УДК 579.842.1/.2.083.18

ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ДЕРМАТОЗАМИ

Н.А. Добротина[1], Т.В.Копытова[2], Н.А. Щелчкова[1]
[1]ГОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, unn@unn.ru
[2]ФГУ «Нижегородский научно-исследовательский кожно-венерологический институт», г. Нижний Новгород, nnikvi2@mail.ru

В статье охарактеризовано функциональное состояние мембран эритроцитов у больных хроническими распространенными дерматозами при наличии у них эндогенной интоксикации. Показано, что повышенное количество веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) в крови больных сопровождается активацией процессов окислительной модификации белков и перекисного окисления липидов, снижением общего количества фосфолипидов и сорбционной емкости в мембранах эритроцитов. Делается заключение, что изменения в мембранах эритроцитов под влиянием ВНСММ могут способствовать развитию торпидности течения и фармакорезистентности у больных хроническими распространенными дерматозами.

Ключевые слова: мембрана, эритроцит, эндогенная интоксикация, дерматозы.

THE ERYTHROCYTE MEMBRANE FUNCTION CHARACTERISTIC IN PATIENTS WITH SEVERE GENERALIZED DERMATOSES ABOUT ENDOGENOUS INTOXICATION.

N.A. Dobrotyna[1], T.V. Kopytova[2], N.A. Shelchkova[1]
[1]State Educational Institution of Higher Professional Education « N.Novgorod I.N. Lobachevskiy State University», N. Novgorod, Russia, unn@unn.ru;
[2]Federal State Institution «Scientific Investigation Institute of Dermato-Venerology Diseases», Federal Agency for Health Care and Social Development, N. Novgorod, Russia, nnikvi2@mail.ru

The article is devoted to characteristic of the erythrocyte membrane in patients with severe generalized dermatoses with endogenous intoxication. It's shown that, a level of the average mass molecules in the blood is accompaniment with activity of the processes protein oxidative modification and lipid peroxidation, with lower of amount of phospholipids and sorption capacity of the erythrocyte membrane. Authors are concludes what the changes in the erythrocyte membrane under the influence of the average mass molecules promote to the development of chronic disease and it makes the medical treatment not very effective and difficult.

Key words: dermatoses, endogenous intoxication, erythrocyte membrane.

В настоящее время доказано, что эндогенная интоксикация (ЭИ) усугубляет течение многих заболеваний. Обнаружены связанные с ЭИ биохимические нарушения метаболизма белков, липидов и нуклеиновых кислот, в том числе и на мембране клетки. Универсальной моделью клеток, отражающей физиологические и патологические изменения в организме, являются эритроциты [8, 6].

Современные научные исследования по улучшению функциональной диагностики и лечения хронических дерматозов связаны с изучением мембранно-клеточного гомеостаза [2, 5]. Основные работы, характеризующие ЭИ у больных дерматозами, посвящены биохимическим изменениям в сыворотке крови [4], в то время как нарушения на мембране клеток и сопряженные с ЭИ остаются во многом неохарактеризованными. По-прежнему нет ответа на вопрос, почему в одних случаях заболевание протекает по «классической схеме», а в других осложняется торпидным течением и толерантностью к терапии. Одной из причин этого могут быть структурные изменения мембран эритроцитов под влиянием ЭИ.

Целью настоящего исследования явилось изучение функционального состояния мембран эритроцитов у больных хроническими распространенными дерматозами при ЭИ.

Материалы и методы

Обследовано 49 пациентов хроническими распространенными дерматозами (ХРД) (псориаз, атопический дерматит, токсидермия). Средний возраст больных составил 40 лет. Все исследования проводились в период клинического обострения. В контрольную группу вошли 20 практически здоровых лиц без признаков кожной патологии.

