

Особенности функциональных назначений лизофосфатидилхолинов мембран элементов крови как объективный дифференциально-диагностический показатель при периодической болезни

М.К. Карагезян, К.Г. Карагезян

Институт молекулярной биологии НАН РА

375014 Ереван, ул. Асратяна, 7

Ключевые слова: фосфолипиды, лизофосфатидилхолины, периодическая болезнь, мембраны эритроцитов, мембраны лейкоцитов, нейтральные фосфолипиды, кислые фосфолипиды, сумма фосфолипидов

Согласно ранее проведенным исследованиям [9, 18, 22–24] в Институте молекулярной биологии НАН РА, посвященным изучению природы стимулирующего действия вновь модифицированного коллективом авторов аналога дс-РНК на иммунный статус организма, показан ряд принципиально новых феноменов. Они коснулись главного компонента биологических мембран клеточных образований тканей самых различных уровней их филогенетической дифференциации, а именно фосфолипидов (ФЛ). Среди ФЛ, известных широким спектром своих структурно-функциональных и метаболических особенностей, наиболее примечательной оказалась фракция лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), заметно возмужавшая в своем содержании на фоне действия определенных концентраций дс-РНК [8]. Отмеченный факт был интерпретирован как явление специфическое, связываемое с количественным увеличением именно ЛФХ, участвующих в комплексе молекулярно-биологических преобразований, обуславливающих феномен становления, стабилизации к генерализации иммунного ответа организма, его стойкого иммунологического статуса.

Интерпретация данных, полученных нами ранее, нашла свое логическое подтверждение в результатах многочисленных работ, выполненных в различных исследовательских центрах. Они коснулись регуляторной роли лизолипидов различных категорий, в частности лизофосфатидных кислот (ЛФК) сыворотки крови [27], трансформирующихся в наиболее активные циклические формы [15] в процессе межклеточных взаимодействий элементов крови [34], катехоламинообразовательной функции хромоафинных гранул [42], формирования структурно-функциональных особенностей липопротеинов и ростстимулирующих факторов моноцитов [30, 32, 33, 36]. Они нашли свое отражение и в реализации многочисленных нейrogen-

ных феноменов [12, 20, 21, 25, 26, 40], а также тромбоцитстимулирующей функции организма [14, 37–39, 41, 43, 44]. Значительная часть этих исследований посвящена изучению особенностей комбинированного действия лизолипидов в сочетании с элементами метаболизма гликолипидов [11, 17, 19, 28, 29, 31], наделенных, согласно научной информации последних лет [2–7, 13, 16, 35], свойствами физиологически активных соединений.

В этих исследованиях нами были предприняты специальные наблюдения в направлении изучения динамики количественных сдвигов различных категорий ФЛ на уровне мембран эритроцитов (МЭ) больных периодической болезнью (ПБ) или т.н. семейной средиземноморской лихорадкой. Интерес к подобной постановке вопроса был продиктован уникальностью этиопатогенеза этого болезненного состояния, по сей день причисляемого к категории генетических болезней с весьма сомнительной, малоисследованной иммунологической характеристикой и спецификой клинических проявлений.

Материал и методы

Исследования проводили на МЭ и мембранах лимфоцитов (МЛ) крови больных ПБ в период острого приступа и ремиссии. Получение МЭ и МЛ, определение в них количественных сдвигов индивидуальных ФЛ и их суммы производили с помощью известных классических методов [10].

Результаты и обсуждение

Результаты исследований, проведенных в плане отмеченного выше стереотипа у больных ПБ в стадии

ремиссии, отраженные в табл. 1, позволили установить интересные качественно-количественные сдвиги нейтральных ФЛ – НФЛ (ЛФХ, сфингомиелины, фосфатидилхолины, фосфатидилэтаноламины), кислых ФЛ – КФЛ (монофосфоинозитиды, фосфатидилсерины, ФК и кардиолипины), отдельно взятых сумм НФЛ, КФЛ (СНФЛ и СКФЛ соответственно), их об-

щей суммы (СФЛ), а также коэффициента СНФЛ/СКФЛ. Наиболее примечательным оказалось примерно 6-кратное возрастание в МЭ количества ЛФХ, не входившее ни в какое сравнение с количественными сдвигами других категорий ФЛ, возраставших и убывавших в своем содержании.

