

ВРЕМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЦИТОКИНЕТИКИ КРОВИ ПРИ СТРЕССЕ

Л.А.Бабаян, Ю.М.Погосян, В.А.Фролов

*/ЦКВГ МО РА, Ереван,
Российский университет дружбы народов, Москва/
117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6*

Ключевые слова: амплитуда, акрофаза, инфра-, цирка- и ультрадианные ритмы

При действии патогенных факторов организм стремится перейти в новое устойчивое состояние, изменяя характер временной организации своих гомеостатических систем.

В течение последних лет показано, что при хроническом стрессе у животных временная организация гомеостатических систем организма характеризуется инфрадианной ритмичностью [2]. В ответную реакцию организма на повреждающие факторы вовлекаются не только мезор, амплитуда ритма, но и частота периодических процессов. Высказано предположение [2], что замедление циркадианной ритмики способствует десинхронизации и «запаздыванию» фазовой синхронизации между показателями и реализацией закона перемежающейся активности функциональных структур [7].

В работе приводится опыт применения биоритмологического подхода к выявлению роли длительно действующих стрессорных факторов на циркадианную цитокинетику (лейкоцитов) крови.

Материал и методы

Опыты проводились на кроликах-самцах породы шиншилла. Первая серия проведена на интактных животных (15 кроликов массой $2608,0 \pm 96,0$ г). Во второй серии (20 кроликов массой $2600,0 \pm 87,0$ г) воспроизводили стресс ежесуточной 1–1,5-часовой иммобилизацией (в течение 2 недель) кроликов с одновременным электрическим раздражением задней конечности (частота – 100 Гц, продолжительность – 1 мс, сила тока – 5–20 мА) при помощи импульсатора «ЭИ-1» [3,8]. Иммобилизация и одновременное электрокожное раздражение проводились в разные часы. У всех животных второй серии, начиная с 12-х суток воспроизведения стресса, в течение 2 суток с 4-часовым интервалом забира-

ли кровь из ушной вены. Все животные находились в индивидуальных клетках с обычным рационом питания вивария и имели свободный доступ к воде. Об активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы судили по возрастанию мезора и амплитуды ритмов кортикостерона в крови. Количественное определение кортикостерона в плазме крови проводилось с помощью радиоиммунологического анализа (набор РИН-В- ^3H). Приготовление, окраску мазков крови и дифференциальный подсчет лейкоцитов проводили общепринятыми методами [4].

Для оценки параметров ритмов использованы нелинейный метод наименьших квадратов и метод оценки повторяемости фрагментов исследуемой кривой, основанный на дисперсионном анализе [1,6]. Математические расчеты проведены на персональном компьютере IBM PC/AT. Ритмы группировались согласно Международной классификации [9,10] — в интервале от 3 до 20 ч — ультрадианные, от 20 до 28 ч — циркадианные, от 28 до 96 ч — инфрадианные.

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что у интактных животных ритмы лейкоцитов в основном статистически достоверны (в среднем 68%). Среди достоверных ритмов доминирует циркадианный диапазон (в среднем 88%). Ультра- и инфрадианные ритмы статистически достоверно меньше ($p < 0,001$) по отношению к ритмам циркадианного диапазона (табл. 1).

Таблица 1

Мезор и амплитуда ритмов кортикостерона (нмоль/л) и лейкоцитов крови и ультра-, цирка- и инфрадианное распределение статистически достоверных ритмов у интактных животных (%)

Показатель	Ритмы				Мезор	Амплитуда
	досто- верные	ультра- дианные	цирка- дианные	инфра- дианные		
Кортикостерон	80	0	63	47	23,0 $\pm$ 2,5	18,2 $\pm$ 2,8
Эозинофилы	60	0	100	0	1,3 $\pm$ 0,3	0,89 $\pm$ 0,2
Палочкоядерные	60	0	100	0	1,8 $\pm$ 0,18	0,7 $\pm$ 0,13
Сегментоядерные	60	33	67	0	38,9 $\pm$ 2,5	7,15 $\pm$ 0,9
Лимфоциты	80	0	75	25	50,9 $\pm$ 2,5	11,76 $\pm$ 2,06
Моноциты	80	0	100	0	6,3 $\pm$ 0,8	2,3 $\pm$ 0,3
Всего (лейкоциты)	68	6	88	6		

Как следует из данных табл. 1, у интактных животных статистически достоверные ритмы эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов и мо-

ноцитов в 100% случаев имеют циркадианный характер, достоверные ритмы кортикостерона плазмы крови имеют в основном также циркадианный характер. Акрофазы ритмов лейкоцитов и кортикостерона крови индивидуальны и совпадают в большинстве случаев с акрофазой — 06.00—24.00 ч.

Под влиянием длительно действующих стрессорных факторов происходят изменения временной структуры лейкоцитов крови (табл. 2). Увеличивается процент статистически недостоверных ритмов. Достоверные ритмы в среднем в 50% случаев — циркадианные, в 30% — ультрадианные и в 20% — инфрадианные.

Таблица 2

Мезор и амплитуда ритмов кортикостерона (нмоль/л) и лейкоцитов крови и ультра-, цирка- и инфрадианное распределение статистически достоверных ритмов у животных при стрессе (%)

Показатель	Ритмы				Мезор	Амплитуда
	досто- верные	ультра- дианные	цирка- дианные	инфра- дианные		
Кортикостерон	70	0	0	100	33,3±2,2**	30,9±2,3**
Эозинофилы	20	100	0	0	0,5±0,02*	0,5±0,03
Палочкоядерные	40	0	50	50	1,23±0,2	0,9±0,2
Сегментоядерные	0	-	-	-	26,8±3,5**	5,9±1,3
Лимфоциты	60	33	67	0	67,6±2,5***	3,7±1,3**
Моноциты	80	25	50	25	5,0±0,7	1,7±0,4
Всего (лейкоциты)	40	30	50	20		

Примечание. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — по отношению к данным интактных животных

Изменяются величины некоторых мезоров и амплитуд по сравнению с данными интактных животных. Статистически достоверные ритмы кортикостерона в 100% случаев находятся в инфрадианном, а эозинофилов — в ультрадианном диапазоне. Мезор и амплитуда ритмов кортикостерона достоверно больше ($p < 0,01$), чем у интактных животных.

Под влиянием хронически действующих стрессорных факторов отмечается уменьшение мезоров эозинофилов, сегментоядерных нейтрофилов и амплитуды лимфоцитов ($p < 0,01$). Мезор лимфоцитов крови при стрессе достоверно увеличен ($p < 0,001$).

