

5. Клиническая лабораторная диагностика : методы исследования : учеб. пособие для студентов вузов / [Зупанец И.А., Мисюрева С.В., Прописнова В.В. и др.] ; под ред. И.А. Зупанца. — [3-е изд.]. — Харьков: Изд-во НФаУ : Золотые страницы, 2005. — 200 с.
6. Определитель бактерий Берджи. Т. 1 / [под ред. Дж. Хоулга, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса ; пер. с англ. под ред. Г. А. Заварзина]. — М. : Мир, 1997. — 432 с.
7. Experiments on the possible role of leeches as vectors of animal and human pathogens: a light and electron microscopy study / [Nehili M., Ilk C., Mehlhorn H., Ruhnaу K. et al.] // Parasitol Res. — 1994. — № 80. — P. 277-290.
8. Барышников А. Ю. Иммунологические проблемы апоптоза / А. Ю. Барышников, Ю. В. Шишкин. — М. : Эдиториал УРСС, 2002. — 320 с.
9. Лаврик И. Н. Регуляция апоптоза, индуцируемого через CD95/FAS и другие «Рецепторы смерти» / И. Н. Лаврик // Молекулярная биология. — 2011. — Т. 45, № 1. — С. 173-179.
10. Хайтов Р. М. Роль паттернраспознающих рецепторов во врожденном и адаптивном иммунитете / Р. М. Хайтов, М. В. Пашенков, Б. В. Пинегин // Иммунология. — 2009. — № 1. — С. 66-76.
11. Григорьева Е. С. Механизмы нарушения цитокинопосредованной регуляции апоптоза эозинофилов при больших эозинофилиях крови : дис. ... кандидата мед. наук : 14.00.16, 03.00.25 / Екатерина Сергеевна Григорьева. — Томск, 2007. — 139 с.
12. Rothenberg M. E. The Eosinophil / M. E. Rothenberg, S. P. Hogan // Annu. Rev. Immunol. — 2006. — № 24. — P. 147-174.

УДК 577.151.63: 616.72-002.77

МЕТАБОЛІЧНА АКТИВНІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ КРОВІ У ХВОРИХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ

Новосад Н.В., к.б.н., доцент, Горохівець Н.А., магістр,
Подымай А.Ю, студент, Гавриленко К.В., студент

Запорізький національний університет

Досліджений стан ключових кисеньзалежної та кисеньнезалежної метаболічних систем нейтрофілів крові у хворих на ревматоїдний артрит. Встановлено, що у хворих на ревматоїдний артрит активну участь бере кисеньзалежна метаболічна система нейтрофілів, про що свідчать більш виражені зміни активності мілопероксидази, ніж рівень катіонних білків.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, мілопероксидаза, катіонні білки, ревматоїдний фактор, С-реактивний білок

Новосад Н.В., Горохівець Н.А., Подымай А.Ю, Гавриленко К.В. МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ / Запорожский национальный университет, Украина

Исследовано состояние ключевых кислородзависимой и кислороднезависимой метаболических систем нейтрофилов крови у больных ревматоидным артритом. Установлено, что у больных ревматоидным артритом активное участие принимает кислородзависимая метаболическая система нейтрофилов, о чем свидетельствуют более выраженные изменения активности миелопероксидазы, чем уровень катионных белков.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, миелопероксидаза, катионный белок, ревматоидный фактор, С-реактивный белок.

Novosad N.V., N.A. Gorokhivets' N.A., Podymay A.Y., Gavrilenko K.V. METABOLIC ACTIVITY OF BLOOD NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS / Zaporizhzhya national university, Ukraine

The state of the key oxygen-dependent and oxygen-independent metabolic systems of blood neutrophils in patients with rheumatoid arthritis has been investigated. It has been found that oxygen-dependent metabolic system of neutrophils takes an active part in patients with rheumatoid arthritis, as evidenced by the more marked changes in myeloperoxidase activity than the level of cationic proteins.

