УДК 616 – 008. 6 – 02: 616.5 – 036.12]- 074

МОЛЕКУЛЫ СРЕДНЕЙ МАССЫ КАК СУБСТРАТ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ТЯЖЕЛЫХ ДЕРМАТОЗАХ

Копытова Т.В.
ГУ Нижегородский научно-исследовательский кожно-венерологический институт

Изучен качественный и количественный состав молекул средней массы, выделенных из плазмы крови и патологического эпидермиса больных хроническими, тяжелыми дерматозами. В эксперименте in vitro на эритроцитах здоровых лиц установлено, что данные МСМ активируют перекисное окисление липидов, увеличивают сорбционную емкость эритроцитов и влияют на активность ферментов биотрансформации. Это позволяет считать, что при дерматозах развивается эндогенная интоксикация как общебиологическая реакция на патологически измененный метаболизм, обусловленная накоплением в крови молекул средней массы.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из ведущих патогенетических синдромов критических состояний является эндогенная интоксикация (ЭИ). Это сложный многокомпонентный процесс, обусловленный патологической биологической активностью каких-либо эндогенных продуктов или дисфункцией систем естественной детоксикации и биотрансформации. Современные представления связывают ЭИ с накоплением в тканях и биологических жидкостях организма избытка метаболитов нормального или патологического обмена веществ, продуктов жизнедеятельности бактерий, большой антигенной нагрузкой [3,5]. Среди факторов, вызывающих ЭИ, выделяют три основных компонента: микробиологический, биохимический и иммунологический [4], которые по приоритетности могут занимать разное положение и определяют характер метаболических нарушений при той или иной патологии. Многочисленными клиническими и экспериментальными исследованиями установлено, что состояние ЭИ возникает при самых различных заболеваниях и не имеет специфических признаков. Его основа – дисбаланс системы гомеостаза, в результате которого, в тяжелых случаях, формируется синдром полиорганной недостаточности.

В настоящее время развитие ЭИ связывается с приоритетной ролью в оценке токсичности внутренней среды организма молекул средней массы (МСМ) - класса соединений с молекулярной массой до 5000Д. МСМ подразделяются на две большие группы - вещества средней молекулярной массы (ВНСММ) и олигопептиды (ОП). ВНСММ или катаболический пул МСМ представляют собой небелковые производные различной природы: мочевина, креатинин, мочевая кислота, глюкоза, молочные и др. органические кислоты, аминокислоты, жирные кислоты, холестерин, фосфолипиды, продукты свободнорадикального окисления, промежуточного метаболизма, нуклеопротеидного обмена и др., накапливающиеся в организме в превышающих нормальные концентрациях. Основная часть МСМ – олигопептиды - представлена веществами пептидной природы, выполняющими регуляторные и нерегуляторные функции. Развитие ЭИ – результат дисбаланса между поступлением токсинов в кровь и их детоксикацией.

Рядом исследований показано, что затяжное течение и хронизация патологических состояний могут быть ассоциированы с накоплением в крови своевременно не элиминированных конечных и промежуточных продуктов обмена [3]. К таким состояниям можно отнести и хронические дерматозы, при которых клинические проявления ЭИ нечетко выражены по сравнению с острыми процессами (сепсис, травмы,ожоги и др.) и накопление в крови продуктов ЭИ не имеет лавинообразного характера [13]. Кроме этого, известно, что применение таких видов детоксикации как гельфильтрация, лимфосорбция и плазмаферез имело положительные результаты при лечении, например, тяжелых форм псориаза [2].

Целью настоящего исследования явилось изучение уровня и свойств МСМ в крови больных хроническими, тяжело протекающими дерматозами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследованы образцы крови от 70 больных тяжелыми дерматозами (псориаз, токсикодермии, эритродермии) и 30 практически здоровых лиц. Уровень МСМ с расчетом катаболического и анаболического пулов и определением количе-

ства олигопептидов определялся по методу М.Я.Малаховой [7], количество мочевой кислоты и мочевины определялось с помощью диагностических наборов на биохимическом анализаторе STATFAX, относительное содержание фракций фосфолипидов и нейтральных липидов выявлялось по результатам тонкослойной хроматографии, продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновые коньюгаты (ДК) эритроцитов – по методу [9], сорбционная емкость эритроцитов (СЕЭ) – по методу [12], активность глутатионтрансферазы плазмы и эритроцитов по методу [7].

