

У статті наведені результати дослідження вмісту рецепторів стероїдних гормонів у ендометрії жінок репродуктивного віку при різних варіантах проліферативних процесів у ньому. Проведено порівняльний аналіз експресії рецепторів естрогенів і прогестерону у практично здорових пацієнток і жінок із різними видами гіперпластичної трансформації ендометрія. Показано, що експресія рецепторів стероїдних гормонів у слизовій оболонці матки вірогідно знижується у міру прогресування пухлинного процесу.

Ключові слова: гіперплазія ендометрія, стероїдні гормони, рецептори, експресія, жінки репродуктивного віку.

The results of investigation of the steroid hormones receptors content in reproductive age women endometrium in the presence of various types of its proliferative processes are considered in the article. The comparative analysis of estrogens and progesterone receptors expression in healthy patients and women with the various types of hyperplastic endometrial transformation has been done. It was indicated that steroid hormones receptors expression in the uterine mucosa is reduced when the tumor process progressing.

Key words: endometrial hyperplasia, steroid hormones, receptors, expression, reproductive age women.

УДК 616.12-008.46-092:577.156.1

Л. М. Самохіна, канд. біол. наук,

С. О. Лазарева, канд. мед. наук,

В. І. Волков, д-р мед. наук, проф.

ОСОБЛИВОСТІ УЧАСТІ ТОНІНУ І КАЛЬПАЇНІВ У ПАТОГЕНЕЗІ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Державна установа «Інститут терапії ім. Л. Т. Малої АМН України», Харків

Клінічні симптоми хронічної серцевої недостатності (СН) розвиваються на фоні виснаження компенсаторно-адаптаційних механізмів [1]. На цій стадії постійна активація ренін-ангіотензинової системи (РАС) несприятливо впливає на функцію пристосування і може збільшити ураження міокарда, що призводить до прогресування патології. Відбуваються істотні зрушення балансу РАС із перевагою вазоконстрикції.

Одним із найсильніших вазоконстрикторів є ангіотензин II (АП), що утворюється з АІ за участі ангіотензин-перетворюючого ферменту (АПФ), хімо-трипсиноподібної протеїнази — хімази, тканинного активатора плазміногену (ТАП), тоніну, катепсину G або безпосередньо з ангіотензиногену за участі ТАП, катепсину G, тоніну.

Негативна дія АП пов'язана з активацією НАД(Ф)Н-оксидази – головного джерела реактивних форм кисню, що ут-

ворюються клітинами судин [2]. Джерелом ферментативного утворення радикалів кисню є електронна мітохондріальна транспортна система [3]. Хронічне підвищення утворення радикалів кисню у мітохондріях може призводити до ураження мітохондріальної ДНК із подальшим утворенням радикалів та ушкодженням клітин. Підвищення проникності мітохондріальних мембран із подальшим вивільненням протеаз, ядерних активаторів і біоенергетичною недостатністю є невід'ємною ланкою апоптозу [4]. Апоптоз міокарда, опосередкований через цитокіни й оксидативний стрес, є головною причиною критичної втрати маси кардіоміоцитів у термінально гіпертрофованому серці на кінцевій стадії хронічної серцевої недостатності (ХСН) [5].

У багатоступінчастому процесі апоптозу бере участь безліч ферментів, однак протеїназам приділяється визначальна

роль [6]. До них зараховують каспази, кальпаїни тощо. Кальпаїни — кальційзалежні цистеїнові протеїнази, реалізують свою дію шляхом розщеплення білків цитоскелета, ядерного матриксу, деяких факторів транскрипції, ін. m-кальпаїн здатен безпосередньо активувати ефекторну каспазу 3. Активація кальпаїнів у клітині приводить до уповільнення апоптозу.

За умов оксидативного стресу в ушкодженні міокарда можлива і участь тоніну, яка проявляється на фоні відсутності змін активності хімази [7].

