

## Защитные свойства рекомбинантного человеческого белка теплового шока 70 при моделировании грамположительного сепсиса у крыс

В.Ф.Остров<sup>1</sup>, М.Б.Евгеньев<sup>2</sup>, А.Н.Мурашев<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> – Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, Пущино

<sup>2</sup> – Институт молекулярной биологии Энгельгардта РАН, Москва

<sup>3</sup> – Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва

Несмотря на достижения современной науки, септический шок остается одной из главных причин смерти пациентов в палатах интенсивной терапии [5]. Следует отметить, что только в США ежегодно регистрируют сепсис примерно у 750,000 пациентов, и почти каждый третий такой случай заканчивается летальным исходом [3]. Это свидетельствует об отсутствии в настоящее время в клинической медицине средств эффективной борьбы с сепсисом.

Сепсис развивается при проникновении в системный кровоток больших количеств бактерий. Примерно в 50% случаев причиной сепсиса являются грамположительные бактерии, из которых наиболее часто в микрофлоре пациентов доминирует *Staphylococcus aureus* [4].

Ведущим звеном патогенеза являются компоненты клеточной стенки бактерий – пептидогликан, тейхоевые, тейхуроновые и липотейхоевые (ЛТК) кислоты. При проникновении в системный кровоток ЛТК связываются с TLR-2 на поверхности моноцитов, нейтрофилов и некоторых других клеток. Запускается синтез и секреция в кровь воспалительных цитокинов, физиологические эффекты которых во многом определяют клиническую картину сепсиса.

Перспективным направлением поиска средств защиты от сепсиса являются белки теплового шока с молекуляр-

ной массой 70 кДа (БТШ70), которые являются универсальным средством защиты клетки от стресса. Известно, что БТШ70 *in vitro* также способны связываться с Toll-like рецепторами. Ранее нами были показаны защитные свойства БТШ70 при моделировании грамотрицательного сепсиса [1]. Предполагается, что эти стресс-белки могут проявлять эти свойства и при грамположительном сепсисе.

**Цель.** Изучить защитные свойства рекомбинантного человеческого БТШ70 при экспериментальном грамположительном сепсисе у крыс.

### Материалы и методы

Эксперименты выполнены на бодрствующих самцах крыс Sprague-Dawley массой тела 300-350 г. Животные содержались в стандартных условиях и получали корм и воду *ad libitum*. Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с протоколом, утвержденным институтской комиссией по контролю над содержанием и использованием лабораторных животных.

Крысам под наркозом имплантировали полиэтиленовые катетеры в яремную вену (для введения веществ) и сонную артерию (для регистрации параметров гемодинамики). Эксперименты проводились спустя 24 часа после хирургической операции.

Сепсис моделировали внутривенным введением ЛТК из *S. aureus* в дозе 2 мг/кг [5]. БТШ70 вводили внутривенно в дозе 266 мкг/кг за 10 минут до ЛТК. Все растворы для введений готовили на основе стерильного 0,9% раствора NaCl. Объем введения веществ составлял 1 мл/кг.

Во время эксперимента артериальный катетер соединяли с электроманометром для регистрации гемодинамики. С помощью компьютеризированной установки регистрировали среднее артериальное давление (ср.АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) непрерывно в течение 30 минут в исходном состоянии и в течение 5 часов после введения ЛТК. Забор крови для определения пара-

Для статистической оценки данных гемодинамики использовали тест Краскела-Уоллиса. Для межгрупповых различий использовали тест Манна-Уитни, а для внутригрупповых – Уилкоксона. При сравнении выживаемости животных применяли тест хи-квадрат. Различия считали статистически значимыми при  $P < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Внутривенное введение БТШ70 за 10 минут до ЛТК из *E.coli* статистически не отличается от контрольной группой с 0,9% NaCl и достоверно отличается от группы с ЛТК.

