

Е վիՏԱՄԻՆԻ ՍՄՀ-ՖՈՐԵԶԻ ԵՎ ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԳԵՐՈՔՍԻԴԱՅԻՆ ՕՔՍԻԴԱՅՈՒՄԸ ՈՂՆԱՇԱՐԻ ՕՍՏԵՈՆՈՒԴՐՈԶԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ներկայացված է ռդնաշարի, պարանոցային և գոտկային հատվածների ներոլոգիական երևույթներով ողնաժնային ախտահարման ժամանակ E վիտամինի ՍՄՀ-ֆորեզի բուժման արդյունավետության վերաբերյալ տվյալներ, որոնք պարզել են E վիտամինի, ՍՄՀ-ֆորեզի նշանակալից ազդեցությունը ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ շրաժնային օքսիդացման վրա, նվազեցնելով E վիտամինի անբավականությունը հյուսվածքներում:

A. S. KHACHATRIAN, A. B. ASSATRIAN, E. R. GRIGORIAN, N. R. POGHOSSIAN

SMT PHORESIS WITH VITAMIN E AND LIPIDS PEROXIDE OXIDATION IN OSTEOCHONDROSIS

The data are given about the effectivity of treatment of patients with vertebrogenic affection of the cervical and lumbar sections with neurologic manifestations by SMTphoresis with vitamin E. SMTphoresis with vitamin E has significant influence on the lipids peroxide oxidation, decreases the deficiency of vitamin E, tissues hypoxia and promotes the positive clinical shifts during the disease.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бенисович В. И., Идельсон Л. И. *Вопр. мед. химии*, 1973, 6, с. 596.
2. Владимиров В. А., Арчаков А. И. В кн.: *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах*. М., 1972.
3. Меерсон Ф. З. В кн.: *Адаптация, стресс и профилактика*. М., 1981.
4. Мхитарян В. Г., Меграбян А. А., Бадалян Г. Е. и др. *Ж. exper. и клин. мед. АН АрмССР*, 1983, 3, с. 237.
5. Пушкина Н. Н. В кн.: *Биохимические методы исследования*. М., 1963, с. 194.
6. Раскин И. М. В сб.: *Витамины*, т. 8. Киев, 1975, с. 122.
7. Улащик В. С. В кн.: *Введение в теоретические основы физической терапии*. Минск, 1981, с. 73.
8. Duggan D. E. *Arch. Physiol. Scand.*, 1967, 49, 47.

УДК 616.13—004.6—074 : 615.37

Г. Х. БОЖКО, П. В. ВОЛОШИН, В. М. КУЛАБУХОВ,
Л. С. КОСТЮКОВСКАЯ, А. С. ТОЧИЛОВСКИЙ

БЕЛКИ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ

Исследовалось количество и состав фракций белков, выделенных кислотной экстракцией из сыворотки крови больных церебральным атеросклерозом и животных при гиперхолестеринемии. Обнаружено, что содержание исследованных белков при атеросклерозе и выраженной гиперхолестеринемии существенно уменьшалось. Электрофорез в полиакриламидном геле показал, что уменьшение их суммарного содержания происходило за счет низкомолекулярных компонентов и одной из высокомолекулярных фракций. Предполагается важная роль исследованных белков в патогенезе атеросклероза.

При нарушении мозгового кровообращения не удается обнаружить изменения суммарного количества белков крови [7]. Между тем относи-

тельное содержание электрофоретических фракций характеризуется существенными отличиями, что позволяет использовать особенности диспротениемий в диагностике и оценке качества терапии [5]. В настоящей работе поставлена задача исследовать количество и состав фракций белков, полученных из сыворотки крови кислотной экстракцией. Среди белков этой фракции могут присутствовать щелочные протеины, способные связывать холестерин (ХС) крови и сосудистой стенки и принимать участие в молекулярных механизмах его транспорта [3].

Обследовано 66 больных и 10 здоровых лиц обоего пола в возрасте от 45 до 65 лет. Одним из условий исследования было наличие типичной картины заболевания, что подтверждалось регистрацией особенностей РЭГ, ЭЭГ и ЭКГ.

Экспериментальную гиперхолестеринемию вызывали у 10 кроликов-самцов массой 2,8—3,3 кг. Животные получали с пищей ежедневно по 0,5 г/кг дважды перекристаллизованного ХС. В динамике развития гиперхолестеринемии определяли содержание общего ХС, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП [4]. Белки для исследования получали кислотной обработкой сыворотки крови [6]. Электрофорез белков проводили в вертикальных пластинах полиакриламидного геля (ПААГ) 160×140×2 мм [1]. По мере продвижения белковых молекул поры разделяющей пластины ПААГ уменьшались, что достигалось созданием линейного градиента концентрации акриламида (7,5—20%). Это позволяло наилучшим образом использовать эффект «молекулярного сита» при разделении высоко- и низкомолекулярных компонентов. Электрофореграммы денситометрировали, рассчитывая весовое количество каждой фракции. Количество белка определяли по методу Miller [10]. Полученные данные обработаны с применением общепринятых статистических методов [9].