Количество ВНСММ в плазме и эритроцитах крови осуществляли по методу М.Я. Малаховой (1995). В составе ВНСММ определялись мочевина уреазным методом и олигопептиды (ОП) методом Лоури. Количество продуктов спонтанной окислительной модификации белков оценивалось по уровню 2, 4 — динитрофенилгидразонов [1]. Содержание первичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) определялось в гептановой фазе, а вторичных — в реакции с тиобарбитуровой кислотой [7].

Фракционный состав липидов определялся методом тонкослойной хроматографии [9]. Количественную оценку фракций проводили с помощью компьютерной денситометрии. В липидограммах выделяли следующие фракции: фосфолипиды (ФЛ), состоящие из лизофосфатидилхолина (ЛФХ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭА); свободный (СХ) и эфиросвязанный (ЭХ) холестерин; неэтерифицированнные жирные кислоты (НЕЖК), триглицериды (ТГ).

Сорбционная емкость мембран эритроцитов (СЕЭ) исследовалась по методу А.А. Тойгабаева в нашей модификации [3].

Результаты и их обсуждение

Адекватным маркером, характеризующим состояние ЭИ в организме, на сегодняшний день считается уровень ВНСММ. Проведенными нами исследованиями у больных ХРД выявлено достоверное повышение уровня суммарных ВНСММ в плазме крови. Оно составило 12,5± 0,4 усл. ед. против

10,03±0,25 усл. ед. у относительно здоровых лиц (p=0,05). При анализе полученных данных обследованные больные были разделены по этому показателю на две группы. В первую вошли пациенты (n=28) с уровнем ВНСММ плазмы крови, не отличающимся от показателей контрольной группы, а во вторую (n=21) — с уровнем ВНСММ выше среднегрупповых значений (больше 12,5 усл. ед). Таким образом, вторая группа больных включила пациентов с эндогенной интоксикацией по уровню ВНСММ в плазме крови.

В группе больных с ЭИ содержание ВНСММ эритроцитов достоверно (p= 0,001) отличалось от контроля и от показателей первой группы (таблица). Во второй группе больных ХРД выявлено статистически значимое повышение катаболической составляющей в составе спектра ВНСММ и одного из конечных низкомолекулярных продуктов белкового обмена — мочевины, что свидетельствует об активации процессов катаболизма при развитии ЭИ. Очевидно, это продукты нарушенного метаболизма

Биохимические показатели состояния мембран эритроцитов у больных дерматозами в зависимости от наличия ЭИ (M±m)

Показатель	Контроль, n=20	Больные без ЭИ, n=28	Больные с ЭИ, n=21
МСМ пл, усл.ед.	10,03±0,25	9,95±0,25*	15,42±0,99* **
МСМ эр, усл.ед.	19,26±0,46	20,8±0,52	23,68±0,67* **
Кат МСМ эр., усл. ед	7,3±0,21	8,35±0,24	9,51±0,37* **
ОП эр, мг/л	23,8±1,5	27,8±1,3*	32,23±2,37*
Мочевина, м/моль	0,87±0,13	1,07±0,46*	2,9±0,52* **
ДК эр, мкмоль/л	3,25±0,18	4,73±0,56*	5,06±0,7*
МДА эр, мкмоль/л	5,34±0,28	9,68±0,9*	7,2±1,0
ОФЛ	35,39±1,38	34,9±1,46	30,9±1,52*
ЛФХ	1,26±0,17	0,97±0,11	0,9±0,1
СМ	6,22±0,58	6,25±0,57	4,97±0,37
ФХ	13,86±0,53	13,86±0,68	12,75±0,67
ФЭА	14,05±0,76	13,91±0,7	12,3±0,74
МГ	6,48±0,32	6,06±0,33	6,08±0,51
НЭЖК	27,44±1,5	28,04±1,21	30,0±0,5
ДГЛ	5,92±0,62	7,36±0,58	6,74±0,49
ОХС	24,77±1,85	23,6±1,27	26,27±1,64
ОХС/ОФЛ	0,79±0,13	0,74±0,06	0,933±0,1
ЛФХ/ФХ	0,093±0,01	0,07±0,01	0,075±0,01
ОМБ эр., опт. ед.	0,13±0,015	0,12±0,02	0,018±0,03
СЭЕ, %	48,8±2,1	39±3,1*	38,53±3,07*

** — достоверность различий с контролем (p<0,05)*

*** — достоверность различий между группой больных без ЭИ и группой больных с ЭИ (p<0,05)*

как самих клеток, так и вещества, адсорбированные на поверхности их мембран.

