

34. Tulaghar S.M., Putmann V.O., Soni M. et al. Rapid detection of acute kidney injury by plasma and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after cardiopulmonary bypass // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 2009. — Vol. 53, № 3. — P. 261–266.
35. Wagener G., Gubitosa G., Wang S. et al. Increased incidence of acute kidney injury with aprotinin use during cardiac surgery detected with urinary NGAL // *Am. J. Nephrol.* — 2008. — Vol. 28. — P. 576–582.
36. Wagener G., Gubitosa G., Wang S. et al. A comparison of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients undergoing on- versus off pump coronary artery bypass graft surgery // *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* — 2009. — Vol. 23, № 2. — P. 195–199.
37. Yndestad A., Landro L., Ueland T et al. Increased systemic and myocardial expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in clinical and experimental heart failure // *Eur. Heart. J.* — 2009. — Vol. 30, № 10. — P. 1229–1236.
38. Zappitelli M., Washburn K.K., Arikian A.A. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study // *Crit. Care.* — 2007. — Vol. 11, № 4. — P. R84.

NGAL — “РЕНАЛЬНИЙ ТРОПОНІН”: РАННІЙ МАРКЕР ГОСТРОГО ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК

В.В. Вельков

Огляд, щодо застосування нового біомаркера NGAL (ліпокалін 2) в клінічній лабораторній діагностиці для раннього виявлення розвитку гострої ниркової недостатності, особливо, після кардіохірургії із застосуванням апарату штучного кровообігу.

NGAL — THE RENAL TROPONIN: THE EARLY MARKER OF THE ACUTE KIDNEY INJURY

V.V. Velkov

The review dealing with the usage of NGAL in clinic laboratory diagnostics for the early detection of the development of acute kidney injury, especially after cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass.

УДК 616-008.9.07; 616-056.5; 616-21-006

Ю.Б. Бурлака, С.В. Веревка

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПЕПТИДНОЙ КОНТАМИНАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

ГУ “Институт отоларингологии имени проф. А.С. Коломийченко НАМН Украины”, г. Киев

Эндогенная интоксикация составляет неотъемлемую составляющую сложного комплекса функциональных нарушений, называемых метаболическим синдромом [17]. Обусловлено это состояние деструктивными процессами, приводящими к накоплению в тканях и жидкостях организма повышенных нефизиологических

количеств промежуточных и конечных продуктов нормального обмена веществ, а также продуктов нарушенного метаболизма соединительной ткани и компонентов деградациии ее нормальных структур, что приводит к токсическому воздействию и дисфункции самых разнообразных органов и систем [4, 6]. Эндогенная интоксикация присуща самым разнообразным, этиологически и патогенетически нетождественным, заболеваниям. Она составляет неотъемлемую черту онкологических, воспалительных, аутоиммунных, сердечно-сосудистых, травматических и нейродегенеративных заболеваний, нефропатий, септического процесса, ожогов, шока какого угодно происхождения, уремии и многих других заболеваний [4, 8, 9]. В ряду молекулярных компонентов эндогенной интоксикации особое место отводится пептидам средней молекулярной массы (СМП) молекулярной массой 500–5000 Да. Совместно с низкомолекулярными (300–500 Да), крупно молекулярными (свыше 10 кДа) и надмолекулярными (тысячи кДа) токсинами они формируют целую гамму пептидных и белковых фрагментов, которые образуются вследствие чрезмерной активации протеолитической системы крови при недостаточной экскреторной функции почек [1]. Деление белковых и пептидных компонентов метаболической интоксикации по молекулярной массе весьма условно, поскольку упускает из виду как индивидуальные свойства отдельных молекул, так и опосредованные ими молекулярные механизмы. Идентифицировано свыше 300 отдельных СМП, отнесенных к 20 группам соответственно их химической структуры и физиологической активности [4]. В накоплении и переносе СМП существенную роль играют эритроциты, причем сорбция мембранами эритроцитов пептидных компонентов эндогенной интоксикации столь значительна, что приводит к существенным изменениям физико-химических свойств этих клеток в целом [3,7]. Иными словами, при недостаточной функции клиренсовых систем определенная часть продуктов чрезмерного протеолиза способна к встраиванию в клеточные мембраны. Присущие этому процессу закономерности и их функциональные следствия настолько обширны, что позволяют говорить об особой роли нефункционально инкорпорированных в клеточную мембрану пептидов и протеолитически поврежденных мембранных белков [5].

