

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

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці (Україна)

**Реферат.** Установлено, що у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом у плазмі крові на 22% зменшується вміст sCD95 і на 43,8% збільшується рівень sCD117, що супроводжується підвищенням активності каспази-1, однак активність каспаз-3 і -8, а також вміст у крові sFas-L не змінюються. При вегето-судинній дистонії за гіпотонічним типом концентрації в плазмі крові sCD95, sFas-L і активність каспаз-1, -3, -8 відповідають контролю на тлі підвищення плазматичного рівня sCD117 на 91%. У хворих на вегето-судинну дистонію за змішаним типом концентрація в плазмі крові sCD95 перевищує контрольні величини у 3,8 разу, sFas-L – у 3,4 разу, sCD117 – у 3,5 разу, що супроводжується збільшенням активності каспази-1 у 4,1 разу, каспази-3 – у 3,3 разу, каспази 8 – у 3,8 разу.

**Ключові слова:** вегето-судинна дистонія, апоптоз, sCD95, sFas-L, sCD117, каспази.

**Вступ.** За сучасними уявленнями, 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 з 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 [1]. Порушення апоптозу, що проявляються або його пригніченням, або, навпаки, підсиленням лежать в основі онкологічної патології, вроджених вад, гіперпроліферативних процесів, автоімунної патології та хвороб системи крові [5]. 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 не з'ясованим.

Мета роботи - з'ясувати зміни вмісту в плазмі крові sCD95, sFas-L, sCD117 і активності каспаз-1, -3, -8 при різних типах вегето-судинної дистонії.

## **Матеріал та методи**

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 з ліктьової вени збирали вранці, натщесерце. У роботі використовували набори реактивів для імуноферментного визначення sCD95, sFas-L і sCD117 (Diacclone Res., Франція) та біохімічного дослідження активності каспаз-1, -3, -8 (BioVision, США) з реєстрацією на рідері “Уніплан-М” (Росія).

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

## **Результати та обговорення**

Як свідчать результати дослідження, що наведені в таблиці, у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом вміст у крові розчинних CD95-молекул виявився на 22,0% меншим, аніж у практично здорових осіб, проте концентрація в плазмі крові розчинного Fas-ліганда не відрізнялась від контрольних показників. У пацієнтів з гіпотонічним типом захворювання обидва зазначені показники відповідали контролю. Водночас при змішаному типі вегето-судинної дистонії рівень у плазмі крові sCD95 у 3,5 разу перевищував контрольні величини, а плазмований вміст sFas-L виявився у 3,4 разу більшим за такий у практично здорових осіб.

За результатами порівняльного аналізу (рис. 1), рівень у крові молекул sCD95 і sFas-L у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпотонічним типом виявився відповідно на 34,8 і 28,8% більшим, аніж у пацієнтів з гіпертонічним типом захворювання. Проте максимальні концентрації sCD95 і sFas-L спостерігались при змішаному типі вегето-судинної дистонії: відповідно у 4,5 і 3,8

разу вищі, ніж у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом та у 3,3 і 2,9 разу більші, ніж у пацієнтів з гіпотонічним типом захворювання.

У хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом активність каспази-1 у плазмі крові (див. табл.) перевищувала контроль на 57,1%. Водночас показники активності каспази-3 і каспази-8 не відрізнялись від контрольних величин. У пацієнтів з 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 разу, каспази-3 – у 3,3 разу, каспази-8 – у 3,8 разу.

За результатами порівняльного аналізу (рис. 2), активність каспаз у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпотонічним типом була меншою, ніж у пацієнтів з 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 гіпотонічними типами відповідно у 2,6, 2,7 і 2,8 разу та у 4,9, 4,2 і 4,5 разу.

На особливу увагу заслуговують результати визначення вмісту в крові молекул sCD117 – розчинної форми рецептору фактора стовбурових клітин (SCF). У хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом рівень у крові sCD117 (див. табл.) був більшим за контроль на 43,8%, у пацієнтів з гіпотонічним типом захворювання – на 90,6%, а при вегето-судинній дистонії змішаного типу плазмова концентрація sCD117 у 3,5 разу перевищувала таку у практично здорових осіб.

