

УДК 616.7-007.2-092.4:[577.3:532.11

Гидростатическое давление как пусковой механизм развития дегенеративно-дистрофических изменений в костно-мышечной системе (медицинская гипотеза)

Л. И. Донченко

НИИ травматологии и ортопедии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького. Украина

Ключевые слова: высокое гидростатическое давление, активность ферментов

Введение

Проблема патогенеза заболеваний, следствием которых является развитие дегенеративно-дистрофических процессов в костно-мышечной системе остается актуальной, несмотря на огромный клинический и экспериментальный материал, накопленный в области ортопедии, биомеханики, морфологии, иммунологии и биохимии. На наш взгляд, это обусловлено недостатком информации относительно механизмов, запускающих развитие дегенеративно-дистрофических процессов.

Не претендуя на окончательное решение данной проблемы, предлагаем гипотезу, где в качестве одного из пусковых механизмов развития дегенеративно-дистрофических процессов в костно-мышечной системе рассмотрим эффекты гидростатического давления. Суть гипотезы состоит в том, что повышенное гидростатическое давление приводит к нарушению проницаемости мембран клеток и ионных насосов путем изменения активности связанных с мембранами Mg-АТФазы и Na-K-АТФазы, в результате чего снижается интенсивность клеточного метаболизма и изменяется рН клетки. Для возврата в состояние физиологической нормы необходима дополнительная энергия, которую можно получить в результате активации макрофагов, т. е. воспалительной реакции, приводящей к изменению локального микроокружения кости и условий для дифференцировки клеток (остеобластов и остеокластов). В случае неадекватной воспалительной реакции дефицит энергии возрастает и приводит к клеточной дистрофии.

Для доказательства данной гипотезы использовали метод высокого гидростатического давления (ВГД) как термодинамического параметра воздей-

ствия на биологические объекты. Обоснованием избранного метода исследования явились эффекты ВГД, выявленные в течение последних 20 лет. Зарубежными учеными установлено, что ВГД действует по принципу Le Chatelier и его эффекты сопровождаются конформационными изменениями энзимов, фолдинга протеиновых структур, диссоциацией и ассоциацией олигомерных протеинов или вирусов, межмолекулярными взаимодействиями многих протеиновых комплексов [1–3]. ВГД может препятствовать тепловой денатурации белка и даже вызывать его ренатурацию после нагревания. Под действием ВГД большинство ферментов инактивируются, но для некоторых из них установлен и стимулирующий эффект ВГД [4, 5]. Накопленная информация относительно влияния ВГД на биологические объекты явилась основанием для использования его в модельных системах с целью изучения механизмов развития тех или иных процессов в медицине, биохимии, иммунологии, физиологии и т. д. В частности, в университете Манчестера метод ВГД был использован для доказательства ведущей роли гидростатического давления среди причин неудовлетворительных результатов эндопротезирования. Гипотеза состояла в том, что асептическое воспаление и остеолитический процесс вокруг протезных соединений — основная причина необходимости повторных хирургических вмешательств. Изменение давления вокруг имплантантов способствует активации макрофагов, продуцирующих цитокины, которые, в свою очередь, активируют образование остеоцитов и обуславливают остеолитический процесс. Для доказательства этой гипотезы была изучена *in vitro* экспрессия провоспалительных IL-1 β , IL-6, TNF- α моноцитами (CD 68)

после приложенного циклического давления в 0,0173 МПа (130 мм рт. ст.), 0,0345 МПа (260 мм рт. ст.), 0,0690 МПа (520 мм рт. ст.) и 0,138 МПа (1040 мм рт. ст.). В результате исследования авторы установили прямую зависимость между величиной приложенного давления и экспрессией моноцитами провоспалительных цитокинов. На следующем этапе исследования был показан синергический эффект циклического гидростатического давления и осколков имплантатов на синтез цитокинов моноцитами как основного фактора процесса остеолитического при нестабильности эндопротеза [6].

