

МЕМБРАНО-ДЕСТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ ПРОЦЕССЫ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ РАССЕЯНЫМ СКЛЕРОЗОМ

*В.Д. Камзеев, А.А. Соколова, Л.И. Рейхерт, С.М. Быченко, О.А. Кичерова,
О.Л. Маркина, Е.А. Замятина*

*Кафедра неврологии и рефлексотерапии (зав. - проф. Г.А. Иваничев) Казанской
государственной медицинской академии последипломного образования*

Актуальность проблемы рассеянного склероза (РС) обусловлена ростом распространенности заболевания и его тяжелыми социально-экономическими последствиями. Более высокие его показатели регистрируются в северных, северо-западных и западных регионах [3, 5, 6]. Наибольший интерес представляет изучение патогенеза РС как ключа к поиску перспективных методов патогенетической терапии при данном заболевании. РС заболевают в основном лица молодого и зрелого возраста от 20 до 40 лет. Среди основных причин повышения эпидемиологических показателей выделяют улучшение качества диагностики, принятие унифицированных диагностических шкал, а также истинное увеличение заболеваемости.

Изучение характера мембрано-дестабилизирующих процессов в нервной системе затруднено недоступностью нервной клетки для биохимического исследования. Однако с учетом наследственного характера изменений липидного обмена при РС [4] можно предполагать однородность повреждения мембранных структур различных клеточных групп при этом заболевании [2]. Кроме того, известно, что расположение липидов в мембранах нейронов, астроцитов, олигодендроцитов, гепатоцитов и эритроцитов принципиально однотипно. Установлено также, что изменение липидного состава в тех и других клетках ведет к однотипным нарушениям свойств их мембран [4, 6].

Выбор эритроцита в качестве модели представляется нам логичным из-за того, что в них находят отражение наиболее общие метаболические процессы, происходящие в мембранах других клеток организма.

Мы изучали у больных РС связь клинических проявлений заболевания с состоянием мембрано-дестабилизирующих процессов на модели эритроцитов. Для этого нами использован комплекс био-

химических методов по определению следующих показателей:

- содержание продуктов свободнорадикального окисления липидов в мембранах эритроцитов (диеновых конъюгатов полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов - ДК и шиффовых оснований - ШО);

- уровень антиоксидантной защиты по содержанию альфа-токоферола - жирорастворимого антиоксиданта и активность супероксиддисмутазы, каталазы и глюкозо-6-фосфадегидрогеназы (Г-6-ФДГ);

- содержание фосфолипидов в мембранах эритроцитов методом тонкослойной хроматографии на силикагеле и уровень холестерина;

- фосфолипазная активность (ФЛА₂) эритроцитов.

Был обследован 61 больной с РС (45 женщин и 16 мужчин; средний возраст - 40,49 ± 0,87 года). Контрольную группу составили 30 практически здоровых доноров (15 мужчин и 15 женщин аналогичного возраста).

При распределении больных РС на группы в соответствии с современными рекомендациями Т.Е. Шмидта и Н.Н. Яхно мы выделили клинические группы больных РС по типу течения заболевания. Ремиттирующий РС (РРС) был у 23 больных, вторично-прогредиентный (ВПРС) - у 25, первично-прогредиентный (ППРС) - у 13. Активность эндогенных фосфолипаз и показатели накопления липоперекисей у больных РС представлены в табл. 1.

У больных РС обнаружено повышение содержания в эритроцитарных мембранах ДК и ШО относительно контроля ($p < 0,05$). Параллельно повышению активности процессов перекисления мембранных липидов (ПОЛ) у больных РС возрастает активность ФЛА₂. Все это представляет собой основу для первичной и вторичной дестабилизации структурно-функциональной организа-

Таблица 1

Показатели	Здоровые	Больные РС		
		РРС	ВПРС	ППРС
ФЛА ₂ , % гемолиза	4,43 0,21	15,23 1,0*	27,08 1,1* **	26,65 1,43* **
ДК, нмоль · мл	48,4 3,5	109,1 3,9*	180,1 8,2* **	171,08 7,9* **
ШО, усл. ед. ф.	18,3 1,02	21,64 6,8*	29,9 2,0* **	32,7 6,8* **

* Различия между показателями здоровых и больных РС до лечения ($p < 0,05$), ** между показателями больных РРС и двух других групп ($p < 0,05$).

