

# ИЗМЕНЕНИЕ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ ПРИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ОРГАНИЗМА КАК ФАКТОР РИСКА ХРОНИЧЕСКИХ ОБМЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Э.А. Юрьева<sup>1</sup>, доктор медицинских наук, профессор, В.С. Сухоруков<sup>1</sup>, доктор медицинских наук, профессор, А.Д. Царегородцев<sup>1</sup>, доктор медицинских наук, профессор, Е.С. Воздвиженская<sup>1</sup>, кандидат биологических наук, М.Н. Харабадзе<sup>1</sup>, кандидат медицинских наук, Н.Н. Новикова<sup>2</sup>, доктор физико-математических наук, М.В. Ковальчук<sup>2</sup>, доктор физико-математических наук, профессор, член-корреспондент РАН

<sup>1</sup>МНИИ педиатрии и детской хирургии МЗ РФ, Москва,

<sup>2</sup>Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

E-mail: nn\_novikova@crys.ras.ru

*В модельных экспериментах in vitro на упорядоченных белковых пленках установлено повышение лигандных свойств белковых молекул под действием токсикантов. В организме больных с эндогенной интоксикацией при обменной патологии также были обнаружены белки с высоким содержанием микроэлементов (Fe, Zn), удаляемые из организма с мочой как чужеродные соединения. У всех таких больных имелись признаки хронических воспалительных процессов. Представленные в данной работе результаты позволили сформулировать следующую концепцию: первичную роль в повреждении тканей в результате аутоагрессии играют модифицированные токсикантами белки с накопленными микроэлементами (Fe, Zn), повышающими перекисные процессы в тканях, что обуславливает хроническое аутоиммунное воспаление. Такой подход объясняет известное в литературе явление отложения белков (в частности, липопротеидов низкой плотности) и микроэлементов (Fe, Zn) в воспаленных сосудах, почках и легких при атеросклерозе.*

**Ключевые слова:** нарушение метаболизма, эндогенная интоксикация, микропротеины мочи, микроэлементы, аутоиммунное воспаление, атеросклероз, рентгенофлуоресцентный анализ в геометрии полного внешнего отражения

## MODIFICATION OF PROTEIN MOLECULES UNDER ENDOGENOUS INTOXICATION AS A RISK FACTOR OF CHRONIC METABOLIC DISEASES

E.A. Yurieva<sup>1</sup>, V.S. Sukhorukov<sup>1</sup>, A.D. Tsaregorodtsev<sup>1</sup>,

E.S. Vozdvizhenskaya<sup>1</sup>, M.N. Kharabadze<sup>1</sup>, N.N. Novikova<sup>2</sup>, M.V. Kovalchuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of pediatric and child surgery; <sup>2</sup>National research center «Kurchatov institute»

*The enhancement of ligand properties of protein molecules treated by toxic reagents has been revealed in model experiments in vitro on ordered protein films. In patients with endogenous intoxication caused by metabolic disorders there were also detected proteins with a high content of trace elements (Fe, Zn), that are excluded from the organism with urine as foreign compounds. In all such patients there were observed signs of chronic inflammatory processes. The presented results provide a basis of the following conception: the primary role in tissue damage resulted from the auto-aggression mechanism is played by modified proteins with accumulated trace elements (Fe, Zn), which aggravate the peroxide processes in tissues underlying chronic autoimmune inflammation. Such an approach explains the known in literature phenomenon of protein deposition (particularly low-density lipoproteins) and trace elements (Fe, Zn) in the inflamed blood vessels, kidneys and lungs in atherosclerosis.*

**Key words:** metabolic disorders, endogenous intoxication, urine microproteins, trace elements, autoimmune inflammation, atherosclerosis, total external reflection X-ray fluorescence analysis

## ВВЕДЕНИЕ

Интоксикация организма является неоспоримым фактором и следствием нарушения обменных процессов [1, 2, 4]. К обменным болезням относятся такие жизнеугрожающие заболевания, как атеросклероз, фиброзирующие процессы, метаболический синдром, малокровие, хронические

аутоиммунные и другие заболевания, в частности генетически обусловленные. В числе главных причин возникновения эндогенной интоксикации называют гипоксию и окислительный стресс, развивающиеся под воздействием внешних (стрессы, курение, лекарственные вещества, иммобилизация) и внутренних (нарушение функций митохондрий,

печени, почек) факторов. Основными признаками интоксикации считают показатели нарушения окислительно-восстановительных процессов в митохондриях: продукты анаэробного гликолиза, активные формы кислорода, продукты перекисного окисления липидов – ПОЛ (окисленные липопротеиды низкой плотности – ЛПНП, холестерин, триглицериды), накопление в крови мочевой кислоты и гомоцистеина [8, 10, 11, 24]. Кроме того, эндогенная интоксикация характеризуется нарушением активности многочисленных ферментов и функций транспортных белков, участвующих в обмене различных компонентов в организме.