На 80% ВНСММ состоят из метаболитов белков, в том числе продуктов гидролиза фибриногена и глобулинов, катаболизма глюкокортикоидов, ложных медиаторов — продуктов патологического метаболизма. Эти процессы ведут к увеличению содержания ОП. Количество ОП в эритроцитах больных обеих групп достоверно повышено по сравнению с контролем. Таким образом, в рост суммарных ВНСММ эритроцитов крови при ЭИ вносят вклад продукты нарушенного обмена и фрагментации белков.

Интенсивность обменных процессов, как правило, сопровождается активацией ПОЛ, с одновременным угнетением антиоксидантных механизмов. В наших исследованиях определено повышение содержания в мембранах эритроцитов как первичных продуктов ПОЛ — ДК, так и вторичных метаболитов — МДА. При этом обнаружилась разнонаправленность в активности процессов ПОЛ. Так, количество ДК в группе без ЭИ было повышено на 30%, а в группе с ЭИ почти на 60% относительно контроля. В то же время уровень МДА в эритроцитах больных в группе без ЭИ почти в два раза выше контрольных и группы с ЭИ. Известно, что МДА, взаимодействуя с белками и нуклеиновыми кислотами, вызывает образование межмолекулярных сшивок. Подобное действие альдегидов и гидроксиалкеналей приводит к изменению структуры рецепторов, ионных каналов, цитоскелета клетки, ферментов, торможению синтеза внутриклеточных посредников и вызывает деструкцию ДНК и РНК. Таким образом, динамика процессов ПОЛ в группе больных без ЭИ по уровню ВНСММ в плазме крови, очевидно, свидетельствует о том, что формирование ЭИ в организме начинается с ПОЛ клеточных мембран. Хотя в норме эритроциты хорошо защищены от гидропероксидного воздействия как ферментативными, так и неферментативными компонентами АОС, при патологии активность антиоксидантной защиты значительно снижается, что, очевидно, и приводит к накоплению продуктов ПОЛ.

В результате пероксидные продукты окисления мембранных липидов могут нарушать регулярную упаковку мембранного бислоя и вызывать образование дефектных зон в мембране. Известно, что липиды являются активными участниками процесса функционирования мембранных белков, а для состояния иммунной системы большое значение имеет соотношение степени ненасыщенности липидов с уровнем антиоксидантов, способных тормозить реакции окисления полиненасыщенных жирных кислот, связанных с образованием простагландинов и лейкотриенов. Анализ спектра липидов эритроцитов больных ХРД выявил разнонаправленные изменения в соотношении основных фракций липидов в исследованных группах больных.

Из данных таблицы видно, что группа больных с ЭИ характеризуется достоверным снижением общих ФЛ и дислипидемией отдельных классов ФЛ. Снижение иммунологически тропной фракции СМ и легко окисляемой фракции ФЭА может свидетельствовать как об угнетении иммунной системы в данной группе больных, так и о том, что эндотоксические метаболиты усиливают повреждающее действие липидных

радикалов, и защитно-приспособительная реакция организма в этом случае направлена на снижение легко окисляемой фосфолипидной фракции ФЭА [5]. Возможно, уменьшение фракции ФЭА, характеризующейся высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, обусловлено их активным включением в реакции свободнорадикального окисления.

