

Динамика качественно-количественных изменений фосфолипидов в крови новорожденных с гипоксическим синдромом и особенности терапевтической эффективности сверхнизких доз тиосульфата натрия на этом фоне

А.В. Мелкумян

*Институт молекулярной биологии НАН РА
0014, Ереван, ул. Асратяна, 7*

Ключевые слова: фосфолипиды, гипоксический синдром, тиосульфат натрия

Гипоксический синдром (ГС) у новорожденных является серьезной угрозой развития неизбежных осложнений различного профиля в развивающемся организме в виде расстройств процессов тканевого метаболизма, ответственных за бесперебойность функционирования многочисленных жизненно важных, главным образом энергогенерирующих, систем.

С целью предотвращения формирования отмеченных срывов усилия исследователей медико-биологического профиля концентрируются на поиске максимально эффективных подходов по нивелированию дефицита природных источников энергии и мобилизации возможных компенсаторно-приспособительных механизмов в качестве дополнительных энергогенерирующих субстратов. В роли последних признанными считаются липиды различных категорий, выступающие в качестве дополнительных поставщиков энергии, выделяющейся в результате окислительного разрушения этих соединений и обильно используемой в реализации многочисленных эндотермических жизненно важных процессов биологических систем организма. С отмеченной точки зрения особый интерес представляют фосфолипиды нейтральной (НФЛ) и кислой (КФЛ) природы, как соединения, участвующие в структурно-функциональной организации и метаболической активности указанных живых образований.

С этой целью при ГС новорожденных критических ситуаций как неизбежных осложнений следует прибегать к неотложным мерам по поддержанию филогенетически запрограммирован-

ного в норме стабильного статуса ФЛ-ФЛ соотношений как неотступного условия в обеспечении физиологически приемлемого уровня клеточной активности [11,12,21,22].

Материал и методы

Исследования проводили на 86 пробах крови новорожденных с ГС, стабилизированных оксала-том в объемных соотношениях 9:1 и фракционированных центрифугированием (6000 об/мин в течение 15 мин) с целью получения плазмы и эритроцитарной массы. Изоляцию мембран эритроцитов (МЭ) осуществляли методом осмотического шока эритроцитов на холоду с последующим центрифугированием [25]. Экстракцию ФЛ из полученных фракций крови производили по Фолчу [24], а их разделение с помощью одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля на пластинках "МЕРК" (Германия) в системе растворителей хлороформ : метанол : аммиак в объемных соотношениях 65:35:5. Количество отдельных фракций ФЛ выражали в мкг липидного фосфора как продукта их минерализации в смеси концентрированной соляной и азотной кислот при 180-200 °С (в песочной бане) с расчетом их на мг белка исследуемого материала [26].

Результаты и обсуждение

Согласно результатам исследований, отраженным в табл. 1, ГС новорожденных характеризуется чувствительными отклонениями качественно-

количественного состава ФЛ в цельной крови, вызванными значительным повышением функциональной активности соответствующих ферментативных систем, преимущественно фосфолипазы А₂ (ФЛ₂), катализирующих реакции взаимопревращений и деградации ФЛ. Анализ полученного материала свидетельствует о количественном уменьшении в цельной крови новорожденных с ГС сфингомиелинов (СФМ), фосфатидилхолинов (ФХ), фосфатидилсерина (ФС), фосфатидилэтаноламинов (ФЭ) при параллельно развивающемся возрастании уровня лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), монофосфоинозитидов (МФИ), фосфатидных кислот (ФК) и кардиолипидов (КЛ). Отмеченные сдвиги значительным образом отражаются на сумме НФЛ (СФМ+ФХ+ФЭ+ЛФХ) и сумме КФЛ (МФИ+ФС+ФК+КЛ), что в целом существенным образом отражается на коэффициенте (К) СНФЛ/СКФЛ и сумме всех ФЛ (СФЛ). Благодаря этому происходят значительные изменения активности ФЛ-зависимых ферментных систем, ответственных за обеспечение физиологических норм регуляторных систем клеточной активности [19,20].