Key words: rheumatoid arthritis, myeloperoxidase, cationic protein, rheumatoid factor, C-reactive protein.

ВСТУП

Хвороби кістково-м'язової системи і сполучної тканини розглядаються у всьому світі як одні з найпоширеніших патологій суспільства. Ревматоїдний артрит (РА) займає перше місце за поширеністю серед запальних захворювань суглобів. Останніми роками в Україні відзначається збільшення чисельності хворих на РА. Щорічна захворюваність становить близько 0,02%. В останні 10 років хвороби 50% пацієнтів втрачають працездатність, із них 20% стають прикутими до ліжка, потребують постійного нагляду та сторонньої допомоги. За даними державної статистичної звітності, в Україні зареєстровано близько 140 000 хворих на РА [1].

Запалення лежить в основі головних клінічних проявів РА і служить найважливішим об'єктом антиревматичної терапії. Нейтрофільні гранулоцити (НГ) належать до числа центральних учасників запалення [2]. При міграції в зону запалення нейтрофіли активуються та звільняють вміст азурофільних гранул, перш за все міелопероксидазу (МПО). МПО може зв'язуватися з негативно-зарядженою клітинною мембраною, зокрема ендотеліальною, і при наявності H_2O_2 викликати окисне пошкодження тканин організму в зонах запалення [3]. Катіонні білки (КБ) є важливим фактором неспецифічної резистентності організму через значний їх антибактеріальний потенціал. Саме вони в разі запальних інфекційних процесів першими пошкоджують структури клітин патогенних мікроорганізмів і готують їх до подальшого розщеплення [4].

Визначення МПО в нейтрофілах крові дає можливість опосередкованим шляхом оцінити стан кисеньзалежного метаболізму цих клітин і ступінь їх активності, а рівень вмісту КБ відображає найважливішу частину їх мікробіцидного потенціалу. Таким чином, аналіз змін цитохімічної активності нейтрофілів крові, ферментні і неферментні системи яких мають велике значення у формуванні запалення, є важливим.

Метою роботи було дослідження стану ключових кисеньзалежних та кисеньнезалежних метаболічних систем нейтрофілів крові у хворих на РА.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Упродовж жовтня-листопада 2010-2012 років на базі лікарні № 10 м. Запоріжжя і кафедри імунології та біохімії Запорізького національного університету проводилося дослідження крові 38 хворих на РА. Вік хворих у середньому складав 53 роки.

Кров брали при надходженні хворих до лікарні та при виписці. Визначення активності міелопероксидази проводили за методом Грехема-Кнолля, рівень катіонних білків визначали за методом Шубіча [5]. Рівень ревматоїдного фактора (РФ) та С-реактивного білка (СРБ) встановлювали методом латекс-аглютинації [6,7].

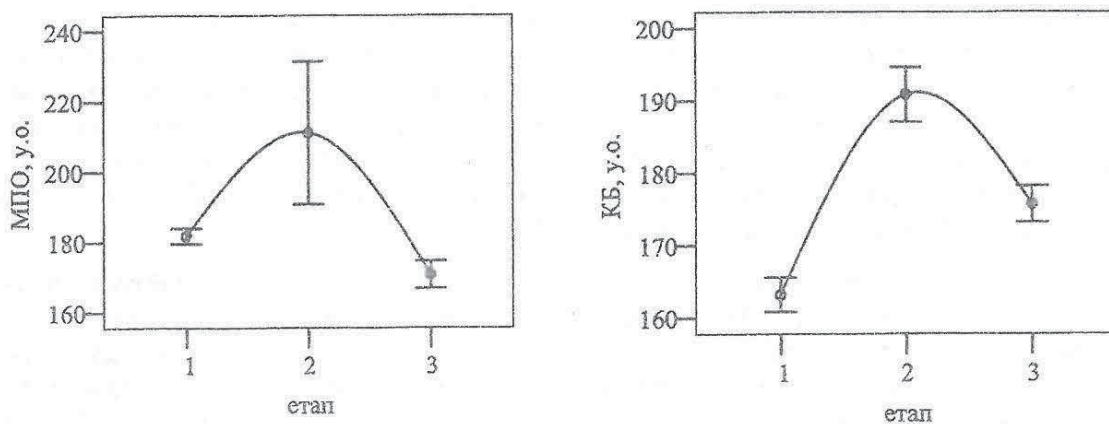
Статистичний аналіз даних здійснювали з використанням пакета прикладних програм SPSS, версія 13 в операційній системі Windows. Для оцінки відмінностей між двома

