



УДК 577.27+616.12

© 2012

Ю. Ю. Кондратюк, В. І. Бобик, Д. В. Рябенко, Л. Л. Сидорик,
член-кореспондент НАН України О. І. Корнелюк

**Аналіз змін рівня аутоантитіл проти тирозил-тРНК
синтетази в динаміці розвитку серцевої недостатності
у модельних тварин з індукованими дилатаційною
кардіоміопатією та міокардитом**

Досліджено зміни рівня специфічних аутоантитіл проти тирозил-тРНК синтетази та її окремих модулів у сироватці крові модельних мишей в динаміці розвитку різних фаз експериментальної серцевої недостатності. Виявлено підвищення титрів специфічних аутоантитіл до повнорозмірної тирозил-тРНК синтетази, її каталітичного N-кінцевого модуля та некаталітичного C-модуля в сироватці крові модельних мишей порівняно з цим же показником у контрольних тварин. Одержані результати свідчать про можливу роль тирозил-тРНК синтетази та її окремих модулів як аутоантигенів при розвитку серцевої недостатності.

У наш час хронічна серцева недостатність є серйозною медико-соціальною проблемою, яка істотно впливає на структуру захворюваності і смертності в економічно розвинутих країнах, а також в Україні. Так, дана патологія уражує в середньому 1–2% популяції, а осіб старше 65 років — від 6 до 17%. Незважаючи на значні досягнення в лікуванні серцево-судинних захворювань, поширення серцевої недостатності не лише не знижується, але і має тенденцію до неухильного збільшення та однаково залишається одним з найпоширеніших захворювань з прогностично несприятливим результатом. Деякою мірою це пов'язано зі старінням населення розвинутих країн світу. Очікується, що в найближчі 20–30 років захворюваність на серцеву недостатність може зрости до 40–60% [1].

Особливу увагу при вивченні механізмів виникнення та прогресування серцевої недостатності привертають різні види кардіоміопатій, серед яких найпоширенішою є дилатаційна кардіоміопатія (ДКМП). Етіологія захворювання не є остаточно встановленою. Показано, що значну роль в патогенезі даного стану відіграють аутоімунні механізми. Так, при ДКМП виявлені аутоантитіла проти β_1 -адренорецепторів, мітохондріального М-7 антигену та аденін-нуклеотидного транслокатора, ацилдегідрогенази розгалуженої кетокислоти, АТФази кальцієвих каналів, мускаринового рецептора ацетилхоліну-2, міозину, тропоміозину, тропонінів [2, 3]. Відомо, що компоненти білоксинтезуючого апарату клітини можуть залучатися до процесів виникнення та розвитку багатьох хвороб. Нашу увагу приверну-

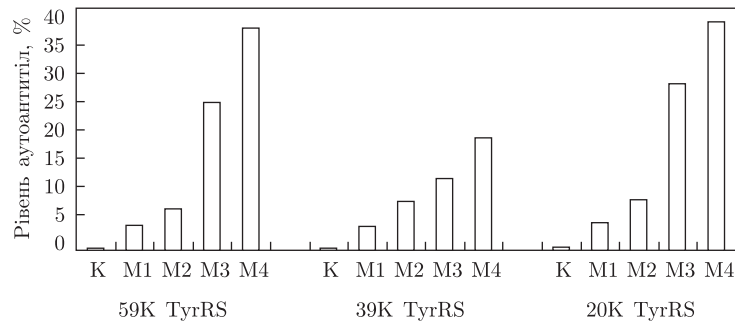


Рис. 1. Рівень аутоантитіл проти тирозил-тРНК синтетази, її N-кінцевого каталітичного та С-кінцевого некаталітичного модулів у сироватці крові мишей з індукованим захворюванням, подібним до міокардиту людини. К — контрольна група; M1, M2, M3, M4 — відповідно 1, 2, 3, 4 міс. після індукції міокардиту

ли аміноацил-тРНК синтетази, ключові ферменти дорибосомного етапу біосинтезу білка, які, завдяки притаманним їм неканонічним функціям, пов'язані з етіологією деяких захворювань, включаючи ракові, неврологічні патології, аутоімунні захворювання, порушення метаболізму [4–6]. У людей з різними захворюваннями виявляються аутоантитіла проти гістидинової, треонінової, аспарагінової, аланінової, ізолеїцинової, гліцинової, тирозинової, фенілаланінової, триптофаної тРНК синтетаз [7–9].