Примечательно совпадение ГС у новорожденных детей с ярко выраженным возрастанием в цельной крови уровня СФМ и ЛФХ, которым, согласно указаниям научной литературы последних лет, придается важное значение в стимулировании иммунологической функции организма [1-5,20]. Закономерности, прослеженные в изменениях качественно-количественного состава ФЛ цельной крови новорожденных с ГС, нашли свое полное подтверждение на примере МЭ. Как в предыдущем, так и данном случае особого внимания заслуживает специфика количественных сдвигов ЛФХ, приводящая к чрезмерно высокому выходу указанных соединений в МЭ новорожденных с ГС, превалирующему над таковым практически здоровых детей более чем в 2,5 раза. Отмеченные сдвиги характеризуются одновременно проявляющимся чувствительным понижением в МЭ новорожденных уровня ФС, принимающих активное участие в реакциях окислительного фосфорилирования и процессах тканевого дыхания [7-10,23]. В качестве компенсаторного подключения в данном случае выступает количественное возрастание уровня ФК и КЛ,

Таблица 1

Качественно-количественные изменения фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/ мг белка) в цельной крови новорожденных с гипоксическим синдромом и особенности корригирующего действия сверхнизких доз (10^{-12} М) тиосульфата натрия

Показатели	Здоровые	% от СФЛ	Больные	% от СФЛ	% разницы от контроля	ТСН 10^{-12} М	% от СФЛ	% разницы от контроля
Лизофосфатидилхолины	4,83 ± 0,23	8,28	9,89 ± 0,24*	19,48	+104,76	7,08 ± 0,25	11,83	+46,58
Монофосфоинозитиды	2,89 ± 0,15	4,95	7,78 ± 0,17*	15,32	+169,20	3,73 ± 0,17	6,23	+29,08
Сфингомиелины	10,42 ± 0,47	17,86	5,84 ± 0,39*	11,50	-43,95	10,83 ± 0,41	18,10	+3,93
Фосфатидилхолины	19,81 ± 0,67	33,96	9,21 ± 0,59*	18,14	-46,49	18,96 ± 0,63	31,69	-4,29
Фосфатидилсерины	9,99 ± 0,29	17,12	6,09 ± 0,27*	11,99	-39,04	9,33 ± 0,27	15,59	-6,61
Фосфатидилэтаноламины	7,12 ± 0,17	12,20	5,66 ± 0,19*	11,15	-20,51	6,89 ± 0,15	11,52	-3,23
Фосфатидные кислоты	1,29 ± 0,16	2,21	3,08 ± 0,17*	6,07	+138,75	1,25 ± 0,17	2,09	-3,10
Кардиолипиды	1,99 ± 0,19	3,41	3,23 ± 0,19*	6,36	+62,31	1,76 ± 0,18	2,94	-11,60
Сумма НФЛ (СНФЛ)	16,16 ± 0,61	72,30	30,60 ± 1,59**	60,26	-27,45	43,76 ± 1,11	73,14	+3,75
Сумма КФЛ (СКФЛ)	58,34 ± 0,97	27,70	20,18 ± 0,55*	39,74	+24,88	16,07 ± 0,69	26,86	-0,56
Сумма всех ФЛ (СФЛ)	51,7 ± 0,59		50,78 ± 0,93*		-12,96	59,83 ± 0,954		+2,55
К СНФЛ/СКФЛ	2,61		1,45*		-41,77	2,72		+8,80

Примечание. n=89; * P<0,001; ** P<0,01; без обозначений расхождения статистически не достоверны; + и - отражают положительные и отрицательные отклонения в % от контрольных (здоровых) показателей

характеризующиеся своим прямым участием в реакциях тканевого дыхания особенно при экстремальных необычных условиях существования организма. Что касается установленного одностороннего уменьшения в МЭ новорожденных с ГС количественного содержания ФС, ФЭ и ФХ, сопровождающегося одновременно проявляющимся чувствительным возрастанием уровня ЛФХ, то этот феномен заслуживает специального обстоятельного изучения и соответствующей оценки. Известно, что в нормально метаболизирующих тканях указанная триада ФЛ принимает деятельное участие в обеспечении физиологического статуса активности данной биологической системы. В последнем существенное значение придается филогенетически запрограммированному взаимопереходу указанных соединений, осуществляющемуся благодаря поэтапному декарбоксилированию первых с превращением их в ФЭ, интенсивно метилирующихся и трансформирующихся в ФХ, которые, как отмечалось, в результате деацелирования под действием ФЛазы А₂ способствуют наращиванию концентрации ЛФХ. Таким образом, чрезмерно высокое содержание ЛФХ в цельной крови, и

