

## АКТИВНОСТЬ $\alpha$ -2-МАКРОГЛОБУЛИНА ПРИ ПАТОЛОГИИ (ДЕПРЕССИЯ, АЛКОГОЛИЗМ, ГИПОТОНИЯ)

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

\*ДУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой

НАМН Украины», г. Харьков

\*\* Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина

Активность  $\alpha$ -2-МГ изучали в сыворотке крови, тканях коры мозга, гипоталамуса, сердца, легких, печени и почек крыс высокочувствительным ферментативным методом. При депрессии на фоне гипертензии с высокими значениями артериального давления (АД) активность  $\alpha$ -2-МГ существенно (на порядок) повышалась во всех тканях, кроме коры мозга (не изменялась); в контроле у 7-8 мес. животных она была на порядок ниже, чем у старых 17-18 мес. (во всех тканях), АД было выше у старых крыс. При алкоголизме (гипертензия с более низкими, чем при депрессии значениями АД) активность  $\alpha$ -2-МГ резко снижалась, особенно в гипоталамусе, легких, сердце и почках (на 2 порядка), в остальных образцах – в 6-10 раз. У гипотензивных крыс активность  $\alpha$ -2-МГ снижалась на порядок во всех тканях, кроме сыворотки крови (повышалась). Таким образом, активность  $\alpha$ -2-МГ отражает зависящие от возраста и патологии изменения в состоянии иммунитета.

**Ключевые слова:**  $\alpha$ -2-макроглобулин, депрессия, алкоголизм, гипертензия, гипотензия, возраст

Работа выполнена в рамках плановой темы НИР «Вивчення реакцій функціональних систем організму при різних видах холодових впливів в нормі, вікових періодах та патологічних станах», № гос. регистрации 0100U003477.

**Введение.** Адаптация организма к различным факторам внешней или внутренней среды сопровождается одновременной депрессией антиоксидантных, противосвертывающих механизмов крови и активацией иммуногенеза [4].

Одним из основных регуляторов межклеточных взаимоотношений, который синтезируется практически всеми клетками – гепатоцитами, гемопоэтическими клетками, фибробластами, миоцитами, эпителиальными и нервными клетками, является  $\alpha$ -2-макроглобулин ( $\alpha$ -2-МГ) [5, 7]. Предполагают, что  $\alpha$ -2-МГ защищает цитокины от протеолиза, что определяет характеристики  $\alpha$ -2-МГ как универсального регулятора функций иммунной системы. Установлено, что  $\alpha$ -2-МГ является одним из основных факторов, который способствует связыванию

чужеродных антигенов клетками иммунной системы [2] и образует комплексы практически со всеми известными в настоящее время протеиназами, независимо от их происхождения. Роль  $\alpha$ -2-МГ в развитии патологических процессов продолжает активно исследоваться [6, 9, 12, 14].

**Цель исследования** – изучить активность  $\alpha$ -2-МГ в тканях крыс на фоне развития депрессии и алкоголизма, сопровождающихся гипертензией, а также при гипотензии.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на крысах 7-8 и 17-18 мес. возраста с соблюдением всех биоэтических норм. Депрессию моделировали методом стресса избегания в изолированной камере, что способствовало развитию у животных патологического симптомокомплекса – «выученная беспомощность»; гипотензию – инъекциями 2,5% аминазина (контроль I – 7-8 мес. крысы); алкоголизм – «двухбутылочным» методом в течение 10 мес. (контроль II – 17-18 мес. крысы). Артериальное давление (АД) регистрировали тонометром, накладывая манжету на хвост. Активность  $\alpha$ -2-МГ в сыворотке крови и безъядерных фракциях гомогенатов тканей коры мозга (КМ), гипоталамуса, сердца, легких, печени и почек определяли высокочувствительным ферментативным методом. Статистическую обработку результатов проводили методом Стьюдента-Фишера с использованием программного обеспечения Excel.

