УДК: 577.27: 57.034:502.3 (477)

ВПЛИВ СЕЗОНУ РОКУ НА АКТИВНІСТЬ МІЄЛОПЕРОКСИДАЗИ Й РІВЕНЬ КАТІОННИХ БІЛКІВ У НЕЙТРОФІЛАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ОСІБ, ЩО МЕШКАЮТЬ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ТЕХНОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Н.В. Колісник, Ж.С. Качанова, Н.В. Новосад, А.С. Яловенко

С использованием методов цитохимии установлена сезонная зависимость активности миелопероксидази (МПО) и уровня катионных белков (КБ) в нейтрофилах крови мужчин и женщин (342 человека), проживающих в условиях постоянной техногенной нагрузки; максимум активности МПО и минимум уровня КБ наблюдаются летом. Максимальная амплитуда колебания МПО составила 15 %, КБ – 20 %.

Техногенная нагрузка, катионные белки, миелопероксидаза

ВСТУП

Нейтрофіли – ключові ефекторні клітини вродженого імунітету. Вони забезпечують антимікробний захист організму з використанням двох принципово різних механізмів [1].

Один забезпечується системою генерування нейтрофілами активних форм кисню (АФК). Ключовий фермент цієї системи – мієлопероксидаза азурофильных гранул клітин (МПО, К.Ф. 1.11.1.7) [2, 3]. Другий – кисень незалежний, реалізується родиною катіонних білків (КБ) – дефензимів, які також локалізовані в азурофільних гранулах [4–6].

Відома виражена залежність захворюваності населення від сезону року. У цьому зв’язку, актуально визначити стан головних систем антимікробного захисту в нейтрофілах крові практично здорових осіб, що мешкають за умов техногенного навантаження, протягом року.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Об’єкт дослідження – мазки стабілізованої цитратом периферичної крові позаштатних донорів – чоловіків та жінок робітників промислових підприємств м. Запоріжжя. Відповідно до вимог хробіології [5, 6] щомісячно протягом одного року (197 осіб) та у вибіркові місяці другого року (145 осіб) досліджували стан МПО [7] та КБ [8] у нейтрофілах. Середній вік досліджуваних дорівнювався 34±8 роки.

Статистичний аналіз даних здійснювали з використанням пакету прикладних програм (ППП) SPSS, версія 13 та STATISTICA, версія 7 в ОС Windows XP. Розраховували середньомісячні та середньосезонні показники

активності МПО та рівня КБ, їхній 95%-вий довірчий інтервал (ДІ) Достовірність відмінностей визначали за величиною U-теста Мана-Уїтні. Додатково залежність активності МПО та рівня КБ від часу досліджень проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) та апостеріорних множинних порівнянь – тест найменшої значимої різниці. Достовірність відмінностей між показниками норми, що рекомендовані авторами методів [5, 6] та отриманими нами в сезонах використовували одновибірковий критерій Т. Достовірними вважали відмінності з $p<0,05$. Графічний аналіз даних здійснювали з використанням модуля «Величина помилки».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Показники стану активності МПО та КБ в окремих місяцях року та сезонах представлено на рисунку 1. На графіках відображено значення середньої досліджуваного показника в у.о. та її 95 % ДІ.

Відповідно до отриманих даних взимку між значеннями активності МПО в окремі місяці достовірні відмінності відсутні. Середнє значення активності ферменту склало 207 у.о., ДІ 180 – 230 у.о. Амплітуда коливання (зниження) від середньої в січні склала 15 %, у лютому (підвищення) – 12 %, у грудні (зниження) – 5 %. Динаміка змін КБ взимку відповідає такій для МПО. Середнє значення рівня КБ взимку дорівнюється 170 у.о., ДІ 155 – 190 у.о. Амплітуда коливання в січні становить – 8 %, у лютому – 12 %, у грудні – 6 %.

Навесні напрямок змін активності МПО та КБ протилежний: стійки тенденції підвищення активності МПО від місяця до місяця й, навпаки, зниження рівня КБ. Амплітуда коливань від середньої сезону в окремих місяцях весни не перевищує 10 % для МПО та 12 % для КБ. Середнє значення активності МПО навесні 200 у.о., ДІ 180 – 218 у.о.; середнє значення рівня КБ повесні склало 145 у.о., ДІ 125 – 167 у.о.

Влітку середнє значення активності МПО склало 235 у.о. 95 % ДІ 223–250 у.о., активність ферменту в літні місяці достовірно не відрізняється. Рівень КБ значно коливається. Їхнє середнє значення складає влітку 140 у.о.; у червні та серпні їхній вміст вищий за значення середньої, а в липні він достовірно нижчий.

