

УДК: 577.15+616-009.2

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ В РАННИЕ СРОКИ ГИПОКИНЕЗИИ У БОЛЬНЫХ С ТРАВМАТИЧЕСКИМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ СПИННОГО МОЗГА

А.А.Акопян

*/Ереванский государственный медицинский университет им. М.Гераци,
кафедра фармакологии/
375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: травматическое повреждение спинного мозга, гипокинезия, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система

Одним из патологических механизмов нарушения функции различных органов и систем при гипокинезии может быть усиление липидной пероксидации [16,21,34].

Установлено, что при гипокинезии, особенно в первые часы и сутки ее воздействия, резкий перепад в афферентной мышечной импульсации приводит к стрессу, который реализуется через гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему [7,12,15]. При гипокинезии высокая активность физиологических систем организма не обеспечивается необходимой энергией обмена веществ, что приводит к истощению антиоксидантной системы и переключению окисления субстратов на свободнорадикальный путь [8,22,33].

Чрезмерное накопление вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), являющихся мутагенами и цитотоксическими агентами, приводит к повышению проницаемости мембран с их последующим разрывом и выходом ряда ферментов в межклеточную жидкость, подавлению активности гликолиза и окислительного фосфорилирования, ингибированию синтеза белка и нуклеиновых кислот, окислению белковых тиолов и дисульфидов, ингибированию различных мембранно-связанных ферментов [1,31].

Целью настоящей работы является исследование некоторых параметров ПОЛ у больных с травматическим повреждением спинного мозга, находящихся в состоянии гипокинезии.

Материал и методы

Исследования были проведены у 26 больных Реабилитационного центра Красного Креста и нейрохирургического отделения Центрального

клинического военного госпиталя с травматическим повреждением спинного мозга, находившихся в состоянии гипокинезии. У исследуемых больных не было отмечено сопутствующих патологий. Контрольную группу составляли 26 здоровых добровольцев (мужчины в возрасте 20 — 25 лет). Для определения активности ПОЛ и антиоксидантной системы кровь брали из локтевой вены утром натощак и с целью стабилизации к 4,5 мл крови прибавляли 0,5 мл 1,5% раствора оксалата натрия. Выделение мембран эритроцитов проводилось по G.R.Libmer [23]. Активность липидной пероксидации определяли в эритроцитарных мембранах в системах ферментативного НАДФН-зависимого (НЗП) и неферментативного аскорбатзависимого (АЗП) ПОЛ по методу Ю.А. Владимирова и А.И.Арчакова [2], основанному на цветной реакции малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой. Оптическую плотность окраски измеряли при длине волны 535 нм. Содержание липидных перекисей выражали в нмоль МДА на 1 мг белка. Содержание продуктов ПОЛ — ацилгидроперекисей (АГП), диеновых конъюгатов (ДК), МДА, шиффовых оснований (ШО) определяли в эритроцитарных мембранах и плазме крови по известным методикам [4,5,10,32]. Из компонентов антиоксидантной системы в эритроцитарных мембранах и плазме крови определяли содержание α -токоферола по методу D.D.Duggan [20], а также активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионредуктазы (ГР) по методам M.Nishikimi M. [25] и R.E.Pinto, W.Bartley [26]. Кроме того, в плазме крови были измерены: уровень средних молекул (СМ), активность гистидазы, уроканиназы, суммарной пероксидазной активности (СПА). Количество СМ определяли спектрофотометрически на длине волны 254 нм против контроля. Содержание СМ выражали в условных оптических единицах, численно равных экстинкциям спектрофотометра [3]. Определение активности гистидазы и уроканиназы проводили спектрофотометрически на длине волны 280 и 267 нм соответственно (опыт против контроля). Активность ферментов выражали в мкМ уроканиновой кислоты на литр плазмы в минуту [14]. Определение СПА проводили по методу А.А.Покровского [11]. В основе метода лежит способность гемопротеинов в присутствии перекиси водорода катализировать окисление бензидина с образованием окрашенных продуктов. Величину оптической плотности определяли в течение 3—4 минут до стабилизации голубой окраски при длине волны 600 нм; результаты выражали в единицах оптической плотности на 1 мл плазмы крови. Для пересчета единиц активности ферментов, содержания α -токоферола, липидных перекисей в опытных образцах определяли содержание белка по методу Lowry [24].

Результаты и обсуждение

У больных с повреждением спинного мозга, находившихся в состоянии гипокинезии 15 дней, в плазме крови и эритроцитарных мембранах

было обнаружено повышение содержания продуктов ПОЛ: АГП – 5,6 и 20%, ДК – 38,6 и 108,9%, МДА – 21,8 и 11,5%, ШО – 82,7 и 400% соответственно (таблица).