**Результаты исследования и их обсуждение.** При депрессии развивалась гипертензия с более высокими значениями АД ( $221,6 \pm 9,8$  мм рт. ст., контроль I –  $100,8 \pm 6,6$  мм рт. ст.), чем при алкоголизме ( $176,7 \pm 20,68$  мм рт. ст., контроль II –  $130,00 \pm 12,25$  мм рт. ст.); и, как видно, АД повышалось с возрастом; при гипотензии снижалось на  $35 \pm 5$  мм рт. ст. В работе [1] показано, что уровни АД у крыс не связаны с полом и увеличиваются с возрастом. Активность  $\alpha$ -2-МГ при депрессии резко (на порядок) повышалась во всех тканях, кроме КМ (не изменялась); в контроле у 7-8 мес. животных была на порядок ниже, чем у старых (во всех тканях). При алкоголизме она снижалась, особенно в гипоталамусе,

Таблица

**Активность  $\alpha$ -2-макроглобулина (мг/л ч) ( $M \pm m$ ) (n=5)**

Образцы тканей	Условия эксперимента				
	Контроль	Контроль II	Алкоголизм	Депрессия	Гипотензия
	Возраст крыс, мес.				
	7-8	17-18	17-18	7-8	7-8
Сыв. крови	0,1 $\pm$ 0,02	1,43 $\pm$ 0,34*	0,25 $\pm$ 0,05#	1,37 $\pm$ 0,27*	1,20 $\pm$ 0,24
Кора мозга	0,45 $\pm$ 0,12	1,20 $\pm$ 0,26*	0,13 $\pm$ 0,02#	0,581 $\pm$ 0,11	0,06 $\pm$ 0,01*
Гипоталамус	0,68 $\pm$ 0,1	1,32 $\pm$ 0,30*	0,07 $\pm$ 0,01#	2,16 $\pm$ 0,40*	0,03 $\pm$ 0,01*
Легкие	0,32 $\pm$ 0,07	2,59 $\pm$ 1,07*	0,06 $\pm$ 0,01#	8,21 $\pm$ 1,64*	0,03 $\pm$ 0,01*
Сердце	0,53 $\pm$ 0,08	2,55 $\pm$ 0,60*	0,05 $\pm$ 0,01#	7,98 $\pm$ 2,86*	0,04 $\pm$ 0,01*
Печень	0,23 $\pm$ 0,06	1,18 $\pm$ 0,02*	0,18 $\pm$ 0,04#	0,77 $\pm$ 0,24*	0,03 $\pm$ 0,01*
Почки	0,49 $\pm$ 0,09	1,86 $\pm$ 0,30*	0,05 $\pm$ 0,01#	6,74 $\pm$ 1,29*	0,05 $\pm$ 0,02*

**Примечание:** \* – различия достоверны по сравнению с контролем I,  $p < 0,05$ ; # – различия достоверны по сравнению с контролем II,  $p < 0,05$ .

легких, сердце и почках (на 2 порядка), в остальных образцах – в 6-10 раз. У гипотензивных крыс снижалась на порядок во всех тканях, кроме сыворотки крови (повышалась) (табл.).

Так как макроглобулины играют значительную роль в гуморальном и клеточном иммунном ответе, то наблюдаемые нами изменения активности  $\alpha$ -2-МГ могут свидетельствовать как об активации, так и подавлении иммунной системы при развитии патологии.

С возрастом активность  $\alpha$ -2-МГ возрастает [12] и резкое ее повышение при депрессии также согласуется с результатами исследований послеоперационных депрессий у людей [6] и представлениями о развитии депрессивноподобных состояний именно на фоне активации иммунной системы [15]. Отсутствие изменений в КМ при депрессии может быть обусловлено тем, что син- и кататоксические адаптивные механизмы, связанные с функцией мозга, включаются в зависимости от силы раздражителя и реактивности структур центральной нервной системы [4]. Включение кататоксических программ адаптации (КПА) наблюдается при действии стресса большой интенсивности и сопровождается активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

Известно, что у крыс увеличение АД с возрастом коррелирует со снижением содержания NO [1], существует тесная связь между концентрацией  $\alpha$ -2-МГ макрофагов и уровнем NO;  $\alpha$ -2-МГ проявляет модулирующее действие на синтез NO макрофагами и может влиять на функции клеток без проникновения в них и связывания со специфическими рецепторами плазматической мембраны.  $\alpha$ -2-МГ регулирует уровень индуцибельной NO-синтазы in vivo благодаря связыванию его с факторами роста, секретлируемыми макрофагами [10]. Для макрофагальных клеток повышенная концентрация  $\alpha$ -2-МГ рассматривается как модулятор высвобождения медиаторов воспаления. Увеличение концентрации

