

УДК 616-003.93: 612.014.4

Л. И.Савельев, С.В.Цвиренко, Б.Г.Юшков

ГЛИКОЭДМИНОГЛИКАНЫ МОДУЛЯТОРЫ ЭФФЕКТОВ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ТКАНЯХ (рабочая гипотеза)
Кафедра клинической лабораторной и микробиологической диагностики ФУВ, кафедра нормальной физиологии

Существенное значение в индукции и регуляции пролиферации при регенерации тканей имеют межклеточные взаимодействия. Достаточно подробно это показано для кроветворной ткани, где клеточный компонент входит в состав гемопоезидуцирующего микроокружения [6,19], а также для печени [3]. Непременными участниками процессов пролиферации и роста тканей являются моноциты-макрофаги и лимфоциты. Действие этих клеток на клетки-мишени осуществляется путем прямого межклеточного контакта, в том числе с участием рецепторного аппарата, а также через изменение состава внеклеточной среды. Последнее обусловлено поступлением специфических регуляторов пролиферации (колониестимулирующий фактор, бурстпромоторная активность, митогенетический фактор и др.) и различных метаболитов [6,10,11]. Кроме того, активирование макрофагов и лимфоцитов сопровождается образованием активных форм кислорода (супероксид-радикал, перекись водорода, гидроксил-радикал) [4,12], которые действуют как на окружающие пролиферирующие клетки, так и на клетки их образующие путем изменения структурно-функциональных и физиологических характеристик биомолекул. При этом эффект активных форм кислорода (АФК) может быть противоположным по отношению к другим регуляторам. Показано, что токсический кислород, в отличие от бурстпромоторной активности, ингибирует образование ранних эритроидных предшественников (БОЕ-Е) [18]. Кроме того, угнетение образования БОЕ-Е в культуре реализуется главным образом за счет образования активных метаболитов кислорода [17]. Эффект супрессии коррелирует с генерацией супероксид-радикала и пероксида водорода и ослабевает при добавлении в среду культивирования антиокислительных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы. В связи с этим важное значение приобретают механизмы, контролирующие образование и действие АФК в межклеточном пространстве за счет количественных и качественных изменений в тканевом матриксе и надмембранном слое клеток.

Среди компонентов межклеточного матрикса и надмембранного слоя клеток на роль модуляторов АФК в первую очередь претендуют гликозаминогликаны (ГАГ). Имеются данные об антиокислительной активности синтетических полисахаридов [2]. Сульфатированные ГАГ снижают образование стимулированными лейкоцитами АФК [13]. Обладая высокой комплексообразующей способностью, ГАГ изменяют активность антиокислительных ферментов, в частности Си-содержащей супероксиддисмутазы. Гепарин увеличивает выживаемость животных после облучения, предохраняя клетки от повреждения свободными радикалами [15]. Возможность прямого антирадикального действия ГАГ показана и в наших экспериментах. Были проведены модельные опыты для изучения влияния ГАГ и их метаболитов на интенсивность H2O2-индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) гемоглобина. В ячейку хемилюминометра с 0.1 мкМ раствором гемоглобина вносили 0.02 мл исследуемого препарата. После записи исходного уровня свечения в ячейку добавляли 1 мл 1% H2O2 и регистрировали вспышку свечения. Оказалось, что гепарин (осажден спиртом из коммерческого препарата Каунасского завода эндокринных препаратов) в концентрации 50

мкМ снижает интенсивность свечения на 37,5% ($p < 0.05$). Уменьшение содержания гепарина в 2,5 раза отменяло его тушащий эффект, а снижение его концентрации до 2,4 мкМ меняет эффект на противоположной - интенсивность свечения возрастает с $131,4 \pm 2,7$ отн.ед. в контроле до $162 \pm 6,6$ отн.ед. в опыте ($p < 0.05$). Подобный эффект - увеличение свечения под влиянием гепарина в низких концентрациях - обнаружен в работе [13], но авторы этого не отмечают и не обсуждают. Способность гепарина стимулировать свободнорадикальное окисление липидов в мембранах эритроцитов установлена в работе [1]. Глюкозамин, входящий в состав ГАГ, в том числе гепарина, обладает также выраженной способностью ингибировать ХЛ. Введение в окисляющую систему (гемоглобин + H₂O₂) D-(+)-глюкозамина хлор-гидрата (Московский химический завод им. Войкова) в концентрации 0,3 мкМ и 3 мкМ приводит к снижению амплитуды свечения на 25,8% и 88.1% соответственно ($p < 0.05$). Причем тушащий эффект нарастает в течение 2-2,5 ч после растворения препарата, по-видимому, вследствие мутаротации. Отметим, что введение глюкозамина облученным животным значительно увеличивало их выживаемость [5]. N-ацетилнейраминавая и D-глюкуроновая кислоты не оказывали в использованных концентрациях (50 мкМ, 10 мкМ, 5 мкМ) существенного влияния на интенсивность хемилюминесценции.

