

К. Г. КАРАГЕЗЯН, К. Р. БАБАЯН, В. А. ГРИГОРЯН, Г. А. ОВЕЯН, Г. В. ЗАХАРЯН, С. М. ВАРДАПЕТЯН

ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ФОСФОЛИПИДНОГО КОМПОНЕНТА ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН И ИНТЕНСИВНОСТИ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

Исследованы изменения фосфолипидного компонента эритроцитарных мембран и интенсивности процессов свободнорадикального окисления крови больных псориазом в период обострения заболевания и после проведения курса лечения. Выявлены некоторые закономерности изменения процессов ПОЛ, содержания диеновых конъюгатов, МДА-модифицированных белков, α -токоферола и холестерина в эритроцитарных мембранах и плазме крови.

Ранее были показаны некоторые изменения липидного компонента и показателей ПОЛ крови больных псориазом и высказано предположение, что они могут служить критериями глубины данной нозологической единицы [1, 2]. Целью настоящего исследования являлось более детальное изучение изменений качественного и количественного состава фосфолипидов (ФЛ) эритроцитарных мембран (ЭМ), соотношения их нейтральных и кислых представителей, состояния фосфатидилхолинового и фосфоинозитидного циклов, а также изменений в интенсивности процессов свободнорадикального окисления (СРО) и отклонений в системе антирадикальной защиты крови.

Материал и методы исследования. Кровь получали из локтевой вены больных псориазом и стабилизировали раствором оксалата натрия в соотношении 9:1.

ЭМ выделялись по методу [3]. Экстракция ФЛ из ацетоновых порошков ЭМ проводилась по методу [4] в модификации [5]. Фракционирование индивидуальных ФЛ осуществлялось с помощью одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля марки "КСК" в системе растворителей хлороформ : метанол : аммиак = 65 : 35 : 5. Идентификация пятен ФЛ проводилась с помощью химически чистых свидетелей производства "Sigma" (США). Минерализация липидного фосфора осуществлялась в среде серной и азотной кислот с последующим пересчетом его содержания в $\mu\text{кг}$ на 1 $\mu\text{г}$ ацетонового порошка [6].

Уровень фоновых липидных перекисей (ФЛП) в плазме крови определялся по методу [7] и выражался в нмоль малонового диальдегида (МДА) на 1 мл плазмы. Активность систем ПОЛ в МЭ определялась по накоплению МДА за 30 мин. инкубации и выражалась в нмоль МДА на 1 мг белка [8]. При исследовании аскорбатзависимого ПОЛ (АЗП) инкубационная среда содержала 40 мМ трис-НСl рН 7,4, 0,8 мМ аскорбата, $12 \cdot 10^{-6} \text{М}$ соли Мора, при исследовании NADPH-зависимого ПОЛ (НЗП) – $2 \cdot 10^{-4} \text{М}$ пиродифосфата натрия, $12 \cdot 10^{-6} \text{М}$ соли Мора, 1 мМ NADPH. Содержание α -токоферола определялось флуориметрически по методу [9] на спектрофлуориметре фирмы "Hitachi" (Япония) и выражалось в нмоль мг белка. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) в плазме и ЭМ определялось методом [8] и выражалось в нмоль/мл плазмы и нмоль/мг белка мембран соответственно. Белок определялся

Количественный и качественный состав фосфолипидов (в мг: липидного фосфора / мг ацетилового пирошка ЭМ) эритроцитарных мембран (больных истризом в першх обстрешях (А) и после лечешя (В) (М ± т. n=15)

