

индуцибельной изоформ NO-синтаз [Mei Q. et al., 2005; Wang H. et al., 2007; d'Uscio L.V. et al., 2007; Rui T. et al., 2005].

Заключение. Полученные результаты демонстрируют, что мелатонин, также как и ЭПО, предотвращает формирование гипергомоцистеинемии и влияет на механизмы продукции NO в условиях окислительного стресса. Данные соединения через NO-зависимый механизм оказывают модулирующее влияние на прооксидантно-антиоксидантное равновесие, предупреждают развитие окислительных повреждений, а также регулирует уровень гомоцистеина в условиях окислительного стресса.

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ ПРИ КУРСОВОМ ВВЕДЕНИИ ИНГИБИТОРА ФНОА НА ФОНЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Горецкая М.В., Шейбак В.М., Буко В.У.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси,
г. Гродно, Республика Беларусь

Метаболизм лимфоцитов претерпевает существенные изменения при систематическом воздействии алкоголя. При этом острая алкогольная интоксикация кратковременно уменьшает и число лимфоцитов, тогда как хроническая приводит к стойкой лимфоцитопении. Выраженность лимфоцитопении коррелирует со степенью алкогольного поражения печени. Снижение числа лимфоцитов происходит за счет уменьшения популяции Т-лимфоцитов [2]. Изменения метаболизма лимфоцитов во многом определяют интенсивность и качество иммунного ответа. Нами ранее было показана модуляция аминокислотного спектра при введении ряда биологически активных соединений, для которых характерна различная выраженность иммунного ответа [3, 4]. Алкогольная интоксикация является одним из патофизиологических состояний, при котором иммунный ответ изменяется неоднозначно [1, 2]. Тем не менее, иммуномодуляторы нередко назначаются больным алкоголизмом. Инфликсимаб (ремикейд) - химерное соединение, созданное на основе гибридных мышинных и человеческих IgG₁ моноклональных антител, является селективным иммунодепрессантом, обладающее высоким аффинитетом к фактору некроза опухоли альфа (ФНО α). Ремикейд быстро связывается с ФНО α и образует устойчивое соединение с обеими его формами (растворимой и трансмембранной).

Целью работы явилась оценка возможных дозозависимых эффектов ингибитора ФНО α , вводимого на фоне алкогольной интоксикации, на уровни свободных аминокислот в лимфоцитах.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на крысах-самках массой 200г. Контрольные животные (n=8) получали в течение 10 недель искусственный рацион на основе мальтодекстрина. В рационе опытных животных (n=8) мальтодекстрин изокалорийно заменяли этанолом (L.M. DeCarli, C.S.Lieber, 1967). Части животных на фоне данного рациона в течение последних 10 дней ежедневно внутрибрюшинно вводили ремикейд в дозе 1 мг/кг (n=8) или 10 мг/кг (n=8). После декапитации выделяли лимфоциты крови, в диализатах которых методом ВЭЖХ определяли свободные аминокислоты и их производные.

Результаты. Показано, что при хронической алкогольной интоксикации в лимфоцитах увеличивается сумма протеиногенных аминокислот (на 20%), что было обусловлено повышением, главным образом, фракции незаменимых аминокислот (НА). Среди НА в большей степени повышались концентрации аминокислот с разветвленной углеродной цепью (АРУЦ), по сравнению с уровнями ароматических аминокислот (ААК). Наблюдали повышение уровней лейцина (Leu, $2,42 \pm 0,30$ против $0,92 \pm 0,26$ мкмоль/млн кл), лизина (Lys, $14,70 \pm 2,89$ против $8,75 \pm 2,05$ мкмоль/млн кл) и пролина (Pro, $7,64 \pm 1,01$ против $5,79 \pm 1,40$ мкмоль/млн кл).

Повышение в лимфоцитах содержания протеиногенных аминокислот (особенно АРУЦ, инициирующих реакции синтеза белка в клетке), при одновременном падении уровня анализируемых нами метаболитов аминокислот (соотношение аминокислоты/производные аминокислот возрастало на 62%), позволяет предполагать повышенную метаболическую активность лимфоцитов крови. Так, нами отмечено снижение в диализатах концентраций фосфоэтанолamina (PEA), 1-метилгистидина (1MHis), цитруллина (Citr). В тоже время регистрировали повышение содержания этаноламина (EA) на 50% и орнитина (Orn) в 2 раза.

Одновременно у животных получавших этанол снижалось количество таурина (Tau, на 40%) и метионина (Met, на 20%), при этом содержание цистеина (Cys) возрастало на 40%, а цистатионина (Ctn) практически в 2 раза. В целом, сумма серосодержащих аминокислот снижалась на 36%, однако, при этом соотношение Cys/Tau увеличилось в 2,5 раза. Уровень таурина в клетках иммунной системы предопределяет их осморезистентность и антиоксидантный статус [5].

При хроническом употреблении этанола ФНО является одним из факторов, способствующих повреждению печени, инициируя лейкоцитарную инфильтрацию и апоптоз гепатоцитов. Доказано, что концентрация ФНО в крови коррелирует с тяжестью поражения печени.