Восени середнє значення активності МПО складає 220 у.о.. Активність ферменту від серпня до жовтня та листопада достовірно знижується; ДІ стану активності МПО восени складає 185–250 у.о.; максимальна амплітуда

коливання від середньої – 15 %. Середнє значення рівня КБ взимку дорівнюється 164 у.о., рівень КБ в осінні місяці достовірно не відрізняється.

Таблиця – Порівняння значень норми МПО та КБ за даними авторів [5, 6] з отриманими нами в сезонах року

Сезон	МПО (256 ± 3,3)	P	КБ (123 ± 1,5)	P
Зима	201,6 ±3,4	<0,001	164,9 ± 2,14	<0,001
Весна	200,8 ± 3,5	<0,001	146,7 ± 2,9	<0,001
Літо	235,0 ± 3,7	<0,001	141,7 ± 3,8	<0,001
Осінь	212,0 ± 3,5	<0,001	162,3 ± 1,8	<0,001
Рік	210,0 ± 1,9	<0,001	156,3 ± 1,3	<0,001

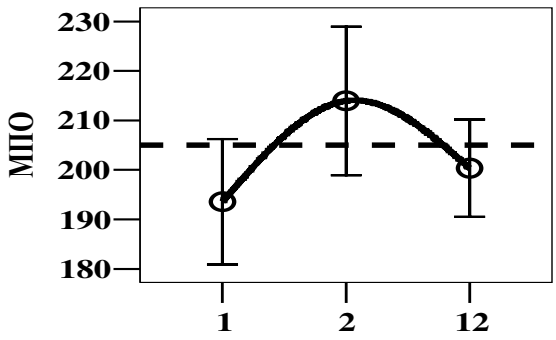
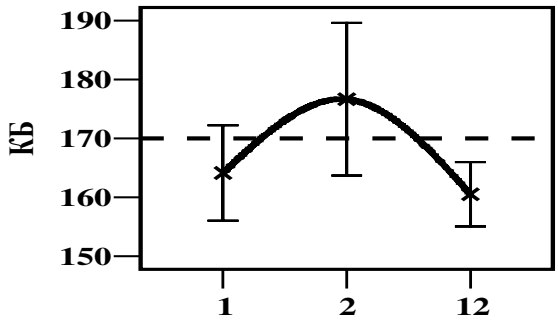
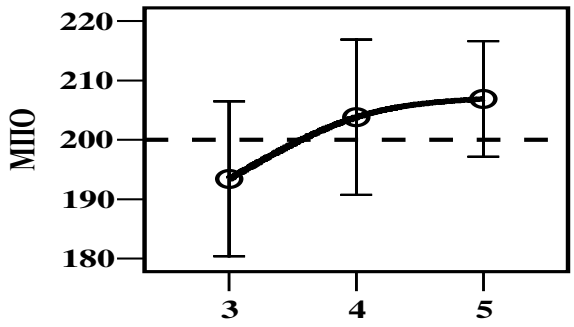
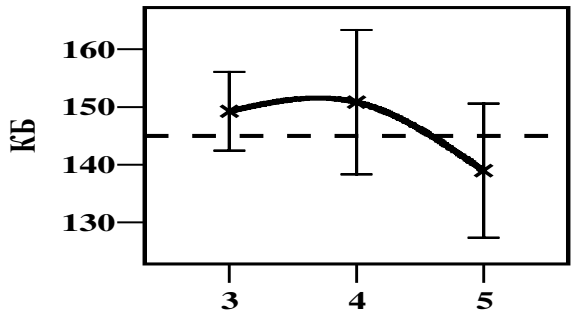
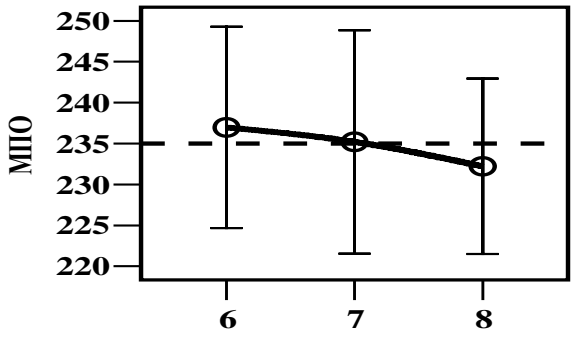
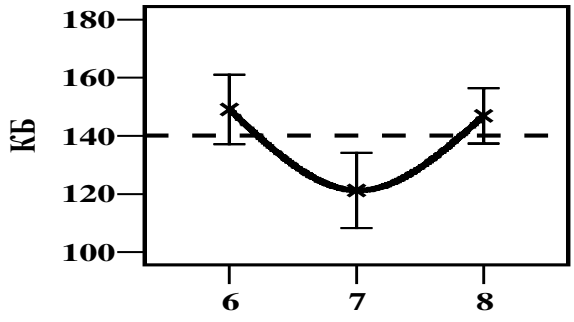
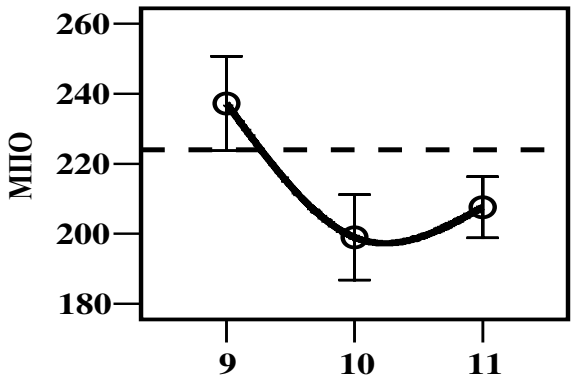
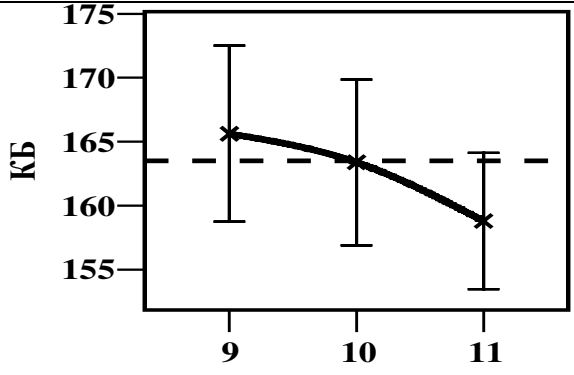
<table>
<tr><td>
</td><td>
</td></tr>
<tr><td>Відмінності відсутні</td><td>P $_{2-12}$<0,02</td></tr>
<tr><td>
</td><td>
</td></tr>
<tr><td>Відмінності відсутні</td><td>Відмінності відсутні</td></tr>
<tr><td>
</td><td>
</td></tr>
<tr><td>Відмінності відсутні</td><td>P $_{6-7}$<0,05; P $_{7-8}$<0,05</td></tr>
<tr><td>
</td><td>
</td></tr>
<tr><td>P $_{9-10}$<0,05; P $_{9-11}$<0,05</td><td>Відмінності відсутні</td></tr>
</table>

