безпосередній близькості від плазматичної мембрани адгезованого нейтрофіла [13, 16]. Можливо також, що при гострій реакції запалення α -1-ІІІ окислюється реактивними метаболітами кисню і робиться малоефективним [5].

Відзначене нами підвищення активності Ел можна пояснити зміною умов гемоциркуляції під час зимовою сплячки, коли більшість лейкоцитів мігрують в тканини з кров'яного русла і там депонуються. Чи приводить така міграція лейкоцитів до пошко-

дження ендотеліальних клітин в тканинах гібернуючих тварин, залишається невідомим [6]. І хоча основним призначенням Ел є деградація екстраклітинного матриксу, участь в реакціях запалення та лімітованого протеолізу неактивних форм ферментів, в роботі [12] показано, що Ел лейкоцитів може пригнічувати реакції запалення шляхом деградації цитокінів, таких як інтерлейкіни ІЛ-1в, ІЛ-2, ІЛ-6 і ФНП-а (фактор некрозу пухлин), що може бути частиною адаптивної відповіді організму в умовах гібернації.

Існує припущення, яке ґрунтується на підвищенні активності антиоксидантних ферментів і рівня аскорбату в крові, що вихід з гібернації у ховрахів супроводжується оксидативним стресом, який однак за рахунок ендогенних антиоксидантів не викликає патологічних змін [15]. Так, пік мінімального значення рівня аскорбату в крові і пік підвищення урату співпадають з періодом скоротливого термогенезу, коли церебральний кровоток, частота дихання і використання кисню сягають 300 % рівня нормотермії. Хоча кисневі радикали утворюються під час пробудження від зимової сплячки ксантин-оксидативним шляхом, властивості урата, як поглинача кисневих радикалів, пов'язаних з вазоділяцією та стимулюючий вплив вільних радикалів на процеси в ЦНС є надзвичайно корисними в цей період, тому що всі гібернатори декілька разів пробуджуються в період зимової сплячки без будь-яких патологічних проявів [15].

Відомо, що одним з факторів активації Ел є оксидативний стрес, а пробудження від зимової сплячки супроводжується підвищеною генерацією вільних радикалів, чим, вірогідно, і можна пояснити підвищену активність Ел, яка спостерігалась на етапі відновлення через 2 год після гібернації у хом'яків. Тканиноспецифічний характер активності Ел можна пояснити особливостями гемоциркуляції при гібернації та на виході з неї.

Але різко підвищений рівень активності Ел при гібернації і на виході через 2 год в тканинах факультативних гібернаторів, відзначений в наших експериментах, скомпенсований відповідним рівнем ЕІА-1-ІІІ, або Ел залучаються, в першу чергу в процеси обмеженого протеолізу, тобто система виявилася збалансованою. Тим більш, що рівень активності Ел через 24 год повертається до вихідних значень. Тим не менш, слід зазначити, що значний відсоток тварин в популяції не виходять з гібернації і гинуть. Ймовірно, це обумовлено якимось патологічними змінами, або незворотними процесами в організмі гібернаторів, відображенням

яких може служити рівень активності Ел та ЕІА α -1-ІІІ.

Екстраклітинним Ел також притаманні антибактеріальні властивості, крім того вони залучаються в процеси деградації екстраклітинних матричних компонентів при гострому та хронічному запаленні. Ці ферменти також важливі як специфічні регулятори імунної відповіді за рахунок контролю клітинних сигнальних шляхів через процесінг хемокінів, модуляцію цитокінової мережі та активацію специфічних поверхневих рецепторів. Однак, аналізуючи отримані нами дані слід зазначити, що в світі сучасної концепції гібернації, навпроти, можна було б очікувати зниження, або, крайньою мірою не змінення, активності протеїназ, з яких еластази становлять істотну долю. Тому отримані нами результати являються достатньо неочікуваними.

На даний час важко запропонувати досить вичерпне пояснення ролі еластаз при природній гібернації, тому що в доступній науковій літературі дані по вивченню активності ферментів цього класу отримані тільки при різних патологічних станах та на експериментальних моделях.

Оскільки гібернація є особливим, але природним станом організму гетеротермних тварин, який потребує підтримання органів і тканин на певному функціональному рівні і в постійній готовності до неодноразового пробудження під час зимової сплячки, тому значення еластаз при гібернації потребує подальшого вивчення і осмислення.

Іншими словами, Ел вивільнюються з клітин, залучених в регуляцію природного імунітету, запалення та інфекції в доповнення до відомої і описаних вище їх функції – деструкції клітинних матричних компонентів [4, 11]. Пояснення такого парадоксального протективно/деструктивного дуалізму є актуальною сучасною науковою проблемою.