Изложенное выше позволяет считать, что влияние ГАГ на эффекты АФК зависит от их качественного состава и складывается из прямого антирадикального действия, способности изменять интенсивность образования O₂- и H₂O₂ клетками и повышать активность антиокислительных ферментов, а также из их прооксидантных свойств в низких концентрациях. В свою очередь под действием радикалов может происходить модификация ГАГ, например, деполимеризация гиалуроновой кислоты [16], что сказывается на функциональных параметрах клеток мишеней и таким образом реализуется еще один путь физиологических влияний активных форм кислорода.

Анти- и прооксидантное действие ГАГ важно не только по отношению к клеткам мишеням, но и для самих моноцитов-макрофагов, так как чрезмерное образование оксидантов приводит к их повреждению, и наоборот, антиоксиданты повышают функциональную активность этих клеток [41].

В свете предложенной концепции находят объяснение совпадающие по времени изменения активности перекисного окисления липидов, как прямого следствия образования активных метаболитов кислорода, и содержания ГАГ в костном мозге и печени, обнаруженные нами при различных экстремальных воздействиях на организм [8,9,11]. При стимуляции эритропоэза в жировых клетках костного мозга накапливаются кислые ГАГ и повышается содержание продуктов перекисления липидов. Такой же феномен наблюдается и в печени экспериментальных животных. Введение крысам Fe²⁺-авкорбатной смеси сопровождается увеличением ТБК-активных продуктов на 251.4% ($p < 0,01$) и накоплением кислых ГАГ (+60.4% $p < 0.05$), при практически неизменном уровне нейтральных ГАГ (-10.6% $p > 0.05$). Последнее согласуется с данными литературы о накоплении одного из метаболитов ГАГ - глюкуроновой кислоты в печени при стимуляции перекисного окислений липидов введением окисленных жирных кислот [7].

Изложенное выше позволяет говорить о том, что одним из механизмов установленного участия ГАГ в регуляции регенерации является их способность опосредовать эффекты АФК и таким образом существенно влиять на функциональное состояние клеток и характер межклеточных взаимоотношений в регенерирующей ткани. Причем влияние ГАГ зависит от их количественного и качественного состава (отношение кислых и нейтральных ГАГ, степень их сульфирования).

С другой стороны, активация свободнорадикальных окислительных процессов приводит к существенному изменению структурно-функционального состояния самих ГАГ и других компонентой межклеточного матрикса и надмембранного слоя клеток - повышается "готовность" субстрата к гидролизу [14], происходит деградация коллагена [20], отмечается деполимеризация гиалуроновой кислоты [16], повышается общее содержание кислых ГАГ [7 и собственные данные]. Кроме того, активация свободнорадикальных процессов может сопровождаться лабилизацией лизосомальных мембран и экзоцитозом ферментов, что приводит к соответствующим изменениям качественных характеристик межклеточного вещества и функциональной активности клеток.