вибірками використовували непараметричний статистичний U-критерій Мана-Уїтні. Силу зв'язку між ознаками встановлювали ранговою кореляцією Спірмена.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При загостренні РА активність МПО в нейтрофілах крові перевищувала показник контрольної групи на 16 % і складала $211,11 \pm 10,019$ у.о. Розмах коливань був великий - від 96 до 277 у.о. (різниця 181 у.о.), а межі довірчого інтервалу від 190,81 до 231,41 у.о. (різниця 40,6 у.о.). У контрольній групі, де активність МПО складала 181,68 у.о., довірчий інтервал був значно вужчим (різниця між нижньою та верхньою межами 4,33 у.о.) (рис. 1).

При виписці хворих з лікарні активність МПО знижувалася і складала $170,76 \pm 1,928$ у.о. Розмах коливань та довірчий інтервал ставали значно вужчими - від 138 до 185 у.о. (різниця 47 у.о.) та 166,86 до 174,67 у.о. (різниця 7,81 у.о.) відповідно.



$P_{1-2} < 0,01$; $P_{1-3} > 0,05$; $P_{2-3} < 0,001$

$P_{1-2} < 0,001$; $P_{1-3} < 0,001$; $P_{2-3} < 0,001$.

Примітка: тут і надалі: 1 – контрольна група; 2 – на час надходження до лікарні; 3 – при виписці.

Рис. 1. Зміни активності МПО та рівня КБ у хворих на ревматоїдний артрит

Множинні порівняння показали високий ступінь достовірності між показниками, отриманими при надходженні хворих до лікарні та при виписці. Також достовірні відмінності були між показниками контрольної групи та показниками, отриманими при надходженні хворих до лікарні.

Рівень катіонних білків у хворих при надходженні до лікарні складав $190,82 \pm 1,858$ у.о. і був достовірно вищим на 17 %, ніж у здорових людей ($p < 0,001$) (рис. 1). Довірчий інтервал і розмах коливань були значно вужчими порівняно із попереднім дослідженим показником – 160,84-165,58 у.о. (різниця 4,74 у.о.) та 164 до 209 у.о. (різниця 45 у.о.) відповідно. Під кінець лікування відбулося зниження рівня КБ до $175,68 \pm 1,231$ у.о. Проте значень контрольної групи досягнуто не було. Різниця між нижньою та верхньою межами довірчого інтервалу була меншою і складала 5 у.о. Множинні порівняння показали високий ступінь достовірності між усіма дослідженнями ($P < 0,001$).

Підвищення рівня РФ характерно для ревматоїдного артрити (до 90% хворих), але можливі серонегативні форми. Як показали дослідження, рівень РФ у хворих при надходженні до лікарні складав $157,89 \pm 12,274$ МОд/мл і був достовірно вищим на 57 %, ніж при виписці ($p < 0,001$) (рис. 2). Проте рівень РФ при виписці складав $67,89 \pm 8,886$ МОд/мл і перевищував показники норми, які повинні бути до 12 МОд/мл. Таким чином у хворих не зникають аутоантитіла до Ig G.

СРБ виявляється в сироватці крові при різних запальних та некротичних процесах і є показником їх гострого перебігу. Підвищення рівня СРБ від 30 до 100 мг/л характерно для хронічних запальних захворювань. У хворих при надходженні до лікарні рівень СРБ складав $117,32 \pm 8,983$ мг/л і був достовірно вищий на 80 %, ніж при виписці ($p < 0,001$) (рис. 2). Але, як і РФ, рівень СРБ при виписці перевищував показники норми і складав $23,68 \pm 4,548$ мг/л. Тобто, слабкий запальний процес спостерігається у хворих і після лікування.

