

1. металлургического предприятия) // Запорож. мед. журн. – Материалы науч.-практ. конф. "Сучасні аспекти клініки, діагностики та лікування серцево-судинної недостатності". – 2003. – Т. 1, №6 (21). – С. 113-114.

2. Функциональное состояние эндотелия у больных артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца / Д.А. Затеишиков, Л.О. Минушкина, О.Ю. Кудряшова и др. // Кардиология –2000. – №6. – С. 14-17.

3. Чабанна О.С. Метаболізм ліпідів і цитокінів та ефективність ліпідкоригуючої терапії у хворих на гіпертонічну хворобу // Запорож. мед. журн. – 2004. – №5 (26). – С. 10-13.

4. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure / B. Levin, J. Kalman, L. Mayer et al. // New Engl. J. Med. – 1990. – Vol. 323. – P. 236-241.

5. Gurard M., London G.M., Manhes F.H. Arterial structure and function // J. Hypertens. – 1999. – Vol. 17, Suppl.3. – P. 233.

6. Li S., Wang O.D., Pemow J. Protective effects of nonpeptide endothelin receptor antagonist bosentan on myocardial ischaemic and reperfusion injury in the pig // Cardiovasc. Res. – 1995. – Vol. 29. – P. 805-812.

7. Sympathetic hyperactivity and coronary risk in hypertension / P.M. Kearney, M. Whelton, K. Reynolds et al. // Lancet – 2005. – Vol. 365, N 217. – P. 23.



УДК 616.839-008.6:611.018.54:612.398

І.І. Кричун

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ВМІСТУ В ПЛАЗМІ КРОВІ БІЛКА p53, МАРКЕРІВ АПОПТОЗУ ІІ ТИПУ, АКТИВНОСТІ КАСПАЗ І РІВНЯ sCD117 У ХВОРИХ НА ВЕГЕТО-СУДИННУ ДИСТОНІЮ

Буковинський державний медичний університет

кафедра нервових хвороб, психіатрії та медичної психології ім. С.М.Савенка

(зав. – д. мед. н., проф. В.М.Пашковський)

м. Чернівці

Ключові слова: вегето-судинна дистонія, апоптоз, білок p53, TNF- α , sTRAIL, sCD117, каспази

Key words: vegeto-vascular dystonia, apoptosis, protein P53, TNF- α , sTRAIL, sCD117, caspases

Резюме. Установлено, що у больных вегето-сосудистой дистонией по гипертоническому типу содержание в плазме крови белка p53 уменьшается на 27%, уровень в крови sTRAIL возрастает на 22%, sCD117 - на 44%, что сопровождается повышением активности каспазы-1, однако активность каспаз-3 и -8, а также содержание в крови TNF- α не изменяются. При вегето-сосудистой дистонии по гипотоническому типу концентрации в плазме крови белка p53, TNF- α , sTRAIL и активность каспаз-1 -3, -8 отвечают контрольным величинам на фоне почти двукратного повышения плазменного уровня sCD117. Для смешанного типа вегето-сосудистой дистонии характерным является значительное повышение содержания в крови факторов апоптоза II типа: уровень белка p53 возрастает в 2,4 раза, TNF- α – в 1,9 раза, sTRAIL – в 2,3 раза, что сопровождается увеличением активности каспазы-1 в 4,1 раза, каспазы-3 – в 3,3 раза, каспазы 8 – в 3,8 раза и повышением плазменной концентрации sCD117 – в 3,5 раза.

Summary. It was established that in patients with vegeto-vascular dystonia of hypertonic type content of p53 in the blood plasma diminishes by 27%, level of sTRAIL in the blood increases by 22%, sCD 117 level – by 44%. This is accompanied by an elevation of caspase-1 activity, however the activity of caspases-3 and -8 and content of TNF- α in the blood do not change. In vegeto-vascular dystonia of hypotonic type sTRAIL and the activity of caspase-1,-3,-8 correspond to the control values against a background of almost twofold elevation of the plasma level of sCD 117. A considerable elevation of apoptotic factors of type II in the blood is typical for the mixed type of vegeto-vascular dystonia: the blood level of p53 increases by 2,4 times, TNF- α – by 1,9 times, sTRAIL – by 2,3 times; this is accompanied by an increased activity of caspase-1 – by 4,1 times, caspase-3 – by 3,3 times, caspase-8 – by 3,8 times and an increase of plasma concentration of sCD 117 – by 3,5 times.