связанного с протеиназами  $\alpha$ -2-МГ способствует апоптозу поврежденных клеток, регуляции активности фагоцитов (посредством цитокинов) и направлено на локализацию очага некроза [7, 11]. При этом дальнейшее угнетение антиоксидантных и противосвертывающих механизмов на фоне иммуноактивации может приводить к снижению физиологической устойчивости организма [4]. В-лимфоциты в ответ на стресс начинают усиленно продуцировать антитела, которые, оседая на стенках кровеносных сосудов, способствуют их утолщению

и потере ими эластичности, что является одним из основных проявлений гипертонии. При гипертонии клеткой-мишенью является иммунокомпетентная эндотелиальная клетка, ее повреждение стимулирует высвобождение цитокинов и синтез молекул межклеточной адгезии (ММА), обеспечивая процесс инфильтрации [3]. Активация лейкоцитов и эндотелиоцитов с усилением адгезии повышает экспрессию ММА на мембранах клеток, что может отражать неспецифическую активацию иммунитета на фоне повреждения эндотелия. При гипотензии иммунитет ослаблен, но механизмы повреждения сосудов, формирования эндотелиальной дисфункции аналогичны таковым при гипертонии.

Алкоголь негативно влияет на все звенья иммунитета. Полагают, что при алкоголизме развивается вторичный иммунодефицит по Т-зависимому типу, в основе формирования которого лежат повреждение печени и тимуса [13]. Одновременно с активацией КПА запускаются синтоксические программы адаптации, направленные на ослабление эффекта действия сильного раздражителя [4]. При этом вместо дальнейшего усиления ответной реакции на экстремальный раздражитель организм ее ослабляет.

**Выводы.** Активность  $\alpha$ -2-МГ достоверно отражает зависящие от возраста и патологии изменения в состоянии иммунитета. Развитие депрессии сопровождается значительным повышением АД и приводит к существенной активации  $\alpha$ -2-МГ во всех тканях. Развитие алкоголизма, напротив, вызывает резкое снижение активности  $\alpha$ -2-МГ во всех тканях, при этом повышение АД менее выражено. При гипотензии активность  $\alpha$ -2-МГ также резко снижается во всех тканях, кроме сыворотки крови.

**Перспективы дальнейших исследований** – изучение активности  $\alpha$ -2-МГ и его роли в формировании адаптивных реакций организма в ответ на действие иммуномодуляторов, в частности, неспецифических, таких как холодовые воздействия, препараты кордовой крови и др.