Рисунок 1 – Стан активності МПО та рівня КБ у нейтрофілах периферичної крові осіб, що мешкають в умовах техногенного навантаження, у різні сезони року

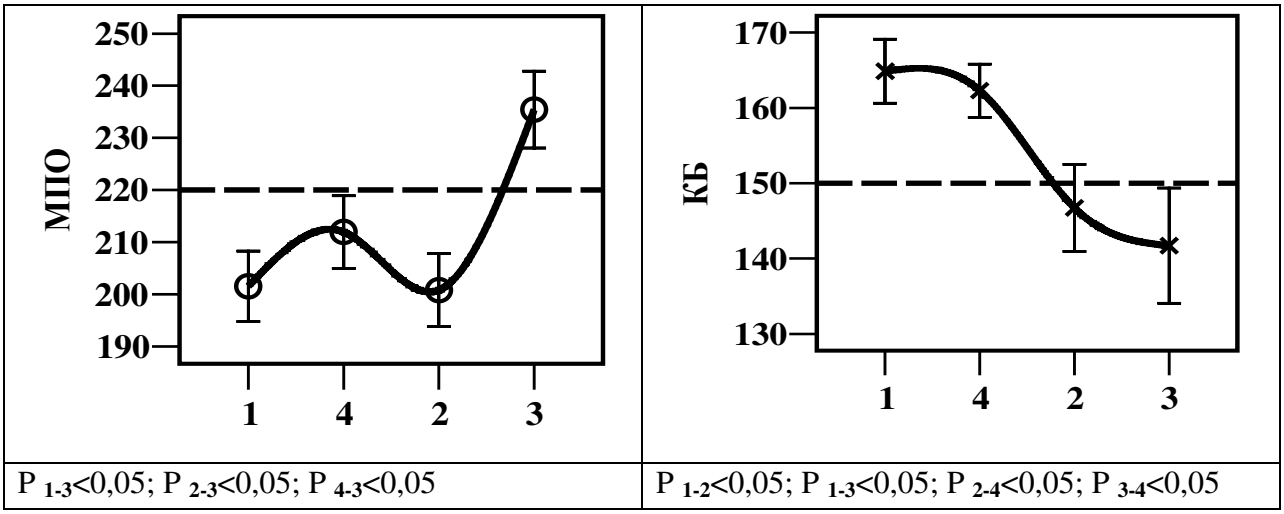
На рис. 2 відображено узагальнені дані стану активності МПО та рівня КБ у різні сезони року. Середньорічне значення активності МПО складає

