



И.А. Аллилуев¹, Е.М. Вечканов¹, И.А. Сорокина¹, Ю.Н. Калюжная¹,
А.В. Темяков¹, И.И. Кузнецов², В.В. Внуков¹

СОСТОЯНИЕ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ТРАВМЕ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА В УСЛОВИЯХ МЕТИОНИН ИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

¹Южный федеральный университет,

Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского

344000, Россия, г. Ростов-на-Дону, проспект Стачки, 194/1ю E-mail: emvechkanov@sfedu.ru

²Ростовский государственный медицинский университет

344022, Россия, г.Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

Цель: исследование состояния глутатионовой системы в тканях крыс при травме опорно-двигательного аппарата в условиях метионин индуцированной гипергомоцистеинемии.

Материалы и методы: определен уровень гомоцистеина в плазме крови животных, а также количество глутатиона и активность ферментов глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы, глутатионредуктазы в гемолизате эритроцитов, гомогенате ткани печени и сердечной мышце.

Результаты: у животных в условиях экспериментальной гипергомоцистеинемии и травме опорно-двигательного аппарата реагируют эритроцитарные и печеночные компоненты системы глутатиона.

Выводы: показано увеличение содержания глутатиона и изменение активности глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы и глутатионредуктазы в различных тканях.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия (ГГЦ), тромбофилия, травма опорно-двигательного аппарата, глутатионовая система, окислительный стресс.

I.A. Alliluev¹, E.M. Vechkanov¹, I.A. Sorokina¹, Ju.N. Kaljuzhnaja¹,
A.V. Temjakov¹, I.I. Kuznecov², V.V. Vnukov¹

THE STATE OF GLUTATHIONE SYSTEM IN RAT TISSUES WITH TRAUMA MUSCULOSKELETAL SYSTEM IN THE METHIONINE INDUCED HYPERHOMOCYSTEINEMIA

¹Southern Federal University,

Academy of Biology and Biotechnology n.a. D.I. Ivanovsky

194/1 Stachki st., Rostov-on-Don, Russia 344000. E-mail: emvechkanov@sfedu.ru

²Rostov-on-Don State Medical University

29 Nakhichevanckiy st., Rostov-on-Don, Russia, 344022

Purpose: to research the glutathione system state in rat tissues after trauma of the musculoskeletal system in a methionine-induced hyperhomocysteinemia.

Materials and methods: the level of homocysteine in the plasma of animals, as well as the amount of glutathione and glutathione peroxidase enzyme activity, glutathione-S-transferase, glutathione reductase in the erythrocyte hemolysate, liver homogenates and cardiac muscle have been determined.

Results: it has been found that in the animals with experimental hyperhomocysteinemia and musculoskeletal injury the liver and erythrocyte glutathione system components react.

Conclusions: an increase of glutathione content and activity change of glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase and glutathione reductase in different tissues have been shown.

Key words: hyperhomocysteinemia, thrombophilia, trauma, glutathione system, oxidative stress.



Введение

Патология сердечно-сосудистой системы является основной причиной смертности среди населения во всем мире. Лидирующее значение среди данных заболеваний приходится на венозные тромбозы и тромбоэмболию легочных артерий, приводящих к летальному исходу или инвалидизации пациентов [1]. Проведение оперативного вмешательства или получения травмы, сопряженной с нарушением целостности костей, многократно повышает риск развития тромбоза [2]. Независимым фактором в возникновении внутрисосудистого тромбоза является гипергомоцистеинемия, запуская механизмы окислительного стресса и дисфункции эндотелия [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10]. В антиоксидантной защите важнейшая роль отводится системе глутатиона, обеспечивающей защиту клеток от активных кислородных метаболитов и повышающей их резистентность по отношению к повреждающим факторам [11]. Экспериментальные исследования, направленные на изучение состояния глутатионového звена при гипергомоцистеинемии, недостаточно изучены. Не сформировано четкое представление об особенностях функционирования ферментов глутатионového цикла в условиях травмы опорно-двигательного аппарата на фоне гипергомоцистеинемии, что и определило цель настоящего исследования.