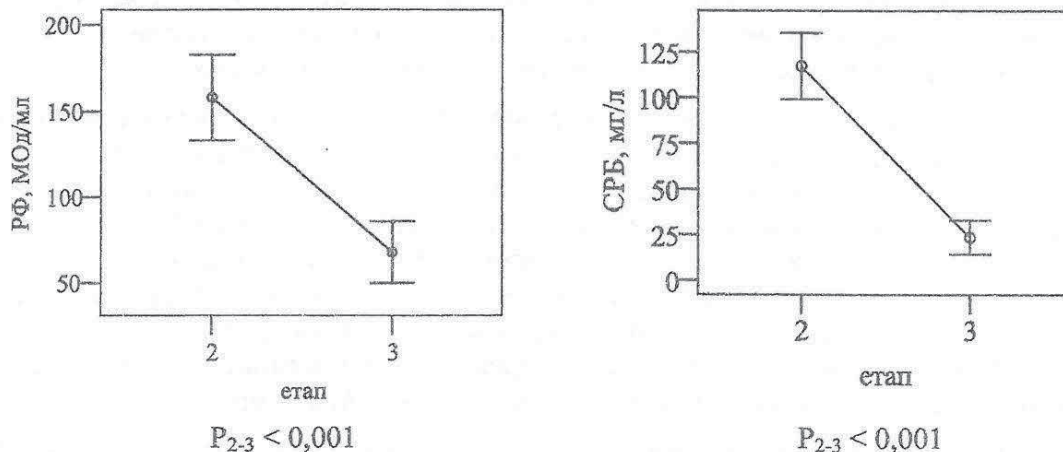
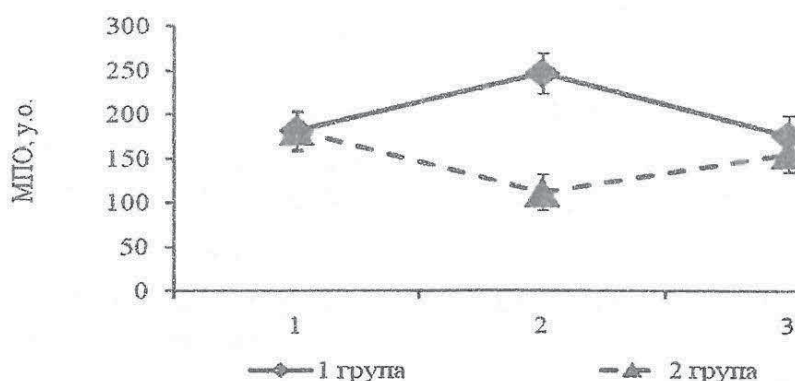


Рис. 2. Зміни рівня РФ та СРБ у хворих на ревматоїдний артрит

Для з'ясування ступеня зв'язку між вивченими показниками крові був проведений кореляційний аналіз. Як показали результати, між МПО і КБ при надходженні хворих до лікарні існує достовірний позитивний кореляційний зв'язок високого ступеню ($r = 0,76$, $p < 0,001$). Між МПО і СРБ та КБ і СРБ встановлений слабкий позитивний достовірний кореляційний зв'язок ($r = 0,45$, $p < 0,01$ та $r = 0,37$, $p < 0,05$ відповідно). При виписці спостерігалась достовірна слабка позитивна кореляція між МПО і КБ ($r = 0,39$, $p < 0,05$) та достовірний середній позитивний кореляційний зв'язок між МПО і СРБ ($r = 0,54$, $p < 0,01$).

Оскільки у хворих активність МПО на початку лікування значно різнилася, а довірчий інтервал був значно широким, були сформовані дві групи хворих. У першій групі активність МПО перевищувала показник контрольної групи на 36 % і становила $246,68 \pm 2,697$ у.о. У другій групі активність МПО була нижчою за контроль на 39% і становила $111,5 \pm 3,307$ у.о. Проте довірчий інтервал у другій групі був ширшим (рис. 3).