Останніми роками встановлено, що апоптоз є не тільки фізіологічним процесом, що регулює об'єм клітинної маси та її форму в організмі, що розвивається, але за певних умов включається у механізми патогенезу багатьох захворювань, пов'язаних із порушенням клітинного поділу [3]. У дорослому організмі найбільша інтенсивність апоптозу спостерігається в клітинах, які постійно поділяються. До таких належать клітини кісткового мозку, ентероцити, епітеліальні клітини шкіри, а також ендотеліоцити [7, 8]. Апоптоз реалізує функцію фізіологічної регенерації – замість старіючих клітин, що зазнають апоптозу, із стовбурових ресурсів утворюються нові клітини, які поновлюють функцію тканин і органів [2]. Порушення апоптозу, що проявляються або його пригніченням, або, навпаки, підсиленням, лежать в основі онкологічної патології, уроджених вад, гіперпроліферативних процесів, аутоімунної патології та хвороб системи крові [9]. Не виключено, що у патогенезі вегето-судинної дистонії певну роль також відіграють порушення апоптозу, зокрема на рівні ендотеліальних клітин, що внаслідок гіпер- або гіпофункції ендотеліоцитів може призвести до розвитку відповідно до гіпо- або гіпертонічного типу вегето-судинної дистонії. Проте даний аспект ймовірних механізмів розвитку вегето-судинної дистонії залишається нез'ясованим.

Мета роботи – з'ясувати зміни вмісту в плазмі крові p53, TNF- α , sTRAIL, sCD117 і активності каспаз-1, -3, -8 при різних типах вегето-судинної дистонії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Обстежено 48 хворих на вегето-судинну дистонію (чоловіків – 17, жінок – 31) віком від 14 до 30 років (у середньому 22,8). Серед них у 18 пацієнтів діагностовано гіпертонічний тип, у 12 – гіпотонічний та у 18 – змішаний тип захворювання.

Пацієнти були розподілені на три групи. Першу групу склали хворі на гіпертонічний тип вегето-судинної дистонії (середній вік – 22, чоловіків – 11, жінок – 7), другу – пацієнти з гіпотонічним типом (середній вік – 26,2, чоловіків – 1, жінок – 11) і третю – зі змішаним типом (середній вік – 24,5, чоловіків – 5, жінок – 13) захворювання.

Обстеження хворих включало: клінічне соматичне та неврологічне обстеження з детальним вивченням вегетативного тону, вегетативної реактивності та вегетативного забезпечення діяльності в поєднанні з комплексом параклінічних інструментальних методів дослідження (екстра- та інтракраніальна доплерографія, яку проводили

на апараті “Сономед-330” за стандартними методиками з використанням тестів на виявлення судинної реактивності та гемодинамічного резерву судин головного мозку; ЕКГ, ЕхоЕГ, ЕЕГ, дослідження очного дна та інші).

Контрольну групу склали 15 практично здорових осіб відповідного віку. Кров із ліктьової вени збирали вранці, натщесерце. У роботі використовували набори реактивів для імуноферментного визначення p53, TNF- α , sTRAIL і sCD117 (Diacclone Res., Франція) та біохімічного дослідження активності каспаз-1, -3, -8 (BioVision, США) з реєстрацією на ридері “Уніплан-М” (Росія).

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за програмою “BioStat” з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як свідчать результати дослідження, що наведені в таблиці, у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом вміст у крові білка p53 був на 27,3% меншим за контрольні показники і не відрізнявся від контролю у пацієнтів із гіпотонічним типом захворювання. При змішаному типі вегето-судинної дистонії концентрація p53 у плазмі крові перевищувала таку у практично здорових осіб у 2,4 раза. Рівень у крові TNF- α у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпер- і гіпотонічними типами не відрізнявся від контрольних величин, тоді як у пацієнтів зі змішаним типом захворювання плазмова концентрація TNF- α перевищувала контроль на 90,2%. Вміст у плазмі крові sTRAIL при вегето-судинній дистонії за гіпертонічним типом був на 22,0% більшим, ніж у практично здорових осіб, відповідав контрольним показникам у пацієнтів із гіпотонічним типом захворювання й у 2,3 раза перевищував контроль при змішаному типі вегето-судинної дистонії.