Таблица 1

Динамика содержания фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/г влажного вещества) в мембранах эритроцитов больных ПБ в период ремиссии

Показатели	Контроль	% от СФЛ	ПБ	% от СФЛ
Лизофосфатидилхолины	1,63±0,20	3,42	9,80±0,66	20,55
Монофосфоинозитиды	3,80±0,12	7,99	7,30±0,30	15,30
Сфингомиелины	8,30±0,90	17,50	9,70±1,01	20,34
Фосфатидилхолины	17,20±0,50	36,00	7,90±0,60	16,60
Фосфатидилэтаноламины	5,70±0,60	12,00	1,90±0,20	3,98
Фосфатидилсерины	7,30±0,53	15,40	3,90±0,30	8,18
Фосфатидные кислоты	1,70±0,11	3,60	3,20±0,23	6,70
Кардиолипины	1,90±0,30	4,00	4,00±0,29	8,39
Сумма нейтральных ФЛ	32,83±1,90	69,10	29,30±0,81	61,43
Сумма кислых ФЛ	14,70±0,73	30,90	18,40±0,40	38,57
Сумма ФЛ	47,53±1,99	—	47,70±1,12	—
Коэффициент СНФЛ/СКФЛ	2,23 ±0,01	—	1,59±0,01	—

Одним из наиболее приемлемых объяснений полученного факта может быть его интерпретация как отражение приспособительной реакции организма, направленной на максимальную мобилизацию его внутренних потенциальных возможностей для обеспечения необходимого уровня сопротивляемости, складываемой из различных биологически оправданных составляющих, в том числе и иммунологического фактора.

Последующее развитие этих исследований протекло в направлении изучения динамики содержания ЛФХ у тех же больных в стадии острого приступа (абдоминальный, торакальный, смешанный), характеризующегося проявлениями ярко выраженной картины оксидативного стресса.

Как следует из табл.2, острый приступ ПБ характеризуется значительными противоположно направленными сдвигами в содержании НФЛ и КФЛ, и, что осо-

бенно примечательно, на этом фоне обнаруживается более выраженное, чем при ремиссии, увеличение в МЭ количества ЛФХ, превышавшее их контрольный уровень почти в 10 раз.

Особый интерес представляют результаты исследований по изучению в МЛ особенностей динамики количественных сдвигов отдельных ФЛ, СНФЛ, СКФЛ, СФЛ и коэффициента СНФЛ/СКФЛ как в стадии ремиссии, так и во время острого приступа.

По данным табл.3 становится очевидным, что в МЛ по сравнению с МЭ во внеприступный период отмечается более выраженное увеличение количества ЛФХ, доминирующее над таковым у практически здоровых лиц приблизительно в 8 раз, а во время приступа, как следует из данных табл.4, этот сдвиг превосходит исходные показатели более чем в 12 раз.

Таблица 2

Динамика содержания фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/г влажного вещества) в мембранах эритроцитов больных ПБ в стадии острого приступа

Показатели	Контроль	% от СФЛ	ПБ	% от СФЛ
Лизофосфатидилхолины	1,74±0,20	3,66	16,80±0,89	31,76
Монофосфоинозитиды	4,10±0,11	8,62	8,30±0,35	15,70
Сфингомиелины	7,90±0,89	16,62	8,70±0,91	16,45
Фосфатидилхолины	16,90±0,55	35,55	5,90±0,68	11,15
Фосфатидилэтаноламины	6,00±0,62	12,62	1,60±0,32	3,02
Фосфатидилсерины	6,90±0,43	14,51	3,00±0,31	5,67
Фосфатидные кислоты	1,90±0,13	4,00	3,80±0,20	7,18
Кардиолипины	2,10±0,31	4,40	4,80±0,26	9,07
Сумма нейтральных ФЛ	32,54±1,00	68,45	33,00±1,11	62,38
Сумма кислых ФЛ	15,00±0,53	31,55	19,90±0,42	37,62
Сумма ФЛ	47,54±1,11	—	52,90±1,14	—
Коэффициент СНФЛ/СКФЛ	2,17±0,01	—	1,66±0,01	—