Данные многих авторов свидетельствуют о критической роли эндогенной интоксикации в развитии сердечно-сосудистой патологии, в первую очередь атеросклероза; главенствующее место отводится гипоксии и ее последствию – окислительному стрессу [8–10, 20]. Увеличение в крови содержания активных форм кислорода, провоспалительных арахидонатов, мочевой кислоты, гомоцистеина и других метаболитов сопровождается изменением функции белков, эндотелия сосудов, эндокринных функций, детоксицирующей способности печени и почек. Особое значение для развития хронических инвалидизирующих и(или) жизнеугрожающих обменных болезней имеет длительное воздействие токсиканта даже в небольших дозах [1, 4]. При хронических воздействиях эндогенных токсикантов и ксенобиотиков могут развиваться специфические процессы, которые способны изменять генетический код клетки (генотоксичность) [12].

Помимо органических факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), в работах многих авторов подчеркивается важная роль микроэлементов в воспалительном процессе в сосудах и других тканях (почки, легкие) [15, 17, 18]. Одной из ключевых проблем в патогенезе атеросклероза является вопрос о причинах накопления микроэлементов в воспаленных сосудах и их роли в образовании самих бляшек при атеросклерозе. Несмотря на многочисленные свидетельства накопления микроэлементов и их участия в патогенезе атеросклеротического воспалительного процесса, триггерные механизмы нарушения микроэлементного состава в эндотелии поврежденных сосудов и в атеросклеротических бляшках не вполне ясны. Не установлены механизмы повреждения белковых молекул и скопления микроэлементов в очагах асептического воспаления (эндотелий сосудов).

Изучение воздействия токсикантов на организм человека и животных, а также выявление закономерностей, развивающихся при этом патологических процессов, не теряет своей актуальности еще и потому, что перечень вновь открываемых химических соединений эндогенного и экзогенного происхождения постоянно увеличивается.

#### Исследования молекулярных механизмов взаимодействия ксенобиотиков с белками в модельных экспериментах

В проведенных нами на источниках синхротронного излучения (ESRF, Франция и КИСИ, Россия) модельных исследованиях было установлено, что в результате конформационных перестроек, вызванных действием различных неблагоприятных факторов, значительно увеличивается способность белковых молекул связывать ионы металлов [5, 6]. В этих экспериментах метод стоячих рентгеновских волн был применен для изучения элементного состава и молекулярной организации упорядоченных белковых пленок на основе ферментов: щелочная фосфатаза, глюкозооксидаза, гемоглобина, альбумина. Выполненные в этих работах измерения позволили выявить существенные изменения элементного состава белковых пленок при обработке белка слабым раствором мочевины (0,09 М), растворами солей свинца и хрома ( $10^{-6}$ – $10^{-4}$  М), а также при длительном хранении раствора белка.

Полученные данные можно объяснить увеличением доступности адсорбционных центров при изменении конформации белковых макромолекул под действием повреждающих факторов. Так, при длительном хранении раствора белка при комнатной температуре белковые макромолекулы диссоциируют на отдельные субединицы. При этом открывается контактный участок, который стабилизирует белковую макромолекулу. Эти конформационные изменения приводят к тому, что становятся стерически доступными аминокислотные остатки с функциональными группами, которые обладают высокой способностью координировать ионы металлов и могут образовывать комплексы с ионами металлов при низком содержании этих ионов в субфазе (не выше  $10^{-7}$  М). Повышение адсорбционной способности белковых молекул после обработки раствором мочевины, по-видимому, объясняется тем, что в результате действия мочевины происходит разрушение поверхностной структуры белка («расплавленная глобула»). На поверхности «расплавленной глобулы» появляется большое количество аминокислотных остатков, способных связать присутствующие в растворе ионы металлов.

Результаты, полученные в модельных экспериментах на белковых пленках, послужили основанием для предположения об изменении элементного состава белков, модифицированных эндотоксинами, которые накапливаются в организме при различных хронических обменных заболеваниях. Для проверки данного предположения в настоящей работе проведены исследования микроэлементного состава белков, выделенных из суточной мочи детей и подростков с наследственными и приобретенными неинфекционными заболеваниями. Кроме того, были выполнены измерения микроэлементного состава сосудов лабо-

раторных животных с экспериментально воспроизведенным атеросклерозом, а также исследования аутопсийного материала.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

### Обследование детей и подростков

Обследованы 340 детей и подростков с наследственными и приобретенными неинфекционными заболеваниями (кардиомиопатией, рахитоподобными заболеваниями, синдромом Элерса–Данло, несовершенным остеогенезом, тубулопатиями, задержкой психического развития и др.) во время лечения в НИИ педиатрии и детской хирургии. Группу сравнения составили 9 практически здоровых детей из семей без наследственных и приобретенных хронических заболеваний.

