

БІОЛОГІЧНІ НАУКИ**Билень Д.М., Гафенко М.М.***студенти,**Науковий керівник: Росток Л.М.**кандидат медичних наук, доцент,**Медичний факультет**ДВНЗ «Ужгородський національний університет»***ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЯ ТА ЇЇ РОЛЬ У ВИНИКНЕННІ
ТРОМБО-ВАСКУЛЯРНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ,
АТЕРОСКЛЕРОЗУ, АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ
ТА ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНИХ УСКЛАДНЕНЬ**

За даними ВООЗ серцево-судинні захворювання (зокрема, ІХС та захворювання судин мозку) є основною причиною захворюваності, інвалідизації та смертності у всьому світі (за оцінками, в 2015 р. від ССЗ померло 17,5 мільйона людей, що склало 31% всіх випадків смерті в світі: 7,4 мільйона померли від ІХС, а 6,7 мільйона – в результаті інсульту). Більше 75% випадків смерті від ССЗ – в країнах з низьким рівнем доходу [1].

Порушення плацентації та фетоплацентарного кровообігу можуть бути причиною невиношування вагітності (10 до 20-25% від загального числа ускладнень вагітності [2]), безпліддя, а на пізніших стадіях – хронічної плацентарної недостатності та внутрішньоутробної гіпоксії плода [3].

Вивчення етіологічних факторів, умов, що впливають на перебіг цих захворювань – важливий крок до знаходження нових методів патогенетичної терапії. Одним з найважливіших чинників розвитку цих захворювань є гіпергомоцистеїнемія. Дані одного з найбільших досліджень ВООЗ – MONICA, що охопила 38 популяцій в 21 країнах світу, показали, що класичні фактори ризику не можуть повністю пояснити динаміку серцево-судинних ускладнень, так як їх поширеність досягає 15% у жінок і 40% у чоловіків.

Проте взаємозв'язок між підвищенням концентрації гомоцистеїну в плазмі крові і збільшенням ризику серцево-судинної патології достовірно встановлений в ході Фрамінгемського дослідження (1996), що послужило основою створення гомоцистемінової теорії атеросклерозу.

У ході багаточисленних досліджень було встановлено, що гіпергомоцистеїнемія є незалежним фактором ризику серцево-судинних захворювань, зокрема підвищення рівня гомоцистеїну на 5 мкмоль/л призводить до зростання ризику розвитку атеросклерозу на 80% у жінок та на 60% у чоловіків. Виразність гомоцистеїнемії корелює з ризиком смерті в перші 5 років з моменту діагностики серцево-судинного захворювання. Встановлено достовірний

зв'язок між рівнем гомоцистеїну та смертністю у пацієнтів з ангіографічно підтвердженими захворюванням коронарних артерій.

Мета роботи. Огляд літератури та ознайомлення з роллю гіпергомоцистеїнемії в патогенезі тромбоваскулярних ускладнень.

Історія вивчення гіпергомоцистеїнемії.

В 1962 р. був відкритий синдром гомоцистеїнурії, пов'язаний з дефіцитом ферменту цистатіон-синтетази, внаслідок чого відбувається накопичення ГЦ в крові та сечі. При даному захворюванні виникає розумова відсталість, деформації кісток, зміщення кристалика, прогресування серцево-судинних захворювань і дуже висока частота тромбоемболій. Kilmer McKull поглиблено вивчав хворих з високими рівнями ГЦ в крові і помітив зв'язок між ГЦ, вітамінною недостатністю (В₆, В₉, В₁₂) та захворюваннями серця – так виникла в 1975 р. гомоцистеїнова теорія атеросклерозу.

Метаболізм ГЦ та його порушення.

ГЦ – продукт диметилування метіоніну. Названа реакція є зворотною:

1. У печінці ГЦ реметилується за участі ферменту гомоцистеїн-метилтрансферази (донор СН₃-групи – бетаїн).

2. Можливий і інший шлях реметилування ГЦ під дією метіонінсинтетази (кофермент – віт. В₁₂, донор СН₃-групи – 5-метил-ТГФК, що утворюється в необоротній реакції з 5,10-метилен-ТГФК за допомогою ферменту – метиленТГФредуктази). При цьому єдиним способом отримати вільну ТГФК для інших потреб є реакція перетворення ГЦ в метіонін. При дефіциті віт. В₁₂ остання реакція стає неможливою і виникає внутрішньоклітинний дефіцит віт. В₉, хоча в крові його у вигляді метил-ТГФК багато – «пастка для фолату». 5,10-метилен-ТГФК потрібен для синтезу ДНК de novo.

3. ГЦ може метаболізуватись в процесі транссульфування шляхом перетворення в цистеїн через цистатіонін за участі ферменту цистатіонін-β-синтетази (кофермент – віт. В₆).

Рівні підвищення ГЦ:

- легкий ступінь – 16-30 мкмоль/л;
- середній ступінь – 31-100 мкмоль/л;
- важкий ступінь – більше 100 мкмоль/л.

Фактори, що впливають на рівень ГЦ в крові.