Таблица

Показатели ПОЛ и антиоксидантной системы у больных в состоянии 15-суточной гипокинезии

Показатель		Контроль	15-суточная гипокинезия
СМ, ед		$0,14 \pm 0,006$	$0,18 \pm 0,013 (+28,57\%)$
Гистидаза, мкМ/л в мин		$2,33 \pm 0,34$	$2,39 \pm 0,43 (+2,57\%)$
Уроканиназа, мкМ/л в мин		$0,025 \pm 0,006$	$0,081 \pm 0,028 (+220\%)$
СПА, ед/мл		$3,14 \pm 0,25$	$4,0 \pm 0,24 (+27,38\%)$
АЗП, нМ МДА/мг		$3,39 \pm 0,261$	$4,52 \pm 0,56 (+33,3\%)$
НЗП, нМ МДА/мг		$7,86 \pm 0,87$	$4,35 \pm 0,44 (-44,7\%)$
СОД, ед/мг		$31,6 \pm 3,3$	$32,59 \pm 3,06 (+3,13\%)$
ГР, мМ/мл в мин		$253,23 \pm 25,13$	$166,67 \pm 16,7 (-32,2\%)$
α-токоферол	плазма, мг %	$1,13 \pm 0,03$	$1,25 \pm 0,09 (+10,61\%)$
	мембрана эритроцитов, мкг/мг	$0,75 \pm 0,055$	$0,32 \pm 0,03 (-57,4\%)$
ШО	плазма, ед/мл	$0,29 \pm 0,03$	$0,53 \pm 0,05 (+82,7\%)$
	мембрана эритроцитов, ед/мг	$0,004 \pm 0,0004$	$0,02 \pm 0,003 (+400\%)$
ДК	плазма, нМ/мл	$6,75 \pm 0,33$	$9,36 \pm 0,83 (+38,6\%)$
	мембрана эритроцитов, нМ/мг	$0,89 \pm 0,047$	$1,86 \pm 0,18 (+108,9\%)$
МДА	плазма, нМ/мл	$3,84 \pm 0,11$	$4,68 \pm 0,3 (+21,8\%)$
	мембрана эритроцитов, нМ/мг	$2,07 \pm 0,041$	$2,31 \pm 0,18 (+11,5\%)$
АГП	плазма, ед/мл	$4,06 \pm 0,1$	$4,29 \pm 0,16 (+5,6\%)$
	мембрана эритроцитов, ед/мг	$2,15 \pm 0,11$	$2,59 \pm 0,23 (+20\%)$
		n = 26 p < 0.05	n = 26 p < 0.05

Так как окисление жирных кислот носит цепной характер, то при первичной радикальной атаке основным продуктом являются гидроперекиси липидов. В молекулах гидроперекисей линолевой, линоленовой и арахидоновой кислот может появиться система сопряженных двойных связей. Поскольку в биологических мембранах окислению подвергаются преимущественно полиненасыщенные жирные кислоты, то обнаружение диеновой конъюгации может быть чувствительным тестом на повышение

гидроперекисей, среди которых ДК неизбежно будут образовываться в определенном процентном соотношении [6,17,19,29].

В условиях ранней гипокинезии отмечается незначительное повышение содержания α -токоферола в плазме (10,61%), а в мембранах эритроцитов — резкое понижение его содержания (57,4%). Изучение антиоксидантов в системах, где идут реакции цепного окисления липидов, показывает, что между скоростью ПОЛ и содержанием антиоксидантов имеется взаимосвязь: антиоксиданты реагируют с радикалами, снижая скорость ПОЛ. В свою очередь ускорение ПОЛ, приводящее к увеличению числа радикалов, снижает количество антиоксидантов [8,27]. Наряду с гидроперекисями при окислении жирных кислот образуются другие соединения: спирты, кетоны, альдегиды и диальдегиды, эпоксиды, полимеры и другие соединения. Дальнейшее превращение образовавшихся продуктов требует второй радикальной атаки и приводит к образованию МДА, являющегося маркером интенсивности ПОЛ [30]. Кроме того, увеличение содержания ШО, являющихся конечными продуктами ПОЛ, также свидетельствует об активации липидной пероксидации [6]. Об интенсивности протекания процессов ПОЛ можно судить и по изменению активности ключевых антиоксидантных ферментов — СОД и ГР. Активность СОД существенно не изменяется (3,13%), однако отмечается резкое падение активности ГР (32,2%). Эти данные свидетельствуют о том, что в реакциях усиления ПОЛ существенную роль играет не супероксидный радикал, а АГП, к повреждающему действию которых особенно чувствительна НЗП [13,18]. Это подтверждается нашими данными, которые указывают на резкое падение активности НЗП на 44,7% и повышение активности АЗП на 33,3%. Этим также объясняется резкое падение активности глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы, которые в организме нейтрализуют АГП. Согласуется с вышеприведенными данными и повышение СПА (27,38%). Известно, что СПА обладает комплексом гемоглобина с α -гликопротеидом плазмы крови — гаптоглобином, а этот комплекс образуется в результате внутрисосудистого гемолиза эритроцитов или повышения проницаемости эритроцитарных мембран и выхода гемоглобина в плазму. Повышение СПА в плазме крови указывает на нарушение проницаемости и целостности эритроцитарных мембран [9]. Следует отметить, что нарушение целостности эритроцитарных мембран наблюдается при понижении активности фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, который является основным поставщиком NADPH+, включающегося в реакцию восстановления глутатиона в эритроцитах, катализируемую ГР [28].