Как видно из табл. 1, в сыворотке крови здоровых и больных лиц содержалось немногим более 70 мг/мл белков. Количество экстрагируемых кислотой белков у исследованной группы больных составляет около 20%. Данная фракция белков выделена также из сыворотки здоровых людей (29%). Подобные белки получены из крови крыс, кроликов и морских свинок [6]. Причем их относительное содержание было близким у всех исследованных видов животных (26—29%). Следовательно, эти соединения являются нормальными компонентами крови. Поскольку исследуемые белки растворялись в 0,2 н серной кислоте, вполне можно допустить, что они обладали щелочными свойствами. Эта особенность может обуславливать их способность связывать ХС [3].

Как видно из табл. 1, у больных церебральным атеросклерозом количество исследуемых белков уменьшалось по сравнению с контролем почти на 25%. Наблюдалась прямая зависимость между выраженностью изменений в содержании белков и глубиной развития атеросклеротического процесса. У больных атеросклерозом при длительности заболевания 10—15 лет содержалось всего 13,5 мг/мл белков, т. е. было ниже на 36,8% по сравнению со здоровыми людьми и существенно меньше средних значений исследованной группы больных атеросклерозом. На основании полученных данных можно предположить, что исследованная фракция белков сыворотки имеет патогенетическую значимость при

церебральном атеросклерозе, развитие которого сопровождается уменьшением их содержания.

Вместе с тем при гипертонической болезни количество экстрагируемых кислотой белков также было ниже нормы (табл. 1). Это обстоятельство указывает на отсутствие строгой специфичности при анализе белков этой фракции у больных атеросклерозом. Однако в случае гипертонической болезни отмеченные изменения были выражены в значительно меньшей степени. Нельзя исключить также, что среди лиц с гипертонической болезнью полностью отсутствовали хотя бы начальные признаки атеросклеротического процесса.

Таблица 1

Содержание белков сыворотки крови при атеросклерозе и гипертонической болезни (мг/мл)

О щ и е белки	Белки, полученные кислотной экстракцией		
	контроль	атеросклероз	гипертоническая болезнь
$71,0 \pm 1,4$	$21,0 \pm 0,8$	$1,8 \pm 0,8^*)^{**}$	$17,9 \pm 0,6^*)$

Примечание. *изменение значимо по сравнению с контролем, ** изменение при атеросклерозе значимо по сравнению с гипертонической болезнью.

Применение пластин ПААГ значительно упрощало процедуру создания линейного градиента концентрации акриламида. Достигалась жесткая стандартизация условий электрофореза. Поэтому электрофоретическая подвижность белков от эксперимента к эксперименту сохранялась постоянной. Типичная картина результатов электрофореза белков исследуемого класса свидетельствует, что они разделялись на 5 крупных фракций. Помимо этого, как правило, обнаруживались еще 3—4 дополнительные полосы. Результаты электрофореза можно рассматривать в качестве свидетельства в пользу щелочной природы исследованных белков, поскольку в кислых условиях они двигались в электрическом поле в сторону катода и, следовательно, были заряжены положительно. Этот вывод подтверждается использованием в качестве свидетелей в отдельных опытах гистонов. Вместе с тем на электрофореграмме полосы гистонов располагались значительно ближе к катоду, чем исследуемые белки. Какое-либо перекрытие зон полностью отсутствовало. Между тем при строгом рассмотрении ни метод выделения обнаруженной фракции белков сыворотки, ни их электрофоретический анализ не исключают присутствия некоторого количества белков, обладающих нейтральными свойствами вследствие одинакового содержания кислых и основных аминокислот.

Большие различия в подвижности при электрофорезе в ПААГ по сравнению с гистонами исключают предположение о том, что выделенные нами белки имеют ядерное происхождение. Гистоноподобные белки могут присутствовать в сыворотке крови при поражении животных тканей фибросаркомой, однако в этом случае их подвижность совпадает с гистонами Н 1 и Н 2а—Н 2в. Отметим также, что в белковом спектре выше полосы гистона Н 1 присутствовали интенсивно окрашенные зо-

ны, подобные обнаруженным в нашей работе [2]. Однако авторы наличие этих полос никак не объясняли. На возможность присутствия в сыворотке крови белков щелочной природы указывают работы по изоэлектрическому фокусированию альбуминов. Ранее считали, что аль-

Таблица 2

Результаты электрофореза экстрагированных кислотой белков сыворотки крови при атеросклерозе и гипертонической болезни