Цель исследования - изучения особенностей функционирования глутатионовой системы в тканях крыс при травме опорно-двигательного аппарата в условиях метионин индуцированной гоомоцистеинемии.

Материалы и методы

Лабораторные животные. Эксперименты проводили на 32 белых крысах-самцах *Rattus norvegicus* массой 250–300 г в возрасте 6 месяцев с учетом этических принципов экспериментирования на животных моделях, изложенных в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, Страсбург, 1987». Животные содержались в стандартных клетках в условиях 12-часового режима освещения и свободного доступа к корму и воде. Содержание животных соответствовало санитарным правилам, утвержденным МЗ СССР 06.07.73 г., по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) и приказу МЗ высшего и среднего специального образования СССР от 13.11.84 г. № 742 «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Кормили животных натуральными и брикетированными кормами в соответствии с нормами, утвержденными приказом МЗ СССР от 12.08.77 г. № 755. Перед экспериментами животные проходили карантин и акклиматизацию в условиях вивария в течение 14 дней. В ходе эксперимента осуществляли еженедельный контроль массы лабораторных животных в группах.

Химические реактивы. L-Methionine (AppliChem), L-Glutathione oxidized (Sigma), L-Glutathione reduced (Sigma-Aldrich), 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene (Aldrich), 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (Sigma), NADPH

(Sigma), EDTA (Sigma), Trizma hydrochloride (Sigma), tert-Butyl hydroperoxide solution (Luperox), Trichloroacetic Acid (BioChemica). Остальные реактивы квалификации хч, Россия: K₂HPO₄, KH₂PO₄, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, KCl, NaHCO₃, HCl, NaOH.

Приборная база и условия проведения эксперимента. Спектрофотометрические исследования проводили на спектрофотометре DU 800 «Beckman Coulter» (США), хемилюминесцентный анализатор Immulite 2000 Xpi (Siemens). Все эксперименты проводились при комнатной температуре.

Моделирование гипергомоцистеинемии. Индукцию гипергомоцистеинемии у крыс осуществляли путем ежедневного внутривенного введения 1% раствора метионина в дистиллированной воде из расчета 0,12 г метионина в сутки на крысу [12].

Моделирование травмы. С целью формирования однотипных закрытых переломов костей голени производилась травматизация задней конечности крысы с помощью специально разработанного механического устройства [13]. Нанесение травмы осуществлялось под наркозом с использованием золетила в концентрации 5 мг/100 г.

Дизайн эксперимента. Животные были рандомизированы в одну из четырех групп по 8 особей в каждой: I группа – контрольная группа интактных животных; II группа – опытная, животным формировали закрытый перелом костей голени и выводили из эксперимента через 1 неделю; III группа – опытная, животным в течение семи недель ежедневно вводили метионин после чего выводили из эксперимента; IV группа – опытная, животным в течение шести недель ежедневно вводили метионин, затем формировали закрытый перелом костей голени, продолжая вводить метионин, и выводили из эксперимента через 1 неделю.

Извлечение биологического материала. В качестве биологического материала использовали плазму крови, суспензию эритроцитов, гомогенаты сердечной мышцы и печени. По окончании срока эксперимента животных декапитировали под наркозом с использованием золетила в концентрации 5 мг/100 г. Кровь декапитированных экспериментальных животных собирали самотёком в полипропиленовые центрифужные пробирки с добавлением раствора гепарина 5000 МЕ/мл из расчета 0,1 мл гепарина на 10 мл крови. Для получения плазмы кровь центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин, затем плазму отделяли от плотного осадка форменных элементов и хранили при температуре + 40 °С. Осадок эритроцитов трижды промывали двумя частями охлажденного 0,9% раствора NaCl, содержащего 0,01М трис-HCl, pH 7,4. Полученный плотный осадок эритроцитов использовали для получения 1% гемолизата. Эритроциты лизировали дистиллированной водой в соотношении 1:10 при + 40 °С в течение 30 минут. Ткани органов гомогенизировали на холоду в буфере, содержащем 50 мМоль Трис-HCl, pH 7,4, с добавлением Triton X100 до конечной концентрации 0,1%.