## Список литературы

1. Анищенко Т. Г. Влияние возраста и пола на показатели артериального давления, развитие почечной гипертензии и содержание оксида азота в крови белых крыс / Т. Г. Анищенко, О. В. Семьякина-Глушкова, В. А. Бердникова, Т. А. Синдякова // Бюлл. экспери. биол. мед. – 2010. – Т. 149, № 1. – С. 4-6.
2. Зорин Н. А. Универсальный модулятор цитокинов  $\alpha$ -2-макроглобулин (Обзор литературы) / Н. А. Зорин, В. Н. Зорина, Р. М. Зорина // Иммунология. – 2004. – Т. 25, № 5. – С. 302-304.
3. Искандарова Л. Р. Показатели межклеточных молекул адгезии, иммунной системы при артериальной гипертензии / Л. Р. Искандарова, Н. Г. Хайбулина, А. Р. Амирова, Э. Г. Муталова // Современные наукоемкие технологии. – 2005. – № 10. – С. 43-44.
4. Хадарцев А. А. Депрессия антистрессовых механизмов как основа развития патологического процесса / А. А. Хадарцев, В. Н. Морозов, А. Г. Хрупачев [и др.] // Фундамент. исследования. – 2012. – № 4. – С. 371-375.
5. Armstrong P. B. Alpha2-macroglobulin: an evolutionarily conserved arm of the innate immune system / P. B. Armstrong, J. P. Quigley // Dev. Comp. Immunol. – 1999. – Vol. 23. – P. 375-390.
6. Bapat P. R. Differential Levels of Alpha-2-Macroglobulin, Haptoglobin and Sero-Transferrin as Adjunct Markers for TB Diagnosis and Disease Progression in the Malnourished Tribal Population of Melghat, India / P. R. Bapat, A. R. Satav, A. A. Husain [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, № 8. – Режим доступа : e0133928. doi: 10.1371/journal.pone.0133928.
7. Birkenmeier G. Targeting the Proteinase Inhibitor and Immune Modulatory Function of Human  $\alpha$ 2-Macroglobulin / G. Birkenmeier // Mod. Asp. Immunobiol. – 2001. – Vol. 2, № 1. – P. 32-36.
8. Federici Canova D. Alpha-2-macroglobulin loaded microcapsules enhance human leukocyte functions and innate immune response / D. Federici Canova, A. M. Pavlov, L. V. Norling [et al.] // J. Control Release. – 2015. – Vol. 217, № 10. – P. 284-292. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.09.021.
9. Fujita T. Circulating alpha-2-macroglobulin levels and depression scores in patients who underwent abdominal cancer surgery / T. Fujita, A. Nagayama, S. Anazawa // J. Surg. Res. – 2003. – Vol. 114, № 1. – P. 90-94.
10. Lysiak J.  $\alpha$ <sub>2</sub>-Macroglobulin functions as a cytokine carrier to induce nitric oxide synthesis and cause nitric oxide-dependent cytotoxicity in the RAW 264. 7 macrophage cell line / J. Lysiak // J. Biol. Chem. – 1995. – Vol. 270. – P. 21919-21927.
11. Maeda H. Bradykinin and nitric oxide in infectious disease and cancer / H. Maeda, T. Akaike, J. Wu [et al.] // Immunopharmacology. – 1996. – Vol. 33. – P. 222-230.
12. Nezu T. Alpha2-macroglobulin as a promising biomarker for cerebral small vessel disease in acute ischemic stroke patients / T. Nezu, N. Hosomi, S. Aoki [et al.] // J. Neurol. – 2013. – Vol. 260, № 10. – P. 2642-2649. doi: 10.1007/s00415-013-7040-x.
13. Romeo J. Moderate alcohol consumption and the immune system: A review / J. Romeo, J. Warnberg, E. Nova [et al.] // British Journal of Nutrition. – 2007. – Vol. 98, Suppl. 1. – P. S111-S115.
14. Thieme R. Analysis of Alpha-2 Macroglobulin from the Long-Lived and Cancer-Resistant Naked Mole-Rat and Human Plasma / R. Thieme, S. Kurz, M. Kolb [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, № 6. :e0130470. doi: 10.1371/journal.pone.0130470.
15. Tsiouris J. A. Metabolic depression in hibernation and major depression: An explanatory theory and an animal model of depression / J. A. Tsiouris // Med. Hypotheses. – 2005. – Vol. 65, № 5. – P. 829-840.

УДК 577. 15. 041. 084. 1:616. 12-008. 331

### АКТИВНІСТЬ $\alpha$ -2-МАКРОГЛОБУЛІНУ ПРИ ПАТОЛОГІЇ (ДЕПРЕСІЯ, АЛКОГОЛІЗМ, ГІПОТОНІЯ)

Ломако В. В., Самохіна Л. М., Сомова К. В.