Обобщая результаты ритмологических исследований цитокинетики крови можно заключить, что большинству интактных животных прису-

щи циркадианные ритмы лейкоцитов с внутренней синхронизацией по периоду между ритмами отдельных групп лейкоцитов и с определенной величиной мезоров и амплитуд. Акрофазы ритмов носят индивидуальный характер и неоднозначны. Под влиянием длительно действующих стрессорных факторов цитокинетика крови реорганизуется свою временную структуру, что заключается в трансформации циркадианного периода в непериодические колебания. Среди достоверных ритмов возрастает процент ультра- и инфрадианных ритмов.

Нами было показано, что временная структура гомеостатических систем организма (в частности водно-солевой гомеостаз) при хроническом стрессе характеризуется инфрадианной организацией [2]. Замедление циркадианной ритмики создает условия для повышения эффективности восстановительных процессов в условиях хронического стресса. Однако это явление наблюдается далеко не всегда. Вероятно, в тех случаях, когда для обеспечения резистентности организма требуется учащение колебаний, отдельные структуры вопреки своим собственным интересам реагируют на требование организма увеличением частоты колебаний. Вероятно, с этой точки зрения, можно объяснить увеличение случаев ультрадианных ритмов лейкоцитов в условиях хронического стресса. Важнейшими параметрами структуры циркадианных биоритмов, помимо параметров основной гармоника, являются ультрадианные компоненты [5,11]. Высказано предположение, что именно ультрадианным компонентам принадлежит важная роль в процессах адаптации [5].

Несколько неожиданным было одновременное повышение мезоров ритмов кортикостерона и лимфоцитов крови при стрессе. Как известно, кортикостероиды являются иммунодепрессантами. Однако надо отметить, что если у интактных животных разность между акрофазами кортикостерона и лимфоцитов составляет от 1 до 6 ч, то в условиях хронического стресса акрофаза лимфоцитов находится в антифазе с акрофазой кортикостерона. В условиях хронического стресса резистентность организма достигается в результате работы множества функциональных систем, изменяется характер сложившихся внутренних связей временной организации. Вероятно, поэтому становится возможным одновременное повышение мезоров ритмов лимфоцитов и кортикостерона.

Проблема стресса с системных позиций тесно связана с индивидуальной реакцией каждого организма на однотипные стрессоры [8]. Выявленные нами цирка-, ультра- и инфрадианные ритмы, а также непериодические колебания цитокинетика крови свидетельствуют об индивидуальности реакций клеточной системы крови животных на один и тот же стрессор.

Поступила 15.04.98

Լ.Ա.Բաբայան, Յու.Մ.Պողոսյան, Վ.Ա.Ֆրոլով

Ուսումնասիրվել են արյան լեյկոցիտների և պլազմայի կորտիկոստերոնի շուրջօրյա ռիթմերը 15 ինտակտ և 20 իմոբիլիզացիոն ցավային ստրեսի ենթարկված ճագարների մոտ: Կենդանիներից արյունը վերցվել է 4 ժամյա ինտերվալներով, 48 ժամվա ընթացքում: Միմուտիդալ ռիթմերի պարամետրերը որոշվել են ամենափոքր քառակուսիների ոչ գծային մեթոդով, իսկ ոչ սիմուտիդալ ռիթմերինը՝ դիսպերսիոն անալիզի մեթոդով: Ինտակտ ճագարների մոտ արյան լեյկոցիտների և կորտիկոստերոնի ռիթմերը 63-100% դեպքում ունեին շուրջօրյա կառուցվածք: Ինտակտ կենդանիների համեմատությամբ իմոբիլիզացիոն ցավային ստրեսի ենթարկված ճագարների մոտ տեղի է ունենում արյան լեյկոցիտների և կորտիկոստերոնի ռիթմերի պարամետրերի փոփոխություն, որն արտահայտվում է պարբերականության, մեզոդի և ամպլիտուդի փոփոխությամբ:

TEMPORAL ORGANISATION OF BLOOD CYTOKINETICS AT STRESS

L.A.Babayan, Y.M.Poghossian, V.A.Frolov

The circadian rhythms of blood leukocytes and blood serum corticosterone are studied in this work. Four-hour blood specimens were taken from a span of 48 hours from 15 intact rabbits and 20 rabbits under the action of immobilization painful stress. Rhythm parameters have been estimated by nonlinear least squares method for sinusoidal rhythms and by dispersion analysis for nonsinusoidal rhythms. In intact rabbits blood leukocytes and blood serum corticosterone rhythms were circadian in 63-100% of cases. In rabbits blood leukocytes and blood serum corticosterone rhythms changed under the action of stress, which were expressed in the alterations of period, mesor and amplitude in comparison with the data of intact rabbits.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Асланян Н.Л., Шухян В.М., Крицян Э.М. и др.* Лаб. дело, 1984, 1, с. 49.
2. *Бабаян Л.А.* Особенности циркадианной организации водно-минерального гомеостаза при сердечно-сосудистых заболеваниях. Автореф. дис. докт. М., 1992.
3. *Вартапетов Б.А., Бондаренко Л.А., Трандофилова Г.М.* Физиол. журнал, 1984, 2, с. 243.
4. *Кассирский И.А.* Справочник по функциональной диагностике. М., 1970, с. 304.
5. *Катинас Г.С.* В кн.: Тканевая биология. Тарту, 1976, с. 12.
6. *Крицян Э.М.* Хронобиология и хрономедицина (тр. Всесоюзн. конф.) Уфа, 1985, 1, с. 36.
7. *Крыжановский Г.Н.* В кн.: Биологические ритмы в механизмах компенсации нарушенных функций. М., 1973, с. 20.
8. *Судаков К.В.* Вестн. АМН СССР, 1982, 7, с. 11.
9. *Caradente F.* Chronobiologia, 1984, 11, p. 313.
10. *Halberg F., Caradente F., Corneliussen G., Katinas G.S.* Chronobiologia, 1977, 4, 1, p. 191.
11. *Moore-Ede M.S., Kass D.A., Fuller C.A. et al.* Proc. Intern. Union Physiol. Sci. 27th Intern. Congr., 12, Paris, 1977, p. 128.

БИОМАРКЕРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПРОГНОЗИРОВАНИИ АНТИОКСИДАНТОТЕРАПИИ

Р.Г.Мокацян

*/Медицинский центр "Эребуни"/
375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: биомаркер окислительного стресса, перекисное окисление липидов (ПОЛ), антиоксидантная система (АОС)

Окислительный стресс — многокомпонентный процесс, включающий совокупность структурно-функциональных модификаций биополимеров, биомембран, метаболических сдвигов на уровне клеток, тканей и организма в целом, индуцированных высоким уровнем реактивных кислородных разновидностей, свободных радикалов, а также мембрано- и цитотоксических продуктов ПОЛ [38]. Окислительный стресс реализуется в результате дисбаланса между активностью реакций образования реактивных кислородных разновидностей, свободных радикалов и антиоксидантной защиты [37,41].

Биологическая значимость свободных радикалов и реактивных кислородных разновидностей определяется их двойственной функцией в биологических системах. С одной стороны, они являются медиаторами и вторичными мессенджерами важнейших функций клеток и тканей, будучи вовлеченными в тончайшие механизмы регуляции кровоснабжения органов, апоптоза, иммуногенеза, эндокринного статуса, нейротрансмиссии, метаболизма на уровне мембран, рецепторов, аллостерических эффектов и генов [2,34,38], с другой, — свободные радикалы и реактивные кислородные разновидности ответственны за универсальную токсичность и опасные внутриклеточные реакции, связанные с окислительным стрессом, включающие активацию цепных реакций ПОЛ, окисление белков, нуклеотидов, ДНК, повреждение и истощение антиоксидантной защиты [16,23,26].

Окислительный стресс с чрезмерной интенсификацией ПОЛ и антиоксидантным дефицитом характерен для большинства болезней человека, включая кардиоваскулярные заболевания, диабет, атеросклероз, ожоговую болезнь, нейродегенеративные болезни, гипоксические и токсические повреждения тканей, иммунодефицит, острый респираторный дистресс синдром, беременность с фактором риска и т.д. [1,3,13,17,18,

25]. Участие окислительного стресса в этиопатогенезе того или иного заболевания различно: в одних случаях активация ПОЛ является одной из причин возникновения и развития болезни, в других — интенсификация свободнорадикальных реакций окисления наступает на более поздних стадиях заболевания в результате деструктивных изменений в клетке, усугубляя патологические сдвиги метаболизма [3].

Концепция окислительного стресса предполагает, что антиоксидантная защита является гарантией устойчивости биомембран, клеток, тканей и организма в целом против отклонений метаболизма, индуцированных высоким уровнем агрессивных форм кислорода и свободных радикалов. Исследования в этом направлении способствовали широкому внедрению в клиническую практику биоантиоксидантов, т.к. коррекция с их помощью окислительного стресса способствует восстановлению гомеостаза и благоприятному исходу заболевания. В связи с этим разработка методов предотвращения и устранения окислительного стресса и относительной антиоксидантной недостаточности является актуальной проблемой клинической и теоретической медицины [24].

Известно, что в зависимости от используемой дозы антиоксиданты проявляют антиоксидантный или прооксидантный эффект [4,25]. Исследованиями Е.Б. Бурлаковой [5] на модели изолированного нейрона виноградной улитки было показано, что доза антиоксиданта 10^{-3} М не только активна, но и токсична, тогда как доза на четыре порядка ниже первоначальной оказалась не только менее токсичной, но и более эффективной, достигая максимума при 10^{-15} М. Существование токсического клинического синдрома, связанного с применением высоких доз α -ТФ, а также его положительные эффекты на важные физиологические функции — иммунные реакции, гранулоцитарную активность, каскад арахидоновой кислоты, гормональный статус — послужили основанием для изучения дозозависимой терапии α -ТФ с учетом перспектив ее эффективности и токсичности [35]. Некоторые исследователи акцентируют внимание на двойственном эффекте антиоксидантов как лекарственных средств, т.к., с одной стороны, они оказывают положительное воздействие в профилактике склероза, тромбоза, эндотоксического шока и т.д., предотвращая возникновение токсических липоперекисей, изопростанов и тромбоксана A_2 [9], а с другой, — слишком тщательно устраняя свободные радикалы и реактивные разновидности кислорода, могут тормозить образование цитопротективных простаноидов PGE_2 и PGI_2 .

В литературе имеются сообщения, что при некоторых патологических состояниях, сопровождающихся окислительным стрессом, антиоксидантотерапия оказывается не столь эффективной, в связи с чем ставится вопрос о ее целесообразности [2, 22, 36]. В этом аспекте поиск биомаркеров окислительного стресса, прогнозирующих целесообразность и эффективность антиоксидантотерапии, является актуальным.

Целью настоящего исследования было изучение особенностей реализации окислительного стресса при различных гинекологических заболеваниях и патологических состояниях для выявления общих закономерностей и возможных специфических характеристик этого процесса.

Материал и методы

Нами были обследованы 262 женщины репродуктивного возраста. В контрольную группу вошли 30 соматически здоровых пациенток с нормальной менструальной и репродуктивной функциями. Больные основной группы (232 женщины с различными гинекологическими заболеваниями) разделены на 3 группы: I группу составили 71 пациентка с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) и нормопролактинемией; II — 114 пациенток с синдромом гиперпролактинемии (из них 82 — с СПКЯ и гиперпролактинемией вошли во II.1 группу, 22 — с функциональной гиперпролактинемией — во II.2 группу и 10 пациенток с органической гиперпролактинемией (микропролактинома) составили II.3 группу; в III группу вошли 47 пациенток с воспалительными заболеваниями женских половых органов, вызванных урогенитальными инфекциями.

Мембраны эритроцитов выделяли по методу Limber [29], активность ПОЛ определяли в системах аскорбат-зависимого (АЗП) и NADPH-зависимого перекисного окисления липидов (НЗП) колориметрическим методом по реакции малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой [6]. Содержание продуктов ПОЛ в эритроцитарных мембранах и плазме крови — ацилгидроперекисей (АГП) и диеновых конъюгатов (ДК) определяли спектрофотометрически [7], МДА — колориметрически [40], шиффовые основания (ШО) — флуорометрически [11]. Содержание α -ТФ в плазме крови и эритроцитарных мембранах определяли флуорометрически по Duggan [20], активность супероксиддисмутазы (СОД) — по ингибированию генерации супероксидных анионов в модельной системе феназинметосульфат-NADH — нитротетразолий синий [30], активность глутатионредуктазы (ГР) — по Pinto, Bartley [32], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) — спектрофотометрически по увеличению интенсивности поглощения при 340 нм [21].

