

РОЛЬ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ ПОЛИОРГАННОЙ ПАТОЛОГИИ ПРИ АЛИМЕНТАРНОЙ ДИСЛИПИДЕМИИ

Юлия Константиновна КАРАМАН, Елена Григорьевна ЛОБАНОВА,
Татьяна Павловна НОВГОРОДЦЕВА

Владивостокский филиал ДНЦ ФПД СО РАМН – НИИ МКВЛ
690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г

Изучено состояние сигнальной системы по уровню образования оксида азота (NO), монооксида углерода (CO), фактора некроза опухоли (TNF- α) у крыс линии Вистар при развитии полиорганной патологии в условиях алиментарной дислипидемии. Сделано предположение, что универсальным механизмом развития заболеваний внутренних органов при нарушении липидного обмена является дисфункция работы сигнальной системы, определяющая формирование хронического воспаления, аутоиммунное повреждение органов, запуск апоптотических сигналов.

Ключевые слова: полиорганная патология, сигнальные молекулы, фактор некроза опухоли, алиментарная дислипидемия.

По современным представлениям дислипидемия (ДЛП) – это хроническая системная воспалительная реакция организма, сопровождающаяся образованием одиночных или множественных очагов липидных отложений в органах-мишенях, детерминирующих развитие полиорганной патологии [1, 2]. Полагают, что именно нарушение липидного обмена является одним из инициирующих факторов в запуске механизмов аутоиммунных процессов в органах-мишенях, важную роль в которых играют универсальные биорегуляторы, участники сигнальной системы – оксид азота (NO), монооксид углерода (CO), фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) [3–6].

Известно, что острая воспалительная реакция характеризуется повышенным образованием TNF- α и экспрессией на поверхности клеток рецепторов к TNF- α . В ответ на усиление выработки провоспалительного цитокина происходит активизация ядерного фактора (nuclear factor kappa B) – NF- κ B, индуцирующего транскрипцию мРНК NO-синтазы (NOS) и гемоксигеназы с повышением образования соответственно NO и CO. Гемоксигеназа через генерацию CO может ингибировать активность TNF- α и NO-синтазы [2]. Это классическая картина быстрого реагирования организма на острую воспалительную реакцию.

При алиментарной дислипидемии воспаление принимает хроническую форму и механизмы регуляции патологического процесса сигнальными молекулами перестраиваются на новый уровень функционирования, активизируя сигналы апоптоза. Чрезмерное образование NO и CO оказывает цитотоксическое действие [4, 6, 7]. При этом поскольку дислипидемические нарушения сопровожда-

ются накоплением продуктов липопероксидации, обладающих высокой токсичностью, происходит перегрузка организма эндогенными флогенами. При чрезмерном накоплении липопероксидов антиапоптотическая активность транскрипционного фактора NF- κ B, оксида азота может стать проапоптотической. В этом проявляется сложность устройства биологической функции сигнальных молекул, позволяющих неоднозначно реагировать на разные стимулы. Регуляция апоптотических и аутоиммунных свойств сигнальных молекул является одной из центральных и актуальных проблем клеточной биологии. В настоящее время остается до конца не ясной значимость сигнальных молекул в формировании и прогрессировании метаболических дефектов липидассоциированных заболеваний.

Цель работы – изучить состояние сигнальной системы по уровню образования оксида азота, монооксида углерода, фактора некроза опухоли и установить ее роль в механизме развития полиорганной патологии при алиментарной дислипидемии у крыс.

