

УДК 616.517:616.153.915]-085

Г. О. Семко

ОКИСНЮВАЛЬНА ДЕСТРУКЦІЯ БІЛКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ Й СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ

Інститут дерматології та венерології АМН України, Харків

Регуляція метаболізму клітини і його адаптаційна реорганізація у відповідь на різні впливи значною мірою пов'язані з фізико-хімічними процесами, що відбуваються в її мембрані.

Зараз уже очевидно, що таке захворювання, як псоріаз, характеризується значними порушеннями в мембранних структурах. Установлено, що при даній патології змінюються поверхневі властивості клітин крові [1], ліпідний та гангліозидний спектри еритроцитарних мембран [2; 3].

В основі патогенезу псоріазу як мультифакторного захворювання лежить багато причин [4], одна з яких — процеси вільнорадикального окиснення, які є універсальною патогенетичною ланкою багатьох захворювань.

Нами було показано, що загострення псоріазу супроводжується активацією вільнорадикального окиснення ліпідів [5]. Тобто в організмі створюються умови для інтенсивної генерації радикальних продуктів, і таким чином може підвищуватися окисна деструкція не тільки ліпідів, але і білків, що, у свою чергу, призводить до порушення структури й функції клітинних мембран.

Підвищена пероксидація ліпідів і білків може обумовлювати структурну нестійкість еритроцитарних мембран,

їхню деструкцію, також бути причиною змін, пов'язаних із порушенням енергетичних систем. Зміна стану енергетичного обміну клітинних мембран взаємозалежна з перебудовою їх бар'єрних і транспортних властивостей.

Зважаючи на вищезазначене, метою цієї роботи було дослідження окиснювальної модифікації білків, а також структурного (білковий спектр еритроцитарних мембран) і функціонального (рівень АТФ) станів еритроцитів у хворих на псоріаз у період загострення захворювання.

Матеріали та методи дослідження

Було обстежено 24 хворих на псоріаз віком від 19 до 50 років у динаміці патологічного процесу. Порівняння проводили з групою практично здорових донорів (12 осіб) віком від 20 до 48 років. Взяття крові здійснювали вранці натще. Як антикоагулянт використовували розчин гепарину.

Ступінь спонтанного і метал-каталізованого окиснювання (МКО) білків визначали за методом [6], оцінку фрагментації окиснених білків сироватки крові проводили за методом [7]. Білковий вміст мембран еритроцитів досліджували за допомогою гель-електрофорезу в ПААГ із попереднім одержанням «білих тіней» за допомогою гіпотонічного лізи-

су й обробки 1%-м додецилсульфатом натрію. Гелі забарвлювали за Кумассі G-250 [8]. Концентрацію АТФ вимірювали люциферазним методом [9] за допомогою автоматизованої системи для дослідження біохемілюмінесценції «Люцифер-01».

Результати дослідження та їх обговорення

Проведені дослідження спонтанної окиснювальної модифікації білків сироватки крові свідчать про статистично вірогідні зміни ($P < 0,05$) вмісту динітрофенілгідрозонів у хворих на псоріаз порівняно з практично здоровими донорами. При аналізі МКО білків сироватки крові у хворих на псоріаз спостерігається тенденція до їх підвищення, але статистично вірогідних змін не виявлено (табл. 1).

Можливо, що окиснювальна модифікація білків пов'язана зі зміною їхньої структурної організації, що супроводжується фрагментацією з утворенням низькомолекулярних компонентів, або агрегацією білкових молекул.

Проведений аналіз ступеня фрагментації окиснених білків виявив статистично вірогідні розходження рівня продуктів фрагментації окиснених білків після їх спонтанного і метал-каталізованого окиснення при всіх довжинах хвиль у хворих на псоріаз (табл. 2). Також на-

Окиснювальна модифікація білків сироватки крові у хворих на псоріаз та здорових донорів, ООЩ, $M \pm m$, нм

Групи обстежених	Спонтанна окиснювальна модифікація білків		Метал-каталізовне окиснення білків	
	370	430	370	430
Здорові, n=12	0,438±0,043	0,209±0,018	0,701±0,061	0,417±0,037
Хворі на псоріаз, n=24	0,714±0,052*	0,327±0,026*	0,848±0,089	0,494±0,069

Примітка. * — $P < 0,01$ порівняно з контролем.

Ступінь фрагментації окиснених білків сироватки крові у хворих на псоріаз та здорових донорів, ООЩ, $M \pm m$, нм

Групи обстежених	Спонтанне окиснення			Метал-каталізовне окиснення		
	254	270	280	254	270	280
Здорові, n=12	2,360±0,021	0,390±0,024	0,161±0,019	2,710±0,038**	0,801±0,010**	0,491±0,011**
Хворі на псоріаз, n=24	2,600±0,039*	0,685±0,065*	0,437±0,057*	2,980±0,045***	1,102±0,040***	0,782±0,032***

Примітка. * — $P < 0,01$ — порівняно з контролем; ** — $P < 0,01$ — порівняно зі спонтанним окисненням білків плазми крові в усіх групах обстежених.

ми було виявлене підвищення рівня продуктів фрагментації білків за рахунок МКО порівняно зі спонтанною окиснювальною деструкцією білків сироватки крові в усіх обстежених.

Виявлене нами підвищення інтенсивності окиснювальної модифікації білків плазми крові у хворих на псоріаз фактично відбиває загальну спрямованість вільнорадикальних процесів і, зокрема, окиснювання білків у всьому організмі.

Зважаючи на велике й різноманітне функціональне навантаження білків у тканинах, їхня окисна модифікація може носити при псоріазі, на відміну від пероксидації ліпідів, більш вибірковий і специфічний характер.

При електрофоретичному аналізі білкового вмісту еритроцитарних мембран було

встановлено, що як у хворих на псоріаз, так і в контрольній групі наявні 7 основних фракцій, що відповідають найбільш значним поліпептидам мембран еритроцитів [10]. Проведені дослідження кількісних співвідношень білків показали, що в мембранних «тінях» еритроцитів у хворих на псоріаз порівняно з контролем вміст спектрину на 20 % менший ($P < 0,05$). При тяжкому перебігу псоріазу ця різниця становить 35 %. При псоріазі виявився вірогідно збільшеним до (9,7±1,2) % вміст білка смуги 4 із ММ 66 кД (у здорових донорів — (6,6±0,7) %). Кількісне співвідношення вмісту інших білків цитоскелету еритроцитів при цьому не змінювалося (табл. 3).

Зниження кількості спектрину в «білих тінях» еритроцитів, можливо, пов'язано з

утворенням менш міцних зв'язків спектрину з якірними білками мембрани. Зазначені зміни можуть порушити нормальну конструкцію цитоскелету в напрямку формування більш ригідної білкової структури, що може впливати на динамічні властивості та проникність плазматичної мембрани.

Аналіз вмісту енергетичного субстрату клітини — АТФ — виявив значні кількісні перерозподіли його рівня при даній патології. Показано, що вміст АТФ в еритроцитах хворих — (0,688±0,045) мМ, що на 26,9 % вище, ніж у практично здорових донорів (0,542±0,060) мМ.

Імовірно, процес загострення псоріазу супроводжується перебудовою метаболізму клітини, коли в патологічних еритроцитах спостерігається більш велика потреба в АТФ, ніж у нормально функціонуючій клітині. У період клінічного видужання рівень АТФ становить (0,588±0,080) мМ, тобто здатність еритроцитів до синтезу АТФ виявляє тенденцію до нормалізації, але повного відновлення не спостерігається. Ці дані свідчать про напруження клітинного метаболізму при псоріазі. Виявлені залеж-

Таблиця 3

Вміст деяких білків еритроцитарних мембран у хворих на псоріаз та здорових донорів, %, $M \pm m$

	Спектрин	Білок смуги 3	Білок смуги 4
Хворі на псоріаз	30,70±1,95*	24,20±0,70	9,60±0,42*
Контрольна група	38,00±1,72	22,20±1,94	7,30±0,60

Примітка. * — $P < 0,05$ — порівняно з контролем.

ності дозволяють припустити існування структурної обумовленості цього явища, можливо пов'язаної з певною модифікацією мембран при псоріазі і, зокрема, зі зміною їх білкового спектра.

Висновки

Проведений порівняльний аналіз спонтанного і метал-каталізованого окиснення білків за рівнем карбонільних похідних, ступеня виразності їхньої фрагментації, за результатами електрофоретичного розподілу білків еритроцитарних мембран та рівня АТФ в еритроцитах показав чіткі розходження між здоровими людьми і хворими на псоріаз. При псоріазі в організмі створюються умови, при яких відбувається підвищення окислювальної деструкції білків і ліпідів, що призводить до по-

рушення структури і функції клітинних мембран.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мавров І. І., Семко Г. А., Ермошенко Е. В. Изменения некоторых показателей системы соединительной ткани и внешних примембранных слоев клеток при гиперэпидермопозе // Эксперим. и клин. медицина. — 2002. — № 2. — С. 89-91.

2. Бутов Ю. С., Хрусталева Е. А., Федорова Е. Г. Уровень липидов и показатели клеточного иммунитета у больных псориазом // Рос. журнал кожных и вен. болезней. — 1999. — № 2. — С. 11-14.

3. Семко Г. А. Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев при гиперэпидермопозе // Укр. биохим. журнал. — 1998. — № 3. — С. 36-39.

4. Кожные и венерические болезни: Руководство. / Под ред. Ю. К. Скрипкина, В. Н. Морозова. — М., 1999. — Т. 1. — 880 с.

5. Барьерно-транспортные и структурные свойства мембран / И. И.

Мавров, М. С. Гончаренко, А. К. Кондакова, Г. А. Семко // Журн. дерматологии и венерологии. — 2002. — № 2 (16). — С. 15-20.

6. Меццишен И. Ф. Метод определения окислительной модификации белков плазмы (сыворотки) крови // Бук. мед. вісн. — 1998. — № 2. — С. 159-160.

7. Davies K. J. A., Delsignore M. E. Protein damage and degradation by oxygen radicals. III. Modification of secondary tertiary structure // J. Biol. Chem. — 1987. — Vol. 262. — P. 9908-9913.

8. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bakteriofage // Nature. — 1970. — Vol. 4, N 227. — P. 680-685.

9. Узарова Н. Н. Биоаналитические применения люциферазы светляков // Прикл. биохимия и микробиология. — 1993. — Т. 29, вып. 2. — С. 180-191.

10. Чернецкий Е. А., Воробей А. В. Структура и функция эритроцитарных мембран. — Минск: Наука и техника, 1981. — 215 с.

УДК 616.517:616.153.915]-085

Г. О. Семко

ОКИСНЮВАЛЬНА ДЕКТРУКЦІЯ БІЛКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ Й СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ

У сироватці крові хворих на псоріаз проведено порівняльний аналіз спонтанного і метал-каталізованого окиснювання білків за рівнем карбонільних похідних і ступенем фрагментації. Також проаналізовано білковий спектр мембран еритроцитів і рівень АТФ у хворих на псоріаз і здорових донорів. Обговорюється роль окиснювальної модифікації білків у порушенні структури й функції клітини при псоріатичному процесі.

Ключові слова: псоріаз, окиснювальна модифікація білків, білковий спектр, АТФ.

UDC 616.517:616.153.915]-085

G. O. Semko

OXIDATIVE DESTRUCTION OF BLOOD SERUM PROTEINS AND STRUCTURE AND FUNCTIONAL STATE OF ERYTHROCYTES IN PSORIASIS

We determined the oxidative modification of proteins (spontaneous and metal-catalysing oxidation) in patients with psoriasis. For detecting oxidative modification of serum proteins we measured the concentration of protein carbonyl groups and protein fragmentation. The protein spectrum of erythrocyte membrane and the level of ATP has been studied. We discussed the role of oxidative modification proteins in the disturbance of the structure and function of the cell in the psoriasis.

Key words: psoriasis, erythrocytes modification of proteins, protein spectrum, ATP.