Результаты и обсуждение

Мы исходили из предположения, что только выявление соотношения специфических и неспецифических компонентов окислительного стресса позволит установить универсальные его биомаркеры, дающие информацию не только о степени выраженности дисбаланса в реакциях ПОЛ и АОС, но и прогнозирующие необходимость и эффективность антиоксидантотерапии. В своих предположениях мы основывались на утверждении Г.Селье [14] о том, что в стрессе тесно переплетаются специфическое и неспецифическое начало: по своему характеру стресс является синдромом специфическим, а по своему происхождению неспецифическим.

В литературе известны исследования по определению различных биомаркеров окислительного стресса. Karlov et Balandina утверждают, что об адекватности адаптивных процессов на клеточном уровне в экстремальной ситуации можно судить по динамике плазменного МДА [28]. Другие исследователи рекомендуют в качестве биомаркеров окислительного стресса уровень α -ТФ и МДА в плазме крови или активность СОД и каталазы [31, 39]. Биомаркером окислительного стресса при системных болезнях, в частности при системной красной волчанке, может служить уровень МДА-модифицированных белков в плазме крови [15].

Сравнительный анализ результатов проведенных нами исследований активности ПОЛ и АОС при различных гинекологических заболеваниях выявил, что интенсификация ПОЛ — это неспецифический компонент стресс-реакции и адаптации, поэтому динамика сдвигов в системе реакций свободнорадикального окисления липидов и индуцируемые ею метаболические нарушения однотипны (табл. 1).

У пациенток всех изученных основных групп в биомембранах значительно активируется путь свободнорадикального окисления липидов, причем с одинаковой интенсивностью как ферментативное (НЗП), так и неферментативное (АЗП) его звено (в 2-2,6 раза по сравнению с контрольной группой, табл. 1).

Интенсификация ПОЛ сопровождается накоплением в плазме крови и эритроцитарных мембранах агрессивных, токсических продуктов ПОЛ. Содержание начальных продуктов ПОЛ — АГП и ДК в эритроцитарных мембранах и плазме крови женщин всех изученных групп возрастает примерно в одних и тех же пределах — в 1,4–2,4 раза.

Уровень МДА в эритроцитарных мембранах возрастает на 41–87%, тогда как сдвиги в плазме крови незначительны — у пациенток I, II.2 и II.3 групп его содержание находится на уровне контроля, у остальных (II.1 и III) повышается в пределах 16–25%.

Особенно значительно повышается содержание ШО в эритроцитарных мембранах — в 5–8 раз у женщин I, II и III групп. Накопление ШО в плазме крови происходит с меньшей интенсивностью — всего на 37–74%. Известно, что повышение концентрации ШО (МДА-модифицированных белков) в плазме крови и биомембранах изменяет их конформацию, иммунологическую причастность, способность связывать различные лиганды, транспортные свойства, модифицирует рецепторную активность мембран [19,33].

Адаптационные перестройки в АОС при изученных заболеваниях также реализуют общие закономерности, выявляя три типа вовлеченности α -ТФ, согласно которым, каждая из обследованных групп была подразделена на три подгруппы (табл. 2).

Таблица 1

Активность АЗП, НЗП, содержание АГП, ДК, МДА, ШО в эритроцитарных мембранах и плазме крови при СПКЯ, гиперпролактинемии и при воспалительных заболеваниях женских половых органов, вызванных урогенитальными инфекциями

Группа		АЗП	НЗП	АГП		ДК		МДА		ШО	
		эритроцитарная мембрана		плазма	эрит. мембр.	плазма	эрит. мемб.	плазма	эрит. мемб.	плазма	эрит. мемб.
		нМ МДА/мг белка		ед/мл	ед/мг	нМ/мл	нМ/мг	нМ/мл	нМ/мг	ед/мл	ед/мг
Контрольная n=30		1,8±0,1	2,2±0,3	2,3±0,2	1,6±0,2	4,55±0,4	1,85±0,2	5,5±0,3	1,5±0,2	0,46±0,04	0,015±0,002
Основные	I n=71	4,76±0,25 p<0,001	5,75±0,35 p<0,001	4,7±0,4 p<0,001	3,64±0,5 p<0,001	8,5±0,5 p<0,001	2,9±0,2 p=0,001	5,8±0,3 0,001<p<0,005	2,5±0,2	0,8±0,1 p=0,005	0,12±0,01 p<0,001
	II.1 n=82	3,6±0,46 p<0,001	5,6±0,3 p<0,001	4,16±0,35 p<0,001	3,2±0,3 p<0,001	9,34±0,5 p<0,001	3,3±0,2 p<0,001	6,4±0,2 p=0,02	2,8±0,1 p<0,001	0,73±0,02 p<0,001	0,076±0,006 p<0,001
	II.2 n=22	3,95±0,4 p<0,001	5,7±0,3 p<0,001	4,07±0,2 p<0,001	3,84±0,3 p<0,001	8,9±0,5 p<0,001	4,0±0,4 p<0,001	5,64±0,2 p<0,001	2,66±0,2 p<0,001	0,65±0,06 p<0,001	0,1±0,01 p<0,001
	II.3 n=10	3,14±0,3 p<0,001	5,0±0,6 p<0,001	3,48±0,6 p<0,001	2,33±0,2 p=0,025	10,5±0,9 p<0,001	3,6±0,5 p<0,001	5,48±0,25 p<0,001	2,12±0,15 p<0,001	0,63±0,08 p<0,001	0,1±0,025 p<0,001
	III. n=47	4,5±0,3 p<0,001	5,45±0,3 p<0,001	4,14±0,27 p<0,001	2,85±0,4 p=0,01	8,1±0,35 p<0,001	3,17±0,2 p<0,001	6,9±0,5 p=0,025	2,8±0,2 p<0,001	0,72±0,06 p=0,001	0,09±0,007 p<0,001

Примечание. p — статистическая достоверность относительно контроля

Содержание α -ТФ в плазме крови и эритроцитарных мембранах при СПКЯ, гиперпролактинемии и при воспалительных заболеваниях половых органов, вызванных урогенитальными инфекциями