Регуляція активності протеїнази, у тому числі хімази, тоніну, кальпаїнів відбувається за участі інгібіторів протеїнази: α -1-інгібітора протеїнази (α -1-ІП), α -2-макроглобуліну (α -2-МГ), які за класифікацією є серпінами [6]. Механізми дії серпінів пов'язані з месенджерними системами, що активуються при поглинанні клітиною комплексу «серпін-протеїназа-рецептор α -2-МГ»,

і є апоптогенними. Таким шляхом до клітини можуть потрапляти протеолітичні ферменти, що мають достатньо велике значення у запуску апоптозу.

Мета роботи — вивчити окремі вазоконстрикторні й апоптогенні особливості патогенезу СН на основі дослідження активності протеїназ, нетрипсиноподібних протеїназ (НТПП), тоніну, кальпаїнів та їх інгібіторів, α -1-ІП, α -2-МГ.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 26 хворих на СН. Від усіх хворих спочатку отримано інформаційну згоду на обстеження. Групу СН ІА утворили 16 пацієнтів (7 чоловіків і 9 жінок, середній вік $(64,5 \pm 2,8)$ року), СН ІБ — 10 хворих (8 чоловіків, 1 жінка, середній вік — $(60,5 \pm 4,5)$ року). Діагноз СН встановлювали згідно з класифікацією, затвердженою Наказом МОЗ України № 54 від 14.02.2002 р. Контрольна група — 16 здорових осіб (9 жінок, 7 чоловіків, середній вік $(34,8 \pm 1,9)$ року).

Досліджували загальну активність нейтральних протеїназ, НТПП, активність тоніну, кальпаїнів, α -1-ІП, α -2-МГ у сироватці крові високочутливим (10^{-9} – 10^{-10} г) ферментативним методом. Принцип методу базується на використанні як субстрату протеолітичної реакції іммобілізованого на поверхні полістиролу маркерного ферменту (пероксидаза хрону), який завчасно був кон'югований із субстратним білком [8]. Для визначення активності протеїназ, НТПП, кальпаїнів, α -1-ІП як субстрат використовували альбумін сироватки бика (БСА).

Для визначення НТПП (хімаза, простатоспецифічний антиген, частково тонін тощо, без катепсину G) перед протеолітичною реакцією проводили окремо пригнічення трипсиноподібних ферментів, таких як трипсин, сироватковий калі-

креїн, плазмін, частково тонін (має і трипсин-, і хімотрипсиноподібну активність), додаванням 1:1 за об'ємом соєвого інгібітора трипсину (СІТ) у концентрації 0,01 мкг/мл; інкубація — 5 хв при 37 °С.

Для визначення активності кальпаїнів досліджували зразки вносили в лунки полістиролової плашки з іммобілізованим комплексом пероксидази хрону з БСА в дублікаті, потім до одного додавали CaCl_2 і цистеїн з отриманням кінцевих концентрацій 5 мМ, до другого — етилендіамінтетраацетат (ЕДТА) з отриманням кінцевої концентрації 10 мМ. Контрольними зразками служили розчини трипсину. Інкубували при 37 °С протягом 15 хв.

Для визначення трипсинінгібіторної активності α -1-ІП перед протеолітичною реакцією окремо проводили реакцію зв'язування інгібітора з трипсином у концентрації 8 мкг/мл протягом 15 хв при 20 °С. Для визначення рівня α -2-МГ як субстрат використовували протамінсульфат. Після проведення реакції утворення комплексу протеїназа-інгібітор протеїназ до реакційної суміші додавали 1:1 за об'ємом СІТ у концентрації 150 мкг/мл та інкубували 5 хв при 37 °С для зв'язування вільних протеїназ. Рівень α -2-МГ у досліджених зразках розраховували за активністю трипсину, зв'язаного з α -2-МГ.

Після видалення продуктів реакції проводили оцінку рівня зазначених показників за залишковою активністю маркерного ферменту і виражали в грамах на літр трипсину з перерахунком часу протеолітичної реакції на годину.

Для визначення активності тоніну перед протеолітичною реакцією пригнічували активність калікреїн-подібних ферментів у дослідних зразках додаванням 1:1 за об'ємом апротиніну (20 мкг/мл) та інкубували 5 хв при 37 °С. Як субстрат використовували про-

тамінсульфат. Результати виражали в Е (мікромоль субстрату за хвилину).