Таблица 2

Показатели	Здоровые	Больные РС	
		обострение (n=41)	ремиссия (n=20)
ФЛА ₂ , % гемолиза	4,43 0,21	21,6 1,7* **	12,7 0,9*
ДК, нмоль · мл	48,4 3,5	158,64 8,9* **	118,7 4,4*
ШО, усл. ед. ф.	18,3 1,02	28,69 1,6* **	20,9 1,8*

* Различия между показателями здоровых и больных РС ($p < 0,05$), ** между показателями при обострении и ремиссии у больных РС ($p < 0,05$). То же в табл. 4.

дии клеточных мембран со всеми вытекающими отсюда патоморфологическими и патохимическими изменениями в интра- и экстрацеллюлярных пространствах.

Дифференцированный анализ активности процессов перекисления липидов и эндогенных фосфолипидов в зависимости от тяжести заболевания позволил выявить прямую взаимосвязь между клиническими и биохимическими параметрами. Так их выраженность последовательно возрастала от уровня у больных РРС до максимальных значений при ВПРС и ППРС. Принципиальными отличиями РРС от других вариантов (ВПРС и ППРС) являются его более благоприятная неврологическая симптоматика и лучший прогноз. Выраженность морфологического дефекта в центральной нервной системе при РРС менее значительна, чем при ВПРС и ППРС. Исходя из этого, мы можем предположить, что мембрано-дестабилизирующие механизмы (фосфолипидное и перекисное окисление мембранных липидов), значимые в патогенезе любого варианта РС, в значительной мере влияют на тяжесть заболевания и степень повреждения структур центральной нервной системы. Об этом же свидетельствуют количественные характеристики

активности эндогенных фосфолипидов и процессов перекисления мембранных липидов в зависимости от стадии заболевания (табл. 2).

Мы установили, что активность ФЛА₂ и содержание продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов патогенетически значимы в возникновении обострения РС: в периоде обострения заболевания эти показатели существенно выше, чем в ремиссии (их разница при обострении и ремиссии заболевания статистически достоверна). Наряду с этим обращает на себя внимание чрезвычайная стабильность выявленных изменений (активность ФЛА₂ и содержание ДК более чем в 2 раза превосходили норму и показатели в периоде клинической ремиссии заболевания). Это косвенно свидетельствует о том, что патофизиологические процессы в центральной нервной системе стабилизируются позднее клинических проявлений патологии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что механизмы дестабилизации клеточных мембран оказывают существенное влияние на тяжесть клинических проявлений РС, что вполне согласуется с гипотезой о ведущей роли ПОЛ в процессах демиелинизации при РС.

Способность фосфолипидов к так называемым фазовым переходам (гель -

Таблица 3

Активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание альфа-токоферола в мембранах эритроцитов больных РС в зависимости от формы заболевания (M m)

Показатели	Здоровые	Больные РС		
		РРС	ВПРС	ППРС
Супероксиддисмутаза, % торм.	45,3 2,9	48,36 1,9	28,54 1,21*, **	21,14 0,8*, **, ***
Каталаза, ммоль/мин · мл	3,9 0,1	3,19 0,1	2,01 0,09*, **	1,87 0,1*, **
Г-6-ФДГ, m I /мл	662,9 29,9	607,13 26,8	417,8 21,1*, **	358,4 23,8*, **, ***
Альфа-токоферол, нмоль · мл	5,8 0,28	5,03 0,1	3,67 0,1*, **	3,24 0,2*, **

* Различия между показателями здоровых и больных РС ($p < 0,05$), ** между показателями больных РРС и двух других групп ($p < 0,05$); *** между показателями больных ВПРС и ППРС ($p < 0,05$).

жидкий кристалл) определяет текучесть (или микровязкость) бислоя [4]. Мы исследовали содержание общего холестерина в мембранах эритроцитов у больных РС.

При анализе результатов было отмечено уменьшение содержания сфингомиелина (СфМ), фосфатидилэтаноламина (ФЭА), фосфатидилхолина в мембранах эритроцитов при всех вариантах течения РС. Содержание холестерина в мембранах эритроцитов также снижено, но в различной степени в зависимости от характера течения заболевания: при более тяжелом течении заболевания его снижение было статистически достоверным. Кроме того, выявленное в наших наблюдениях обеднение мембран эритроцитов как фосфолипидами, так и холестерином протекает на фоне накопления лизофосфатидилхолина.

В целом нами выявлены как количественные, так и качественные изменения структуры липидной фазы эритроцитарных мембран, выраженность которых сопряжена с тяжестью течения РС.

Анализ структуры липидной фазы эритроцитарных мембран у больных РС в зависимости от стадии заболевания (обострение или ремиссия) показал, что при обострении заболевания наблюдается обеднение мембран фосфолипидами на фоне повышения мембранодетергентной фракции - лизофосфатидилхолина. Повышенный гидролиз ФЭА и фосфатидилхолина можно объяснить активацией ФЛА₂.