Определение биохимических показателей. Уровень гоомоцистеина определяли иммуноферментным методом с помощью набора Siemens. Активность глутатионпероксидазы (GPx) определяли спектрофотометрически



по скорости окисления восстановленного глутатиона в присутствии гидроперекиси третичного бутила [14]. Определение конъюгирующей активности глутатион-S-трансферазы (GST) осуществляли по Habig [15]. Активность глутатионредуктазы (GR) измеряли по степени окисления НАДФН [16]. Определение содержания восстановленного глутатиона (GSH) проводили с 5,5-дитиобис (2-нитробензойной) кислотой по Эллману [17]. Количество гемоглобина определяли колориметрически с помощью стандартного клинического набора реактивов производства «La Chema». Определение общего белка осуществляли методом Lowry в модификации Shacterle-Pollack.

Статистическая обработка и программное обеспечение. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Рассчитывали среднюю арифметическую M и стандартную ошибку средней m . Для оценки статистически значи-

мых различий между сравниваемыми группами использовали параметрический критерий Стьюдента. Оценку соответствия типа распределения выборки нормальному проводили с использованием метода трех сигм. Разницу средних величин считали достоверной при $p < 0,05$ и стремящейся к достоверности при $0,05 < p < 0,1$

Результаты и их обсуждение

Настоящее исследование основано на создании экспериментальной модели ГГЦ, создаваемой у крыс за счет внесения в питьевую воду метионина (Met) и индуцирования травмы опорно-двигательного аппарата [12, 18]. У животных с сформированным переломом костей голени (II группа) содержание гомоцистеина в плазме крови статистически достоверно не изменялась по отношению к значениям физиологической нормы (см. табл. 1).

Таблица 1

Содержание гомоцистеина (мкмоль/л) в плазме крови экспериментальных групп животных

Исследуемый показатель	Статистические данные	I (n=8)	II (n=8)	III (n=8)	IV (n=8)
Гомоцистеин	M	7,45	8,88	47,4	46,03
	m	0,33	1,24	1,60	1,33
	$p1$	-	$>0,05$	$<0,05$	$<0,05$
	$\Delta\%1$	-	119*	536*	517*
	$p2$	-	-	$<0,05$	$<0,05$
	$\Delta\%2$	-	-	434**	418**

M – средняя арифметическая; m – стандартная ошибка средней; $\Delta\%1$ – процент изменений по отношению к контролю (I группа); $\Delta\%2$ – процент изменений по отношению к группе травма 7 день (II группа); * – статистически достоверные изменения по отношению к контролю ($p1 < 0,05$); ** – статистически достоверные изменения по отношению ко II группе ($p2 < 0,05$);

Показано развитие умеренной ГГЦ, что выражалось в приросте концентрации гомоцистеина в плазма крови крыс III-ей группы в 6,4 раза, что соответствует 47,4 ($\pm$) 1,6 мкмоль/л ($p < 0,05$). У животных IV-ой группы уровень ГГЦ составил в среднем 46,0 ($\pm$) 1,33 мкмоль/л ($p < 0,05$).

Глутатион (GSH) является естественным метаболитом гомоцистеина и важнейшим компонентом антиоксидательных реакций [4, 19]. Глутатионпероксидаза (GPx), глутатионтрансфераза (GST), глутатионредуктаза (GR) и НАДФН образуют глутатионовую антиоксидантную систему, в которой GR и НАДФН необходимы для восстановления, окисленного GSH и, следовательно, его рециклирования. Результаты исследования уровня GSH, GPx, GST и GR в различных тканях представлены в табл. 2 и на рис. 1, 2, 3.

Содержание восстановленного глутатиона GSH в гемолизате эритроцитов крыс II-ой опытной группы в условиях травмирования превышало контрольные величины на 43% и соответствовало 6,7 ($\pm$) 0,6 мкмоль/г белка ($p < 0,05$). Использование метиониновой нагрузки способствовало увеличению уровня, восстановленного GSH в гемолизате эритроцитов животных III-ей и IV-ой групп в среднем на 64% и составило 7,8 ($\pm$) 0,2 мкмоль/г белка ($p < 0,05$) и 7,6 ($\pm$) 0,5 мкмоль/г белка ($p < 0,05$) соответственно. Очевидно, содержание восстановленного GSH в гемолизате эритроцитов экспериментальных животных согласуется с предположительно максимальным уровнем генерации плазменного гомоцистеина при соответствующих концентрациях метионина, что не противоречит данным К.М. Кураян и соавт [14].