Группа		α -токоферол	
		плазма, мг%	эритроцитарная мембрана, мкг/мг белка
Контрольная группа n=30		1,02±0,06	0,48±0,03
I n=71	I.1 n=18	1,3±0,07 p=0,005	0,5±0,01
	I.2 n=34	1,52±0,08 p<0,001	0,25±0,016 p<0,001
	I.3 n=19	0,78±0,03 p=0,001	0,26±0,02 p<0,001
II.1 n=82	II.1.1 n=16	1,36±0,06 p<0,001	0,48±0,009
	II.1.2 n=28	1,33±0,05 p<0,001	0,25±0,01 p<0,001
	II.1.3 n=38	0,766±0,02 p<0,001	0,22±0,01 p<0,001
II.2 n=22	II.2.1 n=5	1,5±0,1 p<0,001	0,486±0,01
	II.2.2 n=10	1,27±0,07 p=0,01	0,27±0,02 p<0,001
	II.2.3 n=7	0,67±0,06 p<0,001	0,19±0,03 p<0,001
II.3 n=10	II.3.1 n=3	1,22±0,04 p=0,025	0,55±0,04
	II.3.2 n=4	1,82±0,38 p=0,05	0,26±0,05 p<0,001
	II.3.3 n=3	0,73±0,1 p=0,025	0,2±0,03 p<0,001
III n=47	III.1 n=5	1,44±0,1 p<0,001	0,476±0,01
	III.2 n=21	1,38±0,08 0,001<p<0,005	0,248±0,1 p=0,05
	III.3 n=21	0,73±0,02 p=0,005	0,25±0,01 p<0,001

Примечание. p — статистическая достоверность относительно контроля

При первом типе адаптационных сдвигов (I.1; II.1.1; II.2.1; II.3.1; III.1 группы) на фоне контрольного уровня α -ТФ в эритроцитарных

мембранах в плазме крови его содержание повышается на 27; 33,3; 47, 19,6; 41% соответственно (табл. 2). Известно, что мобилизация α -ТФ из депо и перераспределение его между тканями является компонентом общебиологической закономерности адаптационных перестроек при различных физиологических и экстремальных состояниях, которая прослеживается при беременности, стрессе, гипоксии, адаптации к холоду [8,10,12,27].

При втором типе адаптационных перестроек выявлен значительный дефицит α -ТФ в биомембранах на фоне высокого уровня его в плазме крови. Степень выраженности дефицита α -ТФ в биомембранах у пациентов I.2, II.1.2, II.2.2, II.3.2, III.2 групп одинакова, уровень биоантиоксиданта в эритроцитарных мембранах понижен на 44–48% (табл. 2), в то время как уровень α -ТФ в плазме крови повышен на 49; 30; 24,5; 78 и 35% в I.2, II.1.2, II.2.2, II.3.2, III.2 группах соответственно. Можно предположить, что срыв адаптационных механизмов проявляется нарушением транспорта α -ТФ из плазмы крови в эритроцитарные мембраны или большей его вовлеченностью в элиминирование агрессивных форм кислорода и перекисных радикалов.

Третий тип адаптационных перестроек проявляется более значительным антиоксидантным дефицитом, т.к. уровень α -ТФ понижен как в плазме крови, так и в эритроцитарных мембранах. Содержание α -ТФ в плазме крови понижено на 23,5; 24,5; 34,4; 28; 28%, в эритроцитарных мембранах — на 46; 54; 60,4; 58,3; 48% в I.3, II.1.3, II.2.3, II.3.3, III.3 основных группах соответственно (табл. 2).

Компоненты ферментативного звена антиоксидантной защиты (СОД, ГР, Г-6-ФДГ) выявляют разную степень вовлеченности в адаптационные перестройки метаболизма, что проявляется различным сочетанием повышения или понижения активности антирадикальных ферментов.

Вскрытая закономерность свидетельствует, что в экстремальных условиях адаптационные перестройки в АОС имеют определенную индивидуальную специфическую направленность. Так у 19 пациенток I группы активность СОД повышена на 34,65%, у 18 пациенток II.1 группы — на 34%, у 4 — II.2 группы — на 29,3%, у 9 женщин III группы — на 16%, тогда как у 2 пациенток группы II.3 активность фермента находится на уровне контроля (табл. 3). У остальных пациенток активность СОД, наоборот, значительно понижается: на 43,6; 40; 38; 50,7; 44,6% в I, II.1, II.2, II.3, III группах соответственно (табл. 3). Аналогичная закономерность прослеживается с изменением активности антирадикальных ферментов глутатионного цикла — ГР и Г-6-ФДГ.

У 27 пациенток I группы активность ГР повышена на 58%, а у 44 — заторможена на 62%; у 23 пациенток II.1 группы — повышена на 64% и у 59 — понижена на 59,3%; у 9 больных II.2 группы — повышена на 80,4%, у 13 — понижена на 62,4%; у 3 пациенток II.3 группы — повышена на

58%, у 7 — понижена на 62%; у 17 пациенток III группы повышена на 48%, тогда как у 30 — понижена также на 48% (табл. 3).

Таблица 3

Активность СОД, ГР, Г-6-ФДГ в крови при СПКЯ, гиперпролактинемии и при воспалительных заболеваниях женских половых органов, вызванных урогенитальными инфекциями

Антиоксидантные ферменты	Контрольная группа n=30	Основные группы				
		I n=71	II.1 n=82	II.2 n=22	II.3 n=10	III n=47
СОД ед/мг белка	45,85±2,8	61,7±4,2 p=0,005 n=19	61,5±2,9 p<0,001 n=18	59,3±5,7 p=0,05 n=4	49,5±2,4 n=2	53,0±2,0 p=0,05 n=9
		25,87±2,8 p<0,001 n=52	27,37±0,8 p<0,001 n=64	28,4±2,0 p<0,001 n=18	22,6±4,0 n=8	25,4±1,3 p<0,001 n=38
ГР мМ/мл/мин	178,95±6,3	282,74±2,8 p<0,001 n=27	293,3±12 p<0,001 n=23	322,8±36 p<0,001 n=9	283,3±17,5 p<0,001 n=3	264,4±18,0 p<0,001 n=17
		68,24±5,8 p<0,001 n=44	72,88±5,1 p<0,001 n=59	67,3±8,3 p<0,001 n=13	68,2±14,2 p<0,001 n=7	93,2±5,5 p<0,001 n=30
Г-6-ФДГ нМ/мг белка	0,25±0,01	0,36±0,016 p<0,001 n=47	0,37±0,015 p<0,001 n=37	0,36±0,05 p=0,05 n=10	0,354±0,03 p=0,005 n=5	0,34±0,002 p<0,001 n=27
		0,17±0,007 p<0,001 n=24	0,168±0,02 p=0,001 n=45	0,186±0,009 p<0,001 n=12	0,19±0,003 p<0,001 n=5	0,18±0,004 p<0,001 n=20

Примечание. p — статистическая достоверность относительно контроля

Аналогично у части пациенток исследованных групп активность Г-6-ФДГ повышена в пределах 17,6–48% и понижена — 24–32,8% (табл. 3).