Статическую обработку результатов проводили с использованием пакета статических программ Microsoft Excel 98 и Biostat для Windows 95. Сравнение показателей основной группы и группы контроля проводили с использованием параметрических методов, достоверность различий определяли по непарному t – критерию Стьюдента, статистически значимым считали значение $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что содержание МСМ в плазме крови больных составило 18,7 ± 0,69 у.е, а в эритроцитах 27,0 ± 0,26 у.е., что достоверно выше показателей контрольной группы (см. табл.1). Относительное содержание катаболических продуктов в МСМ плазмы составило 25,4 ± 1,16 % от общего числа МСМ, что также значительно превышало значение в группе относительно здоровых лиц (17,6 ± 1,2%). В эритроцитах этот показатель оставался в пределах нормы. При изучении качественного состава МСМ плазмы крови было определено наличие в нем таких низкомолекулярных веществ, как мочевина, мочевая кислота, фосфо- и нейтральные липиды, содержание которых у больных дерматозами достоверно отличалось от контрольной группы. Согласно уже известным данным дисбаланс в уровне фосфолипидов [8], продуктов пуринового [11] и белкового обмена [2] характеризует метаболические нарушения при развитии и прогрессировании дерматозов. Пептидная составляющая МСМ представлена олигопептидами. Их содержание в МСМ из плазмы крови больных дерматозами составило 34,0 ± 2,5 г/л против 18,7 ± 1,14 г/л в контроле, что может свидетельствовать об активизации при дерматозах процессов патологического протеолиза. Продуктами протеолитических реакций в данном случае являются такие регуляторные пептиды как гистамин и серотонин, отвечающие за зуд и покраснение кожи.

Таблица 1. Показатели эндоинтоксикации в крови больных хроническими, тяжелыми дерматозами (M±m)

Группы Показатели	Субстрат	Контроль	Больные дерматозами	P
∑МСМ (усл.ед)	плазма эритроциты	10,03 ± 0,25 19,26 ± 0,46	18,7 ± 0,69 27,0 ± 0,26	<0,01 <0,01
Катаболический пул МСМ (%)	плазма эритроциты	17,6 ± 1,2 37,7 ± 0,45	25,4 ± 1,16 38,3 ± 0,99	<0,01 >0,05
Олигопептиды в составе МСМ (мг/л)	плазма эритроциты	18,7 ± 1,14 23,8 ± 1,5	34,0 ± 2,5 28,3 ± 1,9	< 0,01 > 0,05
Мочевина (ммоль/л)	В МСМ	0,45 ± 0,028	1,51 ± 0,95	< 0,01
Мочевая кислота (ммоль/л)	В МСМ	0,20 ± 0,01	0,26± 0,022	< 0,05
Фосфолипиды (%)	В МСМ	23,3 ± 1,5	18,0 ± 0,65	<0,02
Глицеролипиды (%)	В МСМ	26,17± 0,86	34,26± 0,83	<0,01
Общий холестерин (%)	В МСМ	36,8 ± 0,8	35,5 ± 0,45	>0,05
Неэтерифицированные жирные кислоты (%)	В МСМ	12,2 ± 0,5	12,36 ± 0,55	>0,05
Сорбционная емкость (%)	эритроциты	48,8 ± 2,15	56,2 ± 2,1	< 0,05
Диеновые коньюгаты (мкмоль/л)	эритроциты	3,25 ± 0,18	7,98 ± 0,78	< 0,01
Глутатионтрансфераза ммоль/мин л; ммоль/мин гНв	 Плазма Эритроциты	 10,35±0,47 3,56 ± 0,18	 6,78±0,95 2,67±0,39	 < 0,05 >0,05

Примечание: Показатели фосфолипидов, глицеролипидов, общего холестерина, неэтерифицированных жирных кислот даны в % от общего количества липидов; p – достоверность различий с контролем.

МСМ были обнаружены нами и в составе патологически измененного эпидермиса от больных дерматозами. Это, прежде всего, эпидермальные чешуйки при псориазе, пузырная жидкость при эритродермиях и пузырных дерматозах. Здесь в составе катаболического пула преобладали продукты нуклеопротеидного обмена, что закономерно объясняется активным разрушением эпителиальных клеток при дерматозах.

Таким образом, в крови и патологическом эпидермисе больных дерматозами обнаружены МСМ, которые могут обуславливать развитие эндотоксемии.

С общебиологических позиций представлялось интересным исследовать патологические свойства МСМ от дерматологических больных. Согласно общепринятым представлениям состояние эндоинтоксикации характеризуется, как правило, активацией ПОЛ [6], нарушениями в работе системы биотрансформации [5], дисфункцией транспортных систем детоксикации [11].

Нами были исследованы сорбционная емкость (СЕЭ), перекисное окисление липидов и активность фермента биотрансформации – глутатион-трансферазы (ГТФ) мембран эритроцитов. С этой целью МСМ, выделенные из плазмы крови или патологического эпидермиса добавлялись к суспензии, отмытых физиологическим раствором, эритроцитов и плазме крови здоровых лиц. После инкубации клеток с патологическими МСМ в течение 60 минут «нагруженные» эритроциты исследовались на содержание продуктов ПОЛ, активность ГТФ и интенсивность СЕЭ. Данные эксперимента представлены в таблице 2.

Таблица 2. Показатели сорбционной емкости эритроцитов (СЕЭ), перекисного окисления липидов (диеновые коньюгаты - ДК) и активности глутатион-трансферазы (ГТФ) до и после инкубации МСМ с эритроцитами здоровых лиц ((M±m)

Показатели	до инкубации с МСМ	после инкубации с МСМ	P
СЕЭ (%) n = 26	45,95 ± 5,15	56,7 ± 5,34	>0,05
ДК (мкмоль/л) n = 16	3,34±0,12	4,30±0,3	<0,05
ГТФ n = 25			
Эритроциты(ммоль/мингНв)	3,56 ± 0,18	3,19 ± 0,13	>0,05
Плазма (ммоль/мин л)	8,79 ± 0,96	6,85 ± 0,79	>0,05

Примечание: p – достоверность различий показателей до и после инкубации эритроцитов с МСМ.

Изучение сорбционной емкости мембран эритроцитов было проведено на эритроцитах от 26 практически здоровых лиц. Среднее значение СЕЭ в этой группе составило 45,95 ± 5,15%. После добавления МСМ в 70,0% случаев наблюдалось закономерное повышение СЕЭ в среднем на 46,8%. Перераспределение токсической нагрузки между плазмой и эритроцитами крови является необходимой составной частью естественной детоксикации организма [3,5]. Эндотоксины связываются с трансмембранным белком эритроцитов – гликофорином, и в таком виде транспортируются к органам детоксикации. Поэтому компенсаторное увеличение СЭЕ в ответ на накопление в плазме крови эндотоксинов является нормальным физиологическим ответом и способствует детоксикации

Средний уровень ДК в 16 образцах эритроцитов здоровых лиц составил 3,34 ± 0,12 мкмоль/л. После инкубации эритроцитов с патологическими МСМ уровень ДК в них достоверно (p <0,05) повысился и составил 4,30 ± 0,3 мкмоль/л. Повышение составило в среднем 56,0 % и имело место в 71,0% случаев. То есть, МСМ, выделенные из плазмы крови и патологического эпидермиса, от больных дерматозами обладают свойством активировать процессы ПОЛ в мембранах эритроцитов здоровых лиц. Таким образом, они выступают как фактор усугубления процессов ЭИ. Подобные эффекты были описаны ранее, например, для термических травм [10]. МСМ, выделенные из плазмы крови ожоговых больных обладали выраженным мембранотоксическим действием.

Активность ГТФ, определенная у 25 здоровых лиц, в эритроцитах составила 3,56 ± 0,18 ммоль/мин гНв, а в плазме - 8,79 ± 0,96 ммоль/мин л. В 56,2% опытов наблюдалась тенденция к снижению активности фермента после инкубации эритроцитов с МСМ и добавления МСМ к плазме крови, в среднем, на 25,0%. Это снижение оказалось более выраженным в плазме крови.

Полученные нами данные нашли подтверждение в других экспериментальных исследованиях [1]. Авторы установили снижение активности ГТФ при действии активных форм кислорода и токсических веществ (ароматических дисульфидов) на эритроциты крыс. Это снижение происходит за счет образования дисульфидных связей в молекуле фермента между Cys47 и Cys101 с образованием димера ГТФ. Аналогичная си-

туация имеет место при действии перекиси водорода на микросомальную ГТФ [1]. То есть, предполагается, что токсины воздействуют непосредственно на фермент, тем самым его инактивируя, что, в свою очередь, приводит к нарушениям процессов биотрансформации.