особенно в МЭ, в условиях изученной патологии свидетельствует о невторостепенном значении этого феномена, имеющего, по всей вероятности, определенное отношение к формированию определенных звеньев компенсаторных механизмов активно подключающихся в комплекс антистрессорных реакций при ГС. Подобная постановка вопроса становится наиболее очевидной при изучении особенностей действия тиосульфата натрия (ТСН) как признанного физиологически активного соединения антиоксидантного действия и мощного синергиста альфа-токоферола как главного действующего начала в эндогенной системе антирадикальной защиты клетки. Предварительно проведенная сравнительная оценка степени выраженности терапевтической эффективности трех испытанных нами сверхнизких доз ТСН – 10⁻⁶М, 10⁻⁹М, 10⁻¹²М остановила наш выбор на последней, оказавшейся наиболее результативной в упорядочении расстроенных сторон метаболизма ФЛ как в цельной крови, так и особенно в МЭ. Как явствует из данных по изучению качественно-количественных отклонений различных категорий ФЛ, отраженных в табл.2, отмечается под действием двух

Таблица 2

Качественно-количественные изменения фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/ мг белка) в мембранах эритроцитов крови новорожденных с гипоксическим синдромом и особенности корректирующего действия сверхнизких доз (10⁻¹²М) тиосульфата натрия

Показатели	Здоровые	% от СФЛ	Больные	% от СФЛ	% разницы от контроля	ТСН 10 ⁻¹² М	% от СФЛ	% разницы от контроля
Лизофосфатидилхолины	1,97 ± 0,21	4,55	6,99 ± 0,23*	18,56	+254,82	6,05 ± 0,23	13,20	+207,11
Монофосфоинзитиды	2,07 ± 0,16	4,78	8,02 ± 0,17*	21,30	+287,44	1,84 ± 0,11	4,02	-11,00
Сфингомиелины	9,81 ± 0,43	22,66	3,89 ± 0,37*	10,33	-60,30	9,29 ± 0,37	20,27	-5,30
Фосфатидилхолины	15,93 ± 0,51	36,79	6,99 ± 0,51*	18,56	-81,60	15,88 ± 0,48	34,66	-0,30
Фосфатидилсерины	7,02 ± 0,23	16,21	4,28 ± 0,20*	11,36	-39,30	6,81 ± 0,17	14,86	-3,00
Фосфатидилэтанолламыны	3,97 ± 0,16	9,17	2,83 ± 0,14*	7,51	-28,30	3,59 ± 0,13	7,84	-9,60
Фосфатидные кислоты	1,12 ± 0,13	2,59	1,74 ± 0,15*	4,62	+55,36	1,07 ± 0,15	2,34	-4,50
Кардиолипиды	1,41 ± 0,15	3,26	2,89 ± 0,13*	7,67	+104,97	1,29 ± 0,13	2,82	-8,50
Сумма НФЛ (СНФЛ)	31,68 ± 0,93	73,16	20,70 ± 0,93*	54,97	-34,70	34,81 ± 0,97	75,95	+9,90
Сумма КФЛ (СКФЛ)	11,62 ± 0,49	26,84	16,96 ± 0,49*	45,03	+45,96	11,01 ± 0,51	24,03	-5,25
Сумма всех ФЛ (СФЛ)	43,30 ± 0,91		37,66 ± 0,89*		-3,03	45,82 ± 0,95		+5,82
К СНФЛ/СКФЛ	2,87		1,64		-42,86			+19,85

Примечание. n=89; обозначения те же, что и в табл.1

первых сверхнизких концентраций ТСН явная тенденция к корригированию уровней всех изученных фракций ФЛ, однако они продолжают различаться статистически достоверно от одноименных показателей в контроле. Испытание же ТСН в концентрации 10^{-12} М оказывается наиболее эффективным и характеризуется восстановлением количественного содержания всех фракций ФЛ за исключением ЛФХ, содержание которых в результате наших многочисленных наблюдений под действием указанной концентрации ТСН упорно поддерживается на грани, статистически достоверно доминирующей над верхней границей нормы.

Этот факт полностью согласуется с обсуждениями Годичного собрания Нью-Йоркской АН 2000 г., посвященными интерпретации роли лизофосфолипидов (следовательно и ЛФХ) в биологии и патологической физиологии.