Материалы и методы

Эксперимент выполнен на половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой тела $180,5 \pm 10,6$ г. Животные содержались в виварии в соответствии с санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник от 06.04.1993. Все животные были рандомизированы на две группы по 10 крыс в каждой: контрольная (стандартный рацион) и опытная (экспериментальный рацион). Полиорганную дисфункцию (фиброз печени, кардиовасопатия, нефропатия) на фоне дислипидемии у крыс опытной группы формировали в течение 180 суток воздействием на живот-

Караман Ю.К. – к.б.н., н.с. лаборатории биомедицинских исследований, e-mail: karaman@inbox.ru
Лобанова Е.Г. – к.м.н., н.с. лаборатории биомедицинских исследований, e-mail: isachenko1@yandex.ru
Новгородцева Т.П. – д.б.н., проф., зам. директора, e-mail: curdeal@mail.ru

ных атерогенным экспериментальным рационом [8]. Изменения гистоструктуры органов-мишеней (печень, почки, сердце), позволяющие констатировать развитие полиорганной патологии, оценивали на гистологических срезах, окрашенных гематоксилин-эозином по Романовскому и пикрофуксином по Ван-Гизону [9]. Липидный спектр сыворотки крови (содержание общего холестерина — ОХС, триглицеридов — ТГ, холестерина липопротеидов высокой плотности — ХС ЛПВП) исследовали на биохимическом анализаторе FP-901 (Финляндия). Рассчитывали концентрацию липопротеидов низкой (ХС ЛПНП), очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) и индекс атерогенности (ИА) [10]. В сыворотке крови определяли уровень TNF- α иммуноферментным методом (Genzyme diagnostics, США), рассчитывали индекс активности цитокиновой регуляции (ИАЦР) как соотношение уровня индуцированного синтеза TNF- α (стимулированного липополисахаридом *E. coli*) к спонтанному (нестимулированному липополисахаридом *E. coli*) по авторской модификации Е.Г. Лобановой (Исаченко) [11]. Исследование нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия сосудов изучали по уровню стабильных метаболитов оксида азота в сыворотке крови согласно протоколу, утвержденному фирмой «Biogenesis» (Великобритания). Суммарный уровень метаболитов NO определяли колориметрическим методом с использованием реактива Грисса для нитрит-иона и восстановления нитрат-иона кадмиевой пылью, импрегнированной медью [12]. Содержание оксида углерода (II) в крови определяли по количеству карбоксигемоглобина с использованием спектрофотометрического метода А.Н. Chalmers [13]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием методов одномерной статистики. После проверки нормальности распределения изучаемых параметров вычисляли среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m). Статистическую значимость различий средних величин вычисляли с помощью t-критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Воздействие на крыс атерогенным рационом в течение 6 месяцев способствовало развитию полиорганной дисфункции на фоне липидных нарушений. У крыс опытной группы отмечено повышение уровня ОХС в крови до $2,04 \pm 0,17$ ммоль/л ($p < 0,05$) и индекса атерогенности до $7,4 \pm 0,8$ у.е. ($p < 0,001$) по сравнению со значениями контрольной группы животных, составившими соответственно $1,57 \pm 0,04$ ммоль/л и $1,43 \pm 0,15$ у.е. Содержание ХС ЛПОНП уменьшилось в 3 раза — с $0,65 \pm 0,19$ ммоль/л у особей контрольной группы до $0,20 \pm 0,03$ ммоль/л у животных опытной группы ($p < 0,001$).

Доказательством формирования сочетанной патологии основных органов-мишеней стало выявление у крыс опытной группы фиброза печени, кар-

диовазопатии и нефропатии. На гистологических срезах ткани печени обнаружены разрастание соединительной ткани в препортальной зоне, наличие некроза гепатоцитов, окруженного лимфомакрофагальным инфильтратом, гипертрофия гепатоцитов. В сердце установлены инфарктоидные изменения миокарда, альтеративно-пролиферативные повреждения коронарных сосудов с явлениями тромбообразования, наличие периваскулярных очажков кардиодистрофии и кардиомиоцитолита. В почках выявлены дистрофические изменения эпителия почечных канальцев, формирование микролитов, некроз эпителия, склероз межтубулярного вещества, очаговая полиморфноклеточная инфильтрация. Пролонгированная дислипидемия индуцировала структурное повреждение органов-мишеней.