Содержание глутатиона (GSH) и активность глутатионпероксидазы (GPx), глутатион-S-трансферазы (GST) и глутатионредуктазы (GR) в различных тканях животных

Ткань		Гемолизат эритроцитов				Гомогенат сердца				Гомогенат печени			
Исследуемый показатель	Статистические данные	Группы животных											
		I (n=8)	II (n=8)	III (n=8)	IV (n=8)	I (n=8)	II (n=8)	III (n=8)	IV (n=8)	I (n=8)	II (n=8)	III (n=8)	IV (n=8)
GSH Нмоль / мг Hb	M	4,6	6,7	7,8	7,6	н/и	н/и	н/и	н/и	1,97	18,2	20,3	14,5
	m	0,5	0,6	0,2	0,5	н/и	н/и	н/и	н/и	0,46	2,3	4,52	3,8
	p1	-	<0,05	<0,05	<0,05	-	-	-	-	-	<0,05	<0,05	<0,05
	Δ%1	-	43	66	63	-	н/и	н/и	н/и	-	821	923	633
	p2	-	-	>0,05	>0,05	-	-	-	-	-	-	>0,05	>0,05
	Δ%2	-	-	16	13	-	-	н/и	н/и	-	-	11	-20
GPx Мкмоль / мин	M	1805	2595	2538	2995	1397	1633	1554	1764	5585	4805	7456	6927
	m	111,1	175,2	285,4	499,0	64	175	79	135	558	365	520	628
	p1	-	<0,05	<0,05	<0,05	-	>0,05	>0,05	<0,05	-	>0,05	<0,05	>0,05
	Δ%1	-	43,7	40,6	65,8	-	17	11	26	-	-14	33	24
	p2	-	-	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05	-	-	<0,05	<0,05
	Δ%2	-	-	11,5	15,4	-	-	5	8	-	-	55	44
GST МЕ / г Hb	M	3,37	3,64	2,94	4,21	19,3	20,4	20,2	20,9	281	376	398	386
	m	0,22	0,59	0,27	0,48	1,01	1,6	1,5	0,75	31	30	28	32
	p1	-	>0,05	>0,05	<0,05	-	>0,05	>0,05	>0,05	-	<0,05	<0,05	<0,05
	Δ%1	-	8,0	-12,0	24,9	-	5,6	4,6	8,2	-	34	41	37
	p2	-	-	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05
	Δ%2	-	-	20	15	-	-	1	3	-	-	6	3
GR МЕ / г Hb	M	2,63	2,18	1,14	2,48	9,5	8,5	8,8	10,5	60,8	77,3	83,6	68,5
	m	0,42	0,96	0,36	0,23	0,7	0,9	0,3	0,5	10,8	6,5	5,4	1,1
	p1	-	>0,05	<0,05	>0,05	-	>0,05	>0,05	>0,05	-	>0,05	<0,05	>0,05
	Δ%1	-	-17,0	-56,5	-6,0	-	-10	-7	10	-	27	37,5	12
	p2	-	-	<0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05
	Δ%2	-	-	-47	14	-	-	4	24	-	-	8	-17