1. Вік. Протягом життя середній рівень ГЦ збільшується на 3-5 мкмоль/л, що пов'язано з погіршенням функції нирок та інших фізіологічних реакцій, що впливають на обмінні процеси.

2. Стать. У віці 40-42 років у чоловіків і жінок різниця в концентрації ГЦ – 2 мкмоль/л (середні значення – 11 і 9 мкм/л відповідно) – обумовлена більшою м'язовою масою у чоловіків (формується остання – утворюється креатин, креатинін, а це підвищує рівень ГЦ).

3. Вагітність. Концентрація ГЦ у вагітних складає 3-4 мкмоль/л.

4. Підвищення надходження метіоніну з їжею. Додаткове призначення його при вагітності в таблетках варто проводити з обережністю.

5. Вітамінодефіцитні стани, зокрема при мальабсорбції, що спричиняється захворюваннями ШКТ. Це пояснює вищу частоту судинних ускладнень при

наявності хронічних захворювань ШКТ та те, що при V_{12} -дефіциті частою причиною смерті є не анемія, а інсульти та інфаркти.

6. Споживання значної кількості кави. В результаті проведеного дослідження 16 тис. чоловік встановлено, що серед чоловіків 40-42 років, які вживають більше ніж 6 чашок кави міцної кави на день, концентрація ГЦ в крові на 19%, а у жінок – на 28% вища, ніж у тих, які не вживають кави (Nygard O. Et al., 1997). Висока кореляція між кількістю вживаної кави і рівнем ГЦ плазми встановлена в рамках Фрамінгемського дослідження (Jacques P.F. et al., 2001).

7. Куріння. Куріння викликає зниження у крові віт. B_6 , B_{12} за рахунок дії ціанідів, що містяться в димі цигарок, на метаболізм цих вітамінів. У дослідженні, проведеному в Норвегії, встановили, що кожна спалена за день цигарка збільшує рівень ГЦ на 1% у жінок і на 0,5% у чоловіків.

8. Сидячий спосіб життя. Помірні фізичні навантаження сприяють зниженню рівня ГЦ при ГЦ.

9. Споживання алкоголю. Незначна його кількість може знижувати рівень ГЦ, велика ж – збільшувати. У людей, які хворіють на хронічний алкоголізм, вміст ГЦ в плазмі майже вдвічі вищий, ніж у тих, хто не зловживає. Це пов'язано з тим, що в них значно знижений вміст віт. B_6 у плазмі і фолатів у еритроцитах + етанол інгібує активність метіонінсинтетази в печінці.

Патогенез ускладнень.

1. Оксидантний стрес. Експериментальні дані свідчать, що продукти аутоокислення ГЦ (гомоцистин, змішані дисульфіді гомоцистеїну і гомоцистеїн-тіолактону), яке проходить з утворенням активних форм кисню, індукують формування атеросклеротичної бляшки шляхом пошкодження ендотелію і стимуляції проліферації гладком'язових клітин медії. Вільні радикали спричиняють утворення окислених ЛПНЩ, що накопичуються в пінистих клітинах, спричиняють оксидативний стрес. Це в свою чергу ініціює каскад запальних реакцій, що викликані порушенням регуляції NF- κ B (нуклеарний фактор транскрипції). Прооксидантна активність ГЦ забезпечується завдяки наявності SH-груп.

Продукція NO ендотеліоцитами теж порушується за рахунок ПОЛ (знижується активність ферменту NO-синтетази + пряма його деградація).

ГЦ знижує експресію глутатіон-пероксидази ендотеліоцитами – ще більше посилює ПОЛ.

В результаті судини втрачають еластичність, знижується їх здатність до дилатації, що в значній мірі обумовлено дисфункцією ендотелію.

2. Вплив на ліпідний обмін. H. Li et al. (2002) в дослідженні, проведеному на культурі клітин ендотелію людини, отримали докази того, що ГЦ стимулює експресію гідроксиметилглутарил-КоА-редуктази – ключового ферменту синтезу холестерину (існує прямий кореляційний зв'язок між рівнем та ХС; $r=0,3368$; $p=0,000018$). В умовах гомоцистеїнемії знижується синтез простагліну.

3. Гіперкоагуляція. ГЦ активує адгезію та агрегацію тромбоцитів, підвищує активність V, XII факторів згортання крові, знижує активність антитромбіну,

тромбодулін-залежної активації протеїнів С і S, що володіють антикоагуляційними властивостями, знижує зв'язування аннексину II – тканинного активатора плазміногена з ендотеліоцитами.

Все вище вказане має несприятливий вплив на механізми регуляції судинного тонуусу, обміну ліпідів, коагуляційного каскаду і веде до створення умов для розвитку і прогресування атеросклерозу, підвищеного тромбоутворення, а вже це, в свою чергу, спричиняє цереброваскулярні захворювання.