Порівняльний аналіз показав (рис. 3), що у пацієнтів з гіпотонічним типом вегето-судинної дистонії вміст у крові sCD117 був на 32,5% більшим, аніж у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом. При змішаному типі захворювання концентрація в плазмі крові sCD117 виявилась у 2,4 разу вищою за таку при гіпертонічному типі та на 84,8% більшою, ніж при гіпотонічному типі вегето-судинної дистонії.

Відомо, що у передачі сигналу до розвитку апоптозу приймає участь Fas-рецептор (CD95, APO-1), локалізований на клітинах різних типів, у тому числі і на ендотеліоцитах [8]. Природнім лігандом CD95 і джерелом сигналізації, яка призводить до розвитку апоптозу, є Fas-ліганд (Fas-L) [9]. 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 $\beta$ -converting enzyme), що призводить до включення загального шляху розвитку апоптозу [10]. У реалізації апоптозу приймають 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-мус. Експресія c-мус 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 CtmA) запобігає розвитку апоптозу [6].

Отже, апоптоз уявляє собою складний комплекс генетично детермінованих реакції, порушення будь-якої ланки котрого 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 типі вегето-судинної дистонії суттєвих змін ініціальних і ефекторних механізмів Fas-залежного апоптозу 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 sCD95 і sFas-L 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 [2].

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 у плазмі крові на 22% зменшується вміст sCD95 і на 43,8% збільшується рівень sCD117, що супроводжується підвищенням активності каспази-1, однак активність каспаз-3 і -8, а також вміст у крові sFas-L не змінюються.

2. При вегето-судинної дистонії за гіпотонічним типом концентрації в плазмі крові sCD95, sFas-L і активність каспаз-1, -3, -8 відповідають контролю на тлі підвищення плазматичного рівня sCD117 на 91%.

3. У хворих на вегето-судинну дистонію за змішаним типом концентрація в плазмі крові sCD95 перевищує контрольні величини у 3,8 разу, sFas-L – у 3,4 разу, sCD117 – у 3,5 разу, що супроводжується збільшенням активності каспази-1 у 4,1 разу, каспази-3 – у 3,3 разу, каспази 8 – у 3,8 разу.