Итак, наши исследования показали, что специфичность адаптационных перестроек при окислительном стрессе реализуется в антиоксидантном статусе индивидуальным сочетанием направленности сдвигов в каждом звене АОС.

Индивидуальная специфическая направленность адаптационных перестроек активности антиоксидантных ферментов у пациенток I.1; I.2;

I.3 групп представлена на рис. 1–3. У пациенток I.1 группы различные сочетания понижения или повышения активности СОД, ГР и Г-6-ФДГ представлены 5 вариантами (рис. 1), у пациенток I.2 группы – 7 вариантами (рис. 2), у пациенток I.3 группы – 8 вариантами (рис. 3). Аналогичные сочетания сдвигов в активности антирадикальных ферментов были выявлены у пациенток других основных групп.

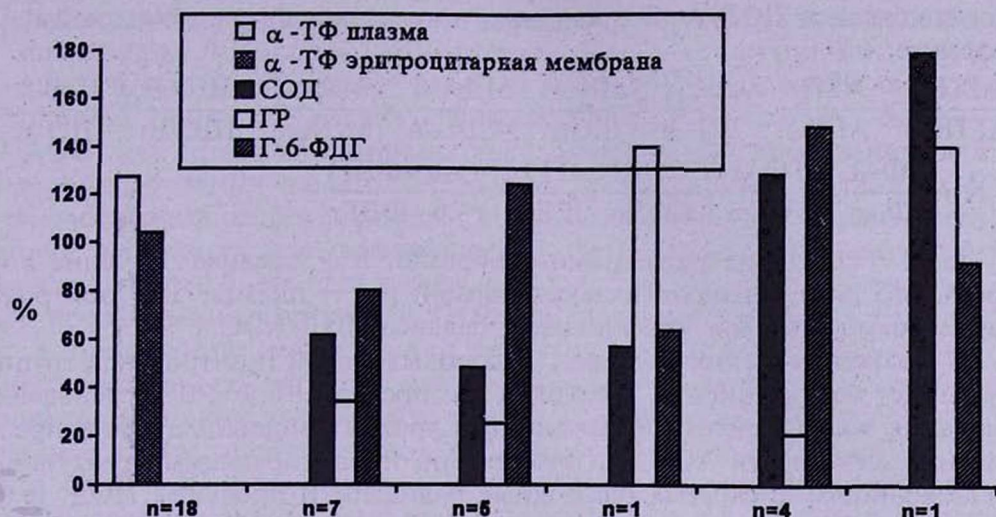


Рис. 1. Содержание α -ТФ в плазме крови и эритроцитарных мембранах, активность СОД, ГР, Г-6-ФДГ (в % по отношению к контролю – 100%) у пациенток I.1 группы

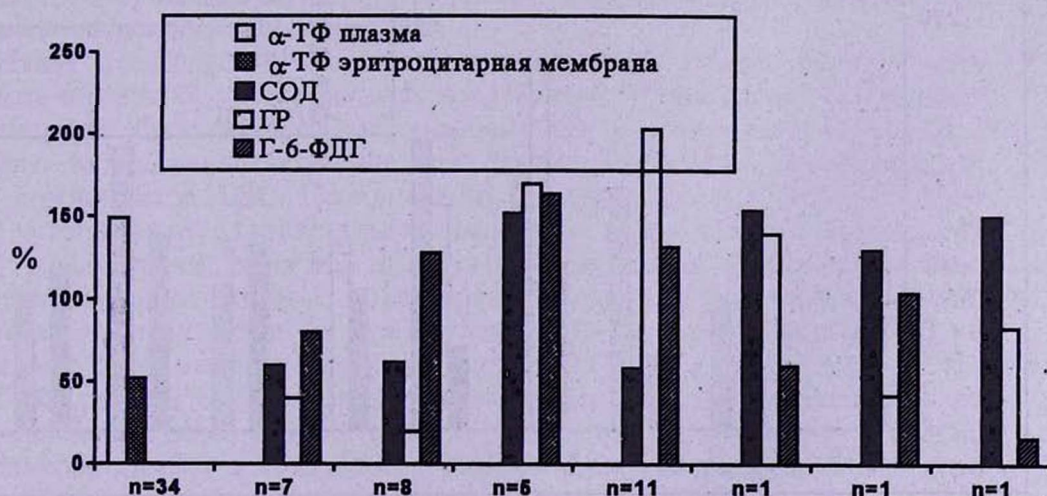


Рис. 2. Содержание α -ТФ в плазме крови и эритроцитарных мембранах, активность СОД, ГР, Г-6-ФДГ (в % по отношению к контролю – 100%) у пациенток I.2 группы

Результаты наших исследований дали возможность заключить, что биомаркером окислительного стресса, прогнозирующим необходимость и эффективность антиоксидантотерапии является коэффициент баланса ПОЛ и АОС. При расчете коэффициента баланса ПОЛ и АОС мы исходили из предположения, что в динамическом равновесии этих двух систем имеет значение не только абсолютная величина их отдельных компонентов, но и относительная в сравнении с контролем. Расчет коэффициента баланса ПОЛ/АОС проводили по следующей предложенной нами формуле:

$$\frac{АГП_{пл1}}{АГП_{плп}} \times \frac{АГП_{эл1}}{АГП_{элп}} \times \frac{ДК_{пл1}}{ДК_{плп}} \times \frac{ДК_{эл1}}{ДК_{элп}} \times \frac{МДА_{пл1}}{МДА_{плп}} \times \frac{МДА_{эл1}}{МДА_{элп}} \times \frac{ШО_{пл1}}{ШО_{плп}} \times \frac{ШО_{эл1}}{ШО_{элп}} =$$

$$= K \times \frac{TФ_{пл1}}{TФ_{плп}} \times \frac{TФ_{эл1}}{TФ_{элп}} \times \frac{СОД1}{СОДп} \times \frac{ГР1}{ГРп} \times \frac{\gamma-6-ФДГ1}{\gamma-6-ФДГп}$$

где 1 — значение исследуемого образца, п — среднее значение контрольного ряда (физиологическая норма), пл. — плазма, э. — эритроцитарная мембрана, К — коэффициент баланса ПОЛ/АОС.