См. сноску табл. 1, н/и – исследование не проводилось

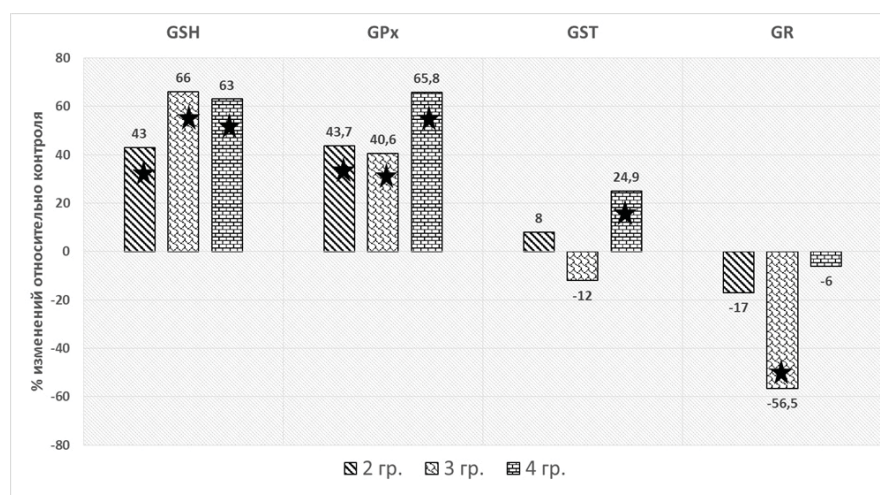


Рисунок 1. Динамика изменений биохимических показателей в гемолизате эритроцитов



Формирование закрытого перелома костей голени у крыс II-ой группы способствовало увеличению концентрации восстановленного GSH в гомогенате печени в течение недели (время выведения животных из эксперимента) в 9,2 раза, и составило $18,2 (\pm 2,3)$ мкмоль/г белка ($p < 0,05$). Содержание восстановленного GSH у животных, находившихся на метиониновой диете превысило значения физиологической нормы в 10,3 раза, что в 1,4 раза выше значений GSH гомогената печени крыс, подвергшихся травме нижних конечностей. Более низкие значения GSH в гомогенате печени крыс IV-ой группы в условиях умеренной ГГЦ свидетельствует об интенсификации процессов антирадикального ингибирования и напряжении глутатионовой антиоксидантной системы организма.

Моделирование ГГЦ у крыс способствовало не только накоплению GSH в цитозоле гепатоцитов животных III-й экспериментальной группы, но и приросту глутатионредуктазной активности на 38% по отношению к контрольным величинам $83,6 (\pm 5,4)$ МЕ/г белка, $p < 0,05$ (рис. 2). Возможно активация GR способствует накоплению активной формы внутриклеточного GSH и оказывает протекторное действие на гепатоциты в условиях ГГЦ.

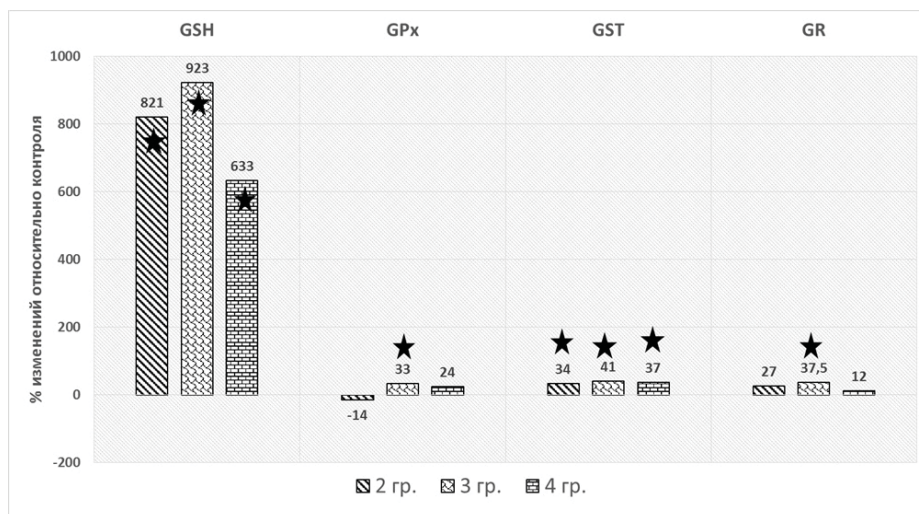


Рисунок 2. Динамика изменений биохимических показателей в гомогенате печени

Статистически достоверных изменений GR в гомогенате печени животных, находившихся в состоянии умеренной ГГЦ и перенесших травмирование (IV-ая группа) не выявлено (см. рисунок 2). Сходная картина прослежи-

вается и в отношении гомогената сердечной мышцы всех групп экспериментальных животных, активность GR оставалась на уровне аналогичного показателя контроля ($p > 0,05$) (рис. 3).