Очевидно, что выявленные изменения в составе липидов цитоплазматической мембраны эритроцитов: перераспределение фосфолипидных фракций в системе ЛФХ-ФХ, снижение ФЭА, увеличение отношения ОХС / ОФЛ, могут влиять на структурные и функциональные свойства мембраны клетки.

Считают, что в состоянии окислительного стресса атаке активных форм кислорода подвергаются в первую очередь не липиды, а белки плазматических мембран [1]. Процесс окислительной модификации протеинов сопряжен с образованием большого количества окисленных продуктов. В группе с ЭИ было выявлено увеличение количества динитрофенилгидразонов по сравнению с контролем и группой больных без ЭИ. Окислительная деструкция протеинов мембраны приводит к нарушению ее функциональности по осуществлению трансмембранного транспорта веществ, рецепторных и ферментативных взаимодействий, а также защитной функции. Биологическая роль протеиновых радикалов до конца неясна, но, обладая высоким химическим потенциалом, они могут участвовать в реакциях окисления других биомолекул.

Оптимальный альянс структурных и функциональных компонентов определяет сорбционную способность мембран эритроцитов. Определение СЕЭ у больных ХРД показало статистически низкие значения данного показателя относительно контроля как в группе без ЭИ, так и в группе с ЭИ, что свидетельствует о патологической загруженности клеточной поверхности и ее неспособности к эффективной транспортировке метаболитов по кровяному руслу.

Таким образом, изучив показатели функциональности мембран эритроцитов у больных ХРД, мы пришли к выводу, что накопление в крови больных продуктов измененного метаболизма экзо- и эндогенного происхождения, регистрируемых в составе ВНСММ, ведет к формированию структурных и функциональных изменений клеточных мембран. Глубина мембранных повреждений определяет конформационные перестройки активных центров мембранно-связанных ферментов, структуру и свойства рецепторных белков и далее на такие функции эритроцитов, как связывание и транспортировка различных соединений, в том числе и лекарственных средств, поступающих в организм. Это может являться одной из причин торпидности заболевания у пациентов с ХРД.

Список литературы

1. Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях // Укр. биохим. журн. — 2008. — Т. 80, № 6. — С. 5 — 18.

2. Исаков С.А. Активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы у больных атопическим дерматитом и хронической экземой как показатель свободно-

радикального статуса крови // Вестн.дерм. и венер. — 2005. — №4. — С. 37–40.

3. Копытова Т.В. Исследование сорбционной емкости мембран эритроцитов для оценки характера эндогенной интоксикации при дерматозах // Клинич лаборат диагн. — 2006. — №1. — С. 18–19.

4. Копытова Т.В., Химкина Л.Н., Суздальцева И.В. и др. Окислительный стресс и эндотоксемия у больных тяжелыми распространенными дерматозами // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. — 2009. — №2. — С. 10–13.

5. Кошелева И.В., Иванов О.Л., Куликов А.Г. Показатели перекисного окисления липидов у больных экземой и влияние на них озонотерапии // Росс. журнал кожных и венер. болезней. — 2001. — №6. — С. 34–37.

6. Новицкий В.В. Рязанцева Н.В., Степовая Е.А., Федорова Т.С. и др. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы // Бюл. сибирской медицины. — 2006. — №2. — С. 62–69.

7. Современные методы в биохимии / под ред. А. М. Ореховича. — М: Медицина, 1977. — 345 с.

8. Субботина Т.Н., Титова Н.М., Савченко А.А. и др. Перекисное окисление липидов и проницаемость мембран эритроцитов у детей и подростков с сахарным диабетом типа 1 // Клин. лаб. диагн. — 2004. — №5. — С. 20, 33–35.

9. Творогова М.Г. , Исаева Е.А., Проказова Н.В. Определение липидного состава липопротеидов высокой плотности методом тонкослойной храмотографии на селикагеле // Клин. лаб. диагн. — 1998. — 4. — С. 10–14.