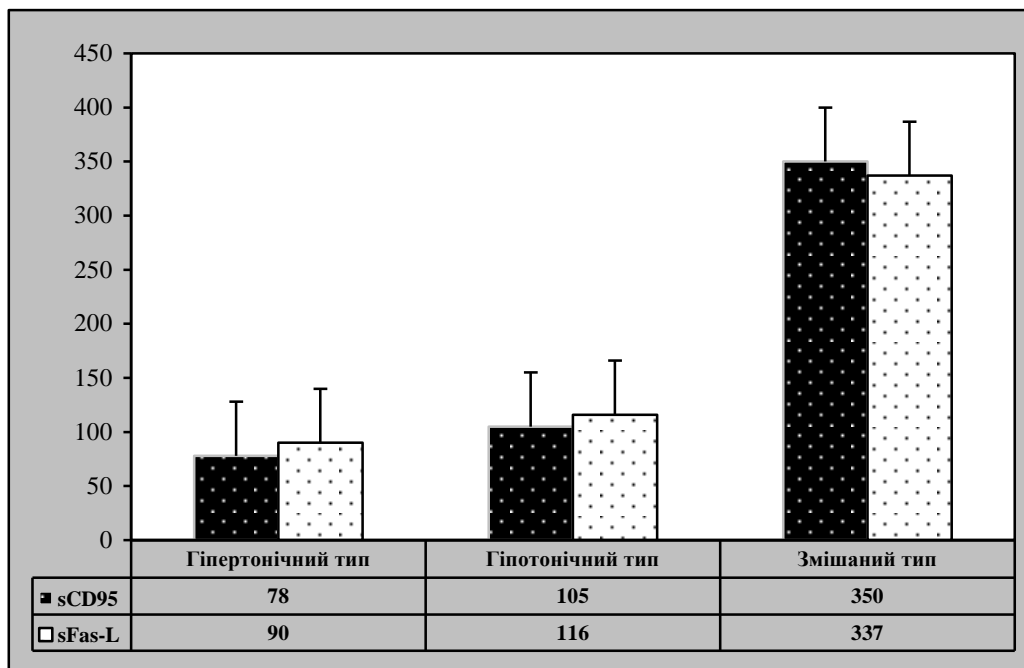
## ЛІТЕРАТУРА

1. Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М. Старение, стволовые пространства и иммунная система // *International J. Immunorehabilitation*. – 2003. – Т. 5, № 2. – С.134.
2. Кухарчук О.Л., Радченко В.В., Сирман В.М., Сагач В.Ф. Вплив алотрансплантації ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин на динаміку системного артеріального тиску у спонтанно гіпертензивних щурів // *Фізіологічний журнал*. – 2003. – Т. 49, № 4. – С.68-71.
3. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Гибель клетки (апоптоз). – М.: Медицина, 2001. – 192 с.
4. Boldin M.P., Varfolomeev E.E., Pancer Z. et al. A novel protein that interacts with the death domain of Fas/APO1 contains a sequence motif related to the death domain // *J. Biol. Chem.* – 1995. – Vol. 270. – P.7795-7798.
5. Reed J.C. Mechanisms of Apoptosis // *Amer. J. Pathol.* – 2000. – Vol. 157. – P.1415-1430.
6. Salvesen G.S., Dixit V.M. Caspase activation: the induced-proximity model // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1999. – Vol. 96. – P.10964-10967.
7. Stehlik C., de Martin R., Kumabashiri I. et al. Nuclear factor (NF)- $\kappa$ B-regulated X-chromosome-linked iap gene expression protects endothelial cells from tumor necrosis factor-induced apoptosis // *J. Exp. Med.* – 1998. – Vol. 188. – P.211-216.
8. Stroka D., Badrichani A., Bach F., Ferran C. Overexpression of A1: an NF- $\kappa$ B-inducible, anti-apoptotic Bcl gene that inhibits endothelial cell activation // *Blood*. – 1999. – Vol. 93. – P.3803-3810.
9. Wallach D., Varfolomeev E.E., Malinin N.L. et al. Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms // *Annu. Rev. Immunol.* – 1999. – Vol. 17. – P.331-367.
10. Yuan J. Transducing signals of life and death // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 1997. – Vol. 9. – P.247-251.

**Таблиця.** Вміст sCD95, sFasL, sCD117 і активність каспаз-1, -3, -8 у плазмі крові хворих на різні типи вегето-судинної дистонії ( $\bar{x} \pm Sx$ )

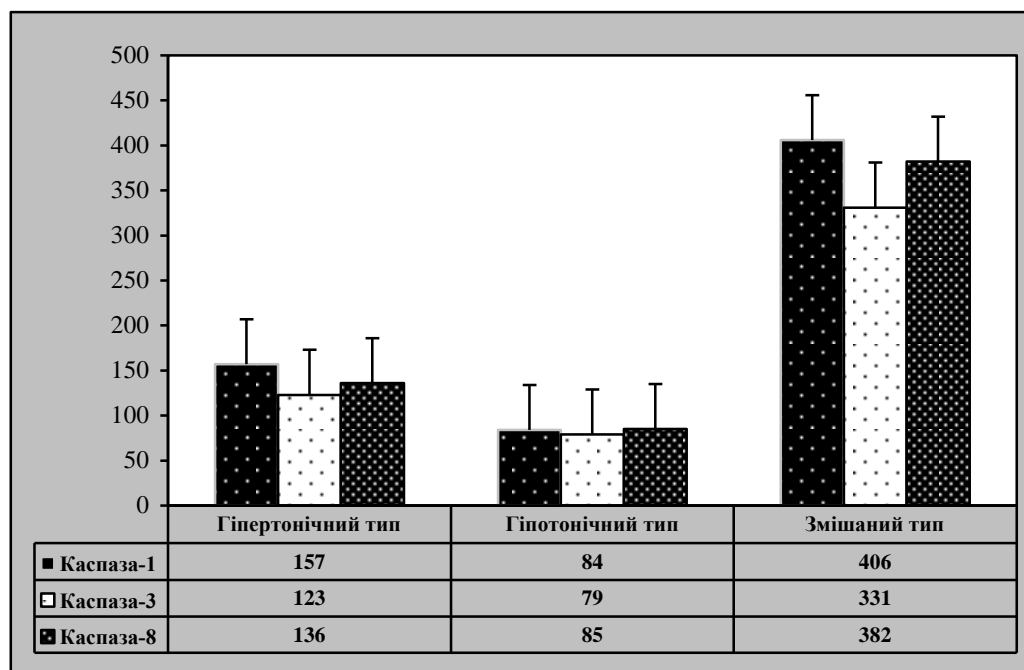
<b>Групи хворих</b>	<b>sCD95, пг/мл</b>	<b>sFasl, пг/мл</b>	<b>Каспаза-1, од./мл</b>	<b>Каспаза-3, од./мл</b>	<b>Каспаза-8, од./мл</b>	<b>sCD117, нг/100 мкл</b>
Контроль (практично здорові волонтери), n=15	117,50±10,09	209,40±16,28	0,049±0,004	0,080±0,007	0,102±0,008	2,35±0,32
Хворі на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом, n=18	91,61±6,68 p<0,05	188,10±8,71 p>0,2	0,077±0,007 p<0,01	0,098±0,009 p>0,1	0,139±0,016 p>0,06	3,38±0,33 p<0,05
<b>1 група</b> Хворі на вегето-судинну дистонію за гіпотонічним типом, n=12	123,50±11,03 p>0,6 p <sub>1-2</sub> <0,02	242,20±23,35 p>0,2 p <sub>1-2</sub> <0,02	0,041±0,003 p>0,1 p <sub>1-2</sub> <0,001	0,063±0,005 p>0,07 p <sub>1-2</sub> <0,01	0,087±0,005 p>0,1 p <sub>1-2</sub> <0,02	4,48±0,36 p<0,001 p <sub>1-2</sub> <0,05
<b>2 група</b> Хворі на вегето-судинну дистонію за змішаним типом, n=18	411,30±28,65 p<0,001 p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001	706,20±43,75 p<0,001 p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001	0,199±0,023 p<0,001 p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001	0,265±0,031 p<0,001 p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001	0,390±0,046 p<0,001 p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001	8,28±0,71 p<0,001 p <sub>1-3</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001
<b>3 група</b>						