*Определение элементного состава белковых препаратов.* Для анализа отбирали 1/500 часть суточного количества мочи и разводили ацетоном в соотношении 1:2. Полученную смесь центрифугировали в течение 5 мин при 1,5–2 тыс. об/мин для освобождения от клеток и солевых примесей. Осажденный белок гидролизovali в 35 н азотной кислоте (0,1 мл). Аликвоту раствора 5 мкл наносили на подложки (кварцевые диски). Нанесенные на подложки образцы высушивали при комнатной температуре. Экспериментальные измерения выполнены с помощью метода рентгенофлуоресцентного анализа в геометрии полного внешнего отражения на лабораторном рентгеновском спектрометре PICOFOX S2 (Bruker).

При исследовании элементного состава надосадочной жидкости после осаждения белков и цен-

трифугирования, а также состава самих белков установлено отсутствие содержания микроэлементов в надосадочной жидкости, но они выявлялись практически полностью в осажденных микропротеинах.

*Электрофоретический анализ микропротеинов мочи.* Выделенные микропротеины мочи разделяли с помощью электрофореза в агаровом геле («Serba»). Согласно полученным данным, основной белковой фракцией в большинстве случаев являются альбумин, а также белки, относящиеся к фракции β-глобулинов, в которую входят, в частности, ЛПНП и трансферрины, т.е. транспортные белки (табл. 1).

*Биохимические исследования крови и мочи проводили с помощью стандартных наборов фирмы HUMAN и измеряли на биохимическом комбайне KONELAB.* Фиксировали признаки эндогенной интоксикации. Определяли содержание в крови лактата и пирувата по методу [14], исследовали активность ферментов пуринового обмена в краткосрочной и длительной культуре лимфоцитов крови для определения активности ферментов пуринового обмена в присутствии 6-тиогуанина [12].

### Исследования на лабораторных животных

Использовано 100 белых беспородных половозрелых крыс-самцов (300–350 г). Атеросклероз в эксперименте воспроизводили с помощью диеты, обогащенной холестерином (1%), субтоксических доз витамина D (75 тыс. ИЕ в течение 3 дней через зонд в желудок) и вживленной лески в грудной отдел аорты на 14 сут [13].

*Определение элементного состава сосудов.* Ткани сосудов лабораторных животных гидролизovali с

Таблица 1

МИКРОПРОТЕИНЫ МОЧИ, МИКРОЭЛЕМЕНТЫ БЕЛКОВ СУТОЧНОЙ МОЧИ ДЕТЕЙ С НАСЛЕДСТВЕННОЙ И ВРОЖДЕННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Показатель	Контроль (n=7)	ССЗ (n=29)	ЭД (n=14)	РПЗ (n=10)	НОГ (n=8)	ЗПР (n=7)	ТУБ (n=8)	Нефрологическая патология (n=15)
Белок мочи, мг/сут	69±6	137±14	116±11	150±10	63±5	195±20	102±10	250±10
αβ-Глобулин, %	14±1	20±2	17±1,5	0,4±0,01	2,9±0,2	29±3	—	25±2
Альбумин, %	68±7	67±6	70±6	90±10	80±9	50±5	—	56±5
γ-Глобулин, %	18±2	13±1	13±1	10±1	17±2	17±2	—	19±2
Fe, мг/сут	0,11±0,001	0,30±0,01	0,42±0,01	0,53±0,01	0,21±0,01	0,23±0,005	0,73±0,01	2,15±0,01
Zn, мг/сут	0,2±0,001	0,5±0,01	0,55±0,01	0,65±0,01	0,48±0,01	0,49±0,01	0,5±0,01	3,5±0,005
K, мг/сут	33±3	50±4	41±4	18±1	23±2	19±2	16±1	43±4
Ca, мг/сут	13±1	29±3	40±3	17±1	23±2	7,3±0,7	27±2	34±3
P, мг/сут	57±5	63±5	70±5	40±1	56±6	32±3	37±3	11±1
S, мг/сут	10±1	12±1	13±1	6,3±1	5±0,1	10±1	6±1	30±3

*Примечание.* ЭД – синдром Элерса–Данло, РПЗ – рахитоподобные заболевания, НОГ – несовершенный остеогенез, ЗПР – задержка психического развития, ТУБ – тубулопатии.

помощью концентрированной азотной кислоты из расчета 1:30 (г/мл). Экспериментальные измерения выполняли на лабораторном рентгеновском спектрометре PICOFOX S2 (Bruker).

*Биохимические исследования* сыворотки крови животных проводили с помощью стандартных наборов фирмы HUMAN и измеряли на биохимическом комбайне KONELAB.