У дослідженнях використовували пероксидазу хрону, БСА, протамінсульфат, хлорид кальцію, ЕДТА, полістиролові плашки стріпові (Росія), СІТ виробництва "Reanal" (Угорщина), трипсин фірми Spofa (Чехія) і фотометр-аналізатор імуноферментний Humanreader № 2106-1709 фірми "Human" (Німеччина).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за методом Стьюдента — Фішера з використанням програмного забезпечення Excel.

Результати дослідження та їх обговорення

У хворих на СН виявлено зниження активності протеїназ, НТПП, кальпаїнів, α -2-МГ на фоні активації тоніну, α -1-ІП (таблиця). Вірогідні зміни загальної активності протеїназ, НТПП, кальпаїнів, трипсинінгібіторної активності α -1-ІП відзначені в обох групах хворих, α -2-МГ — у хворих на СН ІА, активності тоніну — у хворих на СН ІБ. Слід зазначити, що аналіз результатів проведено без урахування статі через відсутність відмінностей в активності НТПП між чоловіками та жінками із серцево-судинними захворюваннями.

Зниження активності протеїназ, НТПП, кальпаїнів, α -2-МГ вказує на виведення комплексів вказаних протеїназ з α -2-МГ із організму, що зумовлено тривалим формуванням патологічного стану організму, його природною реакцією на зовнішній вплив стрес-факторів [9].

Пригнічення активності протеїназ вказує на зменшення інтенсивності реакцій обмеженого протеолізу, необхідної стадії процесу біосинтезу білка. Пригнічення процесів біосинтезу білка і стимуляція апоптозу належать до основних ефектів цитокінів. Ініціа-

Активність протеїназ, НТПП, тоніну, кальпаїнів, α -1-ІП та α -2-МГ у хворих на серцеву недостатність

Досліджені показники	Контроль	СН ІА	СН ІБ
Загальна активність протеїназ, г/(л год)	0,015±0,004	0,0033±0,0004***	0,0034±0,0003***
Активність НТПП, г/(л год)	0,015±0,002	0,0032±0,0003***	0,0034±0,0002***
Активність тоніну, Е	0,0005±0,0002	0,0009±0,0002	0,0013±0,0003**
Активність кальпаїнів, г/(л год)	0,657±0,105	0,029±0,005***	0,054±0,016***
Активність α -1-ІП, г/(л год)	7,473±0,006	7,916±0,019***	7,961±0,021***
Активність α -2-МГ, г/(л год)	1,582±0,290	1,007±0,169**	1,195±0,130

Примітка. **, *** — ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем, $P < 0,01$, $P < 0,001$ відповідно.

торами синтезу цитокінів вступають вільні радикали, які гіперпродукуються uszkodженими міоцитами скелетних м'язів і судин, ендотеліоцитами, кардіоміоцитами, що перебувають у стані гіпоксії. На фоні вираженої активації фактора некрозу пухлин- α й інших прозапальних цитокінів у хворих спостерігається зменшення маси тіла, зумовлене, головним чином, гіпотрофією скелетних м'язів, що є останнім резервом для приведення потреб організму в кисні та поживних речовинах у відповідність до критично обмежених можливостей їхньої доставки. Однак одночасно відбувається активація апоптозу та катаболічних процесів у міокарді, що не дає шансів збалансувати ситуацію.

Ключову роль у механізмах поступового зношування міокарда і розвитку його недостатності відіграє порушення енергоутворення в мітохондріях [10]. Компенсаторне посилення анаеробного гліколізу підвищує концентрацію іонів H^+ , що порушує зв'язування іонів Ca^{2+} з міофібрилами через кальційрецепторний протеїновий комплекс і призводить до зниження скорочувальної здатності міокарда. Знижується ефективність кальцієвого насоса саркоплазматичного ретикула, Na/Ca -обміну, сповільнюється відтік Ca^{2+} із міоплазми. Це може спричинити зниження рівня кальцію в крові, що прямо корелює з активністю кальпаїнів і зумовлює зменшення загальної активності протеїназ. Не-

стача кальцію у міоплазмі, у свою чергу, роз'єднує окиснення і фосфорилування в мітохондріях, як наслідок, виникає зниження АТФ і ефективності використання кисню, що призводить до порушення серцевої функції. Зниження рівня кальпаїнів у клітині спричинює прискорення апоптозу [6].