Полученные результаты нуждаются в специальном исследовании с целью выявления особенностей участия ЛФХ в конкретных звеньях метаболических процессов, обуславливающих биологическую суть компенсаторно-приспособительных реакций организма, особенно в необычных для него условиях существования.

Поступила 04.07.07

Ֆոսֆոլիպիդների որակաքանակակն տեղաշարժերը հիպօքսիկ համախտանիշով նորածինների արյան մեջ և այդ պայմաններում նատրիումի թիոսուլֆատի գերցածր քանակների թերապևտիկ արդյունավետության առանձնահատկությունները

Հ.Վ. Մելքումյան

Նորածինների հիպօքսիկ համախտանիշը բնորոշվում է լուրջ բարդությունների առաջացմամբ, որոնք մասնավորապես արտահայտվում են տարբեր կենսաքանակական համակարգերում ֆոսֆոլիպիդների որակաքանակական հարաբերակցության խախտումներով: Վերջիններս բնութագրվում են ֆոսֆոլիպիդների դեազիլացման պրոցեսների, ինչպես նաև լիպիդների ազատ ուղիկալային ռեակցիաների վառ արտահայտված ակտիվացմամբ: Այս ամենը բնութագրվում է լիզոֆոսֆատիդիլ- խոլինների և փալիդային գերօքսիդների՝ գլխավորապես մալոնային դիալդեհիդի բարձր քանակների առա-

ջացմամբ՝ մի բան, որ ունի չափազանց վտանգավոր թաղանթատրոսիկ և թաղանթալիտիկ ազդեցություն: Նատրիումի թիոսուլֆատի գերցածր դոզաների (10^{-6} М, 10^{-9} М, 10^{-12} М) օգտագործման հետևանքով արձանագրվում է ֆոսֆոլիպիդային փոխանակության վերը նշված խախտումների կանոնավորում: Դա վկայում է օգտագործված ֆիզիոլոգիապես ակտիվ միացության գերցածր քանակների բացառիկ արդյունավետության մասին և ենթադրում է օգտագործված մեթոդի լայնածավալ կիրառման հնարավորությունը նորածինների հիպօքսիկ համախտանիշի պայմաններում:

Dynamics of phospholipids qualitative-quantitative changes in the blood of newborns with hypoxic syndrome and peculiarities of therapeutical effectiveness of sodium thiosulphate ultra low concentrations in these conditions

A.V. Melkumyan

Hypoxia of newborns is characterized by very serious complications, as disturbances of phospholipids-phospholipid interrelations, particularly in erythrocyte membranes. These changes are accompanied by simultaneous activation of lysophosphatidil cholines formation and free radical peroxidation of lipids with parallel increase in malonic dialdehyde concentration,

which has a membranotoxic, membranolytic properties. Using of sodium thiosulphate ultra low doses (10^{-6} М, 10^{-9} М, 10^{-12} М) leads to normalization of abnormalities mentioned. The data obtained show the therapeutical effectiveness of sodium thiosulphate ultra low doses in clinics of newborn's hypoxic stress.