За результатами порівняльного аналізу, у пацієнтів із гіпотонічним типом вегето-судинної дистонії вміст у крові p53 на 64,0% перевищував такий у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом. Водночас плазмові концентрації TNF- α і sTRAIL у зазначених групах хворих достовірно не відрізнялись. При змішаному типі захворювання вміст у крові білка p53 був у 3,3 раза більшим, ніж при гіпертонічному типі, та вдвічі перевищував відповідні показники у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпотонічним типом. Плазмова концентрація TNF- α виявилась на 55,2 і 65,9% більшою, ніж відповідно при гіпо- і гіпертонічному типах захворювання. Вміст у крові sTRAIL також був

максимальним при змішаному типі вегето-судинної дистонії і перевищував показники у

пацієнтів з гіпо- і гіпертонічним типами захворювання у 1,9 і 2,4 раза, відповідно.

Вміст p53, TNF- α , sTRAIL, sCD117 і активність каспаз-1, -3, -8 у плазмі крові хворих на різні типи вегето-судинної дистонії ($x \pm Sx$)

Показники	Групи хворих			
	контроль (практично здорові волонтери) n=15	хворі на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом, n=18 1 група	хворі на вегето-судинну дистонію за гіпотонічним типом, n=12 2 група	хворі на вегето-судинну дистонію за змішаним типом n=18 3 група
p53 од./мл	26,64 \pm 2,64	19,36 \pm 1,70 p<0,05	31,75 \pm 4,47 p>0,3 p1-2<0,01	63,39 \pm 4,60 p<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001
TNF- α , пг/мл	35,97 \pm 3,68	44,07 \pm 3,47 p>0,1	41,23 \pm 4,84 p>0,3 p1-2>0,6	68,41 \pm 4,32 p<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001
sTRAIL, пг/мл	390,80 \pm 16,39	476,90 \pm 30,56 p<0,05	382,80 \pm 37,28 p>0,8 p1-2>0,06	916,70 \pm 61,41 p<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001
Каспаза-1, од./мл	0,049 \pm 0,004	0,077 \pm 0,007 p<0,01	0,041 \pm 0,003 p>0,1 p1-2<0,001	0,199 \pm 0,023 p<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001
Каспаза-3, од./мл	0,080 \pm 0,007	0,098 \pm 0,009 p>0,1	0,063 \pm 0,005 p>0,07 p1-2<0,01	0,265 \pm 0,031 p<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001
Каспаза-8, од./мл	0,102 \pm 0,008	0,139 \pm 0,016 p>0,06	0,087 \pm 0,005 p>0,1 p1-2<0,02	0,390 \pm 0,046 p<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001
sCD117, пг/100 мкл	2,35 \pm 0,32	3,38 \pm 0,33 p<0,05	4,48 \pm 0,36 p<0,001 p1-2<0,05	8,28 \pm 0,71 p<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001

Примітки: p – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; p1-2, p1-3, p2-3 – ступінь достовірності різниць показників у відповідних групах хворих; n – кількість спостережень

У хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом активність каспази-1 у плазмі крові перевищувала контроль на 57,1%. Водночас показники активності каспази-3 і каспази-8 не відрізнялись від контрольних величин. У пацієнтів із гіпотонічним типом вегето-судинної дистонії достовірних змін активності каспаз-1, -3 і -8 відносно контролю не було. Найбільших змін досліджувані показники зазнавали при вегето-судинній дистонії за змішаним типом: активність каспази-1 була більшою за таку у практично здорових осіб у 4,1 раза, каспази-3 – у 3,3 раза, каспази-8 – у 3,8 раза.