Вивчення молекулярних та клітинних механізмів серцевої недостатності є складним завданням з огляду на доступність патоморфологічного матеріалу. Також складно, а то й неможливо простежити зміни, які відбуваються в організмі від моменту виникнення захворювання і до його прогресії. При вирішенні цієї проблеми доцільним є використання адекватної моделі розвитку даної патології. Метою нашого дослідження було виявлення змін рівнів аутоантитіл проти тирозил-тРНК синтетази (59K TyrRS) та її окремих N-кінцевого каталітичного (39K TyrRS) і С-кінцевого некаталітичного (20K TyrRS) модулів у сироватці крові мишей в динаміці індукованих захворювань, подібних до ДКМП та міокардиту людини.

Матеріали та методи. Рекомбінантні білки (59K TyrRS, 39K TyrRS, 20K TyrRS) отримували за стандартною методикою з деякими модифікаціями [10].

Тваринні моделі експериментальних захворювань створено в лабораторії молекулярних механізмів аутоімунних процесів Інституту молекулярної біології і генетики НАН України [11]. Тварини були поділені на групи залежно від фази експерименту: через 1, 2, 3 та 4 місяці після індукції захворювань.

Рівень специфічних аутоантитіл визначали за допомогою методу твердофазного імуноферментного аналізу за стандартною методикою [12].

Результати та їх обговорення. При дослідженні зразків сироватки крові методом ELISA з використанням рекомбінантних білків як антигенів виявилось, що антитіла, здатні впізнавати тирозил-тРНК синтетазу та її модулі, присутні в крові мишей з індукованим захворюванням, подібним до ДКМП та міокардиту людини. Рівень аутоантитіл проти всіх форм ферменту у здорових тварин практично не змінювався в зазначеному часовому проміжку. Тому на рис. 1, 2 подано узагальнені значення контрольних показників.

Виявлені зміни рівнів аутоантитіл проти тирозил-тРНК синтетази, її N-кінцевого каталітичного, С-кінцевого некаталітичного модулів та їх відносний приріст при індукованому міокардиті у мишей наведено на рис. 1.

Як видно з рисунка при міокардиті у модельних тварин має місце підвищення титрів аутоантитіл проти тирозил-тРНК синтетази та її окремих модулів. При цьому відмічається

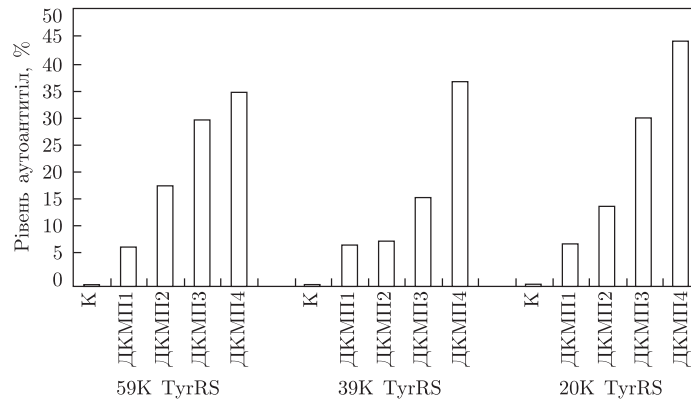


Рис. 2. Рівень аутоантитіл проти тирозил-тРНК синтетази, її N-кінцевого каталітичного та С-кінцевого некаталітичного модулів у сироватці крові мишей з індукованим захворюванням, подібним до дилатаційної кардіоміопатії людини. К — контрольна група тварин; ДКМП1, ДКМП2, ДКМП3, ДКМП4 — відповідно 1, 2, 3, 4 міс. після індукції ДКМП