#### Исследования аутопсийного материала

*Определение элементного состава* проводили в различных областях сосудов людей в возрасте 70–90 лет (n=14), умерших от ССЗ. Ткани сосудов гидролизовали с помощью концентрированной азотной кислоты из расчета 1:30 (г/мл). Экспериментальные измерения были выполнены на лабораторном рентгеновском спектрометре PICOFOX S2 (Bruker).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### Исследования детей и подростков

Согласно данным биохимических исследований, у всех обследованных пациентов выявлены признаки хронической интоксикации в крови: гипоксический синдром с активацией анаэробного гликолиза и накоплением его продуктов (лактата и пирувата), дисфункцией митохондрий, повышением продуктов ПОЛ, нарушением пуринового обмена, активацией щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы в крови, изменением лейкоцитарного индекса интоксикации, повышением экскреции с

мочой молекул средней массы. Указанные признаки эндогенной интоксикации медленно нарастали с возрастом параллельно с прогрессированием основного заболевания.

Помимо этого, у больных детей изучали показатели пуринового обмена, включая активность таких основных ферментов синтеза пуриновых нуклеотидов, как гипоксантин-гуанин фосфорибозилтрансферазы, аденозиндезаминазы (по показателям S-фазы митоза лимфоцитов), ксантиноксидазы, содержание продуктов активности анаэробного (гипоксического) гликолиза (лактата и пирувата), содержание в крови и в моче мочевой кислоты, а также суммы ксантин+гипоксантин в крови [12]. Известно, что мочевая кислота в организме действует наподобие челнока: в физиологических концентрациях (<0,25 мкмоль/л) выполняет антиоксидантную функцию, а в более высоких концентрациях проявляет прооксидантную активность и является маркером высокого риска атеросклероза [19, 20].

В табл. 2 приведены показатели обмена пуринов и эндогенной интоксикации при различной патологии у обследованных детей и подростков. Отмечены значительные изменения обмена пуринов у большинства детей. Снижение количества лимфоцитов в S-фазе клеточного деления косвенно свидетельствует о снижении активности аденозиндезаминазы, отмечается значительное увеличение количества лимфоцитов, дефицитных по гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазе (ГГФРТ) как результат

Таблица 2

ПОКАЗАТЕЛИ ПУРИНОВОГО ОБМЕНА У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Показатель	Норма	Патология				
		нефро-логическая	кардио-логическая	радиа-ционная	психоневро-логическая	генети-ческая
Средний возраст, годы	12	10	12,5	12	12	12
Мочевая кислота в крови, ммоль/л	0,2±0,01	0,22±0,01	0,33±0,01	0,25±0,02	0,30±0,015	0,31±0,02
Мочевая кислота/креатинин в крови	2,7±0,3	3,5±0,42	3,7±0,64	4,8±0,09	5,0±0,81	5,0±0,27
S-фаза митоза лейкоцитов крови, %	15–25	20,4±5,0	7,0±3,0	9,0±4,0	9,4±4,0	6,5±3,0
Количество лимфоцитов, дефицитных по ГГФРТ, • 10 <sup>-6</sup>	2,0±0,2 • 10 <sup>-6</sup>	3,02±0,2	50,0±4,0	3,39±0,2	15,62±8,0	17,33±8
Лактат в крови, мкмоль/л	1,0–1,7	2,8±0,11	2,8±0,4	1,4±0,6	2,4±0,82	2,3±0,4
Пируват в крови, мкмоль/л	0,05–0,09	0,13±0,02	0,15±0,02	0,07±0,001	0,17±0,02	0,17±0,01
Лактат/пируват	10–15	22±1,21	19±0,97	20±1,8	13±1,7	14±1,5
Ксантиноксидаза сыворотки, мкмоль/л/сек	90±10	229±19	327±28	238±18	323±29	385±31
Ураты мочи, ммоль/сут	2±3	4,2±1,01	4,7±0,65	5,06±1,01	3,9±0,5	3,0±0,23
Ураты /креатинин мочи	0,43±0,03	0,75±0,03	0,86±0,034	0,81±0,03	0,69±0,02	0,77±0,02
Оксалаты мочи, ммоль/сут	135±20	138±16	301±61	120±31	384±52	138±26
Ксантин+гипоксантин, ммоль/сут	0,25±0,02	0,5±0,04	0,53±0,066	–	0,41±0,01	0,4±0,02

генных мутаций в соматических клетках, особенно у детей с кардиомиопатиями, с характерным для них гипоксическим синдромом и накоплением продуктов анаэробного гликолиза — лактата и пирувата [7, 8, 10].

Как представлено в табл. 2, у всех обследованных отмечено увеличение в крови и моче содержания мочевой кислоты (критерий включения в исследование), повышение активности ксантиноксидазы (триггерного фермента перекисных процессов), снижение активности митоза лимфоцитов (снижение активности аденозин дезаминазы). Значительное снижение активности ГГФРТ по увеличению микроклонов лимфоцитов, дефицитных по данному ферменту, наиболее выражено у детей с кардиомиопатиями, как и увеличение содержания в крови предшественников мочевой кислоты — ксантина и гипоксантина. Все перечисленные измененные показатели являются эндогенными токсикантами, способными приводить к дальнейшему хроническому нарушению обменных процессов [1, 2, 9, 11, 12].