220 у.о., середні значення МПО взимку, восени та навесні нижчі за середнє. Амплітуда коливань активності ферменту в міні- та акрофазах склала 15 %. Середньорічне значення рівня КБ дорівнює 150 у.о., середні значення рівня КБ взимку та восени вищі, а навесні та влітку нижчі за середньорічну. Амплітуда коливань КБ у міні- та акрофазах склала 20 %.

Таким чином, рівень активності двох головних систем деструкції бактерій нейтрофілами – кисеньзалежної МПО та кисень незалежної КБ протягом року змінюється протилежно. Найбільша різниця напрямків змін пвиявлена влітку.

Амплітуда сезонного ритму ключового показника метаболічної системи відображує адаптаційну норму [5, 6]. Виходячи с цього, нормальним діапазоном зміни значення МПО в регіоні слід визнати 220 ± 33 у.о, КБ – 150 ±30 у.о. Верхня межа норми, яку ми отримали для МПО – 253 у.о відповідає рекомендованій нормі256 ± 3,3 у.о. [5]. Нижня межа отриманої нами норми для КБ 120 у.о дорівнюється нормальному значенню, що рекомендовано 123,5 ± 1,5 у.о. [6].

Цікаво порівняти отримані нами дані значень показників у сезонах із такими, що запропоновані авторами методів визначення МПО [5] та КБ [6]. У таблиці відображено результати порівняння.



$P_{1-3}<0,05$; $P_{2-3}<0,05$; $P_{4-3}<0,05$	$P_{1-2}<0,05$; $P_{1-3}<0,05$; $P_{2-4}<0,05$; $P_{3-4}<0,05$

Рисунок 2 – Вплив сезонів року на стан активності МПО та рівня КБ у нейтрофілах периферичної крові осіб, що мешкають в умовах техногенного навантаження

Відповідно до даних таблиці, відмінності середньосезонних та середньо річних значень як МПО, так і КБ відрізняються з високим ступенем достовірності від рекомендованих авторами. Таким чином, при дослідженні

активності як МПО, так і КБ коректна оцінка отриманих даних можлива тільки з урахуванням значення показника в сезоні року.

Звертає увагу той факт, що в нашому регіоні активність ключового ферменту кисеньзалежного механізму деструкції бактерій нижча, а кисень-незалежного – вища при порівняні з даними літератури [5, 6]. Що це? Відображення адаптації систем до умов довготривалої дії несприятливих факторів навколишнього середовища, або преактивованого стану нейтрофілів у циркуляції, яке супроводжується емісією МПО із гранул нейтрофілів у плазму? Відповідь на це питання дуже важлива у світлі новітніх даних про роль МПО та КБ у патогенезі низки важких захворювань. Так, стало відома визначальна роль секретуємої активними нейтрофілами МПО у формуванні та прогнозах серцево-судинної [9–11], легеневої й онкопатології [12]. КБ нейтрофілів – антимікробні пептиди широкого спектра дії. Вони становлять більше 50% загального білка азурофільних гранул [4]. Бактерицидна дія КБ забезпечується їхньою здатністю зв'язуватися з негативно зарядженою мембраною збудника й змінювати її проникність. Крім того, КБ забезпечують організацію запалення, зв'язок клітинної та гуморальної ланки вродженого імунітету з такими адаптивного, стійкість людини до онкопатології та ВІЧ -1 [4–6].

У світі викладеного та отриманих нами даних перспективним напрямком подальших досліджень є паралельне визначення активності МПО та КБ у сироватці крові та нейтрофілах практично здорових та хворих мешканців із метою розробки доступних методів виявлення та прогнозування захворювань на серцево-судинні, легеневі та інші захворювання, яки є переважними в структурі захворювань та смертності в регіоні.