Взаимодействиям неструктурированных пептидов с фосфолипидным бислоем клеточной

мембраны присущ весьма своеобразный, регулярный и закономерный характер [23]. Образующие при этом структуры существенно отличаются от растворенных белков и, согласно мнению многих авторов, весьма подобны интегральным мембранным белкам [28]. Процесс встраивания неструктурированного пептида в фосфолипидный бислой происходит в несколько стадий, причем структурообразование и встраивание в мембрану сорбированного пептида начинается с N-конечной части молекулы [9]. При этом расположенные на поверхности внеклеточных доменов положительно заряженные аминокислотные остатки чаще всего экспонированы внутрь цитозоля (правило “positive-inside” [14]), в то время как их компенсация положительно заряженными остатками приводит к преимущественной ориентации во внеклеточную сторону [10]. То есть наблюдается своеобразное, отличное от нативного и подчиняющееся своим закономерностям, структурообразование инкорпорированных в мембрану пептидов и неструктурированных белков, могущее быть определенным как *мембранный фолдинг*. Формируемые им структуры весьма подобны интегральным мембранным белкам и состоят из пронизывающих мембрану и агрегированных между собой элементов надвторичной структуры — α -спиралей и β -укладок. В случае достаточно крупного пептида это приводит к образованию хорошо сбалансированной и стабильной белковой глобулы с высокими агрегационными свойствами. Естественно, что экспозиция на наружной поверхности клеточной мембраны стабилизированных пептидных структур не может не повлиять на иммунологический фенотип клетки в целом. По-видимому, именно этим и обусловлен комплекс аутоиммунных реакций, приводящих к поражению β -клеток островков Ларгерганса при сахарном диабете 1-го типа [26]. Теми же причинами обусловлены и характерные для онкогенеза изменения иммунологических свойств клеток крови [2].

В то же время закономерности мембранного фолдинга приводят к формированию на наружной внеклеточной поверхности дипольных пар, эффективно связываемых лизин-связывающими участками плазминогена и тканевого активатора плазминогена (К.Ф. 3.4.21.68) с последующей нефункциональной активацией сорбированного плазминогена в плазмин (К.Ф. 3.4.21.7) и развитием характерных для воспалительных и онкологических заболеваний каскадов протео-

литических и активационных процессов [27]. Защищенный сорбцией от инактивации циркулирующими в кровотоке ингибиторами плазмина сохраняет способность расщеплять мембранные белки по связям, образованным карбоксильными группами лизина и аргинина, что приводит к экспонированию соответствующих C-конечных остатков и обеспечивает миграцию плазмина по поверхности клетки. Иными словами, наблюдается определенная аналогия с фибринолитическим процессом, с той лишь разницей, что вместо образования растворимых фрагментов фибрина происходит последовательное повреждение поверхностных частей мембранных белков с образованием новых C-конечных остатков лизина и аргинина, эффективно связываемых лизин-связывающими участками и способствующих дальнейшему углублению протеолитических повреждений. Формирование на поверхности клеток структурных аналогов участков высокого сродства к плазминогену и тканевому активатору плазминогена составляют существенное звено присущей онкологическим и воспалительным заболеваниям нефункциональной активации протеолиза [16]. И если увеличение сорбции плазминогена вследствие предобработки клеток трипсин-подобными протеиназами может быть объяснено появлением новых C-конечных остатков лизина или аргинина, то аналогичный эффект эластазы или химоотрипсин-подобного катепсина G (К.Ф. 3.4.21.20) [15] является следствием структурных изменений, необходимых для восстановления динамического равновесия подвергшей нефункциональному расщеплению белковой молекулы, так и взаимодействия последней с мембраной. Подобная структурная перестройка встроенного в мембрану белка может быть определена как *мембранный рефолдинг*, приходящий к образованию структур, подобных образуемому мембранным холдингом, в частности — связываемых плазминогеном поверхностных дипольных пар.