Таблица 3

Динамика содержания фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/г сухого вещества) в мембранах лимфоцитов больных ПБ в период ремиссии

Показатели	Контроль	%от СФЛ	ПБ	%от СФЛ
Лизофосфатидилхолины	15,30±1,01	5,90	20,00±1,66	43,23
Монофосфоинозитиды	25,80±1,11	10,00	46,30±1,03	16,68
Сфингомиелины	25,30±1,09	10,00	30,70±1,01	11,10
Фосфатидилхолины	87,20±1,55	34,00	17,20±1,00	6,20
Фосфатидилэтаноламины	46,70±0,99	18,00	16,20±0,88	5,80
Фосфатидилсерины	36,30±0,53	14,10	16,30±0,51	5,90
Фосфатидные кислоты	8,70±0,11	3,40	16,00±0,23	5,76
Кардиолипины	11,90±0,33	4,60	14,80±0,29	5,33
Сумма нейтральных ФЛ	174,50±1,90	67,80	84,10±1,81	66,34
Сумма кислых ФЛ	82,70±0,73	32,20	93,40±0,72	33,65
Сумма ФЛ	257,20±1,99	—	77,50±2,40	—
Коэффициент СНФЛ/СКФЛ	2,11±0,01	—	1,97±0,01	—

Полученные результаты свидетельствуют об имеющей место при ПБ отчетливо проявляющейся специфичности в картине сдвигов ЛФХ. Логичность

выдвигаемой трактовки основывается на различной степени выраженности сдвигов содержания ЛФХ в исследованных биологических объектах при таких

однотипных по внешним клиническим проявлениям патологических состояниях, каковыми являются ПБ, острый аппендицит, перитониты различных этиологий, острые плевриты и прочие абдоминальные фатальные воспалительные процессы.

На основании вышеизложенного мы склоняемся к мысли, что столь высокий сдвиг уровня ЛФХ в мембранах изученных элементов крови, особенно в МЛ при ПБ может служить надежным дифференциально-диагностическим критерием при этой патологии.

Таблица 4

Динамика содержания фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/г сухого вещества) в мембранах лимфоцитов больных ПБ в стадии острого приступа

Показатели	Контроль	% от СФЛ	ПБ	% от СФЛ
Лизофосфатидилхолины	15,90±1,09	6,24	197,00±1,09	59,10
Монофосфоинозитиды	24,90±1,07	9,76	36,90±1,01	11,08
Сфингомиелины	25,60±1,11	10,00	28,90±0,90	8,67
Фосфатидилхолины	92,50±1,61	36,27	9,90±0,71	2,97
Фосфатидилэтанолламины	43,30±1,03	17,00	13,90±0,79	4,17
Фосфатидилсерин	32,20±0,67	12,63	13,80±0,59	4,14
Фосфатидные кислоты	9,30±0,17	3,65	17,30±0,21	5,19
Кардиолипины	11,30±0,29	4,43	15,60±0,33	4,68
Сумма нейтральных ФЛ	177,30±2,00	69,53	249,70±1,16	74,90
Сумма кислых ФЛ	77,70±1,40	30,47	83,60±1,70	25,10
Сумма ФЛ	255,00±1,69	—	333,30±4,51	—
Коэффициент СНФЛ/СКФЛ	2,28±0,01	—	2,99±0,01	—

Дальнейшее развитие этих исследований планируется в направлении изучения молекулярных механизмов этиопатогенеза ПБ по разработке новых более эффективных методов с целью оптимизации нарушенных сторон метаболизма ФЛ в мембранных образованиях эритроцитов и лимфоцитов. С отмеченной целью будут использованы сверхмалые дозы низкомолекулярного дс-РНК в виде кальциевого преципитата (10^{-12} М), синтезированного в Институте молекулярной биологии НАН РА.

Согласно ряду экспериментальных исследований,

модифицированная форма РНК демонстрирует исключительно высокий уровень терапевтической эффективности, что, по всей вероятности, найдет свое отражение и при испытании во время ПБ как соединение, имеющее прямое отношение к генетическому аппарату клетки, подвергающемуся глубоким нарушениям при изученной патологии. Нами будут предприняты также начальные исследования в направлении определения лечебного эффекта низкоэнергетического гелиум-неонового инфракрасного лазерного излучения при данном болезненном состоянии организма.