В физиологических условиях у здоровых людей (контрольная группа) значение коэффициента находится в пределах 0,9–1,0. Уменьшение значения коэффициента ниже данного уровня свидетельствует о преобладании активности АОС над реакциями, продуцирующими реактивные разновидности кислорода, свободные радикалы и продукты ПОЛ, и наоборот, при возрастании величины коэффициента баланса ПОЛ/АОС активность систем, продуцирующих агрессивные формы кислорода и липоперекиси, преобладает над антиоксидантной активностью.

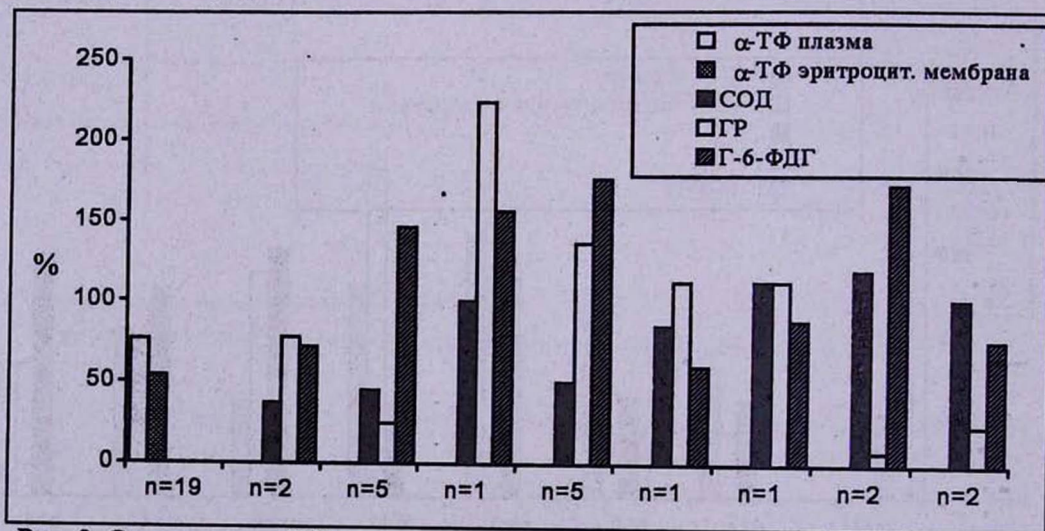


Рис. 3. Содержание α-ТФ в плазме крови и эритроцитарных мембранах, активность СОД, ГР, Г-6-ФДГ (в % по отношению к контролю — 100%) у пациенток I.3 группы

Известно, что регуляция ПОЛ системой природных антиоксидантов и других компонентов АОС происходит по принципу отрицательной обратной связи по замкнутому контуру [4]. В биомембранах строго сбалансированы процессы расходования антиоксидантов, активность антирадикальных ферментов, изменения качественного и количественного состава фосфолипидов, определяющие структурно-функциональную организацию биомембран. Увеличение активности АОС замедляет скорость ПОЛ, качественно и количественно модифицирует фосфолипидный состав биомембран, обогащая их легкоокисляемыми фракциями, что в свою очередь интенсифицирует реакции свободнорадикального окисления липидов, усиливает расход антиоксидантов и возвращает систему ПОЛ/АОС на исходный стационарный уровень. Использование для расчета К полученных нами ранее данных об активности ПОЛ и АОС при физиологической беременности и срочных родах [13] выявило его некоторое незначительное увеличение до 1,15–1,5 в случае беременности и родов – до 1,7–2,0. На наш взгляд, физиологическая значимость некоторого преобладания активности ПОЛ на фоне мобилизации АОС состоит в проявлении регуляторного эффекта продуктов свободнорадикального окисления липидов как вторичных мессенджеров в обеспечении повышенной потребности организма при беременности и родах в пластических и энергетических субстратах. Величина коэффициента баланса ПОЛ/АОС у пациенток основных групп на фоне интенсификации ПОЛ колеблется в очень широких пределах (от 0,7 до 400), выявляя ярко выраженную индивидуальную специфичность адаптационных перестроек. Известно, что реактивные разновидности кислорода и продукты ПОЛ сами включают защитные антирадикальные механизмы путем экспрессии генов, кодирующих синтез ферментов антиоксидантной защиты, а также генов ответа на стресс [16].

Наши исследования показали, что мобилизация адаптивных механизмов в ответ на экстремальные воздействия (в частности, то или иное гинекологическое заболевание) выявляет выраженную специфичность и зависит от резервных возможностей ферментативных и неферментативных компонентов АОС. При значении К в пределах 0,7–2,0 АОС выявляет устойчивость адаптивных механизмов, когда на фоне активирования ПОЛ и накопления его продуктов мобилизация отдельных звеньев антирадикальной защиты предотвращает реализацию окислительного стресса. Эти пациентки не нуждаются в антиоксидантотерапии, что невозможно было выявить лишь при учете абсолютных показателей ПОЛ и АОС без расчета К – биомаркера окислительного стресса. Величина коэффициента баланса ПОЛ/АОС показывает степень выраженности окислительного стресса и прогнозирует необходимость индивидуально дозозависимой антиоксидантотерапии.

Результаты проведенных исследований демонстрируют, что использование в качестве биомаркера окислительного стресса одного из продук-

тов свободнорадикального окисления липидов не дает полного представления о степени сбалансированности и динамики этого процесса.

Выявленная разная степень вовлеченности отдельных компонентов АОС в адаптационные перестройки при окислительном стрессе демонстрирует, что кажущиеся противоречия, наблюдаемые рядом авторов [2, 22, 36], между уровнем эндогенных антиоксидантов и степенью вовлеченности свободных радикалов в патогенез некоторых патологий обусловлены недостаточной глубиной наших знаний о сущности этого явления.

