

А. В. ГЮЛЬХАНДАНЯН, Г. М. ГЕОКЧАКЯН, В. Г. АЗАТЯН

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И КОЛИЧЕСТВО K⁺ В ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ПРИОБРЕТЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Нарушение функций мембран клетки могут быть обусловлены изменениями структурных компонентов мембран. Важную роль в барьерной функции клеток играет липидный бислой, повреждение которого не только сопровождает многие заболевания, но и может являться причиной развития патологического процесса [2]. Известно, что при некоторых заболеваниях интенсифицируются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) эритроцитов [3, 6, 9, 11].

В настоящем сообщении мы исследовали ПОЛ и количество K⁺ в эритроцитах больных приобретенными пороками сердца по сравнению с нормой и влияние некоторых применяющихся в клинике антиоксидантов на процессы ПОЛ.

Материал и методы. Исследования были проведены на эритроцитах доноров и больных приобретенными пороками сердца. Практически у всех больных имелось наличие ревматического процесса в активной или неактивной фазе.

Концентрацию K⁺ измеряли с помощью пленочного K⁺-селективного электрода («Сгугуг», Чехословакия). Эритроциты 2 раза промывали в 150 мМ NaCl, затем 0,1 мл плотно отцентрифугированных клеток вводили в 3 мл 150 мМ NaCl. Количество K⁺ определяли после добавления в ячейку с суспензией эритроцитов сапонина (конечная концентрация 0,02%), приводящего к разрыву мембраны и выходу всего K⁺.

ПОЛ определяли по методу Stocks et Dormandy [12] с небольшими модификациями. Эритроциты 3 раза промывали в 150 мМ NaCl, затем 2 часа инкубировали при 37°С в закрытых пробирках при непрерывном встряхивании в среде со 150 мМ NaCl и 10 мМ трис-HCl, pH 6,4 при гематокрите 3%. К 3 мл суспензии добавляли 1 мл 28% трихлоруксусной кислоты, тщательно размешивали и центрифугировали при 6000 об/мин (центрифуга К-23). К супернатанту добавляли 1 мл 1% раствора тиобарбитуровой кислоты и кипятили в водяной бане в течение 10 мин. С целью избежания появления мути в смеси производили повторное центрифугирование при тех же оборотах. Один из конечных продуктов ПОЛ, малоновый диальдегид (МДА), определяли спектрофотометрически по поглощению в области 532 нм на спектрофотометре СФ-26. Коэффициент молярной экстинкции брался равным $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ [12]. Контролем служил тот же раствор со всеми добавками, за исключением эритроцитов.

Для выявления ПОЛ при интенсификации окислительных процессов в эритроцитах проводились следующие процедуры: 1) клетки инку-

бирова́ли 30 мин, затем добавляли 0,1 мл 30% перекиси водорода и снова инкубировали 1 час; 2) инкубировали 15 мин с ингибитором каталазы азидом Na (4 мМ) + H₂O₂ (5 мМ); 3) инкубировали 15 мин с электрондонорной системой аскорбат (10 мМ) + феназинметосульфат (ФМС, 0,1 мМ). Остальная часть опыта была аналогична описанной выше.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований показаны в таблицах I и 2.

Таблица 1

Количество K⁺ и величина ПОЛ эритроцитов в норме и у больных приобретенными пороками сердца

	K ⁺ , ммоль/ эр	ПОЛ, ммоль МДА/л эр	
		без добавок	добавлено H ₂ O ₂
Норма	91,11±2,18 n=24	6,15±0,53 n=13	28,78±1,11 n=13
Больные	76,52±2,53 n=26	8,24±0,32 n=25	34±2,25 n=25

Таблица 2

Влияние антиоксидантов на индуцируемые окислительными процессами ПОЛ эритроцитов

	ПОЛ, ммоль МДА/л эр		
	контроль	α-токоферол	ионол
азид + H ₂ O ₂	54,2±12,8 n=4	32,05±1,28 n=4	13,56±2,24 n=4
аскорбат + ФМС	52,88±3,84 n=4	42,62±3,84 n=4	41,65±4,8 n=4

Из таблицы I видно, что количество K⁺ в эритроцитах у больных по сравнению с нормой уменьшается на 16% (P<0,001), в то же время степень ПОЛ увеличивается на 25% (P<0,01). На 15,5% (P<0,05) интенсифицируется также ПОЛ, индуцированная перекисью водорода.

Нами были проделаны опыты по влиянию используемых в клинике антиоксидантов α-токоферола (витамин Е) и ионола (в клинике применяется масляный раствор этого соединения под названием дибунол) на индуцируемые окислительными процессами ПОЛ эритроцитов доноров (табл. 2).