1 група: $P_{1-2} < 0,001$, $P_{1-3} < 0,05$, $P_{2-3} < 0,001$;
2 група: $P_{1-2} < 0,001$, $P_{1-3} < 0,001$, $P_{2-3} < 0,001$.

Рис. 3. Зміни активності МПО у двох груп хворих на РА

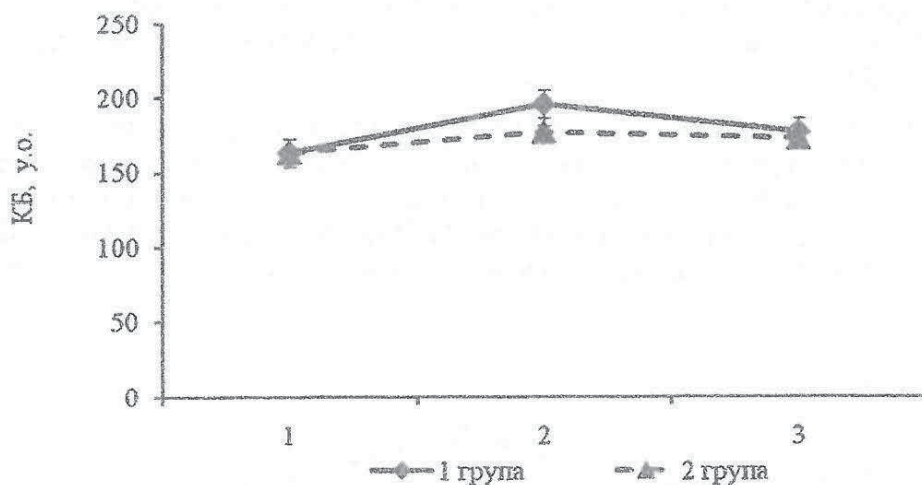
Після лікування активність МПО в першій групі хворих знижувалась до показника контрольної групи. У другій – зростала, проте була нижчою на 14 % за контроль.

Відомо, що нейтрофіли знаходяться в кров'яному руслі в одному з трьох функціональних станів: у спокої, праймованому (передактивованому) та активованому. Будь-який фізико-хімічний вплив може викликати активацію клітини. Однак для прояву реактивності необхідно, щоб цей стимул мав адекватну силу впливу, оскільки слабкий вплив викличе лише кондиціонування клітини, що супроводжується біохімічними перебудовами, проте він не ідентифікується морфологічно і функціонально. Такий стимул може спровокувати розвиток толерантності.

Так, у першій групі за суттєвим підвищенням МПО на початку лікування можна сказати, що у хворих нейтрофіли знаходились у стані праймінгу, коли клітини характеризуються підвищеним відгуком на подальший активуючий стимул. У другій групі спостерігалось зниження активності МПО відносно показників контрольної групи. Це є свідченням того, що нейтрофіли перебували в активованому стані. Активація ефektorних функцій нейтрофілів реалізується в потужній відповіді фагоцитів на стимуляцію, у збільшенні продукції активних форм кисню і інших прооксидантів. Активовані нейтрофіли піддаються незворотним змінам, які не залишають жодної можливості повернутися клітині в спокійний стан.

Зниження активності МПО в першій групі до значень контрольної групи дозволяє припустити, що нейтрофіли не перейшли у стадію активації, а повернулися в стан спокою під впливом проведеної лікувальної терапії.