Экспериментальные исследования элементного состава белков, выделенных из суточной мочи детей и подростков с хроническими обменными заболеваниями, показали присутствие ионов металлов в исследованных образцах белков мочи: у всех обследованных детей была в 2–3 раза выше, чем в группе сравнения, экскреция с мочой низкомолекулярных белков, в 3–4 раза увеличено количество таких микроэлементов, как железо и цинк в составе этих белков (см. табл. 1).

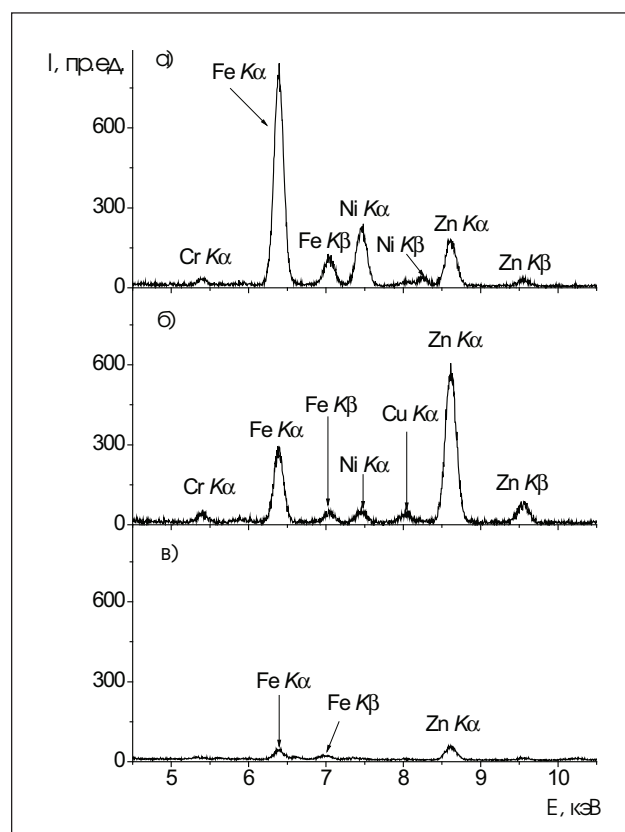
Типичные характеристические спектры флуоресцентного излучения приведены на рисунке [6]. Наглядное представление о различиях в микроэлементном составе белков мочи можно получить из сравнения спектров у детей с генетическими заболеваниями различной степени тяжести: на рисунке (а, б) представлены данные, касающиеся близких родственников — брата (6 лет) и сестры (8 лет) с синдромом Лоренса–Муна–Барде–Бидля (тяжелое генетическое заболевание, которое сопровождается прогрессирующим нарушением обменных процессов). Биохимический анализ мочи у этих детей выявил множественные признаки эндогенной интоксикации — снижение антиоксидантной защиты; повышение уровня фибриногена; увеличение экскреции с мочой средних молекул, перекисей липидов, гликозаминогликанов; признаки снижения биоэнергетики. На рисунке (в) представлены данные девочки, 4 лет, с синдромом олигофрении (задержка психомоторного развития, умственная отсталость без пороков развития органов и изменений в биохимических показателях мочи). Хорошо видно, что у детей с тяжелой генетической патологией, сопровождающейся выраженными обменными нарушениями (см. рисунок, а, б), в белковых препаратах присутствует достаточно большое количество ионов

железа и цинка. У ребенка с изолированным синдромом умственной отсталости без явных признаков нарушения обмена веществ железа и цинка в белковых препаратах оказалось значительно меньше (см. рисунок, в).

Представленные в этом разделе результаты исследований элементного состава микропротеинов мочи можно рассматривать как подтверждение гипотезы об увеличении адсорбционной способности белковых молекул, модифицированных под действием эндотоксикантов, накапливающихся в организме при обменных нарушениях.

#### Исследования лабораторных животных

Поиск эндогенных токсикантов осуществлен также в эксперименте на лабораторных животных как воспроизведенным атеросклерозом [13] как наиболее изученным хроническим обменным заболеванием: были исследованы признаки интоксикации в группах подопытных животных по сравнению с контролем, а также состав микроэлементов в по-



Характеристические спектры флуоресцентного излучения от микропротеинов, выделенных из суточной мочи у детей и подростков: а — с хроническими обменными заболеваниями различной степени тяжести; б — с тяжелыми генетическими заболеваниями; в — у ребенка с изолированным синдромом умственной отсталости

врежденных сосудах (аорта) в области вживленной лески. Основными изменениями в сыворотке крови по сравнению с контролем были: увеличение индекса токсичности по альбумину [3] на 10–20%, содержания малонового диальдегида на 20–25%, повышение активности ксантиноксидазы на 30–35%, щелочной фосфатазы на 50%, а также содержания триглицеридов на 30% и особенно мочевой кислоты – на 45–50%, что является достоверными признаками эндогенной интоксикации [1, 2]. В исследованиях микроэлементного состава сосудов было установлено 2–3-кратное увеличение содержания Fe, Cu, Ni, Cr, а также небольшое повышение цинка у подопытных животных в области лески с намечающейся липидной бляшкой в аорте. На ранней стадии атеросклероза в сосудах (аорта) содержание кальция изменялось только в области лески (в отличие от контроля), что согласуется с данными других авторов [18].