Тем самым закономерности нефункционального встраивания в клеточную мембрану пептидов и протеолитического повреждения интегральных мембранных белков оказываются факторами, способствующими углублению при сущих патогенезу функциональных нарушений. Однако патологические эффекты пептидной контаминации клеточных мембран этим далеко не исчерпываются. Весьма существенным представляется значение агрегационных свойств, сформирован-

ных или переформированных во взаимодействии с клеточной мембраной белковых и пептидных структур. Реальная клеточная мембрана весьма далека от бескрайнего фосфолипидного слоя и скорее сравнима с довольно плотной толпой самых разнообразных молекулярных компонентов, находящихся между собой в сложных взаимоотношениях. При этом нормальное функционирование клетки напрямую зависит от способности каждого из них выполнять свои функции. Как известно, в основе функциональной активности трансмембранных рецепторов лежит их способность к конформационным изменениям, обусловленным взаимодействием внеклеточной части молекулы с тем или иным внешним фактором и приводящих к передаче внешнего сигнала внутрь клетки. Функционирование разнообразных клеточных насосов также напрямую связано с их конформационной подвижностью. Нефункциональная агрегация мембранного белка со встроившимся в мембрану белком или пептидом подобные процессы осложняет, если не исключает вовсе [11]. Потому совпадение эндогенной интоксикации с нарушением нормального функционирования клеточных рецепторов и других трансмембранных белков становится объяснимым, неизбежным и составляющим неотъемлемое условие формирования патологического цикла молекулярных и клеточных нарушений обстоятельством. Естественно, что различные мембранные белки в разной степени подвержены агрегационному воздействию, как естественно и то, что нарушениям нормального функционирования разных клеток присуща разная степень манифестности. Пожалуй, наиболее ярким примером обусловленных пептидной контаминацией рецепторных дисфункций может служить характерное для сахарного диабета 2-го типа развитие резистентности к инсулину. Не менее показательны присущие этой болезни нарушения в функционировании “кальциевых насосов” клеток центральной нервной системы [18, 19]. Способность того или иного пептида к встраиванию в клеточную мембрану с последующей агрегацией с мембранными белками оказывается решающим критерием, тогда как исходное происхождение пептида несущественно. Так, фрагментация белков молока позволяет получить целую гамму небольших, сравнимых по массе с молекулами средней массы, пептидов, эффективно влияющих на сердечно-сосудистую, иммунную, нервную и пищеварительную систему [25].

Отдельные фрагменты казеина проявляют выраженное антимикробное и антивирусное действие [20]. Латентное присутствие подобного набора “даров смерти” в пищевом белке едва ли имеет какой-либо физиологический смысл, однако наравне с лактазной недостаточностью составляет извечную головную боль врачей-диетологов [13, 24]. Проявление отмеченных эффектов может быть следствием статистически обеспеченной возможности тех или иных пептидов к встраиванию в клеточные мембраны с разносторонним воздействием на интегральные мембранные белки. Просматривается прямая аналогия с действием многочисленных нейропептидов: блокирование действия определенного типа клеточных рецепторов, неконтролируемое раскрытие ионных каналов и другие избирательные нарушения трансмембранных белков вполне достижимы при нефункциональной агрегации и требуют мизерных количеств блокирующего агента. Массовое же и неизбирательное засорение клеточных мембран функционально чужеродными пептидами не может не вызывать изменения их свойств. По всей видимости, именно этим и обусловлены характерные для осложненного диабета и сердечно-сосудистых заболеваний хрупкость сосудов и снижение гибкости эритроцитов.