*Примітки:* p – ступень достовірності різниць показників відносно контролю; p<sub>1-2</sub>, p<sub>1-3</sub>, p<sub>2-3</sub> – ступень достовірності різниць показників у відповідних групах хворих; n – число спостережень.

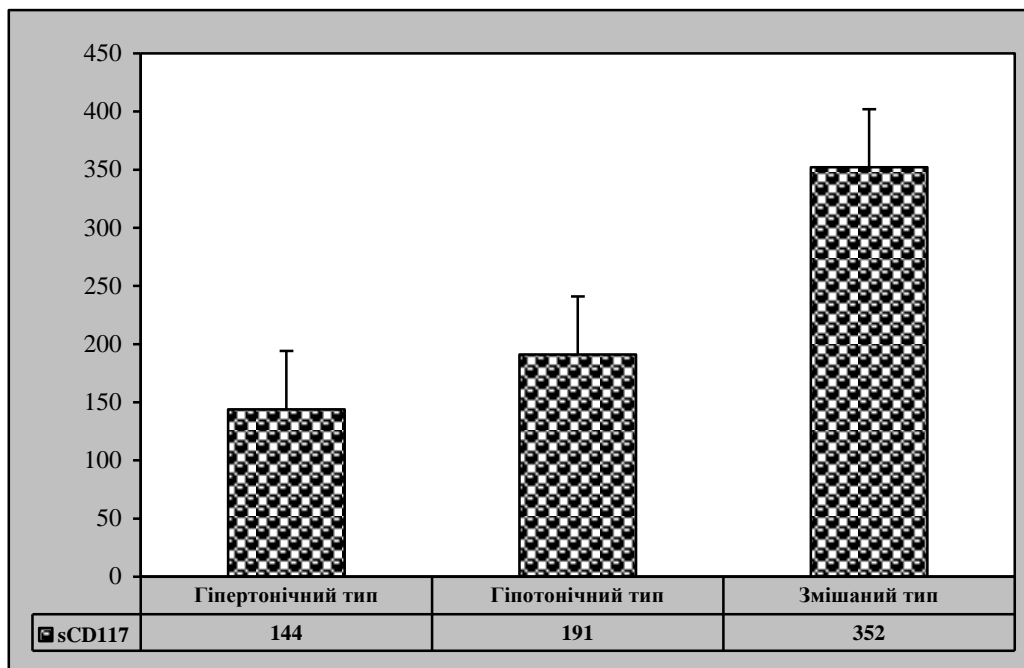


**Рис. 1. Порівняльний аналіз вмісту в крові sCD95 і sFas-L при різних типах вегето-судинної дистонії (у % від контролю)**