Мы выявили также снижение уровня общего холестерина в мембранах эритроцитов. В периоде ремиссии состав мембраны эритроцитов также не соответствовал норме. Кроме того, нами обнаружена высокодостоверная отрицательная корреляция между активностью

ФЛА₂ и содержанием СфМ ($r = -0,67$; $p < 0,05$) и ФЭА ($r = -0,73$; $p < 0,05$).

Исходя из патогенетической значимости роли механизмов дестабилизации клеточных мембран, для определения вклада отдельных факторов в реализацию клинических проявлений заболевания мы провели корреляционный математический анализ между тяжестью клинических проявлений РС и отдельными факторами дестабилизации клеточных мембран эритроцитов. Тяжесть клинических проявлений заболевания оценивали по шкале функциональных систем Куртцке. Нами установлена положительная корреляция с активностью ФЛА₂ ($r = +0,564$), а также с содержанием ДК и ЛФХ в мембранах эритроцитов (соответственно $r = +0,742$ и $r = +0,786$) и, кроме того, отрицательная корреляция с содержанием СфМ и ФЭА (соответственно $r = -0,694$ и $r = -0,497$; $p < 0,05$).

Активность ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталаза, Г-6-ФДГ) и содержание альфа-токоферола в мембранах эритроцитов больных РС в зависимости от формы заболевания представлены в табл. 3.

Как следует из полученных результатов, при РРС мы не обнаружили значимых отличий от контроля как активности ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталаза, Г-6-ФДГ), так и содержания альфа-токоферола в мембранах эритроцитов больных РС, что свидетельствует о состоятельности исследованных нами звеньев системы антиоксидантной защиты.

У больных с менее благоприятным течением РС (ВПРС и ППРС) мы выявили значительное снижение активности ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталаза, Г-6-ФДГ)

Таблица 4

Активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание альфа-токоферола в мембранах эритроцитов больных РС в зависимости от стадии заболевания (M m)

Показатели	Здоровые	Больные РС	
		обострение (n=41)	ремиссия (n=20)
Супероксиддисмутаза, % норм.	45,3 2,9	24,84 0,9*	44,3 1,3**
Каталаза, ммоль/мин · мл	3,9 0,1	2,41 0,1*	3,4 0,15**
Г-6-ФДГ, м I /мл	662,9 29,9	451,3 20,1*	628,1 26,1**
Альфа-токоферол, нмоль · мл	5,8 0,28	3,22 0,2*	5,49 0,1**

и дефицит альфа-токоферола в мембранах эритроцитов. При этом депрессия системы антиоксидантной защиты была более выраженной у больных с наиболее неблагоприятным течением РС - ППРС. Снижение пула эндогенного антиоксиданта - альфа-токоферола - мы расценили как следствие его повышенной элиминации в результате свободно-радикальной агрессии при данной патологии.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при неблагоприятном течении РС (ВПРС и ППРС) у больных наблюдается срыв компенсаторных возможностей исследованных звеньев системы антиоксидантной защиты. Ее несостоятельность является дополнительным фактором, активизирующим процессы ПОЛ и в конечном итоге изменяющим функциональные свойства клеточных мембран.

Мы выявили также существенные изменения в системе антиоксидантной защиты у больных РС в зависимости от обострения или ремиссии (табл. 4).

Совершенно очевидно, что в периоде экзacerbации РС наблюдается статистически достоверное снижение активности ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталаза, Г-6-ФДГ) в сочетании с уменьшением содержания в мембранах эритроцитов альфа-токоферола.

Во время ремиссии активность ферментов антиоксидантной защиты повышается, но остается ниже, чем в контрольной группе. Содержание альфа-токоферола в мембранах эритроцитов в периоде ремиссии также возрастает, но не достигает нормы, что указывает на истощение пула эндогенных антиоксидантов в условиях их повышенного расходования при свободно-радикальном стрессе. Выявленные изменения свидетельствуют о том, что система антиоксидантной защиты испытывает напряжение в периоде обострения при РС.

Вполне вероятно, что несостоятельность отдельных звеньев системы антиоксидантной защиты является одним из факторов, ведущих к экзacerbации при РС.

На завершающем этапе исследований с помощью корреляционного математического анализа нами обнаружена связь активации процессов фосфолипидного и перекисного окисления липидов с депрессией антиоксидантных механизмов защиты и зависимость структуры клеточных мембран эритроцитов от равновесия между этими системами. Проведенный корреляционный математический анализ показал высокодостоверную отрицательную корреляцию между активностями ФЛА₂ и супероксиддисмутазы ($r = -0,584$; $p < 0,05$), содержанием ДК и активностью супероксиддисмутазы ($r = -0,724$; $p < 0,05$), содержанием ДК и альфа-токоферола в мембранах эритроцитов ($r = -0,671$; $p < 0,05$). Мы установили также высокодостоверную отрицательную корреляцию между тяжестью клинических проявлений РС и активностью супероксиддисмутазы ($r = -0,651$; $p < 0,05$).