Цереброваскулярні захворювання. У ході досліджень (О.Я. Михалойко «Концентраційні зміни плазмового ГЦ при гострому ішемічному інсульті», 2016) помічено достовірне зростання рівнів плазмового ГЦ залежно від ступеня тяжкості інсульту порівняно з показниками осіб контрольної групи. Так, у 14,1% пацієнтів із інсультом легкого ступеня тяжкості, рівень ГЦ склав $10,8 \pm 0,12$ мкмоль/л, у 45,8% пацієнтів із інсультом середнього ступеня тяжкості – $15,9 \pm 0,32$ мкмоль/л. У 40% пацієнтів із тяжким інсультом показники ГЦ були найсуттєвіші і зростали практично вдвічі порівняно з групою контролю та становили $19,5 \pm 0,5$ мкмоль/л.

Гіпергомоцистеїнемія (ННсу) – індуковане збільшення проникності стінок піальних венул ГМ мишей. Для визначення переважаючої ролі парацеллюлярного шляху транспортування на противагу трансцеллюлярному використовувалось подвійне контрастування піальних венул в диких C57BL/6J (wild type, WT); гетерозиготних за дефектом цистатіонін-β-синтетази (Cbs+/-, a genetic model of ННсу); гомозиготних за мутацією гену MMP9 (Mmp9-/-) мишей, та мишей з дефектом обох генів (Cbs+/-, Mmp9-/-) (A). Зображено базові рівні та через 1 годину після інфузії маркерів флуоресцеїну ізотіоціанату (FITC) (зелений) та кон'югованого Alexa-647-сироваткового альбуміну (BSA) (червоний). Мікросудинну проникність оцінювали шляхом порівняння співвідношень інтенсивності флуоресценції барвників ззовні та всередині судинного просвіту.

Отже, гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) – стан підвищеного рівня в крові гоцистеїну. Гоцистеїн (ГЦ) – це АК, яка містить сульфгідрильну групу і є продуктом метаболізму харчового метіоніну і цистеїну. Гіпергомоцистеїнемія – важливий чинник в розвитку захворювань, пов'язаних з ушкодженням ендотелію та всіх наслідків, що звідси випливають. Проведення скрінінгових діагностичних тестів на визначення гоцистеїну в крові, заходи, спрямовані на зниження його рівня здатні знизити ризик виникнення тромбоемболій, цереброваскулярних захворювань, атеросклерозу та цереброваскулярних ускладнень.

Список використаних джерел:

1. Cardiovascular diseases (CVDs) [Електронний ресурс]. – 17 may 2017. – Режим доступу до ресурсу: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
2. Ведищев С. И. Современные представления о причинах невынашивания беременности / С. И. Ведищев, А. Ю. Прокопов. – Томск, 2013. – 1309-1314 с. – (Вестник ТГУ). – (т. 18; № 4).

3. Жук С.И., Чечуга С.Б. Современные аспекты патогенеза, диагностики и лечения гипергомоцистеинемии у женщин с невынашиванием беременности [Электронный ресурс] // Жіночий лікар № 5. – 2008. – Режим доступу до ресурсу: <https://z-l.com.ua/ru/article/217>.

Voroshilova N.M.

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher

Melnikova N.M.

Professor,

*State Institution «Prof. O.S. Kolomiychenko Institute of Otolaryngology
NAMS of Ukraine»*

AGE-DEPENDENT INFLUENCE OF MINERAL HOMESOSTASIS ON THE ACTIVATION OF ALKALINE PHOSPHATASE IN RATS BLOOD

Alkaline phosphatase (AP) is contained in almost all human and animal body tissues. According to the organ specificity, five fractions of AF are identified. There is an opinion that the properties of the same enzyme from various factions may differ between themselves. In the case of AP this difference is connected with the character of activation by metal ions. As well-known, the active site of alkaline phosphatase contains zinc ions. Nuclear magnetic resonance prove for the existence of three closely-located metal-binding centers in each AP monomer. Two of them contain zinc ion, and the third one – magnesium. The depletion of metal ions leads to reversible loss of enzyme's activity, which may be restored by addition of corresponding ions. At this case the addition of magnesium ions is less effective for AP. The mechanism of AP activation by magnesium ions has not been studied completely, but there is the supposition that they simplify the access of the substrate to the active center by proper placement enzyme's subunits [1; 2].

The generalizing data on the age-related alterations of the content of macro- and micro elements in various organs and tissues of animals and humans remain still incomplete. It is known that at ontogenesis various organs and tissues are able to concentrate selectively one or another macro- and micro-elements. At account both of the important role of such inclusions in the enzymes' activation, and of the value of alkaline phosphatase in the exchange of phosphorus compounds, that are associated with energy generation, we focused on the study on the age-dependent character of the alterations of the influence of mineral homeostasis on the AP activity.

The studies were conducted in the laboratory of the Department of Biochemistry of the National University of Bioresources and Natural Resources of Ukraine. For the experiments three age groups of white non-breeding laboratory rats were used: 3-month old (young), 6-month (puberty period) and 18-month (old age) ones with 10 animals in each. The samples of the blood were taken immediately on decapitation and at preliminary preparation were used for determination of the content of macro- and micronutrients and of the level of AP activity. The content of sodium, potassium, calcium, magnesium, and phosphorus was determined in blood plasma on the