**Рис. 2. Порівняльний аналіз активності каспаз-1, -3, -8 в плазмі крові при різних типах вегето-судинної дистонії (у % від контролю)**



**Рис. 3. Порівняльний аналіз вмісту в крові sCD117 при різних типах вегето-судинної дистонії (у % від контролю)**

*I.I. Krychun*

**CHARACTERISTIC OF CHANGES OF THE BLOOD PLASMA CONTENT OF MARKERS OF TYPE I APOPTOSIS, THE ACTIVITY OF CASPASE AND THE LEVEL OF SCD117 IN PATIENTS WITH VEGETO-VASCULAR DYSTONIA**

It has been established that the blood plasma content of markers of sCD95 decreases by 22% and the level of sCD117 increases in patients with vegeto-vascular dystonia of the hypertensive type that is accompanied by an elevation of the activity of caspase-1, however, the activity of caspase-3 and-8, as well as the blood content of sFas- $\alpha$  does not change. With vegeto-vascular dystonia of the hypotonic type the blood plasma concentration of sCD95, sFas- $\alpha$  and the activity of caspases-1,-3,-8 correspond to the control one against a background of an elevation of the plasma level of sCD117 by 91%. In patients with vegeto-vascular dystonia of a combined type the blood plasma concentration of sCD95 exceeds the control values 3,8 times, sFas- $\alpha$  – 3,4 times, sCD117 – 3,5 times and that is accompanied by an increase of the activity of 4,1 times, caspase-3 – 3,3 times, caspase-8 – 3,8 times.

**Key words:** vegeto-vascular dystonia, apoptosis, sCD95, sFas- $\alpha$ , sCD117, caspases.

*И.И.Кричун*

## **ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА I ТИПА, АКТИВНОСТИ КАСПАЗ И УРОВНЯ sCD117 У БОЛЬНЫХ ВЕГЕТО-СОСУДИСТОЙ ДИСТОНИЕЙ**

**Реферат.** Установлено, что у больных вегето-сосудистой дистонией по гипертоническому типу в плазме крови на 22% уменьшается содержание sCD95 и на 43,8% увеличивается уровень sCD117, что сопровождается повышением активности каспазы-1, однако активность каспаз-3 и -8, а также содержание в крови sFas-L не изменяются. При вегето-сосудистой дистонии по гипотоническому типу концентрации в плазме крови sCD95, sFas-L и активность каспаз-1 -3, -8 отвечают контролю на фоне повышения плазменного уровня sCD117 на 91%. У больных вегето-сосудистой дистонией по смешанному типу концентрация в плазме крови sCD95 превышает контрольные значения в 3,8 раза, sFas-L – в 3,4 раза, sCD117 – в 3,5 раза, что сопровождается увеличением активности каспазы-1 в 4,1 раза, каспазы-3 – в 3,3 раза, каспазы-8 – в 3,8 раза.

**Ключевые слова:** вегето-сосудистая дистония, апоптоз, sCD95, sFas-L, sCD117, каспазы.

*І.І. Кричун*

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

**Реферат.** Установлено, що у хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом у плазмі крові на 22% зменшується вміст sCD95 і на 43,8% збільшується рівень sCD117, що супроводжується підвищенням активності каспази-1, однак активність каспаз-3 і -8, а також вміст у крові sFas-L не змінюються. При вегето-судинної дистонії за гіпотонічним типом концентрації в плазмі крові sCD95, sFas-L і активність каспаз-1, -3, -8 відповідають контролю на тлі підвищення плазмового рівня sCD117 на 91%. У хворих на вегето-судинну дистонію за змішаним типом концентрація в плазмі крові sCD95 перевищує контрольні величини у 3,8 разу, sFas-L – у 3,4 разу, sCD117 – у 3,5 разу, що супроводжується збільшенням активності каспази-1 у 4,1 разу, каспази-3 – у 3,3 разу, каспази 8 – у 3,8 разу.

**Ключові слова:** вегето-судинна дистонія, апоптоз, sCD95, sFas-L, sCD117, каспази.