Из таблицы видно, что и α-токоферол и ионол значительно снижают величину ПОЛ.

В эритроцитах нормальный уровень ПОЛ поддерживается, в основном, α-токоферолом, присутствующим в мембране [1, 8], а

также ферментами-антиоксидантами, такими как супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза [5, 7]. Увеличение у больных количества МДА как в исходе, так и под действием H_2O_2 (табл. I) говорит о том, что может нарушаться соотношение этих антиокислительных систем, или их активность.

Таким образом, можно предположить, что уменьшение количества K^+ в эритроцитах связано с потерей K^+ вследствие повреждения липидного бислоя мембран. Отметим, что в ряде работ было показано увеличение пассивного вытока K^+ из клеток при интенсификации процессов ПОЛ эритроцитов [4, 10]. При этом нельзя исключить также ингибирование Na^+ , K^+ -АТФазы эритроцитов. Результаты исследования, приведенные в табл. 1 и 2, наряду с хирургическим лечением больных приобретенными пороками сердца, дают нам основание рекомендовать антиоксидантную терапию, направленную на улучшение состояния эритроцитов.

Ереванский филиал ВНИХ АМН СССР

Поступила 22/VI 1989 г.

Ա. Վ. ԳՅՈՒԽԱՆԻԱՆՅԱՆ, Գ. Մ. ԳԵՈՎԿԿՅԱՆ, Վ. Գ. ԱԶԱՏԻԱՆ,

ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՑԻՆ ՕԲՍԵՐՎԱՑՈՒՄԸ ԵՎ K^+ ՔԱՆԱԿԸ ՍՐՏԻ
ՁԵՆՔԲԵՐՈՎԻ ԱՐԱՏՆԵՐՈՎ ՀԻՎԱՆԳՆԵՐԻ ԷՐԻԹՐՈՑԻՏՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Սրտի ձեռքբերովի արատներով հիվանդների էրիթրոցիտներում բացահայտված է լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման (ԼԳՕ) ավելացում առողջ մարդկանց համեմատությամբ: Կատալազի արգելակիչ՝ ազիդ $+H_2O_2$ -ի կամ էլեկտրոնդոնոր համակարգ՝ ասկորբատ-ֆենազինմեթոսուլֆատով էրիթրոցիտների ինկուբացիայի ժամանակ տեղի է ունենում ԼԳՕ-ի ուժեղացում: α -տոկոֆերոլ և իոնոլ հակաօքսիդանտները որոշ չափով ճնշում են այդ պրոցեսը:

A. V. Gyulkhandanian, G. M. Geokchakian, V. G. Azatian

Lipids Peroxide Oxidation and K^+ Quantity in Erythrocytes of Patients with Acquired Heart Diseases

S u m m a r y

The increase of lipids peroxide oxidation (LPO) and decrease of K^+ quantity was observed in erythrocytes of patients with acquired heart diseases in comparison with the norm. At incubation of erythrocytes with inhibitor of katalase asid $+H_2O_2$ or electron donor system ascorbate+phenasinmethosulfate the intensification of LPO is observed. Antioxidants α -tocopherol and ionol partially inhibit this process.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абрамова Ж. И., Оксенгендлер Г. И. В кн.: «Человек и противокислительные вещества». Наука, Л., 44, 1985.
2. Владимиров Ю. А. Вопросы мед. химии, 1, 7—19, 1989.
3. Гончаренко М. С., Латинова А. М. Лаб. дело, 1. 60—61, 1985.
4. Гюльханданян А. В. Биолог. ж. Армении, 40, 205—209, 1987.
5. Мецлер Д. Биохимия, Мир, М., 2, 1980.
6. Филиппов И. К., Лентищева Л. В., Сербин В. И., Никонорова Т. М.

Вопр. охраны материнства и детства, 10, 51—53, 1987. 7. Фридович И. В. В кн.: «Свободные радикалы в биологии» (под ред. У. Прайора), М., 1, 272—314, 1979. 8. *Carrel R., Winterbourn C., Rachmilewitz E.* Br. J. Haematol., 30, 259—264, 1975. 9. *Guardini O., Tacccone-Gallucci M., Lubrano R., Piccardi-Tenere B., Bandino D., Silvetti J., Ruberto U., Caschiari C. U.* Nephrol., 36, 235—237, 1984. 10. *Maridonneau J., Braquet P., Garay R. P.* J. Biol. Chem., 258, 3107—3113, 1983. 11. *Rachmilewitz E., Lubin B., Shohet S.* Blood, 47, 495—505, 1976. 12. *Stocks J., Dormandy T. S.* Br. J. Haematol., 20, 95—111, 1971.