Литература

1. Агабян А.С., Давтян О.Я., Багдасарян А.А. и др. Влияние кальциевых форм РНК на развитие опухолевого процесса. Докл. НАН РА, 1989а, т.88, 1., с.31-34.
2. Агабян А.С., Рухкян Л.А., Захарян Р.А. Подавление размножения ретровируса MuLV препаратами Са-дс-РНК и Са-низкомолекулярной РНК из дрожжей. Докл. НАН РА, 1989б, т.88, 2, с.93-96.
3. Агабян А.С., Назаров Л.У., Базиян А.Р. и др. Дс-РНК как фактор, стимулирующий регенеративные и репаративные процессы в раневых тканях. Докл. НАН РА, 1993, т.94, 3, с.173-177.
4. Агабян А.С., Аговелян А.М., Давтян О.Я., Макарян А.П., Акопян А.С., Карагезян К.Г. Применение низкомолекулярной РНК для профилактики послеоперационных осложнений. Докл. НАН РА, 1997, т.98, 2, с.166-169.
5. Агабян А.С., Туманян М.А., Захарян Р.А. Стимуляция восстановительных процессов при экспериментальном гепатите. Докл. НАН РА, 1998, т.98, 4, с.363-365.
6. Агабян А.С., Агавелян А.М., Казарян А.В. К вопросу профилактики развития послеоперационных рецидивов и метастазов у больных колоректальным раком. Сб. науч. трудов, посв. 70-летию ЕРГМУ. Ереван, 2000, с.59-61.
7. Бурлакова Е.Б., Архипова Г.В., Голоцелов А.Н., Молочкина Е.М., Хохлов А.П. Мембранные липиды как переносчики информации. В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М., 1982а, с.74-83.
8. Бурлакова Е.Б., Джалаляева М.И., Гвахария В.О., Глуценко Н.Н., Молочкина Е.М., Штолько В.Н. Влияние липидов мембран на активность ферментов. В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М., 1982б, с.113-140.
9. Бурлакова Е.Б. Действие фензана и экзогенного ацетилхолина на ацетилхолинэстеразу и систему липидной пероксидации в мембранах клеток головного мозга. Рос. хим. журнал, 1999а, т. XLIII, 5, с.63-71.
10. Бурлакова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности. Рос. хим. журнал, 1999б, т. XLIII, 5, с.3-11.
11. Дворкин В.Я., Четвериков Д.А. Фосфоинозитиды в нервной системе. Успехи совр. биол., 1970, т. 70, 3(6), с.397-412.
12. Донченко Г.В., Кузьменко И.В., Коляденко Е.В., Чаговец Р.В. Содержание убихинона и витамина Е в тканях крыс при экспериментальном очаговом миокардите и гипоксической гипоксии. Бюл. экспер. биол. и мед., 1982, т.94, 3, с.36-38.
13. Дятловицкая Э.В. Липидпереносящие белки нормальных и опухолевых клеток. 3 Всесоюз. симп. "Структура, биосинтез и превращения липидов в организме животного и человека. Тез. докл., Л., 1978, с.8.
14. Дятловицкая Э.В. Влияние ганглиозидов плаценты на бласттрансформацию и Т-супрессорную активность лимфоцитов человека. Иммунология, 1990, т. 14, 1, с. 27-79.
15. Дятловицкая Э.В. Ганглиозиды GM₃ и GD₃ в опухолях желудка и молочной железы человека. Биохимия, 1991, т. 56, 4, с. 560-564.
16. Дятловицкая Э.В. Сфинголипиды и злокачественный рост. Биохимия, 1995, т.60, 6, с.843-850.
17. Дятловицкая Э.В., Андреасян Г.О., Малых Я.Н., Рылова С.Н. Шеддинг ганглиозидов и изменение биосинтеза церамидов в опухолях яичника человека. Биохимия, 1997, т.62, с.651-656.
18. Едоян А.Р., Овакимян С.С., Амрханян Л.Т., Васильян А.В., Овсепян Л.М., Карян Ш.С., Едоян Л.В., Карагезян К.Г. Комбинированная антиоксидантотерапия как эффективный регулятор нарушений тканевых процессов фосфолипидного метаболизма при сахарном диабете в эксперименте. International Journal on Immunorehabilitation. 2003, v.5, 1, p.87. Abstr. № 123.
19. Карагезян М.К., Овсепян Л.М., Овакимян С.С., Бояджян А.С., Осипян Л.Л., Карагезян К.Г. Молекулярный механизм токсического действия микотоксина зеараленона на метаболизм фосфолипидов, процессы перекисообразования в мембранах митохондрий головного мозга и эритроцитов, резистентность последних к перекисному гемолизу у белых крыс и эффекты тиосульфата на этом фоне. ДАН СССР, 1995, т.41, 3, с.408-411.
20. Карагезян М.К. Изучение молекулярных механизмов токсических эффектов микотоксина зеараленона. Дис... канд. биол. наук. Ереван, 1997.
21. Крепс Е.М. Фосфолипиды клеточных мембран нервной системы в развитии животного мира. В кн.: XXII Баховские чтения. Л., 1967.
22. Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран. Л., 1981.
23. Скулачев В.П. Трансформация энергии в биомембранах. М., 1972.
24. Folch J., Lees M., Sloane-Stenley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 1957, v. 226, p. 497-509.
25. Limber G.R., Davie R.F., Haker A.M.S. Acrylamide gel electrophoresis studies of human erythrocyte membrane. Blood, 1970, v. 36, 2, p.111-118.
26. Lowry O.H., Rosebrough N.G., Farr A.L., Randall R.G. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 1951, v.193, p.265-275.