За результатами порівняльного аналізу, активність каспаз у хворих на вегето-судинну

дистонію за гіпотонічним типом була меншою, ніж у пацієнтів із гіпертонічним типом захворювання: каспази-1 – на 46,8%, каспази-3 – на 35,7%, каспази-8 – на 37,4%. Максимальна активність каспаз спостерігалась у пацієнтів зі змішаним типом вегето-судинної дистонії – показники активності каспази-1, каспази-3 і каспази-8 перевищували такі у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпер- і гіпотонічним типами відповідно у 2,6, 2,7 і 2,8 раза та у 4,9, 4,2 і 4,5 раза.

На особливу увагу заслуговують результати визначення вмісту в крові молекул sCD117 – розчинної форми рецептора фактора стовбурових клітин (SCF). У хворих на вегето-судинну

дистонію за гіпертонічним типом рівень у крові sCD117 був більшим за контроль на 43,8%, у пацієнтів із гіпотонічним типом захворювання – на 90,6%, а при вегето-судинній дистонії змішаного типу плазмова концентрація sCD117 у 3,5 раза перевищувала таку у практично здорових осіб.

Порівняльний аналіз показав, що у пацієнтів із гіпотонічним типом вегето-судинної дистонії вміст у крові sCD117 був на 32,5% більшим, ніж у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом. При змішаному типі захворювання концентрація в плазмі крові sCD117 виявилась у 2,4 раза вищою за таку при гіпертонічному типі та на 84,8% більшою, ніж при гіпотонічному типі вегето-судинної дистонії.

Відомо, що апоптоз можуть індукувати деякі цитокіни, в першу чергу фактор некрозу пухлини α (TNF- α) [3]. Сигнал на загибель подається через один із двох рецепторів TNF- α (p53, TNFR1), які відповідають за реалізацію різноманітних ефектів TNF- α , але лише TNFR1 має цитоплазматичний домен смерті, через який передається летальний сигнал [6]. У випадку Fas-залежного апоптозу зв'язування Fas-ліганду з тримерним Fas-рецептором призводить до конформаційних змін у цитоплазматичному домені смерті Fas-рецептора, що дає можливість його зв'язування з аналогічним доменом адапторної молекули FADD (Fas-associated death domain), а потім – з таким самим доменом білка RIP (Receptor interacting protein). Комплекс, що утворюється при цьому, активує протеазу FLICE (FADD-like IL-1 β -converting enzyme), що призводить до включення загального шляху розвитку апоптозу [11]. Подібні події відбуваються при впливі TNF- α через рецептор TNFR1, тільки в даному випадку з рецептором взаємодіє адапторний білок TRADD (TNFR-associated death domain), з яким зв'язуються FADD і RIP [5, 9].

У реалізації апоптозу беруть участь ряд транскрипційних факторів, які відповідають за активацію клітин (тобто за їх вихід із фази спокою та залучення до циклу) або рух по циклу. До них перш за все відносять фактори Nur-77 і c-myc. Експресія c-myc в умовах неповноти ростового сигналу призводить до експресії активатора циклінзалежних кіназ – фосфатази cdc 25A. Передчасна експресія останніх у клітинах, не захищених від реалізації програми загибелі клітини, призводить до входу клітини у цикл автоматичного розвитку апоптозу [4]. Реалізація апоптозу детермінована двома генами – *ced-3* та *ced-4*. У ссавців продукти *ced-3* ідентифіковані як цистеїнова протеаза та її гомологи, які

водночас володіють активністю серинових протеаз і складають родину ферментів, названих каспазами. З активацією каспаз пов'язаний масовий протеоліз цитоплазматичних білків при розвитку апоптозу, однак безпосереднє відношення до загибелі клітин через апоптоз мають ядерні мішені каспаз. Інактивація каспаз у результаті мутації генів або дії вірусних білків (наприклад, білка p35 або білка CrmA) запобігає розвитку апоптозу [10].

Отже, апоптоз являє собою складний комплекс генетично детермінованих реакцій, порушення будь-якої ланки якого здатне призвести до розвитку патологічного процесу, пов'язаного зі змінами спеціалізованої клітинної маси у той чи іншій бік.