Зменшення активності НТПП у комплексі з α -2-МГ може бути безпосередньо пов'язане з тим фактом, що до складу НТПП входять такі протеїнази, як хімаза, тонін, які пригнічуються α -2-МГ.

Зростання активності тоніну на фоні зниження рівня НТПП вказує на зумовленість змін рівня НТПП більшим вкладом хімази, на відміну від тоніну. До того ж, враховуючи участь хімази, тоніну в утворенні АП, можна твердити про вичерпаність резервів вивільнення хімази за умов тривалого формування патологічного процесу і компенсаційне включення тоніну в подальший розвиток тканинних вазоконстрикторних ефектів. Вірогідне зростання активності тоніну у хворих на СН ІБ вказує на прогресування вазоконстрикторних змін саме у пацієнтів із більш тяжким характером захворювання. Крім того, зниження активності α -2-МГ у хворих із СН ІБ порівняно з СН ІА може також зумовлювати активацію тоніну.

Зниження активності α -2-МГ вказує на вивільнення та/або зменшення його рецепторів, що може сприяти активації апоптогенних механізмів, пов'язаних із поглинанням кліти-

ною комплексів «серпін-протеїназа-рецептор α -2-МГ», і з спричиненням потрапляння у клітини протеолітичних ферментів (еластаза, хімотрипсин, катепсини тощо) [6]. Активація протеїназ у клітинах тканин може з часом призводити до їх витрачання на розвиток деструктивних змін і зумовлювати зниження активності протеїназ у крові.

Зростання активності α -1-ІП на фоні зниження рівня α -2-МГ пов'язане з тим, що α -2-МГ першим включається в реакцію пригнічення надлишкової активності протеїназ і в результаті відзначається компенсаторне зростання активності α -1-ІП. Крім того, α -1-ІП здатен зв'язуватися зі стресовими білками, а на фоні тривалого формування патологічного стану, в результаті дії окремих стрес-факторів відбувається стимуляція його синтезу та/або вивільнення гепатоцитами та мононуклеарними клітинами, що призводить до збільшення рівня α -1-ІП.

Висновки

У хворих на СН зниження активності протеїназ, НТПП, кальпаїнів, α -2-МГ вказує на виведення комплексів протеїназ з α -2-МГ із організму, стимуляцію, розвиток і прискорення апоптозу. Активація тоніну більш виражена при СН ІБ і свідчить про суттєвий розвиток тканинних вазоконстрикторних змін. Зростання активності α -1-ІП обумовлене зниженням рівня α -2-МГ і необхідністю регуляції надлиш-

кової активності тоніну та має більш результативний характер у хворих на СН ІА.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Малая Л. Т., Горб Ю. Г.* Хроническая сердечная недостаточность: достижения, проблемы, перспективы. — Х.: Торсинг, 2002. — 768 с.
2. *Interactions of angiotensin II with NAD(P)H oxidase, oxidant stress and cardiovascular disease / D. G. Harrison, H. Cai, U. Landmesser et al. // J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst. — 2003. — Vol. 4, N 2. — P. 51-61.*
3. *Beta-blockers restore calcium release channel function and improve cardiac muscle performance in human heart failure / S. Reiken, X. H. Wehrens,*

J. A. Vest et al. // Circulation. — 2003. — Vol. 107, N 19. — P. 2459-2466.

4. *Mattson M. P., Kroemer G.* Mitochondria in cell death: novel targets for neuroprotection and cardioprotection // *Trends. Mol. Med.* — 2003. — Vol. 9, N 5. — P. 196-205.

5. *Воронков Л. Г.* Хроническая сердечная недостаточность как иммунопатологический и дисметаболический синдром // *Укр. терапевт. журнал.* — 2001. — Т. 3, № 1. — С. 17-20.

6. *Протеолитические ферменты и апоптоз / К. Н. Веремеенко, В. Е. Досенко, В. С. Нагибин и др. // Укр. біохім. журнал.* — 2003. — Т. 75, № 6. — С. 10-24.