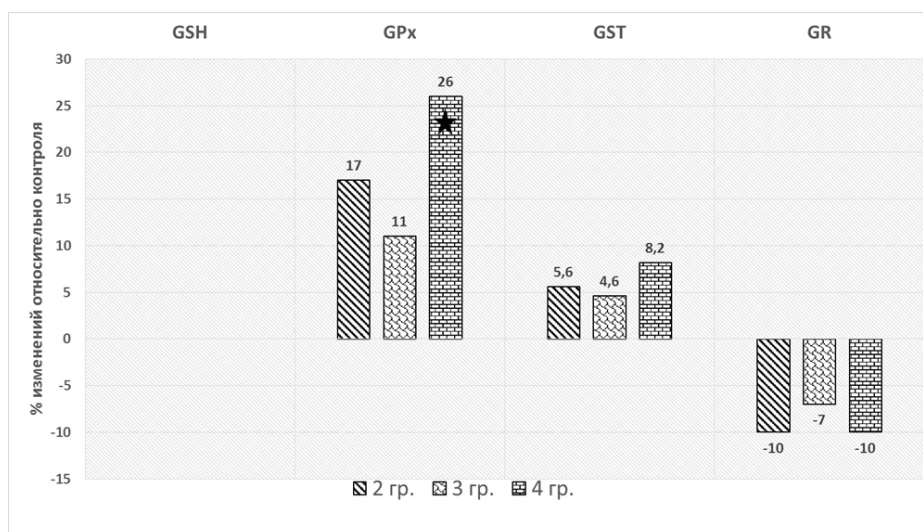


Рис. 3. Динамика изменений биохимических показателей в гомогенате сердечной мышцы



Функционирование GR всегда сопряжено с ферментами, окисляющими GSH в GSSG в результате восстановления перекисей (GPO и GST). Активность GPO в гемолизате эритроцитов крыс, подвергшихся травмированию опорно-двигательного аппарата (II-я группа), и животных, находящихся в условиях модельной ГГЦ (III-я группа), была повышена по сравнению с контролем в среднем на 43% и 40% соответственно, что свидетельствует об адекватном ответе системы на неблагоприятное воздействие свободных кислородных радикалов в условиях ГГЦ. Одновременно наблюдались изменения в активности GST в гемолизате эритроцитов крыс IV-ой группы на 25% ($p < 0,05$), что соответствовало $4,2 (\pm) 0,48$ ME/г Hb.

Таким образом, GPO и GST функционируют комплексно против отрицательного воздействия АФК, а полученные изменения их ферментативной активности могут свидетельствовать о приоритетной роли GRx в эритроцитах в условиях ГГЦ и развитии посттравматического стресса.

За исключением глутатионпероксидазной активности кардиомиоцитов крыс IV-ой группы, уровень которой превысил физиологические значения нормы на 26%, статистически достоверных различий в активностях GPO и GST гомогената сердца установить не удалось (рис. 3). Полученные данные согласуются с результатами исследований *in vitro*, в которых показано, что ГГЦ ведет к снижению продукции GPO воздействуя на мРНК внутриклеточной изоформы фермента. В эксперименте показано, что ГГЦ снижает экспрессию генов СОД и GPO, и, как следствие, их каталитическую активность, причем GPO в большей степени, чем СОД [11]. Ингибировать синтез GPO способен только ГЦ, в этом его уникальность по сравнению с другими тиолами, например, цистеином, содержание которого в плазме выше, чем гомоцистеина, и который также способен к самоокислению с образованием супероксида (O_2^*) и цистина [11]. В этой связи, можно предположить, что гомоцистеин является токсичным

тиолом особенно для сердечной мышцы крыс, за исключением условий развития посттравматической генерации АФК.

Следует отметить, что GST является многофункциональным ферментом, и ее ферментативная активность в гомогенате печени превышает контрольные величины во всех обследуемых группах крыс (II-IV группы) в среднем на 37% ($p < 0,05$) (табл. 3, рис. 3), тогда как статистически значимые изменения глутатионпероксидазной активности выявлены только в гомогенатах печени животных в условиях ГГЦ. Уровень ферментативной активности GPO превосходил контрольные значения на 33% ($p < 0,05$), что соответствует $7456 (\pm) 520$ ME/г белка.