В целом, в мембранах эритроцитов больных РС определены существенные изменения, которые сводятся к активации ПОЛ, согласующейся с ростом активности ФЛА₂, изменением активности антиоксидантных ферментов и содержанием альфа-токоферола. Результатом биохимических изменений являются количественные и качественные изменения структуры липидной фазы эритроцитарных мембран. Все это в совокупности выражается стандартной реакцией организменного уровня - окислительным стрессом, сопровождается изменением активности ферментов трансмембранного переноса ионов, специфических протеолитических ферментов.

Таким образом, проведенные нами исследования структурно-функционального состояния клеточных мембран

эритроцитов у больных РС при различных клинических вариантах расширяют существующие представления о метаболических механизмах, которые могут лежать в основе демиелинизации при данном заболевании. На основании наших наблюдений можно полагать, что активация перекисного окисления липидов - не только постоянный спутник заболевания, но и один из существенных моментов, определяющих его течение и прогноз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко АН., Демина Т.Л., Кулагина Н.Ю. и др. Материалы VII Всероссийского съезда неврологов. - Н.Новгород, 1995. - С.92.
2. Бурлакова Е.Б., Сторожок Н.М., Храпова Н.Г. и др. //Вопр. мед. химии. - 1990.-№4.-С.12-74.
3. Завалишин И.А., Головкин В.И. Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики. - М., 2000. -С. 4-25.
4. Захарова М.Н. Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики.- М., 2000. - С. 60-69.

5. Иерусалимский А.П., Малкова Н.А. Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики.- М., 2000. - С. 510-536.

6. Petlova J., Ukkonen M., Moilanen E., Elovaara I. // Neurology. - 2001. - Vol. 57. - P.895-896.

Поступила 20.05.04.

PECULIARITIES OF MEMBRANE-DESTABILISING PROCESSES AND THE ANTIOXIDANT DEFENCE STATUS OF ERYTHROCYTES IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

U.D. Kamzееv, A.A. Sokolova, L.I. Reikherth, S.M. Bychenko, O.A. Kicherova, O.L. Markina, E.A. Zamyatina

S u m m a r y

Correlation of clinical presentation of patients with multiple sclerosis and membrane destabilising processes were studied on the erythrocyte model. Quantitative and qualitative changes of the structure of lipid phase of erythrocyte membranes were detected. The measure of the changes correlated with the severity of multiple sclerosis. Activation of lipid peroxidation does not only accompany the disease, but is considered to be the essential feature determining the course and prognosis of the disease.

УДК 616. 36 - 002. 2 - 022. 7 : 578. 891] - 07 : 616. 153. 915 - 039 - 074

ОЗОНОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В

Н.В. Галеева, В.Х. Фазылов, И.Х. Валеева

Кафедра инфекционных болезней (зав. - проф. В.Х. Фазылов) Казанского государственного медицинского университета

Известно, что одним из универсальных неспецифических патогенетических звеньев в развитии многих заболеваний является процесс липопероксидации, поэтому по содержанию продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических объектах можно судить о глубине и степени выраженности патологического процесса. ПОЛ отводят важную роль в генезе патологии печени [4, 7].

Имеющийся арсенал лекарственных препаратов для лечения заболеваний печени не позволяет полностью устранить нарушение гемодинамики печени - одно из ведущих патофизиологических синдромов, что делает актуальным поиск новых немедикаментозных методов коррекции данных нарушений путем воздействия на биохимические параметры кислородтранспортной функции крови. Перспективным направлением в решении этой проблемы является ис-

пользование озона, эффект которого определяется высоким окислительно-восстановительным потенциалом [9]. К настоящему времени имеются сведения об эффективности озонотерапии при лечении больных острыми и хроническими гепатитами [6].

Цель настоящего исследования: выяснение клинко-патогенетической роли перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты во взаимосвязи с биохимическими показателями функционального состояния печени, влияние на эти процессы внутривенной озонотерапии при остром вирусном гепатите В (ОВГВ) в динамике заболевания.

Под наблюдением находились 69 больных (36 мужчин и 33 женщины) ОВГВ желтушной среднетяжелой формы в возрасте от 15 до 51 года (средний возраст составил 29 лет). Диагноз ОВГВ ставили исходя из совокупности следующих ха-