збільшення їх рівня проти всіх форм білка та їх відносний приріст у динаміці захворювання. Так, протягом перших двох місяців хвороби спостерігалось незначне підвищення рівня аутоантитіл як проти повнорозмірної тирозил-тРНК синтетази, так і проти її N-кінцевого каталітичного та С-кінцевого некаталітичного модулів (від 3,9 до 8,3%). На третій місяць хвороби відбувалося стрімке зростання цього показника для цілого білка (24,4%) та його С-модуля (27,4%). Четвертий місяць захворювання характеризувався продовженням збільшення рівня аутоантитіл у всіх групах з максимальним приростом рівня антитіл проти 59K TyrRS (36,6%) та 20K TyrRS (37,7%).

При ДКМП, індукованій у модельних мишей, також відмічається чітке зростання титрів аутоантитіл проти повнорозмірної TyrRS, її N-кінцевого каталітичного та С-кінцевого некаталітичного модулів (рис. 2).

З рис. 2 видно, що рівень аутоантитіл проти тирозил-тРНК синтетази, її N-кінцевого каталітичного та С-кінцевого некаталітичного модулів зростає в сироватці крові мишей з індукованим захворюванням, подібним до дилатаційної кардіоміопатії людини. Рівень аутоантитіл зростає у ході прогресування хвороби. Так, достовірне збільшення цього показника спостерігалось вже в перший місяць індукції захворювання у тварин. Тобто, кількість аутоантитіл у крові модельних мишей з ДКМП різко зростала вже на початку хвороби, тоді як при міокардиті істотне зростання відбувалося лише на третьому місяці. Зазначимо, що в сироватці крові модельних мишей зростає рівень антитіл проти всіх форм ферменту: повнорозмірного, N- та С-модулів. Так, рівень аутоантитіл проти повнорозмірного білка на другий місяць ДКМП збільшувався на 18,1%, на третій — на 29,9% і на четвертий місяць досягав 34,9%. Рівень аутоантитіл проти каталітичного модуля істотно підвищувався лише на четвертий місяць розвитку хвороби — на 36,9%. Значний приріст аутоантитіл проти С-модуля спостерігався на третій та четвертий місяці — на 30,4 та 44,2% відповідно.

Таким чином, результати дослідження сироватки крові мишей з експериментальними захворюваннями, подібними до міокардиту та ДКМП людини, свідчать про зростання рівня аутоантитіл як проти повнорозмірної тирозил-тРНК синтетази, так і її N-кінцевого каталітичного та С-кінцевого некаталітичного доменів, що може бути одним із ускладнюючих факторів цих захворювань. З'ясування причин і механізмів залучення синтетази до аутоімунного процесу та виявлення можливих білків-партнерів допоможуть значно розширити

знання про структуру та функції АРСази, зокрема неканонічних, а також сприятимуть пошуку нових альтернативних підходів до лікування серцевої недостатності.