Номер фракции	Контроль	Атеро- скле-роз	Р	Гипертони- ческая бо- лезнь	Р
1	10,7±0,40	8,1±0,50	0,001*) 0,01**)	9,9±0,39	—
2	0,9±0,05	0,7±0,07	0,05*)	0,7±0,04	0,05*)
3	3,3±0,23	1,7±0,34	0,001*)	2,2±0,22	0,01*)
4	0,6±0,06	0,5±0,08	—	0,3±0,06	0,01*)
5	1,0±0,09	1,1±0,21	—	0,8±0,10	—
6	0,6±0,09	0,6±0,05	—	0,5±0,05	—
7	0,6±0,08	0,4±0,08	0,1—0,05*)	0,5±0,05	—
8	0,8±0,11	1,1±0,11	0,1—0,05*) 0,05**)	0,7±0,09	—

Примечание. *значимость по сравнению с контролем, **сравнение количества при атеросклерозе и гипертонической болезни, ***отсчет в направлении от катода к аноду.

бумины являются типичными кислыми белками ($pI=4,7$). Однако с развитием методов изоэлектрического фокусирования белков наряду с фракцией $pI=4,7$ обнаружены более щелочные фракции с pI до 7,4 [8].

В табл. 2 представлены результаты расчета в весовом выражении каждой электрофоретической фракции. Эти данные получены на основании определения суммарного количества белков в исследуемом образце и вычисления по площади пиков денситограммы относительного распределения отдельных фракций. Эти результаты позволяют дополнить выводы о свойствах экстрагируемых кислотой белков, сделанные на основании определения их суммарного количества. Из табл. 2 видно, что уменьшение общего количества белков исследованной фракции при атеросклерозе происходило в основном за счет снижения уровня наиболее подвижных низкомолекулярных компонентов. Однако концентрация одного из высокомолекулярных белков (фракция 7) также понижалась. Сравнение результатов электрофоретического разделения экстрагируемых кислотой белков сыворотки крови при атеросклерозе и гипертонической болезни выявляет существенные различия. Однотипными были изменения лишь незначительной по интенсивности второй фракции.

Таким образом, обнаружение в сыворотке крови больных значительного количества белков, экстрагируемых кислотой, их гетерогенность, преимущественное уменьшение содержания при церебральном атеросклерозе, избирательность изменения отдельных фракций указывают на существенную роль их в патогенезе атеросклероза. В пользу

этого заключения свидетельствуют данные, полученные при изучении суммарного количества белков и отдельных электрофоретических фракций в процессе развития экспериментальной гиперхолестеринемии. Как видно из табл. 3, добавление в пищу животных ХС приводило к значительному увеличению его концентрации в сыворотке крови (более чем в 25 раз спустя 3—5 месяцев после начала эксперимента). Чрезвычайно резко возрастала концентрация ХС в составе ЛПНП. Изменения содержания белков в динамике развития гиперхолестеринемии свидетельствуют, что в начальный период холестериноза наблюдалось увеличение содержания суммарных белков сыворотки ($p < 0,05$), однако в дальнейшем происходило существенное уменьшение по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,01$). Качественно таким же было изменение белков сыворотки, которые экстрагировались кислотой. Вместе с тем изменения содержания белков этой фракции были выражены более отчетливо. Результаты электрофореза в ПААГ в общих чертах совпадали у больных атеросклерозом и при экспериментальной гиперхолестеринемии.

Таблица 3

Холестерин сыворотки крови и липопротеинов в динамике развития экспериментальной гиперхолестеринемии (ммоль/л)

Фракция	Начальный уровень	Время содержания на диете, обогащенной холестерином (сутки)			
		30	60	90	150
Общий холестерин	$0,5 \pm 0,14$	$5,2 \pm 0,74$	$14,6 \pm 1,54$	$25,1 \pm 2,76$	$26,2 \pm 4,1$
Холестерин ЛПНП	$0,4 \pm 0,07$	$3,8 \pm 0,52$	$9,4 \pm 1,20$	$11,6 \pm 1,07$	$13,1 \pm 1,7$
Холестерин ЛПВП	$0,04 \pm 0,02$	$0,4 \pm 0,05$	$0,3 \pm 0,04$	$0,4 \pm 0,05$	$0,6 \pm 0,1$

Исследование белков сыворотки крови при моделировании атеросклероза в динамике развития гиперхолестеринемии позволило выявить период, характеризующийся увеличением содержания сывороточных белков с преимущественным возрастанием фракции, которая экстрагируется кислотой. Только последующее накопление ХС в крови сопровождалось снижением количества белков. Эти результаты подчеркивают важную роль белков сыворотки в патогенезе атеросклероза. Помимо этого, они позволяют предположить, что на ранних этапах гиперхолестеринемии биохимические механизмы, противодействующие развитию холестериноза, включают стимулирование синтеза белков в печени.