Поступила 15.04.04

Արյան ձեւավոր փարբերի թաղանթների լիզոֆոսֆատիդիլխոլինների ֆունկցիոնալ առանձնահատկությունների նշանակությունը պարբերական հիվանդության փարբերակիչ կանխորոշման գործում

Մ.Կ. Կարապյոզյան, Կ.Գ. Ղարապյոզյան

Պարբերական հիվանդության սուր նոսրացի և ռեմիսիայի ժամանակ ցույց են տրված արյան էրիթ-

րոցիտների և լիմֆոցիտների թաղանթներում ֆոսֆոլիպիդային ֆունկցիոնալության խիստ արտահայտված

խանգարումներ, որոնք պայմանավորված են այնտեղ ֆոսֆոլիպազ A_2 -ի ակտիվության շեղումների բարձրացմամբ: Վերջինիս շնորհիվ արձանագրվում է լիզոֆոսֆատիլիլիտիզմների քանակության աճ, որը

համառոտեմ պահպանվում է բարձր ցուցանիշների սահմաններում և որակավորվում է որպես տվյալ հիվանդության տարբերակիչ կանխորոշման օբյեկտիվորեն գոյություն ունեցող ցուցանիշ:

The significance of functional peculiarities of the blood element membranes' lysophosphatidylcholines as a possible differential diagnostic index at periodic disease

M.K. Karagyozyan, K. G. Karagyozyan

Our findings have revealed significant changes of phospholipid qualitative and quantitative composition in the blood erythrocyte and lymphocyte membranes of patients suffering with periodic disease. The disorders in phospholipid metabolism are conditioned by the activation of phospholipase A_2 , which is accompanied by formation of high concentrations of lysophosphatidylcholines.

The abnormalities mentioned are more expressed in the acute period of the disease.

The data obtained lead to the conclusion that high concentrations of lysophosphatidylcholines in membranes studied may be used as a differential diagnostic index at periodic disease.