7. *Самохіна Л. М., Самохін А. А.* Химаза, тонин и эластаза у крыс при окислительном стрессе, вызванном

введением хлорида кобальта // *Укр. біохім. журнал.* — 2001. — Т. 73, № 5. — С. 47-51.

8. *Самохіна Л. М., Дубинин А. А.* Способ определения активности протеиназы или их ингибиторов в биологических жидкостях. — Патент России № 1655991.

9. *Самохіна Л. М., Гольдрин Е. Н., Ермакович И. И.* Химаза в системе протеиназа — ингибитор протеиназы в патогенезе гипертонической болезни // *Врач. дело.* — 2002. — № 2. — С. 31-34.

10. *Целуйко В. И., Кравченко Н. А.* Биохимические механизмы развития сердечной недостаточности // *Укр. терапевт. журнал.* — 2004. — № 4. — С. 70-76.

УДК 616.12-008.46-092:577.156.1

Л. М. Самохіна, С. О. Лазарева, В. І. Волков

ОСОБЛИВОСТІ УЧАСТІ ТОНІНУ І КАЛЬПАЇНІВ У ПАТОГЕНЕЗІ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Вивчено окремі вазоконстрикторні й апоптогенні особливості патогенезу серцевої недостатності (СН). У хворих на СН досліджено активність нейтральних протеїназ, не-трипсиноподібних протеїназ (НТПП), тоніну, кальпаїнів, α -1-інгібітора протеїназ (α -1-ІП), α -2-макроглобуліну (α -2-МГ) в сироватці крові високочутливим (10^{-9} – 10^{-10} г) ферментативним методом. Виявлено зниження рівня протеїназ, НТПП, кальпаїнів, яке зумовлене їх виведенням у комплексі з α -2-МГ із організму, прискоренням апоптозу. Активація тоніну виражена при СН ІІБ і свідчить про розвиток вазоконстрикторних ефектів. α -1-ІП є ефективним у регуляції активності тоніну при СН ІА.

Ключові слова: тонін, кальпаїни, α -1-інгібітор протеїназ, α -2-макроглобулін, серцева недостатність.

UDC 616.12-008.46-092:577.156.1

L. M. Samokhina, S. O. Lazareva, V. I. Volkov

FEATURES OF TONIN AND CALPAINS PARTICIPATIONS IN PATHOGENESIS OF HEART FAILURE

Some vasoconstrictive and apoptogenic features of heart failure (HF) pathogenesis are studied. Neutral proteinase, nonglypsine like proteinase (NTPP), tonin, calpains, α -1-proteinase inhibitor (α -1-PI), α -2-macroglobulin (α -2-MG) activities in blood serum were investigated with high-sensitivity (10^{-9} – 10^{-10} g) enzymatic method in the patients with HF. The decrease in proteinase, NTPP, calpains are revealed, that is caused by removing of proteinase complexes with α -2-MG from organism, apoptosis acceleration. The tonin activation is expressed at HFІІВ and testifies to development of vasoconstriction effects. The α -1-PI is effective in tonin activity regulation at HFІІА.

Key words: tonin, calpains, α -1-proteinase inhibitor, α -2-macroglobulin, heart failure.

УДК 615.225.3+615.275:616.152.22

Т. І. Кметь, канд. мед. наук,

О. Г. Кметь, канд. мед. наук,

В. П. Польовий, канд. мед. наук

ВПЛИВ ПОЄДНАНОГО ВВЕДЕННЯ ПІРАЦЕТАМУ І МЕМАНТИНУ НА ВМІСТ ПРОДУКТІВ БІЛКОВОЇ ПЕРОКСИДАЦІЇ ТА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИГІПОКСАНТНОГО ЗАХИСТУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ

*Буковинський державний медичний університет, Чернівці,
ДП НДІ медико-екологічних проблем МОЗ України, Чернівці*

Вступ

Зменшення тривалості життя населення промислово розвинених країн прямо пов'язане

зі зростанням кількості церебральних патологій [6]. Патологічні стани головного мозку, такі як інсульт, хронічна цереброваскулярна недостат-

ність, постгіпоксична енцефалопатія призводять до зниження соціальної активності людини. Відомо, що в механізмі розвитку цих станів важливу