#### Исследования аутопсийного материала

Кроме того, был исследован микроэлементный состав различных областей аутопсийных атеросклеротических сосудов пожилых людей, умерших от ССЗ. Установлено, что в воспалительно измененных сосудах под бляшками в 1,5–2 раза увеличено содержание Fe и Zn по сравнению с таковым в соседних областях тех же сосудов и с содержанием в липидных бляшках. В самих бляшках выявлено резкое повышение содержания кальция и фосфатов (в 10–20 раз выше, чем в тканях сосудов). Представленные изменения могут быть результатом следующих процессов. Переокисленные липиды легко связываются с кальцием, образуя «кальциевые мыла», чем можно объяснить значительное увеличение содержания кальция в липидных бляшках по сравнению с таковым в находящихся под ними воспаленных тканях атеросклеротических сосудов [17]. Такую разницу в содержании кальция в атеросклеротических сосудах и бляшках отмечают и другие авторы [17, 18].

Молекула ЛПНП довольно рыхлая и неустойчивая, содержит до 70% липидов (холестерин, жирные кислоты, триглицериды); при окислении становится гидрофильной, отечной и еще более неустойчивой [21]. Логично предположить, что ее измененная конформация обуславливает «открытие» новых лигандных локусов, присоединяющих микроэлементы, и в первую очередь железо и цинк. Переокисленные липиды, высвобождаясь из молекулы ЛПНП, увеличивают количество циркулирующих липидов (холестерин, триглицериды и др.). Кроме того, переокисленные липиды оседают на поверхности эндотелия в виде липидных бляшек. Белковая часть переокисленной молекулы ЛПНП откладывается в интиме сосудов вместе с железом и цинком, что может послужить фактором риска локального повышения ПОЛ,

а также развития аутоиммунного воспалительного процесса. Распад молекулы ЛПНП облегчается дополнительным механическим воздействием – «ударом» струи крови об эндотелий дуги аорты или других крупных сосудов с высокой скоростью кровотока, где и обнаруживается наибольшее количество атеросклеротических повреждений эндотелия и образование липидных бляшек.

Таким образом, в условиях *in vivo* обнаружено, что различные неблагоприятные факторы – такие, как высокая концентрация естественных продуктов обмена веществ (мочевина, мочевой кислоты), молекулы средней массы и др., а также продукты анаэробного (гипоксического) гликолиза, активные формы кислорода и ПОЛ, гомоцистеин и другие токсиканты влияют на белковые молекулы, изменяя их лигандные свойства, в результате белковые молекулы приобретают способность захватывать микроэлементы. Такие молекулы становятся чужеродными для организма и выводятся из циркуляции разными путями – накапливаются в тканях (эндотелий, печень) либо экскретируются с мочой. В случае с одним из основных ферментов синтеза пуриновых нуклеотидов (ГГФРТ) эндогенная интоксикация приводит к мутации ее гена в соматических клетках с изменением (снижением) ее активности [12].

Важная роль микроэлементов в воспалительных процессах обсуждается во многих работах. Так, на примере атеросклероза и ИБС [16, 22, 26] показано накопление в сосудах микроэлементов (Fe, Zn, Cu) при атеросклеротических повреждениях. Окисленный ЛПНП в интиме действует как хемоаттрактант циркулирующих макрофагов и Т-клеток, является токсичным для многих типов клеток, включая эндотелиальные, и играет решающую роль в патогенезе атеросклероза. Макрофаги привлекаются в поврежденные области, где поглощают окисленные ЛПНП. В результате образуются «жирные полосы», представляющие собой важный признак хронического воспалительного процесса при атеросклерозе. В культуре клеток (макрофагов и гладкомышечных клеток) отмечено, что Fe и Cu являются важными катализаторами окисления ЛПНП [18]. Цинк накапливается в весьма умеренных количествах в атероммах, в отличие от гладких мышц сердца и сосудов. Считается, что Zn является кофактором супероксиддисмутазы и при атерогенезе играет роль антиоксиданта. При дефиците Zn возрастает содержание липидов и других атеросклеротических маркеров в сыворотке крови [15, 22, 26].