Интерес представляют данные относительно повышения активности гистидазы и уроканиназы (2,57 и 220% соответственно). Известно, что гистидаза и уроканиназа являются ферментами метаболизма гистидина на пути превращения его в глутаминовую кислоту, аммиак и одноуглеродистый остаток. Поскольку у человека гистидазная активность опреде-

ляется только в печени и коже, а уроканиназная — исключительно в печени [14], то выявление активности гистидазы и уроканиназы в плазме крови свидетельствует о повреждении цитоплазматических мембран гепатоцитов, что наблюдается при усилении процессов ПОЛ.

И, наконец, повышение содержания средних молекул (28,57%) также свидетельствует об интенсификации процессов ПОЛ, поскольку основным источником СМ является усиление протеолиза. Повышенное содержание СМ обнаружено в различных биологических жидкостях у больных с явлениями экзо- и эндотоксикоза [3].

Следует отметить, что данные корреляционного анализа указывают на наличие полной корреляции между изменениями СМ, СПА, гистидазы, уроканиназы с изменениями показателей активности процессов ПОЛ в организме (АЗП, АГП, ДК, ШО) и состоянием антиоксидантной системы (ГР, α -токоферол).

Таким образом, полученные нами данные, а именно — увеличение содержания продуктов ПОЛ в плазме и мембранах эритроцитов — АГП, ДК, МДА и ШО, а также снижение содержания α -токоферола в мембранах эритроцитов, снижение активности ГР и НЗП без существенных изменений в активности СОД с одновременным повышением активности АЗП и уровней СПА, гистидазы, уроканиназы и СМ свидетельствуют об интенсификации процессов ПОЛ в условиях ранней гипокинезии, причем свободнорадикальное окисление липидов протекает преимущественно по неферментативному пути, а повышение активности гистидазы, уроканиназы и СПА свидетельствуют о патологическом характере процесса.

Поступила 14.01.99

**ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԳԵՐՈՔՍԻԳՆՈՅՍԱՆ ՈՐՈՇ ԱՍՊԵԿՏԵՐԸ ՈՂՆՈՒՂԵՂԻ
ՏՐԱՎՄԱՏԻԿ ՎՆԱՄՎԱԾՔՆԵՐՈՎ ՀԻՎԱՆԳՆԵՐԻ ՄՈՏ
ՍԱՀՎԱԾԱՐԺՈՒԹՅԱՆ ՎԱՂ ՇՐՋԱՆՈՒՄ**

Ա.Ա.Հակոբյան

Հետազոտվել է 15-օրյա սակավաշարժության ազդեցությունը ճարպային գերօքսիդացման պրոցեսների վրա ողնաշարի վնասվածքով հիվանդների մոտ: Փորձարարական խմբի հիվանդների մոտ նկատվել է մալոնային երկալդեհիդի, դիենային կոնյուգատների, Շիֆի հիմքերի քանակության աճ և α -տոկոֆերոլի քանակության նվազում պլազմայում և էրիթրոցիտների քաղաքում: Գումարային գերօքսիդացային ակտիվությունը, ինչպես նաև հիատիդազի և ուրոկանինազի ակտիվությունը բարձրացած էր: Մուպերօքսիդոհամուտազի ակտիվությունը դրսևորում է բարձրացման հակում, իսկ գլուտատիոնրեդուկտազի ակտիվությունը կտրուկ նվազում է: Ստացված տվյալները վկայում են գերօքսիդացման պրոցեսների ինտենսիվության աճի մասին, որը կրում է պաթոլոգիական բնույթ, ինչի մասին է վկայում հիատիդազի և հիալուրոնիդազի ակտիվության բարձրացումը:

A.A.Hakopian

The influence of 15-days hypokinesia on lipid peroxidation processes in patients with a damaged spinal cord has been investigated. In comparison with the control group an increase of the content of malonic dialdehyde, dien conjugates, Schiff's bases and a decrease of the level of vitamin E have been detected in plasma and membranes of erythrocytes of the patients of experimental group. The sum peroxidase activity as well as the activity of histidase and urokaninase have been elevated. The activity of superoxide dismutase has had a tendency to increase and the activity of glutathione reductase has been decreased. The obtained data testify to intensification of lipid peroxidation processes. The intensification of lipid peroxidation processes in the early hypokinesia has a pathological character and the increase of the activity of histidase and urokaninase testifies to it.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырев А.А., Куклей М.Л. Нейрохимия, 1996, 4, 24.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах, М., 1972.
3. Владыка А.С., Беляков Н.А., Шугаев А.И. и др. Вестн. хирургии, 1986, 8, с. 126.
4. Гаврилов Б.Б., Мишкорудная М.И. Лаб. дело, 1983, 3, с. 33.
5. Голиков П.П., Давыдов Б.Б., Матвеев С.Б. Вопр. мед. химии, 1987, 33, 1, с. 47.
6. Коган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Итоги науки и техники, 1986, т. 18, с. 96.
7. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. М., 1980.
8. Кухта В.К., Т.С.Морозкина, З.И.Полякова и др. Здравоохранение Белоруссии, 1985, 9, с.49.
9. Лукаш А.И., Горошинская И.А., Виноградов А.Ю. Вопр. мед. химии, 1994, 40, 4, с.28.
10. Меерсон Ф.З., Коган В.Г., Голубева Л.Ю. и др. Кардиол., 1979, 19, 8, с. 108.
11. Покровский А.А. В кн.: Биохимические методы исследования в клинике. М., 1969, с. 349.
12. Потапов А.Н. Космическая биол., 1972, 2, с.16.
13. Семерджян Л.В., Мхитарян Л.В., Агаджанов М.И. Ж. exper. и клин. мед. АН АрмССР, 1988, 28, 1, с.114.
14. Таболин В.А., Смирнов Д.А., Буборин В.А. и др. Вопр. охраны мат. и детства, 1977, 4, с. 61.
15. Федоров И.В. Космическая биол., 1971, 4, с. 59.
16. Akopian V.P., Melkonian K.V., Samvelian V.M., Shirinian E.A., Mirzozian N.R. Eksp. Klin. Farmakol., 1997, 60(5):31-4.
17. Antras-Ferry J., Mahreo K., Chevanne M. et al. Carcinogenesis, 1997, 18(11):2113-7.
18. Cardoso S.M., Pereira C., Oliveira C.R. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1998, 137(1):703-10.
19. Castelnau PA, Garrett RS., Palinski W. et al. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 1998, 57(3):268-82.
20. Duggan D.D. Arch. Biochem. Biophys., 1954, 84, 1, p. 116.
21. Khanina N. Ia., Danilchenko V.N., Murashkevich M.A. Aviakosm. Ekolog. Med., 1997, 31(3):23-7.
22. Kukhta V.K., Morozkina T.S., Lisitsyna L.P. Vopr. Med. Khim., 1988, 34(1):19-22.

23. Libmer G.R., Davie R.F., Baur A.M. Blood, 1970, 36, 2, p. 111.
24. Lowry O.H., Rosenbrough N.S., Farr A.L. J. Biol. Chem., 1952, 193, 1, p. 265.
25. Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 46, 2, p. 849.
26. Pinto R.E., Bartley W. Biochem. J., 1969, 112, p. 109.
27. Rozhkovski Ia.V., Kresin V.I. Ukr. Biokhim. Zh., 1991, 16(4):74-80.
28. Sato Y., Kanazawa S., Sato K., Suzuki Y. Biol. Pharm. Bull., 1998, 99(1):250-6.
29. Visioli F., Colombo C., Galli C. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1998, 42(2):487-9.
30. Waterfall A.H. Singh G., Fry J.R., Marsden C.A. Brain Res. Protoc., 1997, 12(1):17-22.
31. Woods J.R. Jr; Plessinger M.A., Fantel A. Obstet. Gynecol. Clin. North Am., 1998, 273(21):219-36.
32. Yoshioka T., Kawadae K., Shimoda T., Mori M. Amer. J. Obstet. and Gynecol., 1979, 135, 3, p. 372.
33. Zezerov A.E., Ivanova S.M., Morukov B.V. et al. Kosm. Biol. Aviakosm. Med., 1989, 23(2):28.
34. Zorbas Y.G., Federenko Y.F., Naexu A. Panminerva Med., 1996, 31(1):98-105.