Харьковский НИИ
неврологии и психиатрии

Поступила 22/V 1987 г.

Ч. Б. ԲՈՒԿՈՒ, Պ. Վ. ՎՈՂՈՇԻՆ, Վ. Մ. ԿՈՒԼԱԲՈՒՆՈՎ,
Լ. Ս. ԿՈՍՏՅՈՒԿՈՎՍԿԱՅԱ, Ա. Ս. ՏՈՇԻԼՈՎՍԿԻ

ԱՐՅԱՆ ԴԻՃՈՒԿԻ ՍՊԵՏԱԿՈՒՅՆԵՐԸ ՈՒՂԵՂԱՅԻՆ ԱՔԵՐՈՍԿԼԵՐՈԶՈՎ
ԶԻՎԱՆԴԵՐԻ ԵՎ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱՎԱՆ ԳԵՐԽՈՒՆՍՔԵՐԻՆԵՄԻԱՅԻ ԴԵՊՐՈՍԻ

Անոմալիաների և սպիտակուցի ֆրակցիաների քանակը և կազմը ան-
շարժած արյան շիճուկի թթվային էքստրակցիայի ձևով ուղեղային աթերոսկլե-

ըրգով հիվանդներից և գերխոլեսթերինեմիայով տառապող կենդանիներից: Հայտնաբերել ենք, որ հետազոտվող սպիտակուցի պարունակությունը աթերոսկլերոզի և արտահայտված գերխոլեսթերինեմիայի դեպքում էականորեն նվազել է: Փորձնական խոլեսթերինոզի սկզբնական շրջանում (30 օր հետազոտությունից հետո) նկատվում է մի փուլ, որը բնութագրվում է շիճուկի ընդհանուր սպիտակուցի և թթվով անջատվող սպիտակուցի մակարդակի բարձրացումով:

Էլեկտրաֆորեզը պոլիակրիլամիդային դոնդողում ցույց տվեց, որ հետազոտվող սպիտակուցները մասնատվում են 8—9 ֆրակցիաների: Դոմարային կազմի փոքրացումը կատարվել էր ցածրամոլեկուլային բաղադրամասի և մի բարձրամոլեկուլային մասի հաշվին: Ենթադրվում է հետազոտվող սպիտակուցների կարևոր դերը աթերոսկլերոզի ախտաճնոթյան մեջ:

G. Kh. BOZHKO, P. V. VOLOSHIN, V. M. KULABUKHOV,
L. S. KOSTYUKOVSKAYA, A. S. TOCHILOVSKY

BLOOD SERUM PROTEINS OF PATIENTS WITH CEREBRAL ATHEROSCLEROSIS AND IN EXPERIMENTAL HYPERCHOLESTERINEMIA

The quantity and composition of the proteins fractions separated by the acid extraction from the blood serum of patients with cerebral atherosclerosis and animals with hypercholesterinemia has been studied. It has been found that the quantity of the investigated proteins is substantially reduced in atherosclerosis and explicit hypercholesterinemia. In the initial period of experimental cholesterinosis the stage has been observed characterized by increasing of the levels of the total serum proteins and fractions extracted by the acid. The electrophoresis in polyacrilamide gel has shown that the investigated proteins were separated into 8—9 fractions. Reduction of the total content took place due to the low-molecular components and one of the high-molecular fractions. The important role of the investigated proteins in pathogenesis of atherosclerosis is supposed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Божко Г. Х., Волошин П. В., Костюковская Л. С., Кулабухов В. М. Укр. биохим. ж., 1983, 55, 3, с. 318.
2. Даскалов Д. П., Говазова И. Г. Вопросы мед. хим., 1979, 24, 5, с. 528.
3. Климов А. Н., Титова Г. В., Кожевникова К. А., Ключева Н. Н., Смирнова Е. В. Биохимия, 1982, 47, 2, с. 226.
4. Колб В. Г., Камышников В. С. Клин. биохимия. Минск, 1976.
5. Костюковская Л. С., Волошин П. В., Кулабухов В. М., Крыженко Т. В., Божко Г. Х. Ж. невропатол. и психиатр. им. С. С. Корсакова, 1984, 84, 1, с. 18.
6. Кулабухов В. М., Волошин П. В., Костюковская Л. С., Божко Г. Х. Укр. биохим. ж., 1987, 59, 2, с. 27.
7. Молчанов В. В. Труды Саратовского медицинского института. Саратов, 1973, с. 73.
8. Троицкий Г. В., Ажицкий Ю. Г. Изоэлектрическое фокусирование белков в самоорганизующихся и искусственных рН-градиентах. Киев, 1984, с. 180.
9. Фишер А. А. Статистические методы для исследователей. М., 1958.
10. Miller G. L. Analytical Chemistry, 1959, 31, 5, 964.