За результатами нашого дослідження, при гіпер- і гіпотонічному типах вегето-судинної дистонії суттєвих змін ініціальних і ефекторних механізмів апоптозу II типу не спостерігається. Водночас є всі підстави стверджувати про певну патогенетичну роль порушень апоптозу при змішаному типі вегето-судинної дистонії, оскільки різке зростання вмісту в крові проапоптозних чинників p53, TNF- α і sTRAIL не тільки супроводжується значним збільшенням активності каспаз-1, -3 і -8, але й відбувається на тлі суттєвого підвищення плазмової концентрації sCD117 – фактора, який захищає стовбурові клітини від загибелі через апоптоз [1].

Отже, можна припустити, що при змішаному типі вегето-судинної дистонії на ендотеліальному рівні різко зростає інтенсивність як поділу клітин, так й їхнього апоптозу – процес, здатний призвести до неконтрольованого і незбалансованого виділення біологічного активних речовин ендотелію, які володіють потужним і функціонально антагоністичним впливом (наприклад, ендотеліні – ендотеліальний фактор релаксації) на тонус судин резистивного типу. Проте це питання потребує подальшого вивчення.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом вміст у плазмі крові білка p53 зменшується на 27%, рівень у крові sTRAIL зростає на 22%, sCD117 – на 44%, що супроводжується підвищенням активності каспази-1, однак активність каспаз-3 і -8, а також вміст у крові TNF- α не змінюються.

2. При вегето-судинній дистонії за гіпотонічним типом концентрації в плазмі крові білка p53, TNF- α і sTRAIL та активність каспаз-1, -3, -8 відповідають контрольним величинам на тлі

майже дворазового підвищення плазмового рівня sCD117.

3. Для змішаного типу вегето-судинної дистонії характерним є значне підвищення вмісту в крові чинників апоптозу II типу: рівень білка p53

зростає у 2,4 раза, TNF- α - в 1,9 раза, sTRAIL – у 2,3 раза, що супроводжується збільшенням активності каспази-1 у 4,1 раза, каспази-3 – у 3,3 раза, каспази 8 – у 3,8 раза та підвищенням плазмової концентрації sCD117 – у 3,5 раза.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив алотрансплантації ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин на динаміку системного артеріального тиску у спонтанно гіпертензивних щурів / Кухарчук О.Л., Радченко В.В., Сирман В.М., Сагач В.Ф. // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 4. – С.68-71.

2. Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М. Старение, стволовые пространства и иммунная система // Inter. J. Immunorehabilitation. – 2003. – Т. 5, № 2. – С.134.

3. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Гибель клетки (апоптоз). – М.: Медицина, 2001. – 192 с.

4. A novel protein that interacts with the death domain of Fas/APO1 contains a sequence motif related to the death domain / Boldin M.P., Varfolomeev E.E., Panczer Z. et al. // J. Biol. Chem. – 1995. – Vol. 270. – P.7795-7798.

5. Apo2L/TRAIL-dependent recruitment of endogenous FADD and caspase-8 to death receptors 4 and 5 / Kischkel F.C., Lawrence D.A., Chuntharapai A. et al. // Immunity. – 2000. – Vol. 12. – P.611-620.

6. FADD/MORT1 and caspase-8 are recruited to TRAIL receptors 1 and 2 and are essential for apoptosis mediated by TRAIL receptor 2 / Sprick M.R., Weigand M.A., Rieser E. et al. // Immunity. – 2000. – Vol. 12. – P.599-609.

7. Nuclear factor (NF)- κ B-regulated X-chromosome-linked iap gene expression protects endothelial cells from tumor necrosis factor-induced apoptosis / Stehlik C., de Martin R., Kumabashiri I. et al. // J. Exp. Med. – 1998. – Vol. 188. – P.211-216.

8. Overexpression of A1: an NF- κ B-inducible, anti-apoptotic Bcl gene that inhibits endothelial cell activation / Stroka D., Badrichani A., Bach F., Ferran C. // Blood. – 1999. – Vol. 93. – P.3803-3810.

9. Reed J.C. Mechanisms of Apoptosis // Amer. J. Pathol. – 2000. – Vol. 157. – P.1415-1430.

10. Salvesen G.S., Dixit V.M. Caspase activation: the induced-proximity model // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1999. – Vol. 96. – P.10964-10967.

11. Yuan J. Transducing signals of life and death // Curr. Opin. Cell Biol. – 1997. – Vol. 9. – P.247-251.