| Название | Контроль | | А | | | В | | |
|----------|-------------------------|----------|----------------------------|----------|----------------|----------------------------|----------|----------------|
| | количество фосфолипидов | % от СФЛ | количество фосфолипидов | % от СФЛ | откл. от К., % | количество фосфолипидов | % от СФЛ | откл. от К., % |
| ЛФХ | 0,611 ± 0,022 | 10,17 | 1,190 ± 0,056 ^a | 23,77 | +94,76 | 0,687 ± 0,027 ^a | 12,51 | +12,44 |
| МФИ | 0,519 ± 0,021 | 8,64 | 0,394 ± 0,019 ^a | 7,87 | -24,08 | 0,482 ± 0,024 | 8,77 | -7,13 |
| СФМ | 1,207 ± 0,055 | 20,08 | 0,885 ± 0,046 ^a | 17,67 | -26,68 | 1,073 ± 0,051 | 19,53 | -11,10 |
| ФХ | 1,707 ± 0,074 | 28,40 | 1,787 ± 0,034 ^a | 15,72 | -53,90 | 1,350 ± 0,056 ^b | 24,57 | -20,91 |
| ФС | 0,877 ± 0,033 | 14,59 | 0,595 ± 0,025 ^a | 11,88 | -32,16 | 0,802 ± 0,036 | 14,60 | -8,55 |
| ФЭА | 0,518 ± 0,030 | 8,62 | 0,415 ± 0,028 ^a | 8,29 | -19,88 | 0,500 ± 0,021 | 9,10 | -3,47 |
| КЛ | 0,571 ± 0,024 | 9,50 | 0,741 ± 0,031 ^a | 14,80 | +29,77 | 0,600 ± 0,030 | 10,92 | +5,08 |
| СНФЛ | 4,043 ± 0,181 | 67,27 | 3,277 ± 0,164 ^b | 65,45 | -18,95 | 3,610 ± 0,155 | 65,71 | -10,71 |
| СКФЛ | 1,967 ± 0,078 | 32,73 | 1,730 ± 0,075 ^d | 34,55 | -12,05 | 1,884 ± 0,090 | 34,29 | -4,22 |
| СФЛ | 6,010 ± 0,259 | | 5,007 ± 0,239 ^c | | -16,69 | 5,494 ± 0,245 | | -8,59 |
| Кф | 2,06 | | 1,89 | | -8,25 | 1,92 | | -6,80 |

Примечания: ЛФХ – лизофосфатидилхолины; МФИ – монофосфоинозитиды; СФМ – сфингомелины; ФХ – фосфатидилхолины; ФС – фосфатидилсерины; ФЭА – фосфатидилэаноламины; КЛ – кардиолины; СНФЛ – сумма нейтральных фосфолипидов; СКФЛ – сумма кислых фосфолипидов; СФЛ – сумма фосфолипидов; Кф – коэффициент СНФЛ/СКФЛ.

В табл. 1–3: а) $p < 0,005$, б) $p < 0,01$, в) $p < 0,02$, д) $p < 0,05$.

по Лоури [10]. Среднемолекулярные пептиды определяли методом [11] в нмоль/мл плазмы. Количество общего холестерина определялось методом [12] в мкмоль/мл плазмы.

Статистическая обработка полученных данных проводилась по методу Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Результаты проведенных исследований (табл.1) показывают уменьшение как суммарного количества ФЛ (-16,69%), так и их отдельных представителей, в частности, фосфатидилхолинов (ФХ) (-53,9%), фосфатидилэтаноламинов (ФЭА) (-19,88%), сфингомиелинов (СФМ) (-26,68%), фосфатидилсеринов (ФС) (-32,16%), монофосфоинозитидов (МФИ) (-24,08%). При этом происходит уменьшение суммарного содержания нейтральных ФЛ (СНФЛ) (-18,95%), наделенных, как известно, пластическими функциями, кислых ФЛ (СКФЛ) (-12,05%), характеризующихся высокой степенью обменяемости [5, 13], и коэффициента СНФЛ/СКФЛ, свидетельствующего о заметных изменениях в физико-химическом статусе и функциональной активности фосфолипидного компонента эритроцитарных мембран. В связи с этим особый интерес представляет резкое увеличение содержания лизофосфатидилхолинов (ЛФХ) (+94,76%), что, по всей вероятности, обусловлено повышением активности фосфолипазы A_2 и может оказать токсическое и литическое влияние на ЭМ, а также вовлечь ненасыщенные жирные кислоты (ЖК) в пул СРО липидов. Эти данные косвенно свидетельствуют также о нарушении как фосфатидилхолинового цикла [14], так и процессов деацилирования и реацилирования ФЛ [15].