Отмечено также, что хелаторы железа снижают окисление ЛПНП [21, 22]. Роль Fe как потенциального фактора коронарной болезни сердца вызывает сомнение у отдельных исследователей, хотя все авторы сходятся во мнении, что Fe может участвовать в патогенезе атеросклероза в качестве катализатора

образования активных радикалов кислорода [15, 21]. Считается, что Fe-обусловленное ПОЛ вовлечено в этот процесс. Кроме того, в отдельных эпидемиологических исследованиях было показано, что высокое содержание Fe в организме положительно коррелирует с частотой коронарной болезни сердца в человеческой популяции [15, 16, 21]. Установлено [26], что умеренная анемия у кроликов на холестеринной диете снижает прогрессирование атеросклероза, что сочетается со снижением содержания Fe в поврежденных стенках аорты, и наоборот, при усилении повреждения содержание Fe повышается. Исследования показали [15, 23], что цинк жизненно необходим для клеток сосудистого эндотелия и его дефицит обуславливает тяжелое повреждение барьерной функции эндотелия. Антагонистическое действие цинка по отношению к прооксидантному Fe объясняют тем, что цинк, не являясь редокс-активным (восстановителем), не может действовать напрямую как антиоксидант, но может влиять опосредованно как непрямой антиоксидант через конкуренцию с прооксидантными металлами за стратегические связывающие сайты [15, 22, 23].

Накопление Fe в поврежденных атеросклерозом сосудах стало известно около 35 лет назад и, согласно «железной» гипотезе, Fe является неременным участником патологического процесса [25]. Железо участвует в перекисном окислении в месте его скопления, а снижение содержания Fe в эндотелии, циркуляции, макрофагах уменьшает риск локального перекисного повреждения сосудов и образования пенных клеток. Несмотря на наличие «железной» гипотезы в патогенезе атеросклеротического процесса, сохраняется неясность при ответе на вопрос о триггерных механизмах нарушения микроэлементного состава в эндотелии поврежденных сосудов и атеросклеротических бляшках.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, известны триггерные факторы развития хронической эндогенной интоксикации: стресс, гипоксия, иммобилизация, нарушение питания, ксенобиотики, курение. Известны эндогенные токсиканты, наиболее изученные при атеросклерозе: активные формы кислорода, гидроперекиси, окисленные ЛПНП, холестерин, триглицериды, повышенное количество мочевой кислоты, гомоцистеина. Известны наиболее повреждаемые токсикантами белки: альбумин, ЛПНП, трансферрин (транспортные белки), а также такие ферменты, как сукцинатдегидрогеназа и другие ферменты митохондрий, синтеза и деградации пуринов, обмена серосодержащих аминокислот, щелочная фосфатаза и даже мутация генов ГГФРТ в соматических клетках, не передающаяся по наследству. Не известен механизм повреждения белковых молекул и скопления микроэлементов в очагах асептического воспаления (эндотелий сосудов).

По нашему мнению, такое повреждение обусловлено структурными изменениями белковых молекул с раскрытием в них дополнительных лигандных локусов, которые способны захватывать микроэлементы (в основном железо и цинк), что делает белковую молекулу чужеродной иммунологически. Такие белки могут откладываться в тканях, становясь антигенами, с развитием воспаления на основе реакции антиген – антитело либо удаляются из организма. Железо, включенное в состав таких белков, усиливает перекисные процессы с дальнейшим повреждением тканей в местах их отложения.

Представленные в настоящей работе собственные и литературные данные позволяют сформулировать следующую концепцию патогенетических процессов, возникающих при хронической эндогенной интоксикации с развитием сердечно-сосудистой патологии:

- длительные токсические воздействия таких агентов, как эндогенные метаболиты, лекарственные препараты, экзогенные токсиканты на белковые (ферментные) молекулы изменяют их конформацию, снижают активность и функциональные, в частности, транспортные свойства;
- белковые молекулы с измененной конформацией активно присоединяют и прочно удерживают ионы микроэлементов, выключая их из обменных процессов;
- молекулы белков с инкорпорированными микроэлементами, становясь чужеродными, выводятся из организма либо откладываются в тканях;
- чужеродные молекулы белков с накопленными микроэлементами становятся антигенами и мишенью для иммунных систем с развитием воспаления на основе реакции антиген – антитело;
- посттоксическое выведение микроэлементов с измененными белками (особенно Fe и Zn) из обменных процессов создает угрозу развития дефицита этих микроэлементов и дополнительного осложнения течения болезни, в частности Fe в белковых антигенных структурах, может резко локально повышать риск перекисных процессов с образованием активных форм кислорода и липидных медиаторов воспаления.