Литература

1. Агабян А. С., Аветисян И. В., Карагезян К. Г. Нейрохимия, РАН и НАН РА, М., 1998, т. 15, 2, с. 207.
2. Бергельсон Л. Д., Дятловицкая Э. В. Итоги науки и техники. Серия "Иммунология" М., ВИНТИ, 1988, т. 22, с. 482.
3. Дятловицкая Э. В. Биохимия, 1995, т. 60, с. 843.
4. Дятловицкая Э. В., Андреасян Г. О., Малых Я. Н. Биохимия, 1995, т. 60, 8, с. 1302.
5. Дятловицкая Э. В., Андреасян Г. О., Малых Я. Н., Рылова С. Н. Биохимия, 1997, т. 62, с. 651.
6. Дятловицкая Э. В., Крюкова Е. В., Сускова В. С. и др. Иммунология, 1990, 2, с. 27.
7. Дятловицкая Э. В., Текучева Е. А., Леменовская О. Г. и др. Биохимия, 1991, т. 56, с. 560.
8. Захарян Р. А., Тадевосян Ю. В., Азарян Н. Г. и др. Биол. журнал Армении НАН РА, 1988, т. 42, 14 2, с. 99.
9. Карагезян К. Г., Карапетян Э. Т., Сафарян М. Д. III Республиканская конференция "Достижения физико-химической биологии и особенности пути их внедрения (тез. докл.). Ереван, 1989, с. 11.
10. Карагезян М. К. Изучение молекулярных механизмов токсических эффектов микотоксина зеараленона. Дисс. канд. биол. наук. Ереван, 1997.
11. Basu S., Kolesnick R. Oncogene, 1998, 17, p. 3277.
12. Bonventre I. V., Huang Z., Taheri M. R., O'Leary E., Li E. E. et al. Nature, 1979, 390, p. 622.
13. Defranco A. L., Raveche E. S., Asofsky R. J. Exp. Med., 1982, 155, p. 1523.
14. Eichholtz T., Jalink K. et al. Biochem. J., 1993, 291, p. 677.
15. Freidman P., Haimovitz R., Markman O., Roberts M. E., Shinitzky M. J. Biol. Chem., 1996, 271, p. 953.
16. Graler M. H., Bernhardt G., Lipp M. Genomics, 1998, 53, p. 164.
17. Green D. R., Reed I. C. Science, 1998, 281, p. 1308.
18. Grigorian G. A., Haroutjunian V. M., Karageuzyan K. G. et al. International Small Conference "Brain and immune system". Yerevan-Dilidjan, 1997, p. 2.
19. Hannun Y. A. Science, 1996, 274, p. 1855.
20. Hecht J. H., Weiner A., Post S. R., Chun J. Cell. Biol., 1996, 135, p. 1071.
21. Holtsberg F. W., Steiner M. R., Keller I. N., Mark R. I. et al. Neurochem., 1998, 70, p. 66.
22. Karageuzyan K. G., Zakharyan R. A., Bakuntz K. A., Hovakimyan S. S. Giuseppe Percellati Foundation International Meeting of Neurochemical Aspects of Phospholipid Metabolism (Abstracts). Italy, Perugia, 1988, p. 66.
23. Karageuzyan K. G., Zakharyan R. A., Hakopyan Zh. I. FEBS. 19-th Meeting, Rome, 1989, Abstract TH 113.
24. Karageuzyan K. G., Zakharyan R. A., Hovakimyan S. S., Vardanyan M. K. The 19-th World Congress of the International Society for Fat Research (ISF) and the 27-th Annual Meeting Oil Chemists. Japan, Tokyo, 1988, Abstr. 3, p. 12, p. 357.
25. Keller I. N., Kindy M. S., Holtsberg F. W., St Clair D. K., Yen H. C., Germeyer A. et al. J. Neurosci., 1996, 18, p. 687.
26. Keller I. N., Steiner M. R., Mattson M. P., Steiner S. M. J. Neurochem., 1996, 67, p. 2300.
27. Kobayashi T., Tanaka-Ishii R., Taguchi R., Ikezawa H., Murakami-Murofushi K. Life Sci., 1999, 56, p. 245.
28. Kolesnick R. N., Hannun Y. A. Trends Biochem. Sci., 1999, 24, p. 224.
29. Kolesnick R. N., Kronke M. Ann. Rev. Physiol., 1998, 60, p. 643.
30. Korotaeva A. A., Gheglakov L. B., Morozkin A. D., Suslova I. V., Prokazova N. V. Membr. Cell. Biol., 1997, 10, p. 521.

31. Liu B., Obeid L.M., Hannun Y.A. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 1997, 8, p. 311.
32. Nakano T., Raines E. W., Abraham I.A., Klagsbrun M., Ross R. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1994, 91, p.1069.
33. Quinn M. T., Kondratenko N., Parthasarathy S. *Biochim. Biophys. Acta*, 1991, 1082, p.293.
34. Rizza C., Leintinger N., Yue I., Fisher D.J., Wang D.A. *et al. J. Lab. Invest.*, 1999, 79, p.1227.
35. Roper R.L., Philipps R.P. *J. Immunol.*, 1992, 149, p.2984.
36. Sakai M., Miyazaki A., Hakamata H., Sasaki T., Yui S. *et al. J. Biol. Chem.*, 1994, 269, p. 31430.
37. Schumacher K.A. *Fortschr. Med.*, 1977, 95, p.2715.
38. Schumacher K.A. *et al. Thromb. Haemostasis*, 1979, 42, p.631.
39. Simon M.F., Chap H., Douste-Blazy L. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1982, 108, p. 1743.
40. Simonian N.A., Coyle I.T. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1996, 36, p. 88.
41. Sugiura T.A., Tokumura A., Gregory L., Nouchi T., Weintraub S.T., Hanahan D.I. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1994, 311, p.358.
42. Tokomura A., Fukuzawa K., Isobe I., Tsukatani H. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1981, 99, p.391.
43. Tokumura A., Okuno M., Fukuzawa K., Houchi H., Oka M. *J. Lipid Med. Cell. Signaling*, 1996, 14, p.127.
44. Watson P.S., McConnell R.T., Lapetina E.G. *Biochem. J.*, 1985, 232, p.61.