Одной из причин развития полиорганных структурных изменений у крыс при алиментарной дислипидемии может быть нарушение регуляторной функции сигнальной системы, запускающее механизмы апоптоза и некроза клеток. Результаты исследования показали (табл.), что формирование полиорганной патологии происходило на фоне повышенной концентрации провоспалительного цитокина TNF- α в крови (в 5 раз превышающей показатель контрольной группы, $p < 0,001$) при одновременном снижении индекса активности цитокиновой регуляции в 3,6 раза ($p < 0,001$). Полученные данные свидетельствуют о низком иммунном ответе иммунокомпетентных клеток (ИКС) и формировании иммунодефицита. Причиной выявленной гиперцитокинемии на фоне нарушения иммунорегуляторной функции ИКС может быть снижение синтеза рецепторов к TNF- α . В литературе имеются данные, что избыточная продукция цитокинов при дисбалансе экспрессии рецепторного аппарата инициирует нарушения кооперации ИКС, что является одним из механизмов, лежащих в основе формирования различных иммуноопосредованных заболеваний [2, 3, 14].

Таблица

Уровень сигнальных молекул в крови крыс с алиментарной дислипидемией, $M \pm m$

Показатели	Контрольная группа, n = 10	Опытная группа, n = 10
TNF- α , пг/мл	$42,0 \pm 3,6$	$217,0 \pm 20,1^*$
ИАЦР, у.е.	$3,8 \pm 0,1$	$1,04 \pm 0,01^*$
NO, мкмоль/л	$33,0 \pm 0,2$	$23,1 \pm 0,7^*$
CO, мг/л	$0,32 \pm 0,02$	$2,5 \pm 0,1^*$

Примечание: * — статистическая значимость различий относительно контрольной группы, $p < 0,001$.

Исследование уровня метаболитов NO выявило снижение его содержания в сыворотке крови крыс опытной группы на 30 % ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной. Низкий уровень NO является показателем эндотелиальной дисфункции, развития ишемии ткани [4, 6], что подтверждается исследованием гистоморфоструктуры органов-мишеней. Нарушение синтеза NO и уменьшение его концентрации способствуют увеличению образования тромбосана A2 (TxA2), эндотелина 1 (Э-1), проапоптотических факторов (p53, c-тус), инициирующих процессы тромбообразования, вазоконстрикции, апоптоза, окислительного стресса (ОС) и мембранодеструкции. Данные процессы являются основополагающими в развитии структурных повреждений органов и тканей [2, 6]. Поэтому можно предположить, что снижение концентрации NO является одним из ключевых факторов, запускающих механизмы полиорганной патологии.

Концентрация СО в крови крыс опытной группы, напротив, повышалась в 8 раз ($p < 0,001$). Гиперпродукция СО в организме является индикатором цитолитического синдрома, эндотоксического шока, гипоксии, ишемии тканей [10]. В избыточных количествах СО проявляет цитотоксические свойства, инициирует апоптотические процессы в клетке, способствует некрозу тканей [2, 4]. Моно-

оксид углерода способен ингибировать активность NO-синтазы, тем самым снижая выработку NO, что при определенных условиях является лимитирующим этапом в развитии патологии [2, 4]. Выявленное в исследовании чрезмерное образование и накопление СО при развитии полиорганной патологии на фоне липидных нарушений у крыс является важным фактором в формировании и прогрессировании патологического процесса.

Таким образом, ключевую роль в патогенезе липидассоциированных заболеваний выполняет нарушение синтеза медиаторов сигнальной системы – NO, СО, TNF- α , обуславливающее системный хронический воспалительный процесс. Нарушение динамического равновесия между выработкой регуляторных медиаторов и их способностью выполнять свои биологические функции, приобретение ими цитотоксических и апоптотических свойств приводят к дисрегуляции межклеточного, внутри- и межсистемного взаимодействия, развитию «метаболической иммунодепрессии» и хронического воспаления. Совокупность перечисленных выше патологических факторов, возникающих в условиях липидных нарушений, способствует структурному повреждению основных органов-мишеней, развитию полиорганной патологии (рис.).