1. Jessup M., Brozena S. Heart failure // N. Engl. J. Med. – 2005. – **348**. – P. 2007–2018.
2. Зыков К. А., Татенкулова С. Н., Масенко В. П. и др. Выявление особенностей аутоиммунных реакций при хронической сердечной недостаточности различной этиологии // Терапевт. архив. – 2009. – № 4. – С. 22–28.
3. Sidorik L., Rodnin N., Bobyk V. et al. Investigation of autoantibodies directed against tissue-specific myocardial antigens in dilated cardiomyopathy // Biopolym. Cell. – 1995. – **11**, No 1. – P. 81–86.
4. Ibba M., Francklyn Ch., Cusak S. The aminoacyl-tRNA synthetases. – Georgetown: Landes Bioscience, 2005. – 437 p.
5. Park S. G., Schimmel P., Kim S. Aminoacyl-tRNA synthetases and their connections to disease // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – **105**, No 32. – P. 11043–11049.
6. Schimmel P. Development of tRNA synthetases and connection to genetic code and disease // Protein Science. – 2008. – **17**, No 10. – P. 1643–1652.
7. Howard O. M., Dong H. F., Yang D. et al. Histidyl-tRNA synthetase and asparaginyl-tRNA synthetase, autoantigens in myositis, activate chemokine receptors on T lymphocytes and immature dendritic cells // J. Exp. Med. – 2002. – **196**, No 6. – P. 781–791.
8. Sidorik L. L., Rodnin N. V., Savinskaya L. A. et al. Autoantibodies directed against tyrosyl-tRNA synthetase modulate its aminoacylating activity // Biopolym. Cell. – 1996. – **12**, No 5. – P. 21–28.
9. Betteridge Z., Gunawardena H., North J. et al. Anti-synthetase syndrome: a new autoantibody to phenylalanyl transfer RNA synthetase (anti-Zo) associated with polymyositis and interstitial pneumonia // Rheumatology. – 2007. – **46**, No 6. – P. 1005–1008.
10. Кондратюк Ю. Ю., Бабарик М. А., Корнелюк О. І. Оптимізація бактеріальної експресії тирозил-тРНК синтетази свавців при культивуванні штаму *Escherichia coli* BL21(DE3) pLysE // Мікробіологія і біотехнологія. – 2009. – **8**, № 4. – С. 6–12.
11. Бобик В. І., Рябенко Д. В., Сергієнко О. В. та ін. Розробка експериментальної моделі аутоімунного міозин-індукованого пошкодження міокарда // Biopolym. Cell. – 2007. – **23**, № 2. – P. 115–121.
12. Immunocytochemical methods and protocols. Second edition / Ed. by L. C. Javois. – Totowa: Humana Press, 1999. – 465 p.

Інститут молекулярної біології і генетики
НАН України, Київ

Національний науковий центр “Інститут кардіології
ім. акад. Н. Д. Стражеска” АМН України, Київ

Надійшло до редакції 30.06.2011

Ю. Ю. Кондратюк, В. И. Бобык, Д. В. Рябенко, Л. Л. Сидорик,
член-корреспондент НАН Украины **А. И. Корнелюк**

Анализ изменений уровня аутоантител против тирозил-тРНК синтетазы в динамике развития сердечной недостаточности у модельных животных с индуцированными дилатационной кардиомиопатией и миокардитом

Исследованы изменения уровня специфических аутоантител против тирозил-тРНК синтетазы и ее отдельных модулей в сыворотке крови модельных мышей в динамике развития различных фаз экспериментальной сердечной недостаточности. Выявлено повышение титров специфических аутоантител к полноразмерной тирозил-тРНК синтетазы, ее каталитического N-концевого модуля и некаталитического C-модуля в сыворотке крови модельных мышей по сравнению с этим же показателем у контрольных животных. Полученные результаты свидетельствуют о возможной роли тирозил-тРНК синтетазы и ее отдельных модулей как аутоантигенов при развитии сердечной недостаточности.

Iu. Iu. Kondratiuk, V. I. Bobyk, D. V. Ryabenko, L. L. Sidorik,
Corresponding Member of the NAS of Ukraine **A. I. Kornelyuk**

Analysis of changes of a level of autoantibodies against tyrosyl-tRNA synthetase in model mice with experimental dilated cardiomyopathy and myocarditis

We study the levels of specific autoantibodies against tyrosyl-tRNA synthetase and its individual modules in the blood serum of model mice with induced human-like diseases dilated cardiomyopathy and myocarditis, as compared with intact animals. The increased level of tyrosyl-tRNA synthetase-specific, its N-terminal catalytic module-specific and non-catalytic C-module-specific autoantibodies in the blood serum of mice, as compared with healthy animals, is revealed. The results demonstrate the possible role of tyrosyl-tRNA synthetase in adaptive changes of the myocardium in response to stress factors.