В мировой литературе нарушения обменных процессов широко обсуждаются как патогенетические факторы риска атеросклероза без объяснения механизма обменного повреждения на молекулярном уровне, в чем состоит новизна выдвигаемой нами концепции: в обнаружении наиболее раннего пушкского механизма – структурно-функционального повреждения белковых молекул из-за эндогенных токсикозов при обменных болезнях в живых организмах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аксенова В.М., Старкова А.В. Диагностическая ценность определения уровня веществ средней молекулярной массы в плазме новорожденных детей // Перм. мед. журн. – 1998; 15: 25–28.
2. Афанасьева А.Н. Сравнительная оценка уровня эндогенной интоксикации у лиц разных возрастных групп // Клин. лаб. диагн. – 2004; 6: 11–13.
3. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. – М., Медицина, 1994. – С. 131–4.
4. Куценко С.А. Основы токсикологии. – СПб, 2004. – 750 с.
5. Новикова Н.Н., Ковальчук М.В., Степина Н.Д. и др. Спектрально-селективные рентгеновские методы для структурной диагностики упорядоченных биоорганических наносистем на поверхности жидкости // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2011; 9: 6–11.
6. Новикова Н.Н., Ковальчук М.В., Юрьева Э.А. и др. Возможность рентгенофлюоресцентных измерений в условиях ПВО для исследования молекулярных механизмов нарушения микроэлементного баланса в организме // Кристаллография. – 2012; 57 (5): 727–34.
7. Робинсон М.В., Труфакин В.А. Ферменты пуринового обмена в жизнедеятельности иммунокомпетентных клеток // Успехи совр. биол. – 1993; 113 (1): 82–94.
8. Сухоруков В.С., Николаева Е.А. Сб. «Нарушение клеточного энергообмена у детей». ООО АТЭС, Medica Soft. – М., 2004. – 79 с.
9. Титов В.Н. Экзогенные и эндогенные патологические факторы (патогенные) как причина воспаления // Клин. лаб. диагн. – 2004; 5: 3–10.
10. Царегородцев А.Д., Сухоруков В.С., Николаева Е.А. Коррекция метаболических нарушений при различных патологических состояниях у детей. – М., Медпрактика, 2006. – 87 с.
11. Щербак М.Ю., Синицын А.П. Современный взгляд на диагностику, классификацию, принципы формирования групп риска и подходы к лечению детей с «метаболическим синдромом» // Педиатрия. – 2010; 3: 123–7.
12. Юрьева Э.А., Раба Г.П., Воздвиженская Е.С. Показатели пуринового обмена у детей с различной соматической патологией. Деп. рук. – ВИНТИИ, 2012. – 43 с.
13. Юрьева Э.А., Сухоруков В.С., Мурашов А.Н. и др. Биохимические маркеры атерогенности и протективной активности ксидифона у экспериментальных животных // Бюлл. exper. биол. и медицины. – 2012; 153 (4): 445–8.
14. Юрьева Э.А., Длин В.В. Справочник детского нефролога. – 2007 Оверлей. – 250 с.
15. Abdelhaim M. Atherosclerosis can be strongly influenced by iron and Zn overload or deficiency in the lung and Kidney tissues of rabbits // African J. Microb. Res. – 2010; 4 (24): 2748–53.
16. Allen K. Diagnosis and management paradigms for hereditary hemochromatosis // Clin. Lab. Int. – 2011; 35: 14–8.
17. Debernardi N., Roijers R., Krams R. et al. Microcalcifications in atherosclerotic lesion of apolipoprotein E-deficient mouse // Int. J. Exp. Path. – 2010; 91: 485–94.
18. Gaida M., Banas K., Banas A. et al. Distribution of selected elements in atherosclerotic plaques of apoE/LDLR-double knockout mice assessed by synchrotron radiation-induced micro-XRF spectrometry // X-Ray Spektrom. – 2008; 37: 495–502.
19. Hayden M., Tyagi S. Uric acid: a new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus: the urate redox shuttle // Nutr. Meab. – 2004; 1 (10): 1–15.
20. Hayden M., Tyagi S. Homocysteine and reactive oxygen species in metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and atherosclerosis: The pleiotropic effects of folate supplementation // Nutr. J. – 2004; 3 (1): 4.
21. Lynch S., Frei B. Mechanisms of Cu and Fe-dependent oxidative modification of human LDL // J. Lipid Res. – 1993; 34 (10): 1745–53.
22. Jenner A., Ren M., Rajendran R. et al. Zinc supplementation inhibits lipid peroxidation and the development of atherosclerosis in rabbit fed a high cholesterol diet // Free Rad. Biol. Med. – 2007; 42: 559–66.
23. Rattazzi M., Bennett B., Bea F. et al. Calcification of Advanced Atherosclerotic Lesions in the Innominate Arteries of ApoE-Deficient Mice. Atherosclerosis // Thromb. vasc. Biol. – 2005; 25: 1420–4.
24. Skulachev V. How proapoptotic proteins can escape from mitochondria? // Free Radic Biol. Med. – 2000; 29: 1056–9.
25. Sullivan J. Do Hemochromatosis mutations protect against iron-mediated atherosclerosis? // Circ. Cardiovasc. Genet. – 2009; 2: 652–7.
26. Walt F., Rajendran R., Ren M. Sullivan A nuclear microscopy study of trace elements Cr, Fe, Zn and Cu in atherosclerosis // Nuclear estrum. and methods in physics Research. – 2006; 249 (1–2): 646–52.