Выводы

Применение метиониновой диеты характеризовалось развитием умеренной гипергомоцистеинемии, что выражалось в приросте концентрации гомоцистеина в плазме крови крыс III-ей и IV-ой группы. Формирование закрытого перелома костей голени у животных IV-ой группы с последующим пролонгированием метиониновой диеты в течение недели не способствует дальнейшему развитию гипергомоцистеинемии, что очевидно свидетельствует о наличии максимального уровня генерации гомоцистеина при соответствующих концентрациях потребляемого животным метионина.

У животных в условиях экспериментальной умеренной ГГЦ и травме опорно-двигательного аппарата реагировали только эритроцитарные и печеночные компоненты системы глутатиона (повышение содержания GSH и изменение активности GR, GPO и GST). Разная степень выраженности активации глутатионзависимых ферментов в условиях индуцированного травмирования раскрывает особенности тканевых метаболических закономерностей патогенеза при механической травме.

ЛИТЕРАТУРА

- Вардanian А.В., Мумладзе Р.Б., Белоусов Д.Ю., Ройтман Е.В. Клинико-экономический анализ профилактики послеоперационных венозных тромбоэмболических осложнений // Качественная клиническая практика. – 2006, № 1. – С. 51-63.
- Копенкин С.С., Скорогляднов А.В. Проблемы профилактики тромбоэмболических осложнений при эндопротезировании крупных суставов // Вестн. травматол. ортопед. – 2009. – № 3. – С. 69-73.
- Белая О.Л., Федорова Н.В., Фомина И.Г. Гипергомоцистеинемия и процессы перекисного окисления липидов при стабильных формах ишемической болезни сердца // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2007, № 6 (1). – С. 41-46.
- Болдырев А.А. Молекулярные механизмы токсичности гомоцистеина // Биохимия. – 2009. – Т. 74, Вып. 6. – С. 725-736.
- Aksoy M., Basar Y., Salmayenli N., Ayalp K., Ata Genc F., Dilege S., Kayabali M., Baktiroglu S., Kurtoglu M. Hyperhomocysteinemia in patients with arterial occlusive disease // Surg. Today. – 2006. – Vol. 36. – P. 327-331.
- Jacobsen D.W. Hyperhomocysteinemia and Oxidative Stress // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2000. – № 20. P. 1182.
- Kanani P.M., Sinkey C.A., Browning R.L. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocysteinemia in humans // Circulation. – 1999.
- Kolling J., Scherer E., da Cunha A. Homocysteine induces oxidative-nitrative stress in heart of rats: prevention by folic acid // Cardiovasc. Toxicol. 2011. Vol. 11, № 1. P. 67-73.
- Makris M. Hyperhomocysteinemia and thrombosis // Clin. Lab. Haem. – 2000. – Vol. 22. – P. 133-143.
- Tousoulis D., Bouras G., Antoniadis C. The activation of endothelial nitric oxide synthase during methionine-induced homocysteinemia mediates endothelial dysfunction in hypertensive individuals // J. Hypertens. – 2010. – Vol. 28. – № 5. – P. 925-930.
- Шмелева В.М., Рыбакова Л.П. Состояние окислительной и антиокислительной систем у больных с атеросклерозом при наличии и отсутствии гипергомоцистеинемии. // Казанский медицинский журнал. – 2008. – Т. 89, № 3. – С. 281-285.
- Sanjana Dayal and Steven R. Lentz. Murine Models of Hyperhomocysteinemia and their Vascular Phenotypes // Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008 September; 28(9): 1596-1605.
- Березовский Д.П., Мажугин В.Ю., Кураян К.М., Кураян М.Б., Крайнова Н.Н., Хабарова О.В., Варавва Т.А., Корниенко И.В. Экспериментальная модель умеренной гипергомоцистеинемии для изучения патогенеза тромботических осложнений при травме опорно-двигательного аппарата // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011, №5. – С. 21-24.
- Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. // Лабораторное дело. – 1986. – №12. – с. 724-727.