Размещение инкорпорированных в клеточную мембрану пептидов и протеолитически поврежденных белков сообразно с правилом “positive-inside” создает предпосылки для неферментативного гликозилирования (гликации) внутриклеточной части молекулы. Потому не приходится удивляться неременному участию гликации в патологии диабета, сердечно-сосудистых заболеваний, нефропатий, нейродегенеративных заболеваний и диабетического атеросклероза [21]. В частности, именно внутриклеточная гликация β -пептида болезни Альцгеймера напрямую связана с его β -структурированием, формированием олигомеров и протофибрилл, ростом агрегатов [12]. Подобные модификации вносят весомый вклад в формирование стабилизированных и существенно отличных от нативных белковых структур, способных существенно влиять как на свойства самой клетки, так и на прохождение внутри- и внеклеточных процессов.

Таким образом, регулярный характер взаимодействия пептидных компонентов эндогенной интоксикации позволяет уверенно говорить о них как о существенном факторе, способствующем

щим углублению патологических нарушений в организме. Определению растворимых молекул средней массы посвящено большое количество работ, тогда как об изменениях пептидного и белкового состава клеточных мембран судят в лучшем случае по достаточно грубым изменениям свойств клеток, наблюдаемым на достаточно поздних стадиях развития патогенеза. В то же время инкорпорированные в клеточные мембраны пептиды имеют то преимущество, что они защищены от элиминации клиренсовыми системами организма. Тем самым определение отличий в пептидном и белковом составе клеток крови, в первую очередь — эритроцитов, может служить информативным диагностически-прогностическим показателем задолго до клинического проявления заболевания. Так, состав инкорпорированных в мембраны эритроцитов белков и пептидов при мелкоклеточном раке легких настолько отличается от нормы, что позволил предложить их в качестве маркера [22]. Как известно, клиническое проявление большинства заболеваний соответствует глубоко запущенному комплексу нарушений молекулярного и клеточного уровня. Этим нарушениям присуща различная степень визуализации. Какие-то из них явно выражены, другие требуют более или менее сложного обследования, учет же роли третьих невозможен без понимания лежащих в их основе молекулярных процессов. Изложенные материалы свидетельствуют о большом диагностическом потенциале инкорпорированных в клетки крови пептидов и белков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьева А.Н., Одинцова И.Н., Удуш В.В. Синдром эндогенной интоксикации и системного воспалительного ответа: общность и различия // *Анестезиол. и реаниматология*. — 2007. — № 4. — С. 67–71.
2. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. — К.: Наукова думка, 2005. — 792 с.
3. Бессмельцев С.С., Царякин И.М., Федорова З.Д. Новый способ оценки реологических свойств эритроцитов у хирургических больных с эндогенной интоксикацией // *Вестн. хирургии им. И.И. Грекова*. — 1997. — Т. 154, № 6. — С. 32–36.
4. Громашевська Л.Л. “Середні молекули” як один з показників “метаболічної інтоксикації в організмі” // *Лаб. діагностика*. — 1997. — № 1. — С. 11–16.
5. Заболотний Д.І., Кизим О.Й., Верьовка С.В. Патологічні ефекти інтоксикації клітинних мембран ендогенними пептидами (огляд літератури і власних досліджень) // *Журн. НАМН України*. — 2011. — Т. 17, № 3. — С. 201–207.
6. Карякина Е.В., Белова С.В., Блинникова В.В. Оптимизация лабораторной оценки активности воспалительного процесса у больных ревматоидным артритом // *Клин. лаб. диагностика*. — 2006. — № 6. — С. 43–46.