Таким образом, в процессе индуцированной регенерации действие АФК реализуется не только путем непосредственного воздействия на липидный слой мембран и активации перекисного окисления липидов, но и путем взаимодействия с компонентами межклеточного матрикса и надмембранного слоя клеток (как непосредственно, так и через регуляцию экзоцитоза гидролитических ферментов). С другой стороны, ГАГ и другие компоненты надмембранного слоя сами могут влиять на интенсивность образования и эффекты активных метаболитов кислорода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куликов В.Ю., Казначеев В.П., Колосова Н.Г., Молчанова Л.В. Влияние гепарина на реакции перекисного окисления липидов эритроцитов и их устойчивость // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 1976. Т.82, N 9. С. 1086-1088.
2. Куртасова Т.П., Селезнева Л.А. Изучение мембранотропной активности производных полисахаридов: Тез. докл. IV Всесоюз. съезда патофизиологов. Кишинев, 1990. С.540.
3. Маянский Д.Н. Клетка Купфера и система мононуклеарных фагоцитов. Новосибирск: Наука, 1971. 169 с.
4. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. М.: Наука, 1984. 42 с.
5. Пушкарева Н.Б., Никольский А.В., Котеров А.И., Рилиппович И.П. Влияние средств химической профилактики лучевой болезни на содержание циклических нуклеотидов в костном мозге мышей // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 1989. Т.108, N 2. С.191-193.
6. Фриденштейн А.Я., Лурия Е.А. Клеточные основы кроветворения. М.: Медицина, 1980. 216 с.
7. Чилингарян Л.А. Изменение процессов глюкуронизации и деглюкуронизации в условиях избыточной липидной перекисидации и при совместном введении антиоксидантов: Тез. докл. 2-ой конф. по проблемам физико-химической биологии и биотехнологии в медицине. Ереван, 1986. С.62.
8. Цвиренко С.В., Шаравара А.А., Юшков Б.Г., Ястребов А.П. О роли гликозаминогликанов костного мозга в реакции кроветворной ткани при экстремальных воздействиях. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. 1990. Т.110, N 7. С.29-30.
9. Цвиренко С.В. Состояние регенераторных процессов тканей в условиях воздействия на организм экстремальных факторов. Авто- реф. Дисс. док. мед. наук. Челябинск, 1994. 39 с.
10. Юшков Б.Г., Попов Г.К., Северин М.В., Ястребов А.П. Гликопротеины и гемопоэз. - Екатеринбург, 1994. - 127 с.
11. Ястребов А.П., Юшков Б.Г., Большаков В.Н. Регуляция гемопоэза при воздействии на организм экстремальных факторов. Свердловск: Изд-во УрО АН СССР, 1988. 152 с.
12. Bobior W.M., Wendy P.A. The O₂-producing enzyme of human neutrophils. Further properties // J. Biol. Chem. 1981. Vol 256, N 5. P. 2321-2323.

13. Brestel F., Mc Clain E. A mechanism for inhibition of lumi- nol-dependent neutrophil chemiluminescence by polyanions// J. Immunology. 1983. Vol.131, N5. P.2515-2518.
14. Fligel S., Lee E., Mc Cay J. Protein degradation following treatment with hydrogen peroxide// Amer.J. Pathol.1984. Vol.115, N3.P.418-425.
15. Grant D., Long W., WiPiамson F. Pericellular heparans may contribute to the protection of cell from free radicals// Med.Hypotheses. 1987. Vol.23.P.67-71.
16. Greenwald R.A., Moy W.W. Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid// Arthritis and Rheumatism. 1980. Vol.23. P. 455-458.
17. Ohkawa M., Shikano T., Ueno N. The effect of monocyte-reale- ased oxygen metabolites on colony formation of erythroid progenitor cell// Acta Haematol.jap. 1986. Vol.46, N6. P.1140-1146.
18. Rich 3. N., Kubanek B. The effect of reduced oxygen tension on colony formation of erythropoietic cell in vitro//Br.J. Haematol. 1982. Vol.52. P.579-588.
19. Tavassoli M. Studies on hemopoietic microenviroument//Exp. Hemat. 1975. N 3.P.213-226.
20. Vissers M., Winterbourn C. The effect of oxydants on neutrophil-mediated degradation of glomerular basement membrane collagen // Biochim.et biophys.Acta. Mol.Cell Res. 1986. Vol.889, N 3.P.271-286.

УДК 577.24:616-008:612.603

А.П.Ястребов, С.В. Сазонов

РОЛЬ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ КЛЕТОЧНОЙ РЕГЕННЕРАЦИИ

Кафедры патологической физиологии и гистологии, морфологический отдел ЦНИЛ

Особое внимание исследователей, изучающих регенераторные процессы, в настоящее время привлекают механизмы регуляции осуществляющиеся на клеточном уровне. Анализ накопленных данных позволяет сделать вывод, что при всей важности и значении регуляторов более высоких уровней их влияние определяется на уровне клетки и ее микроокружения. Наиболее изученной является роль микроокружения в регуляции пролиферативных процессов при экстремальных воздействиях на организм в красном костном мозге. Показано, что кроветворная функция в значительной степени определяется межклеточными взаимодействиями в костномозговой ткани, а также взаимодействиями гемопоэтических клеток-предшественников с ростковыми факторами их микроокружения. Среди последних показана особая роль гликопротеиновых конъюгатов в формировании гемопоэзиндуцирующего микроокружения, а также их место в перестройке кроветворения в условиях действия экстремальных факторов [5,6].

В то же время, многие вопросы, касающиеся участия элементов микроокружения в регуляции регенераторных процессов, остаются неясными. Так нет объяснения быстрым изменениям концентрации гликопротеинов в тканях при экстремальных воздействиях на организм. Не разработаны вопросы их значения в тканях отличных от гемопоэтической по строению, клетки которых не имеют полноценного микроокружения (в первую очередь разнообразные типы эпителиальных тка-