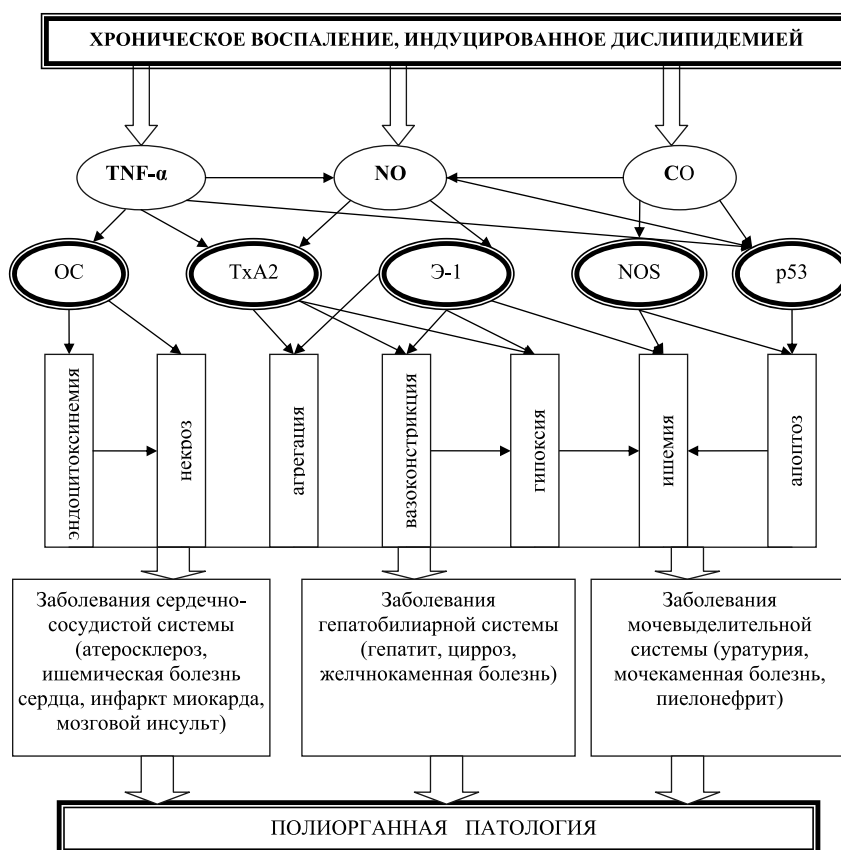


Рис. Роль сигнальной системы в развитии полиорганной патологии (по результатам собственных исследований и данным литературы [1, 4, 5, 8, 11, 15]).

Результаты проведенного исследования позволяют предположить, что универсальным механизмом развития заболеваний внутренних органов при дислипидемии является дисфункция работы сигнальной системы, которая и предопределяет формирование хронического воспаления, аутоиммунное повреждение органов, запуск апоптотических процессов. Однако остается открытым вопрос о первопрочине развития нарушений регуляторных функций сигнальных молекул, не выявлено звено, инициирующее каскад патологических процессов. Установление роли медиаторов сигнальной системы в молекулярных и клеточных механизмах развития липидассоциированных заболеваний требует дальнейшего углубленного и всестороннего изучения.