7. Среднемолекулярные пептиды крови как факторы модификации мембран эритроцитов при ожоговой болезни / Р.И. Лифшиц, С.Я. Сашенков, Б.Б. Вальдман, В.П. Бордуновская, Г.П. Ефименко, Н.В. Егорова, А.В. Волков, И.А. Волчегорский // *Бюл. эксперим. биол. и медицины*. — 1988. — Т. 106, № 12. — С. 666–668.
8. Средние молекулы и проблема эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии / А.С. Владыка, Э.Р. Левицкий, Л.П. Поддубная, Н.И. Габриэлян // *Анестезиол. и реаниматология*. — 1987. — № 2. — С. 37–42.
9. Bechinger B. Understanding peptide interactions with the lipid bilayer: a guide to membrane protein engineering // *Curr. Opin. Chem. Biol.* — 2000. — Vol. 4, № 6. — P. 639–644.
10. Bogdanov M., Xie J., Dowhan W. Lipid-protein interactions drive membrane protein topogenesis in accordance with positive inside rule // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284, № 15. — P. 9637–9641.
11. Bormann B., Engelman D. Intramembrane helix-helix association in oligomerization and transmembrane signaling // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* — 1992. — Vol. 21. — P. 223–242.
12. Chen K., Maley J., Yu, P.H. Potential implications of endogenous aldehydes in β -amyloid misfolding, oligomerization and fibrillogenesis // *J. Neurochem.* — 2006. — Vol. 99, № 5. — P. 1413–1424.
13. Elwood P., Pickering J., Fehily A. Milk and dairy consumption, diabetes and the metabolic syndrome: the Caerphilly prospective study // *J. Epidemiol. Community Health*. — 2007. — Vol. 61, № 8. — P. 695–698.
14. von Heijne G. Membrane protein structure prediction. Hydrophobicity analysis and the positive-inside rule // *J. Mol. Biol.* — 1992. — Vol. 225, № 2. — P. 487–492.
15. Herren T., Swaisgood C., Plow E. Regulation of plasminogen receptors // *Front Biosci.* — 2003. — Vol. 8. — d1–8.
16. Mc Intyre J., Matrisian L. Molecular imaging of proteolytic activity in cancer // *J. Cell. Biochem.* — 2003. — Vol. 90, № 6. — P. 1087–1097.
17. Kahn R., Buse J., Ferrannini E. and Stern, M. “The metabolic syndrome: time for a critical appraisal. Joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes” // *Diabetes Care*. — 2005. — Vol. 28, № 9. — P. 2289–2304.
18. Kostyuk E., Voitenko N., Kruglikov I., Shmigol A., Shishkin V., Efimov A., Kostyuk P. Diabetes-induced changes in calcium homeostasis and the effects of calcium channel blocker in rat and mice nociceptive neurons // *Diabetologia*. — 2001. — Vol. 44. — P. 1302–1309.
19. Kruglikov I., Gryshchenko O., Shutov L., Kostyuk E., Kostyuk P., Voitenko N. Diabetes-induced abnormalities in ER calcium mobilization in a primary and secondary nociceptive neurons // *Eur. J. Physiol.* — 2004. — Vol. 448, № 4. — P. 395–401.
20. Lopez Exposito I., Recio I. Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins // *Int. Dairy Journ.* — 2006. — Vol. 16. — P. 1294–1305.
21. Miranda Y., Outiero T. The sour side of neurodegenerative disorders: the effect of protein glycation // *Journ. of Pathology*. — 2010. — Vol. 221, № 1. — P. 13–25.
22. Ocak S., Stuart S., Ausborn J., Friedman D., Massion P. Identification of membrane-associated proteins as a new candidate biomarkers of small-cell lung cancer / Abstracts of 20-th ERS Annual Congress, Barcelona, Spain, 18–20 September 2010 // *Eur. Respiratory Journ.* — 2010. — Vol. 36 (Suppl. 54), № 1944.
23. Popot J., Saraste M. Engineering membrane proteins // *Curr. Opin. Biotechnol.* — 1995. — Vol. 6, № 4. — P. 394–402.

24. Presauda D., Barranco-Mendoza A. Bovine serum albumin and insulin-dependent diabetes mellitus: is cow's milk still a possible toxicological causative agent of diabetes? // *Food and Chem. Toxicol.* — 2004 — Vol. 42, № 5. — P. 707–714.
25. Silva S.N., Malcata F.X. Casein as a source of bioactive peptides // *Int. Dairy Jour.* — 2005. — Vol. 15. — P. 1–15.
26. Verevka S.V. CNS Amyloidosis and Diabetes Mellitus: Vicious Circles of Misfolding / In: *Diabetes Mellitus Research Advances* (Huber M.N., Ed.). — NY: Nova Science Publishers, 2009. — P. 169–178.
27. Verevka S.V., Grinenko, T.V. Pseudo-functional interactions of plasminogen: molecular mechanisms and pathologic appearance. — NY: Nova Science Publishers, 2011, 45 p. (Online book, ISBN: 978-1-62100-031-0).
28. White S., Wimley W. Hydrophobic interactions of peptides with membrane interfaces // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1998. — Vol. 1376, № 3. — P. 339–352.