15. Habig W.H., Pabst M.I., Jacoby W.B. Glutathione-S-Transferase. The first step in mercapturic acid formation. // J. Biol. Chem. – 1974. – V.249. – P.7130-7139.
16. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов // Лабораторное дело, 1989. - №4. – с. 19-21.
17. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. - 1959.- Vol. 82.- P. 70-77.
18. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. Система глутатиона II. Другие ферменты, тиол-дисульфидный обмен, воспаление и иммунитет, функции.// Биомедицинская химия. - 2009. - Т. 55., №4. - С.365-379.
19. Sauls D.L., Arnold E.K., Bell C.W. Pro-thrombotic and pro-oxidant effects of diet-induced hyperhomocysteinemia // Thromb. Res. – 2007. – Vol. 120. – № 1. – P. 117-126.
20. Кураев К.М., Березовский Д.П., Микашинович З. И. и [др.] Особенности окислительного стресса и морфометрические показатели сосудов микроциркуляторного русла при экспериментальной умеренной гомоцистеинемии // Валеология: науч.-практ. журнал. – 2012. – № 3. – С. 7-12.

ПОСТУПИЛА 05.06.2015

УДК 6181-076 -011 367: 612. 017. 1.

А.А. Афонин, А.Ю. Левкович, М.А. Левкович, Л.В. Кравченко

РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ TLR₂, TLR₆ И ПОЛИМОРФИЗМА ИХ ГЕНОВ В РАЗВИТИИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ И ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Ростовский НИИ акушерства и педиатрии

344012, Ростов-на-Дону, ул. Мечникова 43. E-mail: xlma@mail.ru.

Цель: выявление новых механизмов развития генерализованной герпесвирусной инфекции (ЦМВИ и инфекции, вызванной ВПГ 1,2 типа) у новорожденных детей.

Материалы и методы: изучены данные 69 новорожденных с генерализованной герпесвирусной инфекцией в раннем неонатальном периоде. I группу (n=47) составили дети с генерализованной цитомегаловирусной инфекцией. Во II группу (n=22) вошли дети с генерализованной формой инфекции, вызванной вирусом герпеса 1,2 типа. Контрольную группу составили 26 здоровых новорожденных. Определение экспрессии TLR-2(CD14+CD282+) и TLR-6(CD14+CD286) на моноцитах проводили методом лазерной проточной цитофлуорометрии (Beckman Coulter, США). Полиморфизм аллельных вариантов генов TLR изучали методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом тест-системами для молекулярно-генетического анализа, разработанными ГосНИИГенетика (Москва).

Результаты: снижение экспрессии TLR-2 и TLR-6 имеет место при генерализованной ЦМВИ только у детей с полной клинической симптоматикой. У новорожденных с тяжелой герпетической инфекцией отмечается снижение экспрессии TLR-2. Дефекты в генах TLR выявляются у 68,4 % детей при генерализованной ЦМВИ с полной клинической симптоматикой в виде полиморфизма Ser249Pro гена TLR-6 и у 26,3% детей с тяжелой герпетической инфекцией - в виде полиморфизма Arg753Gln гена TLR-2.

Заключение: приведены новые данные, подтверждают роль нарушений иммунной системы в патогенезе генерализованной герпесвирусной инфекции. Установлено, что у детей с врожденной генерализованной герпесвирусной инфекцией ведущим в формировании иммунного ответа является нарушение в системе факторов врожденного иммунитета.

Ключевые слова: внутриутробная инфекция, герпес вирусы, врожденный иммунитет.

A.A. Afonin, A.Y. Levkovich, M.A. Levkovich, L.V. Kravchenko

THE ROLE OF EXPRESSION OF TLR₂, TLR₆ AND POLYMORPHISM OF THEIR GENES IN THE DEVELOPMENT OF GENERALIZED CYTOMEGALOVIRUS AND HERPETIC INFECTIONS IN NEWBORNS

Rostov research Institute of obstetrics and Pediatrics

43 Mechnikov st., Rostov-on-don, 344012, Russia. E-mail: xlma@mail.ru.