Висновки. Підвищення активності Ел у хом'яків при гібернації і на ранньому етапі відновлення (через 2 год) відзначено практично у всіх вивчених зразках і ці зміни є тканиноспецифічними. ЕІА α -1-ІІІ за умов гібернації вірогідно зростала у всіх досліджених тканинах, крім легень, через 2 год після виходу з гібернації – надалі підвищувалась в КМ, знижалась в мозочку та СМ, в інших тканинах лишалась без змін. Через 24 год ЕІА досягала контрольного рівня.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку. Планується вивчення інших протеолітичних ферментів та їх інгібіторів для визначення їх ролі в формуванні адаптивної відповіді в умовах природної гібернації та на етапах відновлення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доценко В.Л. Действие лейкоцитарной эластазы на высокомолекулярный кининоген плазмы крови человека в присутствии протеиназного ингибитора. Анализ протеолитической деградации / Доценко В.Л., Нешкова Е.А., Ругнес Э. и др. // Вопросы медицинской химии. – 2001. № 1. С.
2. Калабухов Н.И. Спячка млекопитающих. – М.: Наука, 1985. – 264 с.
3. Самохіна Л.М. Еластази за умов штучного гіпометаболічного стану у щурів / Самохіна Л.М., Ломако В.В., Шило О.В. // Проблемы криобиологии. – 2008. – Т. 18, № 4. – С. 557-560.
4. Bank U. More than destructive: neutrophil-derived serine proteases in cytokine bioactivity control / Bank U., Ansoorge S. // J. Leukoc. Biol. – 2001. Vol. 69. – P. 197-206.
5. Billing A.G. Oxidative autoaggression by phagocytes in human peritonitis / Billing A.G., Jochum M., Frohlich D. et al. // Eur.J.Clin.Invest. – 1997. –Vol. 27. – P. 1030-1037.
6. Carey H.V. Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature / Carey H.V., Andrews M.T., Martin S.L. // Physiol. Rev. – 2003. – Vol. 83. – P. 1153–1181.
7. Chignard M., Balloy V., Renesto P. Leukocyte elastase-mediated release of von Willebrand factor from cultured endothelial cells / Chignard M., Balloy V., Renesto P. // Eur. Respir. J. – 1993. – № 6. – P. 791-796.
8. Fourrier F. Therapeutic applications of antithrombin concentrates in systemic inflammatory disorders // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 1998. – Suppl. 2. – P. S39-S45.
9. Frerichs K.U. Local cerebral blood flow during hibernation, a model of natural tolerance to "cerebral ischemia / Frerichs K.U., Kennedy C., Sokolov L., Hallenbeck J.M. // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 1994. – Vol. 14. – P. 193–205.
10. Jochum M. Handbook of Mediators in Septic Shock / Jochum M., Machleidt W., Fritz H. [Eds. E. Neugebauer and J.W. Holaday]. - London, Tokyo: CRC Press/ Boca Baton, 1993. - P. 335-362.
11. Korkmaz1 B. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: Physicochemical properties, activity and physiopathological functions / Korkmaz1 B., Moreau T., Gauthier F. // Biochimie. – 2008. – Vol. 90. – P. 227-242.
12. Lee W. L. Physiological Functions and Role in Acute Lung Injury / Lee W. L., Downey G. P. // Am. J. of Respiratory & Critical Care Medicine. – 2001. – Vol. 164. – P. 896-904.
13. Machovich R. The elastase-mediated pathway of fibrinolysis / Machovich R., Owen W.G. // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 1990. – № 1. – P. 79-84.
14. Mythen M.G. The role of endotoxin immunity, neutrophil degranulation and contact activation in the pathogenesis of post-operative organ dysfunction / Mythen M.G., Barelay G.R., Purdy G. et al. // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 1993 – Vol. 4. – P. 999-1005.
15. Osborne P.G. Brain antioxidant levels in hamsters during hibernation, arousal and cenothermia / Osborne P.G., Hashimoto M. // Behavioural Brain Research. – 2006. – Vol. 168. – P. 208–214.
16. Owen C.A. Cell surface bound elastase and cathepsin -G on human neutrophils - a novel mechanism for mediating extracellular catalytic activity of serine proteinases / Owen C.A., Campbell M.A., Sannes Ph.L. et al. // J. Cell Biol. – 1995. – Vol. 131. – P. 775-789.
17. Storey K.B. Metabolic rate depression in animals: transcriptional and translational controls / Storey K.B., Storey J.M. // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. – 2004. –Vol. 79. – P. 207–233.

УДК 547.96:616-005.4:599.323.42

СИСТЕМА ЭЛАСТАЗА- α -1-ИНГИБИТОР ПРОТЕИНАЗ У ХОМЯКОВ ПРИ ГИБЕРНАЦИИ

Ломако В.В., Самохіна Л.М., Шило А.В.

Резюме. У хомяков наблюдается повышение активности эластаз и эластазоингибиторной активности (ЭИА) α -1-ингибитора протеиназ (α -1-ИП) в большинстве тканей при гибернации и на раннем этапе восстановления (через 2 ч). Через 24 ч ЭИА α -1-ИП достигала контрольного уровня.

Ключевые слова: эластаза, α -1-ингибитор протеиназ, зимняя спячка, хомяк.

UDC 47.96:616-005.4:599.323.42

ELASTASE- α -1-INHIBITOR PROTEINASE SYSTEM IN HAMSTERS AT HIBERNATION

Lomako V.V., Samokhina L.M., Shilo A.V.

Summary. Hibernation and early period of arousal from hibernation in hamsters result in rise of elastases activities and elastase inhibitory activity (EIA) of alpha-1-proteinase inhibitor (α -1-PI) in most examined tissues. In all tissues studied the rate of EIA activity reached control levels in 24 h.

Key words: elastase, α -1-proteinase inhibitor, hibernation, hamster.

Стаття надійшла 15.02.2010 р.