КЛІНІКО-ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПЕПТИДНОЇ КОНТАМІНАЦІЇ КЛІТИННИХ МЕМБРАН

Ю.Б.Бурлака, С.В.Верьовка

Розглянуто молекулярні механізми взаємодії пептидних компонентів ендогенної інтоксикації з клітинними мембранами. Регулярний та закономірний характер цих процесів призводить до розвитку комплексу порушень молекулярного та клітинного рівня, що відіграють істотну роль в розвитку патогенезу. Показано, що нефункціональні протеолітичні розщеплення інтегральних мембранних білків призводять не лише до порушення їх функціонування, але й сприяють поглибленню протеолітичного дисбалансу. Обговорюються діагностична та прогностична цінність дослідження пептидно-білкового складу клітинних мембран.

CLINICAL AND DIAGNOSTIC VALUES OF PEPTIDE CONTAMINATION OF CELLULAR MEMBRANES

Yu.B. Burlaka, S.V. Verevka

Regularities of interaction of peptide components of endogenous intoxication with cellular membranes lead to the clip of molecular and cellular derangements, which play a noticeable role in the development of pathogenesis. Non-functional proteolytic splittings of integral membrane protein not only cause the breach of their normal functioning, but promote to enlargement of proteolytic disbalance. Diagnostic and prognostic significances of peptide and protein contents of the cellular membranes are discussed.

УДК 576.75

Л.М. Немировська

МІКРОФЛОРА БІОТОПІВ ЛЮДИНИ У СИСТЕМІ ГОМЕОСТАЗУ

ДУ "Інститут гематології та трансфузіології
НАМН України", м. Київ,
(лабораторія мікробіології та проблем
антиінфекційного імунітету)

Мікрофлора біотопів, що сформувалася у процесі еволюції, бере активну участь у життєдіяльності людини: з одного боку, вона сприяє реалізації механізмів неспецифічного й специфічного імунітету, з іншого, — задіяна в ініціації інфекційно-запальних процесів різної локалізації [22, 28]. Нормофлора відіграє важливу роль у створенні імунітету, тоді як імунна система регулює мікробіоценоз завдяки так званій оральній толерантності (ОТ) до резидентних видів мікроорганізмів, що надає можливості останнім оптимально існувати. Резидентна або постійна мікрофлора становить основну частку популяції біотопів. Ця самозберезувальна система складається з мікроорганізмів, до яких ОТ формується у перші роки життя. Постійна мікрофлора розвивається за рахунок адгезії на слизових оболонках та перешкоджає проникненню і розмноженню транзиторних бактерій. Вважають, що ОТ стримує реакцію організму до постійної мікрофлори через активацію системи імунітету, на відміну від захисної імунної дії, яка не дає змоги патогенним бактеріям транзиторної мікрофлори розмножуватися на слизових оболонках біотопів. Це позитивний момент взаємовідносин, коли антигени патогенних мікроорганізмів відіграють важливу роль у підтримці імунної системи у діючому стані, оскільки активують клітини епітелія і субепітеліальної лімфоїдної тканини [5, 16, 28].

За даними наукової літератури відомо, що переважна кількість бактерій існує у вигляді специфічно сформованих плівок, що захищають їх від небажаного зовнішнього впливу та є одним із засобів здолання імунного бар'єру. Проблема актуальна для багатьох галузей медицини, у тому числі це стосується колонізації мікроорганізмами медичних виробів та апаратури, що нерідко призводить до розвитку інфекційно-запальних процесів: пневмонії — у разі штучної вентиляції легенів, ураженню суглобів — після ендопротезу-