Метод ВГД также использовали для оценки влияния гидростатического давления на экспрессию цитокинов и белка теплового шока 70 в хондроцитах (HCS-2/8). Эффект гидростатического давления оценивали с помощью полимеразной реакции. Определяли РНК интерлейкина-1 β , основного фактора роста фибробластов, инсулиноподобного фактора роста-I, трансформирующего фактора роста бета-1 (ТРФ- β 1), а также белок теплового шока 70. При этом синтез протеогликанов оценивали с помощью меченого сульфата [³⁵S]. Авторы показали, что экспрессия мРНК ТРФ- β 1 усиливается после приложенного гидростатического давления в 5 МПа и сокращается после 50 МПа. Экспрессия белка теплового шока 70 увеличивается после воздействия на хондроциты давления в 50 МПа. Включение сульфата [³⁵S] в культуре клеток возрастало при давлении 1–5 МПа и уменьшалось при 10–50 МПа. Эти результаты показывают, что гидростатическое давление на физиологическом уровне способствует повышению экспрессии ТРФ- β 1 мРНК в дополнение к увеличению синтеза протеогликанов в хондроцитах. Чрезмерно высокое гидростатическое давление снижает экспрессию ТРФ- β 1 мРНК и увеличивает продукцию белка теплового шока 70 при уменьшении синтеза протеогликанов [7].

Полученные разными исследователями результаты не оставляют сомнений в том, что повышенное гидростатическое давление является необходимым условием развития воспалительной реакции, но механизм реализации его эффекта не изучен. На наш взгляд, ответ надо искать в изменениях клеточного метаболизма, в частности, активности ферментов под действием повышенного гидростатического давления.

Материал и методы

Сыворотку крови практически здоровых лиц подвергали действию гидростатического давления 0,0345 МПа в диапазоне 12,5–300 МПа. Время выдержки под давлением составило 10 мин. После

приложенного давления в сыворотке крови определяли активность следующих ферментов: амилазы, лактатдегидрогеназы, АСТ, АЛТ и креатинкиназы. Полученные результаты сравнивали с исходными данными.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что после приложенного давления в 0,0345 МПа (260 мм рт. ст.) активность амилазы в сыворотке крови возросла в среднем на 57,6 %, а активность АЛТ снизилась на 25,9 %. Существенных изменений активности АСТ в сыворотке крови при данном давлении не выявлено.

Активность лактатдегидрогеназы в сыворотке крови снижалась при 50 МПа и резко возрастала при 100 МПа. Максимальное повышение активности фермента отмечено при 200 МПа. Приложенное давление в 300 МПа обуславливало, по-видимому, нарушение структуры фермента и более низкую, чем при 200 МПа, его активность (рис. 1).

Установлено также, что гидростатическое давление в 50 МПа существенно снижает активность креатинкиназы. При более высоких давлениях (100–200 МПа) снижение активности фермента менее выражено, чем при 50 МПа, а при 300 МПа активность креатинкиназы резко возрастает, что, вероятно, также связано с изменением структуры фермента (рис. 2).

Полученные результаты свидетельствуют, что повышенное гидростатическое давление приводит к ускоренному гидролизу углеводов, что подтверждает увеличение активности амилазы. В то же время под влиянием давления снижается активность таких энергетических метаболитов, как АЛТ и лактатдегидрогеназа, что обуславливает уменьшение продукции энергии в митохондриальном цикле трикарбоновых кислот. Выявленный эффект снижения под действием ВГД активности креатинкиназы подтверждает снижение энергетического обмена

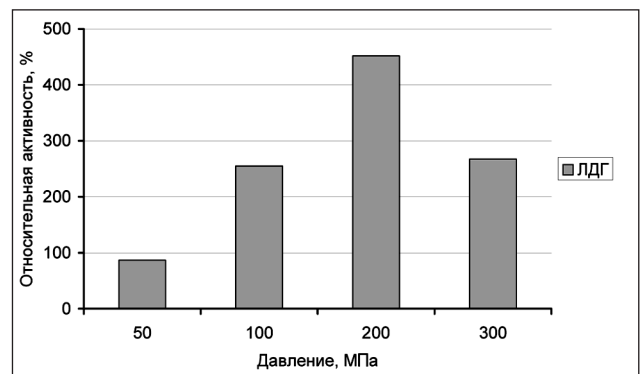


Рис. 1. Диаграмма изменения активности лактатдегидрогеназы (%) в зависимости от приложенного давления

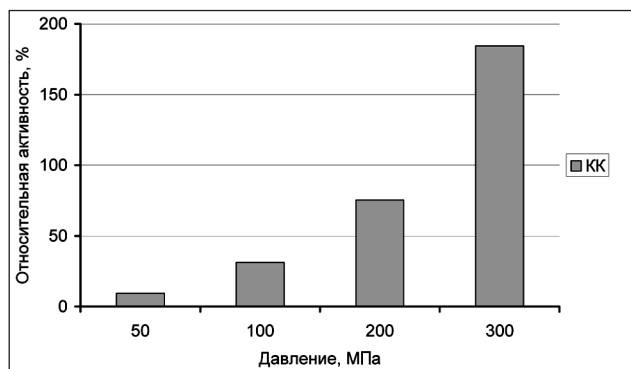


Рис. 2. Диаграмма изменения активности креатинкиназы (%) в зависимости от приложенного давления