Таблица 2

Интенсивность ПОЛ эритроцитарных мембран больных псориазом в период обострения (А) и после лечения (В) ($M \pm m$, $n=15$)

| Название | Контроль | А | В |
|--------------------------------|------------------|--------------------|--------------------|
| аскорбатзависимое перекисление | $2,70 \pm 0,19$ | $3,81 \pm 0,25^b$ | $3,27 \pm 0,22$ |
| NADPH-зависимое перекисление | $4,10 \pm 0,28$ | $5,12 \pm 0,31^d$ | $4,57 \pm 0,29$ |
| МДА-модифицированные белки | $0,06 \pm 0,01$ | $0,10 \pm 0,01^e$ | $0,07 \pm 0,01^d$ |
| дневные конъюгаты | $3,22 \pm 0,24$ | $4,54 \pm 0,30^b$ | $3,48 \pm 0,27$ |
| α -Т окоферол | $19,72 \pm 0,87$ | $14,28 \pm 0,69^a$ | $16,80 \pm 0,70^c$ |

Интересным является и тот факт, что после проведения общепринятого лечения наблюдается тенденция приближения показателей к контрольным величинам, однако некоторые показатели продолжают оставаться вне пределов нормы, в частности, содержание ЛФХ остается увеличенным (+12,44%), а ФХ – уменьшенным (-20,91%), также снижен и коэффициент СНФЛ/СКФЛ. Эти результаты находят свое подтверждение в исследованиях изменений интенсивности процессов СРО в ЭМ (табл. 2). В частности происходит заметное повышение интенсивности ПОЛ как неферментативного АЗП (+41,1%), так и ферментативного НЗП (+24,9%), что сопровождается отчетливым повышением содержания МДА-модифицированных белков (+66,7%), ДК (+41,0%) и снижением уровня α -токоферола (-27,6%), свидетельствующих о выраженной интенсификации процессов СРО в ЭМ.

Эти изменения коррелируют с изменениями аналогичных показателей в плазме крови (табл. 3). Содержание фоновых липидных перекисей повышается на 51,1%, МДА-модифицированных белков – на 41,8%, ДК – на 30,2%, среднемолекулярных пептидов (СМП), являющихся субстратами эндогенной интоксикации при различных патологических состояниях и обладающих антиоксидантными свойствами [16], – на 38,5%, общего холестерина, тормозящего окисление быстроокисляющихся липидов, – на 23,5%, что, по всей вероятности, может являться результатом компенсаторных пертурбаций. Однако совокупность изменений вышеуказанных па-

раметров в сочетании с более выраженным снижением уровня α -токоферола (-38,2%) подтверждает выраженные отклонения в интенсивности процессов СРО в ЭМ и плазме крови, а также возникновение и развитие оксидативного стресса, что может открыть новые пути в выявлении молекулярных механизмов этиологии и патогенеза этой нозологической единицы.

Таблица 3

Интенсивность ПОЛ, содержание α -токоферола, среднемолекулярных пептидов и общего холестерина в плазме крови больных псориазом в период обострения (А) и после лечения (В) ($M \pm m$, $n=15$)

| Название | Контроль | А | В |
|----------------------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|
| фоновые липидные перекиси | 4,21 \pm 0,31 | 6,36 \pm 0,47 ^b | 4,98 \pm 0,39 |
| МДА-модифицированные белки | 0,55 \pm 0,04 | 0,78 \pm 0,06 ^b | 0,70 \pm 0,05 ^d |
| дienesовые коньюгаты | 7,54 \pm 0,51 | 9,82 \pm 0,19 ^c | 9,31 \pm 0,65 ^d |
| α -токоферол | 2,12 \pm 0,15 | 1,31 \pm 0,10 ^a | 1,70 \pm 0,12 ^d |
| среднемолекулярные пептиды | 0,13 \pm 0,01 | 0,18 \pm 0,01 ^b | 0,15 \pm 0,01 |
| общий холестерин | 4,17 \pm 0,29 | 5,11 \pm 0,33 ^d | 4,65 \pm 0,31 |

Помимо этого, указанные изменения могут иметь прогностическое значение в организации лечения данного заболевания. Так, и в ЭМ, и в плазме крови некоторые показатели после проведенного лечения остаются отклоненными от контрольных величин, что требует более детального обсуждения организации лечения с возможным дополнением применяемых терапевтических средств современными антиоксидантными средствами.