Сумма протеиногенных аминокислот в лимфоцитах при введении ремикейда в дозе 1 мг/кг имела тенденцию к восстановлению до контрольного уровня. При этом уровень заменимых аминокислот в некоторой степени снижался, тогда как содержание незаменимых аминокислот, которое, напротив, возрастало, в основном за счет концентрации изолейцина, которая увеличилась в 4,5 раз. Более чем в 2 раза увеличилось содержание Leu относительно лимфоцитов, выделенных из крови контрольных животных,

однако по сравнению с группой получавшей этанол, данный показатель не изменился. Аналогичная ситуация прослеживалась с Lys. Уровни валина, метионина, тирозина в анализируемой группе снижались. Данные изменения способствовали уменьшению соотношения ЗА/НА, при одновременном повышении АРУЦ/ААК в лимфоцитах крови. Сумма серосодержащих аминокислот была ниже контрольного уровня, но при сравнении с показателями в группе, получавших этанол тем не менее отмечали тенденцию к повышению. Ремикейд в дозе 1 мг/кг увеличивал содержание Cys на 76%, Ctn на 53%, при этом уровень Met снижался почти в 2 раза, а Tau – на 37% относительно контрольных значений. Среди производных аминокислот отмечено возрастание содержания PEA в 2,5 раза относительно показателей в группе, получавшей этанол, тогда как количество EA снижалось. Уровень Orn увеличился более чем в 2 раза по сравнению с контрольными значениями. В тоже время отмечали снижение гидроксипролина (HPro), α - и β -аминомасляной кислоты (α -ABA и β -ABA) и 1-метилгистидина (1MHis).

Введение ремикейда в дозе 10 мг/кг в еще большей степени увеличивало количество протеиногенных аминокислот в лимфоцитах крови. Существенно изменялся аминокислотный баланс, где уровень АРУЦ повышался практически в 3 раза ($13,5 \pm 2,85$ против $4,2 \pm 0,95$ мкмоль/млн кл). Следует отметить и возрастание процента АРУЦ относительно суммы свободных аминокислот, а также относительно фонда незаменимых аминокислот. Курсовое внутрибрюшинное введение высокой дозы ремикейда привело к увеличению содержания аспарагиновой кислоты (Asp) и серина (Ser) на 50%, более чем в 2 раза аспарагина (Asn), гистидина (His), глицина (Gly), триптофана (Trp) и Lys, в 3 раза треонина (Thr) ($9,40 \pm 3,80$ против $3,11 \pm 1,04$ мкмоль/млн кл), в 6,5 раз изолейцина (Ile) ($3,78 \pm 0,68$ против $0,58 \pm 0,20$ мкмоль/млн кл), в 7 раз Leu ($6,47 \pm 1,04$ против $0,92 \pm 0,26$ мкмоль/млн кл) в лимфоцитах крови. Концентрации серосодержащих аминокислот (Met, Cys, Ctn) имели тенденцию к увеличению, тогда как Tau – снижался. Наблюдали возрастание НА и ЗА, а также соотношения суммы протеиногенных аминокислот к их производным. В целом, общая сумма протеиногенных аминокислот практически не изменилась, однако следует отметить некоторое увеличение содержания PEA, β -Ala, EA и Orn. При этом уровень 1MHis, α ABA снижался.

Таким образом, при оценке структуры пула в лимфоцитах крови после введения ремикейда, доза 10 мг/кг вызывала более значительные изменения аминокислотного спектра, тогда как доза ингибитора 1 мг/кг способствовала восстановлению многих показателей до контрольного уровня.

Заключение. Лимфоциты крови крыс достаточно устойчивы к хроническому воздействию этанола. Курсовое внутрибрюшинное введение ремикейда в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг в лимфоцитах крови вызывает дозозависимые изменения отдельных показателей пула свободных аминокислот и существенные изменения аминокислотного баланса.

Литература

1. Байкова, И.Е. Алкогольная болезнь печени. / И.Е. Байкова, И.Г. Никитин, Л.М. Гогова //РМЖ. – 2011. – Т.19, № 17. – С. 1067-1072.
2. Лоранский, Д.Н. Азбука здоровья: Книга для молодежи./ Д.Н. Лоранский, В.С. Лукьянов. М.: Профиздат, 1990. – 176 с.
3. Свободные аминокислоты в лимфоцитах тимуса и селезенки после введения крысам экстракта куколок китайского дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi*) / В.М. Шейбак, М.В. Горецкая, Е.М. Дорошенко, А.А. Чиркин // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2011. – № 3. – С. 84-88.
4. Сочетанное влияние таурина и цинка (тауцинка) на содержание свободных аминокислот и их некоторых производных в сыворотке крови и лимфоцитах крыс / В.М. Шейбак, М.В. Горецкая, А.Ю. Капитурко, Е.М. Дорошенко // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2011. – № 1. – С.45-51.
5. Шейбак, В.М. Аминокислоты и иммунная система. / В.М. Шейбак, М.В. Горецкая. М.: Пальмир, 2010. – 356 с.

АНТИТЕЛА К ФАКТОРУ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА (ФНОА) НА ФОНЕ АЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА ПОВЫШАЮТ МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕЧЕНИ

Горецкая М.В., Шейбак В.М., Дорошенко Е.М., Кирвель П.Ч.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси,
г. Гродно, Республика Беларусь

У больных с алкогольным гепатитом, наряду с преобладанием секреции провоспалительных цитокинов, циркулирующие лимфоциты оказывают прямое цитотоксическое действие на различные клетки-мишени, т.е. изменяется клеточный иммунитет [1, 2, 4, 6]. В активной стадии алкогольного гепатита в воспалительном очаге содержатся главным образом нейтрофилы, вскоре сменяющиеся лимфоцитами. ФНО α играет важную роль в алкогольном поражении печени. Эффекты ФНО α опосредуются через высокоспецифические клеточные рецепторы. При хроническом употреблении этанола избыток ФНО усиливает апоптоз гепатоцитов, стимулирует экспрессию в печени провоспалительных цитокинов и молекул клеточной адгезии, которые привлекают лейкоциты [4, 5].

Ремикейд (инфликсимаб) является химерным соединением на основе гибридных моноклональных антител. Обладает высоким аффинитетом к ФНО α . Ремикейд быстро связывается и образует устойчивое соединение с