**Резюме.** Активність  $\alpha$ -2-МГ вивчали в сироватці крові, тканинах кори мозку, гіпоталамуса, серця, легенів, печінки і нирок щурів високочутливим ферментативним методом. При депресії на тлі гіпертензії з високими показниками артеріального тиску (АТ) активність  $\alpha$ -2-МГ істотно (на порядок) підвищувалась у всіх тканинах, крім кори мозку (не змінювалась); в контролі у 7-8 міс. тварин активність  $\alpha$ -2-МГ була на порядок нижче, ніж у старих 17-18 міс. (у всіх тканинах), АТ був вищим у старих тварин. При алкоголізмі на тлі гіпертензії з меншими порівняно з депресією значеннями АТ активність  $\alpha$ -2-МГ, навпаки, різко знижувалася, особливо в гіпоталамусі, легенях, серці та нирках (на 2 порядки), в інших зразках – в 6-10 разів. У гіпотензивних щурів активність  $\alpha$ -2-МГ знижувалася на порядок у всіх тканинах, крім сироватки крові (підвищувалася). Таким чином, активність  $\alpha$ -2-МГ відображає вікові та залежні від патології зміни стану імунітету.

**Ключові слова:**  $\alpha$ -2-макроглобулін, депресія, алкоголізм, гіпертензія, гіпотензія, вік.

UDC 577. 15. 041. 084. 1:616. 12-008. 331

### $\alpha$ -2-Macroglobulin Activity at Pothology (Depression, Alcoholism, Hipotension)

Lomako V. V., Samokhina L. M., Somova K. V.

**Abstract.**  $\alpha$ -2-macroglobulin ( $\alpha$ -2-MG) is one of the main regulators of intercellular relationships and is synthesized by virtually all cells (hepatocytes, hematopoietic cells, fibroblasts, myocytes, epithelial and nerve cells). It is shown that macroglobulin is capable of forming complexes with almost all currently known proteases regardless of their origin.  $\alpha$ -2-MG is one of the main factors that contributes to the binding of foreign antigens by the immune system cells and forms complexes with nearly all currently known proteases, independent of their origin. The role of  $\alpha$ -2-MG in the development of pathological processes continues to be actively explored today.

$\alpha$ -2-MG activity was determined in tissue samples (serum, cerebral cortex, hypothalamus, heart, lungs, liver and kidneys) of intact rats (7-8 months and 17-18 months) and in rats on the background of pathological states development (depression, alcoholism and hypotension) by a highly sensitive enzymatic method. Depression was simulated by the stress of "not-avoiding" in an isolated chamber, which contributed to the development of the pathological symptom complex in animals ("learned helplessness"); hypotension was achieved by injections of 2.5% of chlorpromazine; "two bottle choice method" was used for alcoholisation during 10 months. Control I – 7-8 months rats; control II – 17-18 months rats. Blood pressure (BP) was recorded by tonometer, the cuff was put on a tail.

Depression was accompanied by hypertension with higher blood pressure ( $221.6 \pm 9.8$  mmHg, in the control I –  $100.8 \pm 6.6$  mmHg) than alcoholism ( $176.7 \pm 20.68$  mmHg, in the control II –  $130.00 \pm 12.25$  mmHg); blood pressure increases with age; at hypotension BP was reduced by  $35 \pm 5$  mmHg. At depression the  $\alpha$ -2-MG activity significantly (by one order of magnitude) increased in all tissues except the brain cortex (unchanged); in young animals control was much lower than that of old ones (all tissues). Alcoholisation reduced the  $\alpha$ -2-MG activity dramatically, particularly in the hypothalamus, the lungs, heart and kidneys (by two orders of magnitude) in the other samples – 6-10 times. The  $\alpha$ -2-MG activity in hypotensive rats was reduced in 10 times in all tissues except the blood serum (increased). The activity of  $\alpha$ -2-MG increases with age and its dramatic increase at depression is also in agreement with the ideas that the depressive like states are evolved precisely on the background of the immune system activation. Alcohol has negative impacts at all the links of immunity. Since macroglobulins play a significant role in the humoral and cellular immune responses, the observed changes in the activity of  $\alpha$ -2-MG may indicate both the activation and the suppression of the immune system in the development of pathology. Excess  $\alpha$ -2-MG created by complexation with proteases, promotes apoptosis of damaged cells, promotes phagocytosis activity regulation by the cytokines and is aimed at localization of necrosis focus.

Thus, fluctuations in the  $\alpha$ -2-MG activity faithfully reflect age-dependent and pathologic changes in the state of immunity.

**Keywords:**  $\alpha$ -2-macroglobulin, depression, alcoholism, hypertension, hypotension, age.

Стаття надійшла 30.11.2015 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування