

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1989 том 35 выпуск 3

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности.

Voprosy meditsinskoï khimii

The journal archive

ISSN 0042-8809

1989 volume 35 issue 3

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ 35

ВЫПУСК 3

МАЙ — ИЮНЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. А. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. И. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)

БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)

БЫЧКОВ С. М. (Москва)

КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)

КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)

ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)

ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)

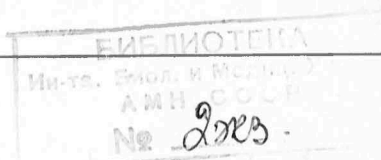
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)

ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)

ШАПОВ В. С. (Москва)

ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)

ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



lesterol esters was found in fibroblasts cultivated in a medium containing modified LDL as compared with cultivation in presence of native LDL. Deterioration of normal interrela-

tions between free cholesterol and its esters appears to be responsible for alterations in the LDL structure and contributed to more active transport of cholesterol into cells.

УДК 616.33-002.44-07:616.33-018.73-008.939.15-39-074

В. Д. Пасечников

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, ФЕРМЕНТНАЯ АНТИОКИСЛИТЕЛЬНАЯ СИСТЕМА И СОДЕРЖАНИЕ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

Ставропольский медицинский институт

В механизмах повреждения слизистой оболочки желудка (СОЖ) при язвенной болезни существенную роль могут играть процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), приводящие к повреждению лизосомальных структур клеток [8, 14]. К факторам, способствующим развитию реакций ПОЛ, относят снижение функциональной активности многокомпонентной антиокислительной системы (АОС) клеток и тканей [5, 12].

Имеются немногочисленные исследования, указывающие на участие лизосомальных ферментов в развитии нарушений внутриклеточного метаболизма при язвенной болезни. Показано, что высвобождение лизосомальных ферментов в ответ на воздействие уксусной кислотой, этанолом, приводит к деструкции клеток, появлению острых эрозий и язв СОЖ [1, 37]. Клинические исследования указывают, что в СОЖ наряду с активацией лизосомальных ферментов определялись признаки дегенерации органелл [7, 9, 15]. Авторы делают вывод о причинной обусловленности повреждений в результате взаимодействия лизосомальных энзимов с элементами мембран этих субклеточных образований.

Целью настоящей работы было исследование содержания кислой фосфатазы — КФ (маркера лизосом) в сопоставлении с образованием в СОЖ больных язвенной болезнью перекисных продуктов и компонентов АОС в разные фазы течения заболевания.

Методика

Обследовано 53 больных язвенной болезнью желудка (44 мужчины и 16 женщин) в возрасте от 22 до 57 лет с локализацией язвы

в области тела желудка. В период обострения в ходе гастродуоденоскопического исследования производили прицельную биопсию из краев язвы и периаульцерозной области. С наступлением ремиссии биоптаты получали из зоны формирующегося рубца и окружающей слизистой. Помимо обычного гистологического исследования часть биоптатов фиксировали в жидком азоте для последующего определения продуктов ПОЛ, факторов АОС и КФ.

Содержание продуктов ПОЛ определяли спектрофотометрически по характерным максимумам поглощения в ультрафиолетовом спектре растворов липидов в смеси метанол — гептан (5:1). При 233 нм регистрировали диеновые конъюгаты (ДК), при 273 нм — диенкетоны (К) по [18, 22]. Липиды из биопсийных образцов экстрагировали хлороформ-метанольной смесью (2:1) с добавлением антиоксиданта инола (1 мг на 100 мл смеси). Количество липидов определяли гравиметрически. Результаты выражали в единицах оптической плотности (E_{233} и E_{273}) на 1 мг липидов в 3 мл смеси метанол — гептан. Состояние АОС оценивали по показателям активности супероксиддисмутазы — СОД [3, 30], глутатионпероксидазы — ГП [33], глутатионредуктазы — ГР [5] и концентрацией восстановленной (TSH) и окисленной (GSSG) форм глутатиона [2]. Активность ГР оценивали по кинетике окисления НАДФ·Н₂, количество которого эквивалентно убыли GSSG в инкубационной смеси в ходе его восстановления ферментом. Активность ГП оценивали в системе, сопряженной с активностью ГР, добавленной в среду инкубации: для расчета использовали кинетику окисления НАДФ·Н₂, количество которого убывало эквивалентно GSSG, образующемуся в ходе разложения H₂O₂ в реакционной среде. Для определения активности ферментов биоптаты предварительно гомогенизировали в трис-HCl буфере pH 7,4 при 0°C в гомогенизаторе Поттера — Эльвейса (стекло — стекло). Активность ферментов определяли по изменению оптической плотности образцов на регистрирующем спектрофотометре «Beckman UV-2504» (США). Активность СОД выражали в условных единицах активности (У) на 1 мг белка гомогената, ГП и ГР — в наномолях окисленного в реакции НАДФ·Н₂ за 1 мин на 1 мг белка, GSH и GSSG — в наномолях на 1 мг белка. Ввиду нестабильности субстрата за 1 У активности принимали, согласно [30], количество СОД, требуемое для

Показатели ПОЛ, АОС и КФ в биоптатах слизистой оболочки желудка у здоровых и больных язвенной болезнью ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контрольная группа	Больные язвенной болезнью желудка			
		обострение		ремиссия	
		тело желуд- ка	край язвы	перипульце- розная зона	зона форми- рующегося рубца
Дисновые конъюгаты, E ₂₃₃ на 1 мг липидов	0,37±0,05	0,37±0,06	0,74±0,14*	0,92±0,11*	0,48±0,09
Дискетоны, E ₂₇₃ на 1 мг липидов	0,17±0,03	0,50±0,07*	0,24±0,04	0,25±0,05	0,42±0,05*
СОД, U на 1 мг белка	0,57±0,17	1,23±0,23*	—	1,48±0,26*	—
ГП, нмоль НАДФ·Н ₂ за 1 мин на 1 мг белка	9,98±2,34	6,77±2,04*	—	4,58±0,86*	—
ГР, нмоль НАДФ·Н ₂ за 1 мин на 1 мг белка	33,74±4,89	7,22±0,89*	—	6,89±1,91*	—
GSSG/GSH	0,34±0,07	4,01±1,50*	—	1,51±0,50*	—
GSSG, нмоль на 1 мг белка	21,01±0,006	80,15±0,021*	—	23,1±0,004	—
GSH, нмоль на 1 мг белка	63,2±0,009	20,13±0,017*	—	16,2±0,003*	—
КФ, нг на 1 мг белка	1,37±0,20	2,34±0,24*	2,03±0,25*	1,49±0,16*	2,30±0,23*

Примечание. Звездочка — $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

50 % ингибирования начальной скорости автоокисления адреналина в указанных условиях.

Для определения КФ биоптаты гомогенизировали в растворе 250 мМ сахарозы, содержащей 5 мМ трис-HCl pH 7,4, в соотношении 1 : 10 (вес : объем) при 0°C в гомогенизаторе Поттера — Эльвейма, используя 15 полных фрикций тefлонового пестика [32]. Для выделения неседиментируемой фракции фермента гомогенаты немедленно центрифугировали при 100 000 g в течение 30 мин [17]. В надосадочной жидкости определяли КФ радиоиммуннологическим методом, используя тест-наборы фирмы «Mallincrodt Diagnostica» (ФРГ). Результат выражали в нанограммах на 1 мг белка гомогената. Белок определяли по Lowry.

Контролем служили результаты исследования, полученные в группе из 30 человек, у которых эндоскопическая картина СОЖ характеризовалась как практически неизменная. Математическая обработка результатов включала определение типа распределения, устранения случайных величин по критерию Шовене и оценку достоверности сравниваемых показателей по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что в слизистой оболочке края язвы и периульцерозной зоны количество КФ было достоверно увеличено по сравнению с таковым в контрольной группе (см. таблицу). В процессе заживления язвенных дефектов в зоне формирующегося «красного рубца» количество КФ снижалось, а в околорубцовой ткани было выше, чем в контрольной группе.

Поскольку активность лизосомальных гидролаз в неседиментируемой фракции гомогенатов ткани отражает стабильность лизосомальных мембран

[17], мы предположили, что увеличение количества КФ может быть обусловлено дестабилизацией лизосомальных мембран. Стабильность последних определяется многими факторами, в частности внутриклеточным соотношением циклических нуклеотидов, активностью свободнорадикальных процессов и состоянием АОС.

Из таблицы видно, что в слизистой оболочке краев язвенных дефектов было достоверно повышено содержание К, а в периульцерозной зоне — ДК по сравнению с контролем. В процессе заживления язвенных дефектов в зоне формирующегося «красного рубца» сохранялось повышенное содержание ДК, а в окружающей слизистой — К.

В то же время активность СОД в периульцерозной зоне СОЖ была выше уровня, определяемого у здоровых людей. Величина активности ГП и ГР в этой области оказалась значительно ниже аналогичных показателей в контрольной группе. В ходе активной репарации с формированием «красного рубца» на месте пептической язвы показатели СОД остались повышенными, а ГП и ГР — сниженными по сравнению с соответствующими величинами в нормальной слизистой.

Анализ коэффициентов GSSG/GSH свидетельствует о накоплении окисленной формы глутатиона и снижении — восстановленной в исследуемой зоне СОЖ при обострении язвенной болезни. В ходе репаративной регенерации слизистой это соотноше-

ние приближалось к нормальному.

Ранее мы показали развитие тканевой гипоксии [4], редуцированный синтез простагландина Е [13] и дискоординированную деятельность циклазных систем [16], приводящую к изменению соотношения цАМФ/цГМФ в сторону увеличения последнего, в краевой и периаульцерозной зонах СОЖ у больных язвенной болезнью желудка. Известно, что цАМФ и его аналоги стабилизируют, а цГМФ лабилизирует лизосомальные мембраны и усиливает выход кислых гидролаз в цитоплазму [10, 21]. Тканевая гипоксия приводит к активации КФ в СОЖ при язвенной болезни [15] и экспериментальном ulcerogenezе [23]. В последнем случае гипоксия вызывалась вазоконстрикторным действием серотонина, а ее лабилизирующее действие в отношении лизосомальных мембран компенсировалось простагландином Е₁.

Можно полагать, что гипоксия обуславливает дезинтеграцию мембран вследствие перекисидации их липидных компонентов. Так, установлено, что гипоксия СОЖ приводит к образованию в ней повышенного количества супероксидного аниона [35]. Последний генерируется клеточным ферментом — ксантиноксидазой (КО), количество которой в этих условиях значительно увеличивается за счет необратимой конверсии ксантиндегидрогеназы в КО [36]. Последняя, используя накапливающийся в результате дегградации АТФ гипоксантин в качестве источника электронов, переносит их непосредственно на молекулярный кислород, поступающий в ткани при реперфузии (развитии коллатерального кровотока), и, таким образом, генерирует супероксидный анион и перекись водорода [24]. Последний, рекомбинируя с Fe²⁺ и перекисью водорода, образует гидроксильный радикал ОН[•] [26, 34]. Повреждение клеточных мембран (включая лизосомальные) происходит как за счет прямого действия супероксида и ОН[•], так и посредством образуемых вторично перекисных радикалов липидов, липидных гидроперекисей и других продуктов ПОЛ [20]. Высвобождаемые лизосомальные ферменты потенцируют радикалиндуцируемые клеточные повреждения.

С другой стороны, фагоцитирующие

клетки (нейтрофильные и эозинофильные лейкоциты), входящие в состав инфильтративного околоязвенного «вала», способны усиливать повреждающее действие гипоксии. Показано, что эти элементы активно генерируют и поставляют в окружающие ткани супероксидный анион, гидроксильный радикал и перекись водорода [25]. Замечено, что клеточные повреждения, вызванные лейкоцитарной инфильтрацией, могут происходить как в результате действия протеиназ лизосом, так и токсического действия — свободнорадикальных продуктов [20].

Возможно, что накопление ДК и К в краевой и периаульцерозной зонах СОЖ, с одной стороны, отражает интенсификацию ПОЛ клеточных структур вследствие снижения кровотока и развития гипоксии [4, 28], а с другой — свидетельствует об уязвимости и срыве отдельных звеньев антирадикальной защиты.

Следует подчеркнуть, что активность ПОЛ и декомпенсация отдельных звеньев АОС, помимо дезинтеграции мембран, приводит к повреждениям ДНК [27], дезорганизации соединительной ткани [19], дискоординированной деятельности циклаз [31], редукции синтеза простагландинов [29]. Все это дополняет повреждающее действие продуктов ПОЛ на лизосомальные мембраны, приводя к выходу ферментов в цитоплазму. Заслуживает рассмотрения в связи с этим факт снижения активности каталазы — фермента, входящего в систему антиокислительной защиты, при воздействии лизосомальных протеиназ [11].

Есть основания полагать, что сочетание повышенного образования продуктов ПОЛ и накопления КФ в околорубцовой слизистой обусловлено сохранением воспалительной реакции даже в фазу репаративной регенерации. Примечательно, что факт сохранения инфильтрации СОЖ при образовании «красного рубца» расценивается как основа для рецидива язв [6].

Таким образом, полученные данные о накоплении в цитоплазме клеток СОЖ лизосомальных ферментов, изменениях в образовании свободнорадикальных продуктов и механизмах защиты позволяют расширить представления о патогенезе образования язв, путях их обратного развития и

могут служить основанием для разработки приемов фармакотерапии с целью модуляции факторов антиоксидательной защиты и стабилизации клеточных мембран.