в мышечной ткани. Такие изменения клеточного метаболизма возможны вследствие нарушения под действием ВГД текучести клеточной мембраны. Ранее нами было установлено, что ВГД снижает активность Mg-АТФазы в эритроцитах периферической крови [8], что может свидетельствовать о снижении выработки энергии клеткой. Следует отметить, что описание механизма инактивирующего влияния высокого давления на производство АТФ клеткой встречается в ряде работ. При этом авторы отмечают, что изменения метаболизма клеток под влиянием гидростатического давления сопровождается сдвигом рН клетки в кислую сторону [9]. Следовательно, можно полагать, что тем самым создаются условия для повышенной продукции остеокластов и активации процессов резорбции костной ткани.

Вывод

Таким образом, патогенетическая роль высокого гидростатического давления в развитии дегенеративно-дистрофических процессов заключается в снижении темпа метаболизма клетки, что ведет к ее дистрофии, а в случае чрезмерного давления — к гибели. И, вероятно, как реакцию компенсации энергодефицита можно рассматривать активацию

асептического воспаления путем экспрессии моноцитами провоспалительных цитокинов.

Исходя из вышеизложенного, можно полагать, что даже незначительное повышение гидростатического давления в области суставов, связанное с травмой или хронической патологией органов брюшной полости (нефропатия, аднексит, фиброма и т. д.), может явиться пусковым механизмом развития дегенеративно-дистрофических процессов. Но этот вопрос еще требует дальнейших исследований.

Список литературы

- Smeller L. Refolding studies using pressure. The energy landscape of lysozyme in the pressure-temperature plane *Biochim Biophys / L. Smeller, F. Meersman, K. Heremans // Acta Proteins Proteomics.* — 2006. — Vol. 1764. — S. 497–505.
- Smeller L. Protein folding, unfolding and aggregation. Pressure induced intermediates states on the refolding pathway of horseradish peroxidase / L. Smeller, J. Fidy, K. Heremans // *J. Phys. Cond. Matt.* — 2004. — Vol. 16. — S. 1053–1058.
- Torrent J. Potentialities in High Pressure Bioscience / J. Torrent, C. Balni: 4th High Pressure School on Chemistry, Biology, Materials Science and Techniques «High Pressure effects in Chemistry, Biology and Materials Science» (Warsaw, Poland, 22–25 June 20114). — Warsaw, 2001. — P. 25–35.
- Osvath S. Thermodynamics and Kinetics of the Pressure Unfolding of Phosphoglycerate Kinase / S. Osvath, L. M. Quynh, L. Smeller // *Biochemistry.* — 2009. — Vol. 48. — P. 10146–10150.
- Donchenko L. I. Change of Activity of Blood Serum Transferases after High Hydrostatic Pressure Treatment / L. I. Donchenko, N. V. Shishkova, V. I. Barbashov: 4th High Pressure School on Chemistry, Biology, Materials Science and Techniques (Warsaw, Poland, 22–25 June 2001). — 2011. — P. 59–62.
- Synergistic effect of particles and cyclic pressure on cytokine production in human monocyte/macrophages: proposed role in periprosthetic osteolysis / A. McEvoy, M. Jeyam, G. Ferrier et al. // *Bone.* — 2002. — Vol. 30, № 1. — P. 171–177.
- Hydrostatic pressure Influences-RNA expression of transforming growth factor-1 β and heat shock protein 70 in chonrocyte-like cell line / K. Takahashi1, T. Kubo1, K. Kobayashi, J. Imanishi // *J. Orthopaedic Res.* — 1997. — Vol. 15. — P. 150–158.
- Pressure modulating effect on ATP-ase activity / N. Shishkova, L. Donchenko, V. Barbashov et al.: E-MRS 2003 Fall Meeting (15–19 September 2003). — 2003. — P. 255–256.
- Smelt J. P. P. M. Possible mechanism of high pressure inactivation of microorganisms / J. P. P. M. Smelt, A. G. F. Rijke, A. Hayhurst // *High Pressure Research.* — 2005. — Vol. 12. — P. 199–203.