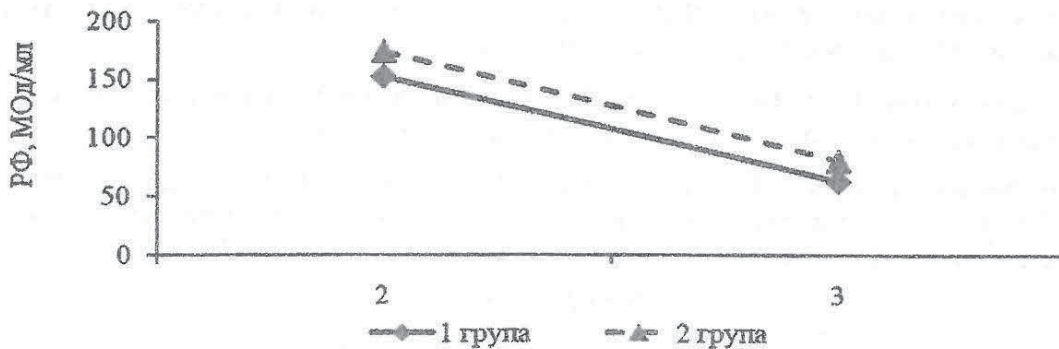
Рівень КБ у групах при обох дослідженнях майже не відрізнявся і був вищим за контрольну групу, як при надходженні до лікарні так і при виписці (рис. 4). Це свідчить про те, що при запаленні при РА в метаболізмі нейтрофілів велику роль відіграє кисеньзалежна метаболічна система.



1 група: $P_{1-2} < 0,001$; $P_{1-3} < 0,001$; $P_{2-3} < 0,001$;
 2 група: $P_{1-2} < 0,001$; $P_{1-3} < 0,01$; $P_{2-3} > 0,05$.

Рис. 4. Зміни рівня КБ у двох груп хворих на РА

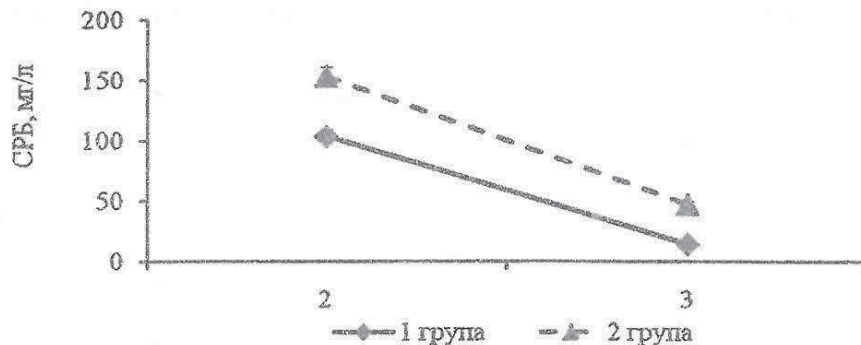
Рівень РФ на початку лікування був вищим у другій групі і складав 174,00 МОд/мл, у той час як у першій – 152,14 МОд/мл (рис. 5). Таким чином різниця становила 13 %. При виписці його рівень у першій і другій групі знижувався на 58 % і 53 % відповідно, проте був вищим у другій групі порівняно з першою на 23 %. Також слід зазначити, що з'являється позитивна кореляція середнього ступеня між МПО і РФ ($r = 0,646$; $P < 0,001$).



1 група: $P_{2-3} < 0,001$; 2 група: $P_{2-3} < 0,05$.

Рис. 5. Зміни рівня РФ у двох груп хворих на РА

Рівень СРБ на початку лікування також був вищим у другій групі і складав 153,20 мг/л, у той час як у першій – 104,50 мг/л. При виписці його рівень у першій групі знижувався на 86 % і складав 15 мг/л. У другій групі рівень СРБ знижувався на 69 %. При цьому його вміст перевищував показник першої групи на 68 % (рис. 6).



1 група: $P_{2-3} < 0,001$; 2 група: $P_{2-3} < 0,001$.

Рис. 6. Зміни рівня СРБ у двох груп хворих на РА

Таким чином, все вищесказане свідчить що в другій групі хворих на РА спостерігається більш виражений запальний процес.

Вивчення активності МПО та рівня КБ нейтрофілів периферичної крові у хворих із різним ступенем активності ревматоїдного артриту є предметом подальшого дослідження.