ЛИТЕРАТУРА

- Амиров Н. Ш., Трубицина Н. Е. // Бюл. exper. биол. — 1982. — № 9. — С. 55—57.
- Балаховский С. Д., Балаховский И. С. // Пушкина Н. Н. Биохимические методы исследования. — М., 1963. — С. 44—46.
- Брусов О. С., Герасимов А. М., Панченко Л. Ф. // Бюл. exper. биол. — 1976. — № 1. — С. 33—35.
- Вирганский А. О., Пасечников В. Д. // Механизмы интеграции биологических систем: Проблема адаптации. — Ростов-н/Д., 1987. — С. 101—103.
- Герасимов А. М. Антиоксидательная ферментная система цитозоля животных (Экспериментально-теоретическое исследование): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1981.
- Григорьев П. Я. Диагностика и лечение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. — М., 1986.
- Дегтярева И. И., Кушнир Б. Е. Язвенная болезнь. — Киев, 1983.
- Дорофеев Г. И., Успенский В. М. Гастроуденальные заболевания в молодом возрасте. — М., 1984.
- Иванов Г. Г., Шелконозов М. А. // Тер. арх. — 1983. — № 2. — С. 86—87.
- Иванов И. И., Коровкин Б. Ф., Пинаев Г. П. Биохимия мышц. — М., 1977.
- Комов В. П., Стрелкова М. А., Фирсова В. И. // Биохимия. — 1984. — Т. 49, № 1. — С. 149—154.
- Корочкин И. М., Башкатова В. Г., Пославский М. В. // Тер. арх. — 1984. — № 12. — С. 88—90.
- Мосин В. И., Ермолаева Н. Ю., Пасечников В. Д., Вирганский А. О. // Всесоюзный съезд терапевтов, 19-й: Тезисы. — Ташкент, 1987. — Ч. 2. — С. 334—336.
- Мурашко В. В., Журавлев А. К., Шилле Г. И. // Клин. мед. — 1984. — № 10. — С. 47—50.
- Опарин А. Г., Богоявленский В. Ф., Газизов Р. М. // Там же. — 1982. — № 6. — С. 45—47.
- Пасечников В. Д. // Клеточные основы заболеваний органов пищеварения / Под ред. В. И. Мосина. — Ставрополь, 1986. — С. 5—11.
- Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы. — М., 1976.
- Bolland J. L., Koch H. P. // J. Chem. Soc. — 1945. — Vol. 7. — P. 445.
- Brown K., Fridovich I. // Acta physiol. scand. — 1980. — Suppl. 492. — P. 9—18.
- Bulkley G. B. // Surgery. — 1983. — Vol. 94, N 3. — P. 407—411.
- Bussutil R. W., George W. J. // Advanc. Cyclic Nucl. Res. — 1978. — Vol. 9. — P. 629—646.
- Diancani M. U. // Minerva Med. — 1968. — Vol. 59. — P. 1873—1887.
- Ferguson M. D., Edmonds A. W., Starling J. R., Wangenstein S. L. // Ann. Surg. — 1973. — Vol. 177, N 6. — P. 649—653.
- Fridovich I. // Science. — 1978. — Vol. 201. — P. 875—880.
- Halliwell B. // Cell. Biol. — 1982. — Vol. 6, N 6. — P. 529—542.
- Halliwell B., Gutteridge J. M. C. // Biochem. J. — 1984. — Vol. 219. — P. 1—14.
- Hassan H. M. // Oxy Radicals and Their Scavenger Systems / Eds G. Cohen, R. A. Greenwald. — New York, 1983. — Vol. 1. — P. 875—880.
- Hiramatsu A., Taleiwa J., Sasakawa M. et al. // Scand. J. Gastroent. — 1982. — Suppl. 78. — P. 23.
- Kuehl F. A., Egan R. W. // Science. — 1980. — Vol. 210. — P. 978—984.
- Misra H. P., Fridovich I. // J. biol. Chem. — 1972. — Vol. 247. — P. 3170—3175.
- Mittal Ch. K., Murad F. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1977. — Vol. 74, N 10. — P. 4360—4364.
- Nagorney D. M., La Russo N. F., Dozois R. R. // Gastroenterology. — 1983. — Vol. 85. — P. 548—556.
- Paglia D. E., Valentine W. H. // J. Lab. clin. Med. — 1967. — Vol. 70, N 1. — P. 158—169.
- Parks D. A., Granger D. N. // Amer. J. Physiol. — 1983. — Vol. 245. — P. 285—289.
- Perry M. A., Wadhwa S., Parks D. A. et al. // Gastroenterology. — 1986. — Vol. 90. — P. 362—367.
- Roy R., McCord J. M. // Fed. Proc. — 1982. — Vol. 41. — P. 767.
- Whittle B., Steel G. // Gastroenterology. — 1985. — Vol. 88. — P. 315—327.

Поступила 21.01.88

LIPID PEROXIDATION, THE ENZYMATIC ANTIOXIDATIVE SYSTEM AND ACTIVITY OF ACID PHOSPHATASE IN GASTRIC MUCOSAL MEMBRANE IN ULCEROUS DISEASE

V. D. Pasechnikov

Medical School, Stavropol

Lipid peroxidation, a state of the antioxidative system and activity of acid phosphatase were studied in mucosal membrane of 53 patients with ulcerous disease of stomach. Increase of the acid phosphatase activity in cytoplasm, activation of lipid peroxidation and inhibition of the antioxidative system were detected in ulcer border and periulcerous region. These alterations in lipid peroxidation and the state of the antioxidative system were considered as distinct pathogenetic factors responsible for deterioration of lysosomal membranes and contributing to chronic and relapsing development of ulcerous disease.