Таблица

**Выживаемость животных в эксперименте при внутривенном введении: 0,9% NaCl, ЛТК и БТШ70**

Группа	Кол-во животных в группе	Кол-во выживших животных в группе	Процент выживаемости в группе, %
0,9% NaCl	10	10	100
ЛТК	10	5	50*
БТШ70	10	9	90 #

*Примечание:* # -  $P < 0,05$  по тесту хи-квадрат относительно группы ЛТК;

\* -  $P < 0,05$  по тесту хи-квадрат относительно группы 0,9% NaCl.

метров гемостаза и биохимии крови осуществляли в трех временных точках: до введения веществ, через 20 минут и через 5 часов после введения ЛТК. Определяли АЧТВ, протромбиновое время, концентрацию фибриногена и время фибринолиза, а также глюкозу, общий белок, альбумин, триглицериды, креатинин, билирубин. Кроме того, регистрировали выживаемость животных в течение 72 часов после введения ЛТК.

Статистический анализ проводили с помощью программы «STATISTICA».

В то время проведенные исследования параметров гемодинамики, гемостаза и биохимии крови показали защитные эффекты БТШ70. В группе, где животные получали ЛТК, отмечали характерную гипотензию, развитие синдрома ДВС, а также изменение биохимических показателей, характерное для полиорганной недостаточности. В группе, где животные получали БТШ70, не было обнаружено подобного изменения изучаемых параметров.

**Выводы**

Таким образом, однократное внутривенное БТШ70 за 10 минут до ЛТК предотвращает развитие грамположительного сепсиса. По-видимому, это связано со способностью БТШ70 за счет своей шаперонной активности связывать амфифильные молекулы ЛТК. Однако, спорным и до конца неизученным остается вопрос взаимодействия БТШ70 с TLR-2 и конкурирования с молекулами ЛТК за связывание с этими рецепторами. Несмотря на то, что точный механизм действия остается неизвестным, БТШ70 являются перспективными фармакологическими агентами для борьбы с септическими патологиями.

**Список литературы**

1. *Остров В.Ф., Слащѐва Г.А., Жармухамедова Т.Ю., Гарбуз Д.Г., Евгенийев*

*М.Б., Мурашев А.Н.* Влияние рекомбинантного человеческого белка теплового шока HSP70 на биохимические параметры крови при моделировании эндотоксического шока у крыс // *Биоорганическая химия*, том 36, №3, 337-342, 2010.

2. *Parrillo J.E.* Pathogenetic mechanisms of septic shock // *N Engl J Med.* 1993; 328(20): 1471-7.

3. *Riedemann N.C., Guo R.F., Ward P.A.* The enigma of sepsis // *J Clin Invest.* 2003; 112(4): 460-7.

4. *Solomkin J.S.* Antibiotic resistance in postoperative infections // *Crit Care Med.* 2001; 29(4): 97-9.

5. *Kengatharan K.M., De Kimpe S., Robson C., Thiemermann C.* Mechanism of gram-positive shock: identification of peptidoglycan and lipoteichoic acid moieties essential in the induction of nitric oxide synthase, shock, and multiple organ failure // *J Exp Med.* 1998; 188(2): 305-15.

**Гепатопротекторное воздействие препарата «Неамон-хера» при индуцированном токсическом гепатите**

**Б.И.Парий, М.П.Тодираш, С.Б.Парий, Л.Г.Руснак, В.В.Валика, М.А.Тома-Кожокару, Л.М.Цуркану**

*Научный Центр исследования лекарств при Государственном университете медицины и фармации, им. Н.Тестемицану, Кишинев, Республика Молдова*

Заболевания печени занимают одно из ведущих мест по летальности среди населения Республики Молдова, в частности смертность от осложнений цирроза печени в 2-3 раза выше чем в сопредельных государствах. В целом, ассортимент лекарственных средств, применяемых в комплексной фармакотерапии заболеваний печени многообразен. Широкое применение получили витаминные препараты, флавоноиды, индукторы

ферментной системы печени, ингибиторы перекисного окисления липидов. Однако, гепатопротекторов сравнительно немного, все они импортного производства и не одно из них не удовлетворяет клиницистов в полной мере.

Комбинированные лекарственные препараты обладают серией положительных свойств, например, повышенная терапевтическая эффективность благодаря аддитивным и синергическим воз-