Поступила 18.11.97

ՕՔՍԻԴԱՅԻՈՆ ՍՏՐԵՍԻ ԲԻՈՍԱՐԿԵՐՆԵՐԸ ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԱՆՏԱՅԻՆ ԹԵՐԱՊԻԱՅԻ ԿԱՆԽԱՏԵՍՄԱՆ ՄԵՉ

Հ.Հ.Մոկացյան

Բացահայտված է, որ տարբեր զինեկոլոգիական հիվանդությունների ժամանակ լիպիդների ազատ ռադիկալային օքսիդացման ռեակցիաների ակտիվության և հակաօքսիդանտային համակարգի դիսբալանսի հետևանքով իրականացնում է օքսիդացիոն ստրես: Լիպիդների գերօքսիդացման արգասիքներ առաջացնող համակարգերի տեղաշարժերի դինամիկան միատիպ է: Հակաօքսիդանտային համակարգում հարմարողական վերափոխումները ունեն որոշակի յուրահատուկ ուղղվածություն: Բացահայտված են α -տոկոֆերոլի երեք տիպի ընդգրկումներ և հակառադիկալային ֆերմենտների ակտիվության բարձրացման և նվազման տարբեր ինդիվիդուալ զուգորդումներ:

Օքսիդացիոն ստրեսի բիոմարկեր է հանդիսանում լիպիդային գերօքսիդացման ակտիվության և հակաօքսիդանտային համակարգի հավասարակշռության գործակիցը, որը հնարավոր է դարձնում կանխատեսել հակաօքսիդանտային թերապիայի անհրաժեշտությունն ու արդյունավետությունը:

BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN PROGNOSTICATION OF ANTIOXIDANT THERAPY

· H.H.Mokatsian

It was established that in case of various gynecological diseases because of disbalance between the activity of reactions of lipid free-radical oxidation and antioxidant system the oxidative stress is realized. The dynamics of changes in the systems producing products of lipid peroxidation (POL) is unitype. The adaptive constructions in antioxidant system have definite individual, specific direction; three types of α -tocopherole involvements and various individual combinations of increase and decrease of antiradical enzymes activity have been revealed. The biomarker of oxidative stress, prognosticating the necessity and effectivity of antioxidant therapy, is the coefficient of activity balance of POL and antioxidant system.

1. Агаджанов М.И. Липидная пероксидация в патогенезе ожоговой болезни и влияние антиоксиданта на ее течение. Автореф. дис. докт. Ереван, 1979.
2. Болдырев А.А., Куклей М.Л. Нейрохимия, 1996, т.13, вып. 4, с. 271.
3. Бурлакова Е.Б. Кардиол., 1980, 8, с.48.
4. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Успехи химии, 1985, IV, 9, с. 1540.
5. Бурлакова Е.Б., Греченко Т.Н., Соколов Е.Н., Терехова С.Ф. Биофизика, 1989, т.31, 5, с. 921.
6. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
7. Гаврилов В.В., Меликорудко М.И. Лаб. дело, 1983, 3, 11.
8. Голиков П.П., Давыдов Б.В., Матвеев С.Б. Вопр. мед. химии, 1987, 33, 1, с. 47.
9. Григлевски Р.Е. Новости фармации и медицины, 1997, 1-2, с. 2.
10. Куликов В.Ю., Семенов А.В., Колесников Л.И. Перекисное окисление липидов и холодовый фактор. Новосибирск, 1988.
11. Меерсон Ф.З., Каган Б.Э., Голубева Л.Ю., Уголев А.А. Кардиол., 1979, XIX, 8, с. 108.
12. Микаелян Э.М. Регуляция перекисного окисления липидов при стрессе. Автореф. дис. докт. Ереван, 1989.
13. Мокацян Р.Г. Показатели перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы в крови рожениц и их новорожденных при нормальной и осложненной беременности. Автореф. дис. канд. Тбилиси, 1990.
14. Селье Г. Стресс без дистресса (перевод с англ.). М., 1979.
15. Amara A., Constans J., Chaugier C. Clin. Exp. Immunol., 1995, 101, 2, p. 233.
16. Camhi S.L., Lee P., Choi A.M. New-Horiz., 1995, May, 3, 2, p. 170.
17. Castellani R., Smith M.A., Richey P.L. Brain Res., 1995 Oct, 1-2, p. 268.
18. Cayota A., Vuillier F., Gonzales G., Dighiero G. Blood, 1996 June, 87, 11, p. 4746.
19. Chancerelle Y., Kergonon J.F. Ann. Pharm. Fr., 1995, 53, 6, p. 241.
20. Duggan D.D. Arch. Biochem. Biophys., 1954, 84, 1, p. 116.
21. Glock G.E., McLean P. Biochem. J., 1963, 55, 3, p.400.
22. Greenwald R.A. Free Radical Res. Commun., 1991, 12-13, p. 531.
23. Gutteriolge J.M. Clin. Chem., 1995, Pt. 2, p. 1819.
24. Hollan S. Haematologia Budap., 1995, 26, 4, p. 177.
25. Jacob R.A., Burri B.J. Amer. J. Clin. Nutr., 1996, 66, 6, p. 985.
26. Jaruga P., Dizdarglu M. Nucleic Acids Res., 1996, Apr. 15, 24, 8, p.1389.
27. Jagadeesan V., Prema K. British J.Obstet. and Gynec., 1980, 87, p. 908.
28. Karlov V.N., Balandina T.N. Aviakosm. Ekolog. Med., 1995, 29, 2, p.29.
29. Limber G.B., Davier E., Baur A.M. Blood, 1970, 36, 2, p.111.
30. Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 46, 2, p. 849.
31. Pinto R.E., Bartley V. Biochem. J., 1969, 112, p.109.
32. Perrin Nadif, Dusch M., Koch C. et al. J. Toxicol. Environ. Health., 1996, 48, 2, p. 108.
33. Preobrazhensky S., Trakht I., Chestkov V., Wentz M. Anal. Biochem., 1995, 227, 1, p. 225.
34. Richter C., Schweizer M., Cossarizza A., Franceschi C. FEBS Let., 1996 Jan, 8, 378, 2, p. 107.
35. Robert J., Knight R., Knight M. Clinics in perinatology, 1987, 14, 4, p. 843.
36. Sandrzadeh S.M., Meydani M., Khettry V., Nauji A.A. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1995, 273, 1, p. 455.
37. Sen S.K. Indian J. Physiol. Pharmacol., 1995, 39, 3, p. 177.
38. Torreilles J., Guerin M.C. Soc. Biol. Fil., 1995, 189, 3, p. 389.
39. Wisniewska K., Wronska N. Int. J. Occup. Med. Environ. Health, 1994, 7, 4, p. 355.
40. Yoshioka T., Kawada Shimada T., More M. Amer. J. Obstet. and Gynecol., 1979, 135, 3, p. 37275.
41. Zima T., Stipek S., Tesar V. et al. Cas. Lek. Cesk., 1995, 134, 10, p. 291.