ВИСНОВКИ

Аналіз отриманих результатів дозволив виділити дві групи хворих на РА, які відрізнялись між собою активністю МПО. У першій групі при надходженні хворих до лікарні активність МПО в нейтрофілах крові становила $246,68 \pm 2,697$ у.о., що перевищувало показники контрольної групи на 36%, тобто нейтрофіли знаходились у стані праймінгу. У другій групі вона була нижчою за контроль на 39% і складала $111,50 \pm 3,307$ у.о., що є свідченням перебування нейтрофілів в активованому стані.

Після лікування у хворих активність МПО в першій групі знижувалась до показника контрольної групи і становила $176,11 \pm 1,044$ у.о. Це дозволяє припустити, що нейтрофіли не перейшли в стадію активації, а повернулися в стан спокою під впливом проведеної лікувальної терапії. У другій групі активність МПО навпаки зростала, проте була нижчою за контроль на 14%.

1. Рівень КБ в обох групах майже не відрізнявся і був вищим за контрольну групу, як при надходженні до лікарні та і при виписці.
2. Більш виражені зміни активності МПО, ніж рівня КБ, свідчить про активну участь кисеньзалежної метаболічної системи нейтрофілів у хворих на РА.
3. Встановлення різного ступеня кореляції між активністю МПО, рівнем КБ і рівнем РФ та СРБ свідчить про наявність зв'язку між функціональним станом нейтрофілів крові і загостренням РА.

ЛІТЕРАТУРА

1. Сучасний стан здоров'я народу та напрямки його покращання в Україні: Аналітично-статистичний посібник / [Коваленко В.М., Корнацький В.М., Манойленко Т.С., Прокопишин О.І.]. – К.: Вища освіта, 2005. – 141 с.
2. Басиева О.О. Ревматоидный артрит: учеб. пособие / Басиева О.О. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2007. – 192 с.
3. Рулева Н.Ю. Миелопероксидаза: биологические функции и клиническое значение / Н.Ю. Рулева, М.А. Звягинцева, С.Ф. Дугин // Современные наукоемкие технологии. – 2007. – № 8. – С. 11-14.
4. Прийма О.Б. Неферментные катионные белки лейкоцитов периферической крови – фактор неспецифической реакции организма на повреждения / О.Б. Прийма // Клиническая медицина. – 1997. – №2. – С. 4-7.
5. Лабораторные методы исследования в клинике / [Меньшиков В.В., Делекторская В.В., Золотницкая Р.П. и др.], под. ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
6. Груздева А.Ю. Диагностическое значение методов выявления ревматоидного фактора в сыворотке крови при ревматоидном артрите / Груздева А.Ю. // Современные наукоемкие технологии – 2005. – № 8. – С.61 – 62.
7. Титов В.Н. Определение С-реактивного белка в сыворотке крови / В.Н. Титов, Д.Н. Лисицин // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – №1. – С. 4 – 5.

УДК [599.323.4:591.436]:57.081

ЦИРКАДНЫЕ РИТМЫ АКТИВНОСТИ РАСТВОРИМЫХ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ И БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ПЕЧЕНИ И БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ МОЗГА КРЫС В ЗИМНИЙ ПЕРИОД

Омельянчик В.Н., к.м.н., доцент, Новикова К.В., ст. лаборант,
Колесник Н.В., д.б.н., профессор

Запорожский национальный университет

При макроанализе циркадных ритмов растворимых ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) крыс установлено, что среднесуточная удельная активность БуХЭ печени в 2 раза превышала таковую АХЭ; в ткани мозга активность АХЭ была выше активности БуХЭ в 10 раз. Максимум активности АХЭ в обеих тканях отмечался в 15 часов, а БуХЭ - в 12 часов. При косинор-анализе суточный ритм активности АХЭ в печени недостоверен, в мозге достоверны ритмы с периодом 12 и 24 часа и акрофазами соответственно в 2 и 14 часов. В активности БуХЭ печени достоверны ритмы с периодами в