20 образцов суспензий эритроцитов были получены от больных, прошедших курс лечения энтеросорбентами. В них была определена СЕЭ, которая составила 49,3 ± 2,8%. После добавления МСМ сорбционная емкость мембран эритроцитов увеличилась до 66,6 ± 3,9%, достоверность различий <0,05. Подобная динамика изучаемого показателя имела место в 75,0% опытов. То есть, энтеросорбенты способствуют своеобразной очистке клеточных поверхностей, что значительно улучшает естественные физиологические функции клеток.

Различий в эффектах МСМ, выделенных из плазмы крови и патологического эпидермиса в проведенных исследованиях обнаружено не было.

Таким образом, полученные данные и выявленные в эксперименте in vitro на эритроцитах крови эффекты влияния патологических МСМ на метаболические процессы, сопровождающие развитее ЭИ в организме, позволяют заключить:

- при дерматозах имеет место развитие эндогенной интоксикации с накоплением в крови продуктов нарушенного метаболизма, выявляемых в составе молекул средней массы;

- основной субстрат ЭИ - молекулы средней массы, выделенные из плазмы крови и патологического эпидермиса больных дерматозами, активируют процессы перекисного окисления липидов, повышают сорбционную емкость эритроцитов и оказывают влияние на активность процессов биотрансформации эндотоксинов;

- использование в комплексной терапии детоксицирующих препаратов (энтеросорбенты) оказывает эффект “биохимической санации” и восстанавливает физиологические функции клеток по биотранспорту эндотоксинов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дадали В.А., Смертина М.Н. //Вопр.биол.и мед.химии. 2002. № 2. С. 21.

2. Довжанский С.И., Утц С.Р. Псориаз или псориатическая болезнь Саратов: Саратовский гос. университет, 1992. - 174 с.

3. Карякина Е.В., Белова С.В. //Клин. лаб. диагн. 2004. №3. С. 3.

4. Макарова Н.П., Коничева И.Н. Синдром эндогенной интоксикации при сепсисе //Анестезиол. и реаниматол.1995. № 6. С. 4.

5. Малахова М. Я. //Эффер. терапия. 2000. N4. С. 3.

6. МарусановВ.Е., Михайлович В.А., Деманчская И.А., Гуло С.Л. //Эффер. терапия. 1995. № 2. С. 26.

7. Медицинские лабораторные технологии. Справочник /под. ред. А.И. Карпищенко, Т.2.- С.Петербург, 2002. 400с

8. Прохоренков В.И., Вандышева Т.М. //Вестн. дерматол. 2002. №3. С. 17.

9. Современные методы в биохимии /под ред. Ореховича В.А.- М.Медицина, 1977. 280с

10. Рябинин В.Е., Палимов А.Г., Лифшиц Р.И. //Вопр.биол.и мед.химии. 1988. №.6. С. 60.

11. Тихонов Ю.В., Маркушева Л.И., Тогузов Р.Т. //Клинич. лаб. диагностика.1997.№.6. С.47.

12. Тойгабаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В., Кирибжанова Р.И. //Лаб.дело. 1988. №. 9. С. 22.

13. Химкина Л. Н., Добротина Н.А., Копытова Т.В. //Вестн. дермат. и венерол. 2001. N5. С. 32.

MEAN MASS MOLECULES AS SUBSTRATE OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN PATIENTS WITH STRONG DERMATHOSES

Kopytova T.V.

State institution, Nizhny Novgorod scientific research dermatovenerologic institute

Quantitative as well qualitative characteristics of mean mass molecules given from a blood and pathological epidermis of patients with strong dermathoses have been studied. “In vitro” experiments have demonstrated what mean mass molecules of patients with strong dermathoses intensified a lipid peroxidation, increased erythrocyte membrane sorbtion and affected a biotransformation enzymes of healthy person erythrocytes. Thus, these data suppose that the endogenous intoxication in the patients with strong dermathoses is the general biological reaction on pathologically changed metabolism causes by accumulation of mean mass molecules in blood.