ИМБ НАН РА, Ер ГМУ, ЕГУ

Поступила 03.06.1998

ЛИТЕРАТУРА

1. Гончаренко М.С. Состояние и роль свободнорадикальных процессов у больных псориазом. – Вестник дерматологии и венерологии, 1983, №6, с.7-11.
2. Рахматов А.Б. Показатели перекисного окисления липидов у больных псориазом. – Медицинский журнал Узбекистана, 1989, №11, с. 47-49.
3. Limber G.R., Davle R.F., Baker A.M.S. Acrylamide gel electrophoresis studies of human erythrocyte membrane. – Blood, 1970, v.36, №2, p.111-118.
4. Folch J. Brain cephalin, a mixture of phospholipids. Separation from it of phosphatidylserine, phosphatidylethanolamine and a fraction containing an inositol phosphatides. – J. Biol. Chem., 1942, v.146, p.35-40.
5. Карагезия К.Г. В кн.: Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. – Ер.: Айтастан, 1972.
6. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. Липидный и энергетический обмен. – Учебное пособие. Л.: Изд-во ЛГУ, 1982, с.101.
7. Yoshioka T., Mori M., Takehara Y. et al. Blood and tissue levels of lipoperoxides in rats during development. – Biol. Neonate, 1982, v. 41, №3-4, p.155-160.
8. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. В кн.: Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972, 252 с.
9. Duggan D.E. Spectrofluorimetric determination of tocopherols. – Archiv. Biochem. Biophys, 1959, №84, p.116-118.
10. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with Folin phenol reagent. – J. Biol. Chem., 1951, v.193, №1, p.265-275.
11. Владыко А.С., Левицкий Э.Р., Поддубная Л.П., Габриелян Н.И. Средние молекулы и проблемы эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии. – Анестезиология и реаниматология, 1987, №2, с. 37-40.
12. Севтебова Н.А. Предложения по унификации методов определения свободного и эстерифицированного холестерина в сыворотке крови. – Лаб. дело, 1977, №6, с.375-380.
13. Антонов В.Ф. – В кн.: Липиды и ионная проницаемость мембран. М.: Наука, 1982, с.81-89.
14. Pelesh S.L., Vance D.E. Signal transduction via phosphatidylcholine cycles – Trends in Biochemical Sciences, 1989, v. 14, № 1, p. 28-30.

15. Карагезян К.Г., Тадевосян Ю.В., Батикян Т.Б. Система деацилирования-реацилирования фосфолипидов в лизосомальных мембранах печени белых крыс. – ДАН СССР, 1986, т. 286, № 2, с. 465-467.
16. Галактионов С.Г., Цейтин В.М., Леонова В.И. и др. Пептиды группы "средних молекул – Биоорганическая химия, 1984, № 1, с. 5-17.

Կ.Գ.ՂԱՐԱԳՅՈՋՅԱՆ, Կ.Ռ.ԲԱԲԵՅԱՆ, Վ.Ա.ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Գ.Ա.ՀՈՎԵՅԱՆ,
Գ.Վ.ԶԱԽԱՐՅԱՆ, Ս.Մ.ՎԱՐԴԱՊԵՏՅԱՆ

ՊՍՈՐԻԱԶՈՎ ՏԱՌԱՊՈՂ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ԷՐԻԹՐՈՑԻՏՆԵՐԻ ԹԱՂԱՆԹՆԵՐԻ
ՖՈՍՖՈԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԲԱՂԱԳՐԱՄԱՍԻ ԵՎ ԱՐՅԱՆ ԱԶԱՏ ՌԱԴԻԿԱԼԱՅԻՆ
ՕՔՍԻԴԱՑՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԻ ԻՆՏԵՆՍԻՎՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՄԻՐՈՒՄԸ

Ամփոփում

Հետազոտված են պսորիազով տառապող հիվանդների էրիթրոցիտների քանակների ֆոսֆոլիպիդային բաղադրամասի և արյան ազատ ռադիկալային օքսիդացման պրոցեսների ինտենսիվության փոփոխությունները հիվանդության սրացման շրջանում և բուժումից հետո: Էրիթրոցիտների քանակներում և արյան պլազմայում բացահայտված են լիպիդների գերօքսիդացման պրոցեսների, դիենային կոնյուգատների, ՄԴԱ-մոդիֆիկացված սպիտակուցների, α -տոկոֆերոլի և խոլեստերինի պարունակության փոփոխությունների որոշ օրինաչափություններ:

;