



УДК 616.895.8-07:616:155.1-003.8+612.112

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОЦИТІВ, ВМІСТ ЛІГАНДНИХ ФОРМ ГЕМОГЛОБІНУ І МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ У КРОВІ ЛЮДЕЙ, ХВОРИХ НА ШИЗОФРЕНІЮ

*К. П. Дудок¹, І. Й. Влох², Р. О. Влох³, Т. Г. Дудок³,
А. М. Федорович¹, Н. В. Ільчишин¹, А. В. Шкаволяк², Н. О. Сибірна¹*

*¹Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

*²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна*

³Інститут фізичної оптики МОН України, вул. Драгоманова, 23, Львів 79005, Україна

Проведено порівняльне дослідження стабільності структури мембран еритроцитів, вмісту молекул середньої маси у плазмі крові (МСМ), співвідношення лігандних форм гемоглобіну, параметрів спектра поглинання лігандо-специфічних комплексів гемоглобіну людей, хворих на параноїдну форму шизофренії, людей із деякими ознаками цієї хвороби, осіб із психічними розладами, пов'язаними з алкогольною залежністю, та здорових донорів. Показано, що еритроцити хворих на шизофренію проявляють неоднакову стійкість до кислотного гемолізу. Виявлено зміни у співвідношенні лігандних форм гемоглобіну у хворих на параноїдну форму шизофренії, зокрема, зростання сульф- і метформи гемоглобіну та молекул середньої маси у плазмі крові цих хворих. Запропоновано схему дослідження конформаційних станів гемоглобіну хворих на параноїдну форму шизофренії із застосуванням методу зондової спектроскопії.

Ключові слова: еритроцити, гемоглобін, лігандні форми, конформація, шизофренія, спектри поглинання, молекули середньої маси.

ВСТУП

Відомо, що патогенез шизофренії пов'язаний із порушеннями багатьох ланок обміну речовин, зокрема, загального білкового й енергетичного обміну, змінами вмісту гормонів і накопичення їхніх попередників, окисним стресом, а також змінами активності антиоксидантної системи і гіпоксичним станом, які є наслідками зміни системи транспорту Оксигену [3, 5, 12, 15, 20]. На сьогоднішній день у літературі міститься обмежена інформація стосовно порушень фізико-хімічних характеристик і структурно-функціонального стану гемоглобіну – основного компонента системи транспорту Оксигену. Передусім це стосується ступеня забезпечення Оксигеном органів

і тканин хворих на шизофренію, як до лікування, так і у процесі одужання. Вирішеня цієї проблеми є важливим як для біології взагалі, так і для медицини зокрема.

З огляду на істотну функціональну роль еритроцитів у цих процесах і в силу того, що стан еритроцитів може бути відображенням порушення метаболізму в різних органах і тканинах, ці клітини було використано при вивченні цілого ряду таких захворювань, як склероз, гіпертензія, псоріаз, шизофренія, променева хвороба, алкоголізм [19, 23, 25, 28, 29, 32].

Відомо, що структурно-функціональний стан біологічних мембран є одним із найважливіших чинників у підтримці та регуляції і біохімічних, і фізіологічних процесів у клітині. Виходячи з подібності будови плазматичних мембран клітин різних органів і тканин, можна вважати, що процеси, які відбуваються у мембрані еритроцитів, аналогічні процесам у мембранах інших типів клітин, зокрема нейронів. Зміни у структурі мембрани нейрона відіграють ключову роль у порушенні нейрохімічної передачі, розвитку тієї чи іншої патології [4, 15, 20, 24].

У літературі є дані щодо морфологічного стану еритроцитів у крові хворих пацієнтів, згідно з якими різні за етіологією захворювання (алкоголізм, променева хвороба, діабет та ін.) супроводжуються вираженими конформаційними зрушеннями структурно-функціональної організації мембрани еритроцитів периферичної крові. Виявлені зміни пов'язують із порушеннями в системі ПОЛ [8, 15, 22, 23, 25].

У крові хворих із психічними розладами виявлено зростання кількості еритроцитів видозміненої форми і розмірів. Вважають, що еритроцити такої форми з'являються у крові людей, які генетично схильні до шизофренії, а роль генетичних факторів у етіології шизофренії є досить обґрунтованою [6, 7]. Відомо, що введення мишам, собакам і мавпам сироватки крові людей, хворих на шизофренію, супроводжується токсичною дією. Крім того, встановлено підвищену бактерицидну активність сироватки крові таких пацієнтів [2, 20]. Тому комплексне дослідження структурно-функціонального стану еритроцита і його основного білкового компонента – гемоглобіну, з'ясування змін у системі *плазма крові – еритроцит – гемоглобін* при захворюванні на шизофренію можуть бути використані для ранньої діагностики цього захворювання та його лікування.

Метою даної роботи було провести порівняльне дослідження стабільності мембран еритроцитів здорових людей і хворих на шизофренію, визначити вміст п'яти лігандних форм гемоглобіну у крові здорових людей та пацієнтів із психічними розладами, визначити вміст молекул середньої маси у плазмі крові хворих на шизофренію, а також порівняти конформаційний стан гемоглобіну хворих пацієнтів і здорових людей.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідженні використано венозну кров людей, хворих на параноїдну форму шизофренії, пацієнтів із розладами психіки внаслідок алкоголізму, з клінічними проявами шизофренії разом зі супутнім захворюванням. Усі хворі перебували на стаціонарному лікуванні у Львівській обласній психіатричній лікарні. Вік хворих – 25–45 років. Переважна більшість із них були особами жіночої статі. Для порівняння використовували кров клінічно здорових осіб.

Варіанти дослідів:

0 група – контроль – здорові донори (n = 11);

І група – хворі на параноїдну шизофренію:

підгрупа 1 (n = 17); підгрупа 2 (n = 8); підгрупа 3 (n = 7);

- II група – близькі родичі хворих (n = 5);
 III група – хворі зі симптомами параноїдної шизофренії та супутніми захворюваннями (n = 21);
 IV група – пацієнти з розладами психіки, зумовленими вживанням алкоголю (II стадія захворювання на алкоголізм) (n = 5).

Для дослідження використовували гепаринізовану кров, взятую з ліктьової вени загальноприйнятим методом. Еритроцитарну масу відділяли від плазми центрифугуванням при 500 g. Еритроцити відмивали від білків плазми крові ізотонічним розчином NaCl (0,15 M). Процедуру відмивання клітин повторювали п'ять разів. Гемоглобін виділяли за методикою Драбкіна [31], а його концентрацію визначали за методом Кушаковського [17]. Для вивчення стабільності мембран еритроцитів використовували метод хімічних (кислотних) еритрограм, запропонований Терсковим і Гітельзоном [27]. Аналіз гемолітичних еритрограм проводили за такими параметрами: час максимального гемолізу (хв); відсоток гемолізованих еритроцитів у момент максимального гемолізу (% max); тривалість тотального гемолізу (хв). Вміст молекул середньої маси (МСМ) у плазмі крові визначали за методикою, описаною Николаичик та ін. [21].

Для визначення вмісту п'яти лігандних форм гемоглобіну (RHb – дезокси-, HbO₂ – окси-, HbCO – карбокси-, SHb – сульф- і MetHb – метгемоглобіну) використовували гемолізати свіжовзятої цільної крові. Гемоліз проводили 3 мМ K⁺, Na⁺-фосфатним буфером, рН 7,36. Оптичну густину гемолізатів визначали на спектрофотометрі Specord M-40 (Німеччина) при довжинах хвилі 554,8; 577,4; 569,5; 620,3 і 500,0 нм. У застосованій методиці використовували відносні (зведені) коефіцієнти поглинання Π_{ij} , вираховані зі „зведених спектрів поглинання”, де *i* – кількість компонент у розчині; *j* – кількість аналітичних довжин хвиль. Для визначення відносних коефіцієнтів поглинання попарно записували спектри поглинання двох різних лігандних форм гемоглобіну постійної концентрації. Останню умову було досягнуто шляхом переведення однієї лігандної форми в іншу. Відносну концентрацію компонент визначали, використовуючи показники оберненої матриці $[\Pi_{ij}]^{-1}$, розрахованих із матриці $[\Pi_{ij}]$ зведених коефіцієнтів поглинання Π_{ij} [34].

Обернена матриця відносних коефіцієнтів поглинання

RHb	3,409	-0,770	-1,925	-0,442	0,108	D_1	554,8
HbO ₂	-0,148	2,062	-1,535	0,190	-0,215	D_2	577,4
COHb	-2,442	-0,750	3,528	0,396	-0,797	D_3	569,5
SHb	-0,675	0,828	-0,425	1,988	-0,778	D_4	620,3
MetHb	-0,295	-0,567	-0,525	-0,859	2,178	D_5	500,0

Примітка: D_1, D_2, D_3, D_4, D_5 – поглинання гемолізату при вказаних довжинах хвиль (стовпчик).

Концентрацію $[C_i]$ кожної лігандної форми гемоглобіну обчислювали перемноженням значень лінійки оберненої матриці на величини оптичних густин $[D_j]$ (стовпчик) за формулою:

$$[C_j]' = [\Pi_{ij}]^{-1} [D_j], (i, j = 1..5), \%C_i = 100 C_i / \sum_i C_i'$$

Конформаційний стан гемоглобіну вивчали методом зондової спектрофотометрії. Як зонд використано органічний барвник Coomassie G-250, Fluka (Швейцарія), що має у своїй структурі хромофори бензоїдної та хіноїдної природи, а також активні групи (сульфгідрильні й аміногрупи), здатні зв'язуватися з відповідними групами

на поверхні білкової молекули, утворюючи стабільні забарвлені комплекси. Зразки для аналізів готували за прописом: до 2 мл розчину ціанметгемоглобіну (CNMetHb, 50 мкМ) додавали 2 мл водного розчину Coomassie G-250 (50 мкМ). Через 10 хв реєстрували спектри поглинання на спектрофотометрі Specord M-40 у діапазоні довжин хвиль 450–750 нм.

Результати обробляли статистично з використанням критерію Стьюдента. Вірогідною вважалася різниця при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз одержаних результатів свідчить про те, що еритроцити крові 32-х пацієнтів, хворих на параноїдну форму шизофренії (група I), проявляють неоднакову реакцію на дію кислотного гемолітика (рис. 1, табл. 1). Враховуючи час, протягом якого відбувся повний (тотальний) гемоліз еритроцитів, час, протягом якого розпалася максимальна кількість еритроцитів у відсотках, у цій групі було виділено три підгрупи хворих. У 17-ти обстежених хворих (група I, підгрупа 1) швидкість тотального гемолізу еритроцитів була найвищою. Час, протягом якого відбувався гемоліз максимальної кількості еритроцитів (23,98%) цієї підгрупи хворих, був найкоротшим порівняно з іншими варіантами цієї групи. У семи хворих (підгрупа 3) гемоліз еритроцитів був тривалішим (10, 12 хв) (табл. 1).

Виявлені нами відмінності щодо різної стійкості до дії гемолітика еритроцитів крові хворих на шизофренію можна пояснити, виходячи з властивостей структури мембрани еритроцита, тривалості функціонування цієї клітини, змінами відповідних метаболічних процесів у них, впливом ендогенних та екзогенних факторів. Структура

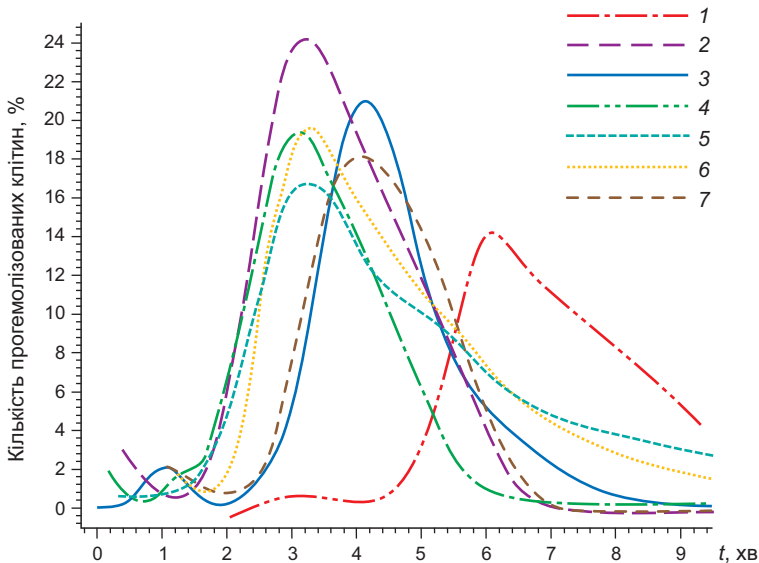


Рис. 1. Усереднені кислотні еритрограми еритроцитів досліджуваної крові окремих груп людей: 1 – контроль – група 0; 2, 3, 4 – група I (відповідно: підгрупи 1, 2, 3); 5 – група II; 6 – група III; 7 – група IV (див. Матеріали і методи)

Fig. 1. Average acid erythrograms of red blood cells in various groups of people: 1 – control – group 0; 2, 3, 4 – group I (subgroups 1, 2, 3); 5 – group II; 6 – group III; 7 – group IV (see: Materials and Methods)

мембран і функціональний стан еритроцита може реалізуватися через процеси фосфорилування мембранних білків, зв'язування кальцію та магнію зі спектрином, що, у свою чергу, визначає форму клітин і їхню здатність до деформації [4].

Одним із чинників, що викликають патологічні зміни у мембрані, є інтенсифікація процесів ПОЛ. Існують дані, які свідчать про виражене посилення ПОЛ у хворих на шизофренію [14]. Автори спостерігали збільшення вмісту продуктів ПОЛ у крові і пентану (один із продуктів цих реакцій) у видихуваному повітрі [13]. Ступінь активації процесів ПОЛ визначається станом антиоксидантної системи (АОС). Остання вважається найбільш потужною у захисних процесах, які запобігають розвиткові вільнорадикальних реакцій, накопиченню супероксид-аніонів і пероксидів. На користь цього свідчать праці, у яких вказано, що у хворих на соматичні депресивні розлади мають місце різноспрямовані зміни активності ферментів АОС, які полягають у помірному зростанні активності каталази і вираженій тенденції до зниження активності супероксиддисмутази [5, 8, 10, 12, 22]. На цій підставі можна зробити висновок, що інтенсивність гемолізу еритроцитів визначається метаболітами ПОЛ і станом антиоксидантної системи.

Таблиця 1. Параметри еритрограм крові здорових донорів, пацієнтів, хворих на параноїдну форму шизофренії, та пацієнтів із розладами психіки внаслідок хронічного алкоголізму (M±m)

Table 1. Parameters of erythrograms of blood of healthy and patients with paranoid form of schizophrenia, their relatives, and patients with alcoholic psychoses (M±m)

Варіанти дослідів	n	Максимальний гемоліз, хв	Тотальний гемоліз, хв	Максимальний гемоліз, %
Контроль (0)	11	3,10±0,10	7,40±0,20	19,48±1,45
Група I. Параноїдна форма шизофренії:	32			
підгрупа 1	17	3,18±0,10	7,13±0,30	*23,98±1,50
підгрупа 2	8	*4,11±0,10	*9,19±0,50	20,98±2,50
підгрупа 3	7	*6,05±0,30	*10,12±0,40	*14,42±0,70
Група II. Родичі хворих	5	3,33±0,14	*11,16±0,67	*16,80±1,30
**Група III. Інші захворювання та ознаки шизофренії	24	3,25±0,89	*9,50±0,70	19,60±0,80
Група IV. Розлади психіки внаслідок вживання алкоголю	5	*4,02±0,50	7,28±0,45	*17,95±0,80

* – різниця щодо контролю вірогідна $p < 0,05$

** – інші захворювання, де одночасно ідентифіковано ознаки шизофренії

Ще одним важливим чинником, з яким пов'язують стабільність мембран еритроцитів, вважається гіпоксія. Проведені дослідження свідчать, що гіпоксія різної етіології (цукровий діабет, променеве ураження, алкогольна інтоксикація) призводить до порушення динамічного стану еритрону. У відповідь на дефіцит Оксигену у щурів відбувається вихід у кров'яне русло ретикулоцитів, молодих форм еритроцитів, які мають підвищену кислотну резистентність [18, 28, 29, 32].

Окремі компоненти плазми крові можуть суттєво впливати на структурно-функціональні властивості мембран еритроцитів. Складовими цієї фракції сироватки (плазми) можуть бути МСМ [9]. Слід зазначити, що сироватка крові хворих на шизофренію проявляє мембранотропну дію [2]. На моделі культури клітин ембріональної

тканини мозку людини вивчали вплив окремих фракцій сироватки крові хворих на шизофренію на стабільність мембрани цих клітин. Сироватку крові розділяли методом гелі-фільтрації. У досліджах використовували низькомолекулярну і високомолекулярну фракції. Показано, що в обох фракціях наявні фактори, які дестабілізують мембрани клітин тканини мозку. Більш ефективною тут є низькомолекулярна фракція сироватки крові хворих [2].

Виявлено підвищення активності лейкоцитарної еластази (ЛЕ) у сироватці крові пацієнтів із гострим нападом та із повільно перебігаючою шизофренією. Автори цього дослідження припускають, що висока активність ЛЕ у сироватці крові хворих спричинює пошкодження і дисфункцію клітин ендотелію, а також вихід білків мозкової тканини у загальний кровотік [1, 30].

Ми провели порівняльне дослідження вмісту МСМ у плазмі досліджуваних зразків крові. Одержані результати (табл. 2) свідчать про достовірне зростання вмісту МСМ у плазмі крові хворих людей.

Таблиця 2. Вміст молекул середньої маси (МСМ) у плазмі крові здорових донорів та хворих на шизофренію (M±m)

Table 2. Content of molecules of middle mass (g/l of blood plasma) in healthy people and in schizophrenia patients (M±m)

№/№	Варіанти	Вміст МСМ, (г/л),
1	Контроль (група 0) (n = 6)	1,39±0,14
2	Хворі на шизофренію (група I) (n = 17)	*1,96±0,10
3	Родичі хворих (група II) (n = 5)	1,55±0,13
4	Пацієнти з іншими захворюваннями, у яких одночасно ідентифіковано ознаки шизофренії (група III) (n = 5)	*1,82±0,10
5	Пацієнти з розладами психіки, викликаними алкоголізмом (група IV) (n = 8)	*1,89±0,30

*Різниця вірогідна p < 0,05.

Шляхи утворення МСМ та їх склад можуть бути дуже різноманітними. Це – неоднорідна за хімічною структурою та біологічною дією група речовин з молекулярною масою від 300 до 5 000 Да, які мають максимум оптичного поглинання при довжині хвилі 280 нм і 254 нм. У цю групу включено такі регуляторні пептиди, як ангіотензини, тахікініни, гастроінтестинальні пептиди, так звані імуноактивні пептиди, фрагменти нуклеїнових кислот тощо [9, 21]. Причиною підвищеного вмісту МСМ може бути скорочення тривалості життя окремих білків плазми крові та прискорення їх протеолізу. Руйнування білкових молекул призводить до зростання вмісту азотвмісних сполук, а також інших метаболітів (фенольної та індольної природи), які нагромаджуються в печінці у вигляді колоїдних білкових комплексів і з якими може бути пов'язаний обмін серотоніну та дофаміну [1, 2, 6, 12, 22, 26].

Підвищений вміст токсичних метаболітів у плазмі крові, серед яких є МСМ [2, 9], з одного боку, може сприяти посиленому розпадові еритроцитів, появи гемоглобіну і білірубину у плазмі крові, а, з іншого – виходові у кров'яне русло молодих форм еритроцитів, які мають підвищену стійкість до гемолізу, що й було продемонстровано у нашій роботі (табл. 1).

Морфологічні зміни мембран еритроцитів також можуть бути викликані модифікацією структури гемоглобіну. Прикладом тут є серповидно-клітинна анемія. За даними літератури [3], з мембраною еритроцита зв'язано близько 7–10% гемоглобіну,

який, беручи участь у формуванні мембрано-цитоплазматичного комплексу, впливає на конформацію спектрину – основного білка цитоплазматичної поверхні мембрани еритроцита. У свою чергу, модифікація структури компонентів еритроцитарних мембран є причиною їхньої функціональної дестабілізації, з якою пов'язана система транспорту іонів (Cl^- , H^+) і газів (O_2 , CO_2). У такому випадку, реальними є порушення процесів зв'язування та віддачі гемоглобіном Оксигену, а також співвідношення вмісту окремих лігандних форм гемоглобіну і його конформації [8, 10, 12, 14].

Дослідження динаміки вмісту п'яти лігандних форм гемоглобіну (HbO_2 , RHb, HbCO, SHb, MetHb) свідчать, що вміст оксигемоглобіну у хворих знижується (табл. 3). Одночасно вміст SHb у хворих зростає у 8,75 разу, а вміст MetHb – у 4,6 разу порівняно з контролем. У родичів хворих вміст SHb залишається у межах норми, тоді як вміст MetHb у них вищий, ніж у контролі, майже у 2,5 рази, але нижчий, ніж у хворих із діагнозом параноїдна шизофренія.

Таблиця 3. Вміст лігандних форм гемоглобіну у гемолізатах цільної крові здорових людей і хворих на параноїдну форму шизофренії (%) ($M \pm m$)

Table 3. Content of ligand forms of haemoglobin in blood of healthy people and patients with the paranoid form of schizophrenia (%) ($M \pm m$)

Варіанти	Лігандні форми гемоглобіну				
	RHb	HbO ₂	HbCO	SHb	MetHb
Контроль (донори) (n = 11)	0,10±0,05	96,50±1,50	2,50±0,80	0,20±0,10	0,80±0,20
Параноїдна форма шизофренії (n = 13)	0,34±0,15	*91,70±0,58	2,54±0,31	*1,75±0,5	**3,66±0,41
Родичі хворих (n = 5)	0,10±0,05	95,20±0,61	2,80±0,71	0,20±0,17	1,50±0,52

* – різниця вірогідна, $p < 0,05$

** – різниця вірогідна, $p < 0,01$

Може бути кілька підстав для посиленого утворення MetHb в еритроцитах хворих, наприклад, генерація супероксидного аніон-радикала (O_2^-). При взаємодії гемоглобіну з O_2 залізо перебуває у низькоспіновому стані та проявляє щодо Оксигену іоно-радикальний характер [36]. Конформаційні порушення в оточенні гему, зміна його гідрофобності, поява аніонів у цьому просторі призводить до відщеплення Оксигену у формі супероксидного аніона і переходу $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$. Процес окиснення заліза гему гемоглобіну пришвидшується при надходженні в організм гемолітичних отрут, ряду лікарських препаратів [10]. Іншою причиною зростання вмісту метгемоглобіну є активність метгемоглобінредуктаз – цитоплазматичної та мембранозв'язаної. Структурна модифікація еритроцитарних мембран призводить до зниження активності як мембранозв'язаної NADH-залежної метгемоглобінредуктази, так і, опосередковано, цитоплазматичних її форм [4, 10]. Отже, утворення MetHb при ендогенній інтоксикації призводить до того, що частина гемоглобіну усувається від транспорту Оксигену. Крім того, різко інтенсифікуються процеси ПОЛ у клітинах. Усе це призводить до розвитку вторинної тканинної гіпоксії. Відносне збільшення кількості MetHb у досліджуваній крові може свідчити про активацію процесів, що призводять до окиснення заліза гему.

Виявлені нами зміни у співвідношенні мінорних лігандних форм гемоглобіну можуть бути результатом модифікації глобінового компонента, а також порушення зв'язку гему з глобіном унаслідок зміни конформаційного стану молекули цього гемопротейну [36]. Зміна конформації гемоглобіну через окиснення атомів заліза

гему однієї чи двох субодиниць цього білка призводить до зміни спорідненості гемоглобіну до кисню цільної молекули (погіршення віддачі O_2). Порушення просторової організації гемоглобіну сприяє деструкції молекули, вивільнення глобіну і гему. Гем є активним прооксидантом і може викликати порушення рівноваги антиоксидант \leftrightarrow прооксидант [11, 35].

Функціональні властивості гемоглобіну визначаються чинниками прямої й опосередкованої дії [11]. Прямий вплив здійснюють хімічні речовини, які, взаємодіючи з гемоглобіном, змінюють його конформацію. Це – так звані ліганди (Оксиген, Гідроген, карбон оксид, органічні та неорганічні іони). Опосередкований вплив реалізується хімічними сполуками чи фізичними факторами, здатними змінювати характер взаємодії цього білка з лігандами через зміну парціального тиску O_2 , рН-середовища, CO_2 , зростання чи зниження вмісту 2,3-дифосфогліцерату, інших метаболітів [3, 32].

Ми провели порівняльний аналіз спектрів поглинання CNMetHb, Coomassi G-250 та комплексів CNMetHb з Coomassi G-250 хворих пацієнтів і здорових донорів. Результати аналізу представлено на рис. 2 і табл. 4.

Таблиця 4. Характеристичні параметри електронних спектрів лігандних форм гемоглобіну крові здорових людей (контроль) і крові хворих на параноїдну форму шизофренії (λ , нм; $M \pm m$)

Table 4. Characteristic maxima in spectra of absorption of complexes of haemoglobin in healthy donors and patient, with schizophrenia (λ , нм; $M \pm m$)

№ п/п	Варіанти досліджу	Максимум смуги поглинання, λ , нм	Відносне зміщення максимумів смуг поглинання, λ , нм:		
			щодо смуги CNMetHb	щодо смуги Coomassi G-250	щодо контрольної проби
1	Coomassi G-250	583,4	+40	–	–
2	*CNMetHb	543,4	–	-40	0
3	*HbO ₂	541,7 – (β)	-1,7	-41,7	0
		576,6 – (α)	+33,2	-6,8	0
Комплекси: CNMetHb - Coomassi G-250					
4	Контроль CNMetHb – Coomassi G-250, (n=10)	568,1 \pm 6,0	+24,7	-15,3	–
5	Параноїдна форма шизофренії CNMetHb – Coomassi G-250, (n=13)	555,8 \pm 2,13	+12,4	-27,6	-12,3

Примітка: *– спектри поглинання гемоглобіну здорових і хворих пацієнтів не відрізнялись.

Характеристичні смуги і максимуми спектрів поглинання CNMetHb та HbO₂ крові здорових донорів та хворих пацієнтів не відрізняються між собою (табл. 4). Максимум смуги спектра поглинання комплексів CNMetHb – Coomassi G-250 дослідних варіантів зміщений щодо контрольних на 12,3 нм у напрямку короткохвильової ділянки спектра (рис. 2, табл. 4).

Зміщення смуг спектрів поглинання свідчить про кількість утвореного комплексу білок – ліганд, що залежить від топології центрів зв'язування на поверхні білкової молекули [16].

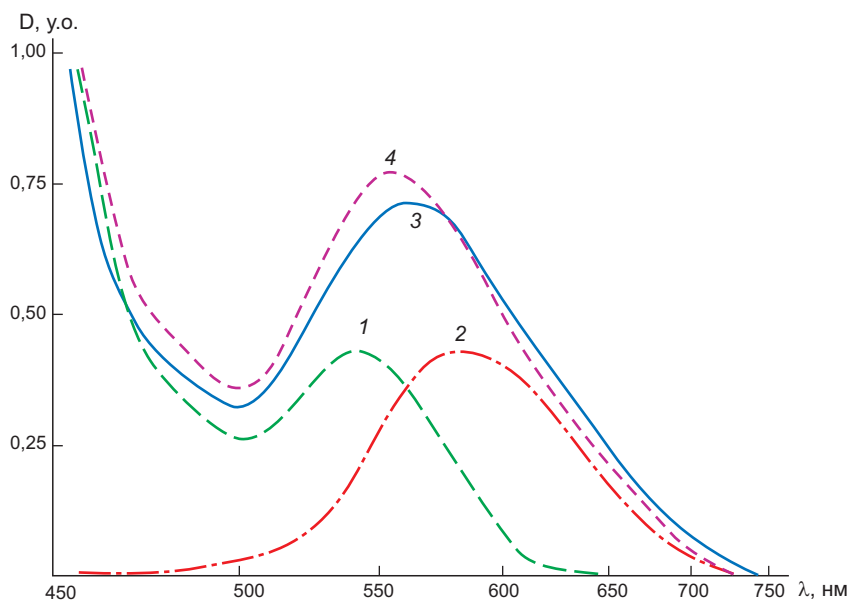


Рис. 2. Типові спектри поглинання комплексів CNMetHb крові здорових донорів та CNMetHb крові пацієнтів, хворих на шизофренію, і їх комплексів з Coomassi G-250:

1 – смуга CNMetHb (max – 543,4 нм); 2 – смуга Coomassi G-250 (max – 583,4 нм.); 3, 4 – смуги комплексів CNMetHb – Coomassi G-250, де 3 – контроль, 4 – параноїдна форма шизофренії

Fig. 2. Typical electronic spectra of complexes of CNMetHb – Coomassi G – 250 of blood of healthy donors and patients with schizophrenia:

1 – CNMetHb – max – 543,4 nm; 2 – Coomassi G-250 – max – 583,4 nm; 3, 4 – complexes of CNMetHb – Coomassi G-250; where 3 is control, 4 – is a paranoid form of schizophrenia

На підставі одержаних нами результатів можна зробити висновок, що молекули гемоглобіну крові хворих на параноїдну форму шизофренії містять меншу кількість активних центрів (-SH, $-\text{NH}_3^+$, COO^-) на поверхні, доступній для взаємодії з лігандом, яким виступає Coomassi G-250. Модифікація бокових груп амінокислотних залишків поліпептидних ланцюгів гемоглобіну суттєво впливає на стабільність конформаційного стану цього кисеньтранспорного білка [33, 36].

ВИСНОВОК

1. У хворих на шизофренію порушується стабільність еритроцитарних мембран, про що свідчать результати кислотного гемолізу еритроцитів, зростає вміст МСМ у плазмі крові.
2. У хворих на шизофренію достовірно підвищений вміст метгемоглобіну і сульфгемоглобіну та змінені характеристичні параметри спектрів поглинання ліганд-доспецифічних комплексів CNMetHb – Coomassi G-250.

1. Андросова Л.В., Секирина Т.П., Кушнер С.Г. и др. Система интерлейкинов у больных шизофренией. *Журн. неврологии и психиатрии*, 2000; 2: 43–47.

2. Буравлев В.М., Зимина И.С., Рахманова В.И. и др. Мембранотропное действие сывотки крови больных эндогенными психозами на культуру эмбриональной ткани мозга человека: ультраструктурное исследование. **Журн. неврологии и психиатрии**, 2004; 3: 70–72.
3. Вальовка Т.Й., Назаренко В.І., Коробов В.М., Великий М.М. Фізико-хімічна характеристика і функціональні властивості мембранозв'язаного гемоглобіну. **Укр. біохім. журн**, 1998; (70)6: 59–62.
4. Васильева Е.М. Биохимические особенности эритроцита. Влияние патологии. **Биомедицинская химия**, 2005; 51(2): 119–126.
5. Височин Є.В., Рачкаускас Г.С. Активність антиоксидантного захисту у крові підлітків, які хворіють на соматизовані депресивні розлади. **Укр. мед. альманах**, 2009; 12(2): 50–52.
6. Голімбет В.Е., Аксенова М.Г., Абрамова Л.И. и др. Полиморфизм гена дофаминового рецептора второго типа у больных с эндогенными психозами с учетом их клинической гетерогенности. **Журн. неврологи и психиатрии**, 2001; 101(11): 50–53.
7. Голімбет В.Е. Генетика шизофрении. **Журн. неврологии и психиатрии**, 2003; 3: 59–64.
8. Гончар О.О., Маньковська І.М. Адаптація глутатинової системи серця щурів до дії гострого стресу під впливом різних режимів гіпоксичних тренувань. **Укр. біохім. журн**, 2007; 89(3): 79–85.
9. Громашевська Л.Л. „Середні молекули” як один з показників „метаболічної інтоксикації” в організмі. **Лабор. діагностика**, 1997; 1: 11–15.
10. Дубинина Е.Е. Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксид-дисмутазы в тканях организма. **Успехи совр. биол.**, 1989; 108–1(4): 3–18.
11. Жукова А.Г., Сазонтова Т.Г. Гемм-оксигеназа: функция, регуляция, биологическая роль. **Нурохія Medical J**, 2004; 12(3–4): 30–43.
12. Завалишин И.А., Захарова М.Н. Оксидантный стресс – общий механизм повреждения при заболеваниях нервной системы. **Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова**, 1996; 96(2): 111–114.
13. Коровин А.М., Савельева-Васильева Е.А., Чухловина М.Л. Перекисное окисление липидов при неврологических заболеваниях. **Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова**, 1991; 91(8): 111–113.
14. Ковалева Е.С., Орлов О.Н., Цуцельковская М.Я. и др. Динамика процессов перекисного окисления липидов в организме больных шизофренией. **Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова**, 1989; 89(5): 108–113.
15. Кутько И.И., Фролов В.М., Пустовой Ю.Г. и др. Влияние эндоваскулярной лазеротерапии и антиоксидантов на иммунный статус и энергетический обмен у больных с резистентными к лечению формами шизофрении. **Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова**, 1996; 96(2): 34–38.
16. Кучеренко Ю.В., Розанова Е.Д. Влияние криопротекторов на связывание бромтимолового синего метгемоглобином быка. **Укр. біохім. журн**, 2001; 73(4): 65–68.
17. Кушаковский И.С. **Клинические формы повреждения гемоглобина**. Ленинград, 1968. 230 с.
18. Липкан Г.Н. Эритроцитопоз. **Лабор. диагностика**, 1999; 4: 47–53.
19. Мороз О.М., Влох І.Й., Влох Р.О. та ін. Транспорт моновалентних іонів в еритроцитах при ендогенних психозах та хронічному алкоголізмі. **Тези ІІІ конф. укр. біофіз. т-ва з міжнар. участю**, 2002; 210.
20. Морквин В.М., Картелишев А.В. **Патохимия шизофрении (патогенетические, диагностические и прогностические аспекты)**. Москва: Медицина, 1988; 17–253.
21. Николайчик В.В., Моин В.В., Кирковский В.В. и др. Способ определения „средних молекул”. **Лаб. дело**, 1991; 10: 13–18.
22. Радіонова С.І., Рачкаускас Г.С. Вплив комбінації поліоксидонію та альфа-токоферолу (вітаміну Е) на стан ферментативної ланки системи антиоксидантного захисту у хворих на шизофренію в періоді реабілітації після перенесеного фебрильного нападу. **Укр. мед. альманах**, 2009; 12(2): 129–132.

23. Рязанцева Н.В. Структурные нарушения в мембранах эритроцитов при психических расстройствах. **Нейрофизиология**, 2000; 3: 259–261.
24. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Власова Н.М. и др. Изменения композиции, структуры и метаболизма плазматических мембран эритроцитов при шизофрении и других психопатологиях. **Нейрофизиология**, 2002; 34(5): 332–341.
25. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Структурно-метаболический статус и функциональные свойства эритроцитов при шизофрении. **Журн. неврологии и психиатрии**, 2002; 6: 36–42.
26. Сыромятникова Е.Д., Федорова Н.В., Ильяшенко К.К. и др. Изменение уровня нейромедиаторов и среднемолекулярных пептидов у больных с острыми отравлениями опиийными наркотиками. **Клинич. лаб. диагностика**, 2000; 10: 16–17.
27. Терсков И.А., Гительзон И.И. Метод химических (кислотных) эритрограмм. **Биофизика**, 1954; 11(2): 259–266.
28. Трикуленко О.В., Пінішко У.В., Дацюк Л.О. Кінетика кислотного лізису еритроцитів різних вікових популяцій за наявності лігандів деяких інтегральних білків плазматичних мембран. **Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.**, 2001; 27:30–36.
29. Токарева Л.В., Сибірна Н.О., Великий М.М., Романишин Я.М. Дослідження системи еритрона при гіпоксіях різної етіології. **Лабор. діагностика**, 2000; 4: 36–38.
30. Щербаківа І.В., Каледа В.Г., Бархатова А.Н., Ключнык Т.П. Маркеры эндотелиальной дисфункции при приступообразной прогрессивной шизофрении. **Журн. неврологии и психиатрии**, 2005; 3: 43–46.
31. Drabkin D.L. The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species. **The Journal of Biological Chemistry**, 1946; 164(2): 703–723
32. Dudok K.P., Moroz O.M., Dudok T. et al. Spectroscopic study of haemoglobin ligand forms and erythrocyte membrane dynamics at alcohol intoxication of white rats. **Ukr. J. Phys. Opt.**, 2004; 5(1): 32–35.
33. Dudok K.P., Vlokh R., Vlokh I. et al. Spectral characteristics of hemoglobin taken from the blood of rats subjected to durable ethanol intoxication. **Ukr. J. Phys. Opt.**, 2004; 5(3): 104–109.
34. Veliky M.M., Bilyi O.I., Dudok K.P. Determination of hemoglobin derivatives in blood by method of optical density ratio. **Light and Optics in Biomedicine**, 2001; 4515: 199–201.
35. Ryter S.W., Tyrrell R.M. The heme synthesis and degradation pathway: role in oxidant sensitivity. **Free Radic. Biol. Med.**, 2000; 8: 289–309.
36. Perutz M.F. Regulation of oxygen affinity of hemoglobin: influence of structure of the globin on the heme iron. **Ann. Review of Biochem.**, 1979; 48: 327–386.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF THE ERYTHROCYTES, LIGAND FORMS OF HAEMOGLOBIN AND CONTENT OF MOLECULES OF MIDDLE MASS IN BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA DISORDERS

**K. P. Dudok¹, I. J. Vlokh², R. O. Vlokh³, T. H. Dudok³,
A. M. Fedorovych¹, N. V. Ilchishin¹, A. V. Shkavolyak², N. O. Sybirna¹**

¹Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

²Danylo Halytsky National Medical University, 69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine

³Institute of Physical Optics MES of Ukraine, 23, Drahomanov St., Lviv 79005, Ukraine

Stability of the erythrocyte membranes, content of the ligand forms of haemoglobin, parameters of the electronic spectra of haemoglobin complexes in patients with psychic disorders have been compared with the same indicators in healthy peoples. Patients

with paranoid schizophrenia disorders, with some disorder symptoms and with psychic disorders caused by alcoholism, were under study. It has been shown that the erythrocytes of peoples with schizophrenia disorder manifest non-equivalent stability to haemolysis. Change in the ratio of haemoglobin ligand forms in patients with schizophrenia disorders have been found, in particular, the increase in the SHb and MetHb ratio, content of middle mass molecules in the blood plasma was detected. The method of optical spectroscopy has been proposed for studying of the haemoglobin conformation states in patients with schizophrenia disorders.

Key words: erythrocyte, haemoglobin, ligand forms of haemoglobin, conformation, schizophrenia, electronic spectrums, molecules of middle mass.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ, ЛИГАНДНЫХ ФОРМ ГЕМОГЛОБИНА И МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

*Е. П. Дудок¹, И. И. Влох², Р. О. Влох³, Т. Г. Дудок³,
А. Н. Федорович¹, Н. В. Ильчишин¹, А. В. Шкаволяк², Н. А. Сибирная¹*

*¹Львовский национальный университет имени Ивана Франко,
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина*

*²Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого,
ул. Пекарская, 69, Львов 79010, Украина*

³Институт физической оптики МОН Украины, ул. Драгоманова, 23, Львов 79005, Украина

Проведены сравнительные исследования стабильности структуры мембран эритроцитов, содержания лигандных форм гемоглобина, параметров спектра поглощения лигандо-специфических комплексов гемоглобина людей, больных параноидной формой шизофрении, людей с некоторыми признаками этой болезни, а также людей с психическими расстройствами, связанными с алкоголизмом, и здоровых доноров. Показано, что эритроциты больных шизофренией проявляют неодинаковую стойкость к гемолизу. Обнаружены изменения в соотношении лигандных форм гемоглобина в эритроцитах, в частности сульф- и метформы, а также увеличение содержания молекул средней массы (МСМ) в плазме крови больных шизофренией. Предложена схема исследования конформационных состояний лигандных форм гемоглобина больных шизофренией с применением метода зондовой спектроскопии.

Ключевые слова: эритроциты, гемоглобин, лигандные формы гемоглобина, молекулы средней массы, конформация, шизофрения, спектры поглощения.

Одержано: 29.07.2009