ВИСНОВКИ

1. Активність МПО та рівень КБ нейтрофілів протягом року змінюються періодично; величина періоду близька до 12 місяців.
2. Амплітуда коливань МПО в сезонах року не перевищувала 15 %, КБ – 20 %, тобто в межах норми слід уважати значення МПО, що дорівнюють 220 ± 33 у.о, КБ – 150 ±30 у.о.
3. Активність МПО та рівень КБ у сезонах року, крім зими, змінюються в протилежних напрямках: влітку максимум МПО відповідає мінімуму КБ.

4. Залежність стану активності МПО та рівня КБ нейтрофілів від сезону року потребує обов'язкового паралельного визначення цих показників у дослідній та контрольній групах.

ЛІТЕРАТУРА:

1. *Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999. – 605 с.*
2. *Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe // J. Leukoc. Biol. – 2005. – Vol. 77. – P. 598–625.*
3. *Zhang R., Brennan M.-L., Shen Z. et al. Myeloperoxidase Functions as a Major Enzymatic Catalyst for Initiation of Lipid Peroxidation at Sites of Inflammation // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277. – № 48. – P. 46116–46122.*
4. *Scott M.G. & Hancock R.E. Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in the immune system // Crit. Rev. Immunol. – 2000 – Vol. 20. – P. 407–431.*
5. *Хронобиология и хрономедицина. Руководство./ Под ред.Ф.И. Комарова. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.*
6. *Колесник (Майданова) Н.В. Активность ключевих ферментов пентозофосфатного пути обмена углеводов печени в условиях нормы и напряжения организма: Дис. д-ра біол. наук: 03.00.04.– Тюмень, 1980. – 309 с.*
7. *Пероксидаза (миелопероксидаза) (К.Ф. 1.11.1.7). Метод Грэхема – Кнолля http:/ www.primer.ru/manuals/cytology/cytochem.htm*
8. *Шубич М.Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего // Цитология. – 1974. – № 10. – С. 1321–1324.*
9. *Harder J., Glaser R., Schroder J.-M. Review: Human antimicrobial proteins effectors of innate immunity // J. Endotox. Res. – 2007. – Vol. 13. – P. 317–338*
10. *Hancock H. and Diamond G., The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defenses // Trends Microbiol. – 2000. – Vol. 8. – P. 402–410.*
11. *Kuivenhoven R. G. Schaub N. J., Wareham R. et al. Serum Myeloperoxidase Levels Are Associated With the Future Risk of Coronary Artery Disease in Apparently Healthy Individuals: The EPIC-Norfolk Prospective Population Study. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2007. – Vol. 50.– № 2. – P.159–165.*
12. *Mocatta J., Pilbrow A. P., Cameron V. A. Plasma Concentrations of Myeloperoxidase Predict Mortality After Myocardial Infarction // J. Am. Coll. Cardiol.– 2007. – Vol. 49. – № 20. – P. 1993–2000.*

13. *Formation of a Nonselective Nitric-Oxide Synthase Inhibitor // JPET. – 2006. – Vol. 318. – P.1044–1049.*

INFLUENCE OF A SEASON OF YEAR ON ACTIVITY MYELOPEROXIDASE AND A LEVEL OF CATIONIC PEPTIDES IN NEUTROPHILS OF A PERIPHERIC BLOOD OF PERSONS WHICH LIVE IN CONDITIONS OF A LONG TECHNOGENIC LOAD

N.V. Kolesnik, Z.S. Kachanova, N.V. Novosad, A.S. Ylovenko

With use of methods of cytochemistry seasonal dependence of activity myeloperoxidase (MPO) and a level of cationic peptides (CP) in neutrophils of a blood of men and women (342 persons) which live in conditions of a long technogenic load is installed; the maximum of activity MPO and a minimum of level CP are observed in the summer. The maximal amplitude of fluctuation MPO has made 15 %, CP – 20 %.

УДК: 577.27: 57.034:502.3 (477)

Колісник Н.В., Качанова Ж.С., Новосад Н.В., Яловенко А.С. Вплив сезону року на активність мієлопероксидази й рівень катіонних білків у нейтрофілах периферичної крові осіб, що мешкають в умовах тривалого техногенного навантаження // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2008. – Вип. 13, № 1. – С. 143–150.

З використанням методів цитохімії встановлена сезонна залежність активності мієлопероксидази (МПО) і рівня катіонних білків (КБ) у нейтрофілах крові чоловіків і жінок (342 особи), що проживають в умовах постійного техногенного навантаження; максимум активності МПО й мінімум рівня КБ спостерігаються влітку. Максимальна сезонна амплітуда коливання МПО склала 15%, КБ – 20%.

Бібл. 12. Табл.1. Рис. 2.