Литература

1. Unger R.H. Lipotoxic diseases // *Annu. Rev. Med.* 2002. 53. 319–336.
2. Wymann M.P. Lipid signaling in disease // *Nature*. 2008. (9). 162–176.
3. Ешану В.С. Цитокины и их биологические эффекты при некоторых болезнях печени // *Клинич. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии*. 2004. (5). 11–16.
4. Eshanu V.S. Cytokines and their biological effects under some liver diseases // *Klinich. perspektivy gastroenterologii, gepatologii*. 2004. (5). 11–16.
5. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.
6. Menshchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. et al. Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants. M.: Slovo, 2006. 556 p.
7. Ding W.X., Yin X.M. Dissection of the multiple mechanism of TNF- α -induced apoptosis in liver injury // *J. Cell Mol. Med.* 2004. 8. (4). 445–454.
8. Shi Y., Pan F., Li H. et al. Role of carbon monoxide and nitric oxide in newborn infants with postasphyxial hypoxic-ischemic encephalopathy // *Pediatrics*. 2000. 106. 1447–1451.
9. Schropfer F., Riobo N., Carreras M.C. et al. Oxidation of ubiquinol by peroxynitrite: implication for protection of mitochondria against nitrosative damage // *Biochem. J.* 2000. 349. 35–42.
10. Fan J. Effect of low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia // *World J. Gastroenterol.* 2003. 9. (9). 2045–2049.
11. Пирс Э. Гистохимия. М.: Изд-во иностр. литературы, 1962. 967 с.
12. Pirs A. Gistochemistry. M.: Izd-vo inostr. literatury, 1962. 967 p.
13. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов, липопротеидов и его нарушения. СПб.: Питер Ком, 1999. 512 с.
14. Klimov A.N., Nikulcheva N.G. Lipid and lipoprotein metabolism and its disorders. SPb.: Piter Kom, 1999. 512 p.
15. Лобанова (Исаченко) Е.Г., Виткина Т.И., Геронина С.А., Бердышев Е.В. Спонтанный и липополисахаридиндуцированный синтез цитокинов клетками крови человека в норме и при аллергопатологиях // *Иммунология*. 1999. (5). 37–39.
16. Lobanova (Isachenko) E.G., Vitkina T.I., Geronina S.A., Berdyshev E.V. Spontaneous and lipopolysaccharide inducing syntheses the cytokines of humane blood cells in rate and allergopathology // *Immunologiya*. 1999. (5). 37–39.
17. Stainton M.P. Simple, efficient reduction column for use in automated determination of nitrate in water // *Analytical chemistry*. 1974. 46. (11). 1616.
18. Chalmers A.H. Simple, sensitive measurement of carbon monoxide in plasma // *Clin. Chem.* 1991. 37. (8). 1442–1444.
19. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Литвинова Л.С. Молекулярные механизмы нарушения взаимодействия эффекторных клеток крови при патологии инфекционной и неинфекционной природы // *Бюлл. СО РАМН*. 2008. (4). 36–48.
20. Novitsky V.V., Ryazantseva N.V., Litvinova L.S. Molecular mechanisms of disorder of blood effector cells interaction under pathology infectious and noninfectious origin // *Bull. SO RAMN*. 2008. (4). 36–48.

ROLE OF SIGNAL SYSTEM IN MECHANISMS OF DEVELOPMENT MULTIORGANS PATHOLOGIES AT ALIMENTARY DYSLIPIDEMIA

Yulia Konstantinovna KARAMAN, Elena Grigorievna LOBANOVA, Tatyana Pavlovna NOVGORODTSEVA

*The Vladivostok department of the Far Eastern research center for physiology and respiratory pathology of SB RAMS –
Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment
690105, Vladivostok, Russkaya st., 73g*

The signal system condition according to the level of nitric oxide (NO), carbon monoxide (CO) formation, and tumor necrosis factor (TNF- α) in Wistar rats has been investigated in the process of multiorgan pathology development in conditions of alimentary dyslipidemia. It has been supposed, that the universal mechanism of internal organs diseases development under lipid storage disorder is the signal system dysfunction which predetermines chronic inflammation formation, organs autoimmune damage, and apoptosis signals start.

Key words: multiorgans pathologies, signal molecules, the tumors necrosis factor alpha, alimentary dyslipidemia.

Karaman Yu.K. – candidate of biological sciences, research worker of the laboratory of biomedicine researches, e-mail: karaman@inbox.ru

Lobanova E.G. – candidate of medical sciences, research worker of the laboratory of biomedicine researches, e-mail: isachenko1@yandex.ru

Novgorodtseva T.P. – doctor of biological sciences, professor, vice institute director, e-mail: curdeal@mail.ru