

Ключевые слова: тяжелые металлы, металлотионеина, выживаемость при действии сублетальных доз

Summary

DEPENDENCE OF SURVIVAL OF LABORATORY ANIMALS FROM PRE-INDUCTION METALLOTHIONEIN UPON EXPOSURE OF HEAVY METAL COMPOUNDS

Pyhtieieva E.G, Potapov E.A., Bolshoy D.V.

The dependence of survival laboratory animals under the action of sublethal and

lethal doses of chlorides of cadmium and mercury after preliminary synthesis of metallothionein induction introduction of zinc chloride (5 mg / kg) was studied. Preventive induction of metallothionein can significantly increase the survival rate of animals exposed to high doses of heavy metals.

Key words: heavy metals, metallothionein, the survival rate under the influence of sublethal doses

Впервые поступила в редакцию 07.05.2013 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 616.155.1-099:616.153.663.43

ФРАКЦІЙНИЙ СКЛАД І МІКРОВ'ЯЗКІСНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІПІДНОГО МАТРИКСУ МЕМБРАНИ ЕРИТРОЦИТІВ У ЗРІЛИХ ТА СТАРИХ ЩУРІВ В УМОВАХ ГЕМІЧНОЇ ГІПОКСІЇ

Жемела О.Д.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

У роботі представлені результати дослідження фракційного складу і мікроязко-стних властивостей ліпідного матриксу мембрани еритроцитів у зрілих і старих щурів в умовах гемічної гіпоксії. Встановлено, що нітрит натрію викликає порушення ліпідного бішару мембрани еритроцитів у тварин різних вікових груп. Зміни структури еритроцитарної мембрани при метгемоглобінемії у зрілих і старих щурів носять односпрямований характер і проявляються зниженням абсолютного вмісту загальних ліпідів і фосфоліпідів, порушенням ліпідного спектру, а також зростанням мікроязкості ліпідної фази. Молекулярні порушення мембрани еритроцитів максимально виражені в перші години і добу після введення нітриту натрію і мають стійкий характер.

Ключові слова: мембрана еритроцитів, гемічна гіпоксія, мікроязкість, ліпідний матрикс.

Вступ

Еритроцити представляють собою клітину, яка в багатому визначає кисневий статус організму [1, 2]. Однак, основні патогенетичні шляхи розвитку порушень периферичного ланцюга еритрона при гострому впливі нітриту натрію достатньо не вивчені [3]. Вважається, що важливим механізмом модифікації ліпідного компартмента мембрани еритроцитів є посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та ферментативного гідролізу [4]. Структурна модифікація ліпідної фази МЕ може бути причиною порушення іонної проникливості,

ліпід-ліпідних і ліпід-білкових взаємодій, збільшення «жорсткості» мембран [5].

Враховуючи важливу роль ліпідного компартмента мембрани еритроцита в забезпеченні метаболічної та функціональної повноцінності червоних кров'яних клітин, **метою** нашого дослідження явилось визначення особливостей фракційного складу і мікроязкості ліпідного матриксу мембрани еритроцитів при гострій гемічній гіпоксії.

Матеріали і методи

Експерименти проведені на 40 нелінійних щурах-самцях масою 180,0-200,0 г (перша група) і масою 300,0-350,0

г (друга група). Гемічну гіпоксію моделювали підшкірним введенням нітриту натрію в дозі 5 мг/кг [6]. Забір крові у експериментальних тварин виконували під ефірним наркозом із хвостової вени через 1,5 ч і 3 діб після введення нітриту натрію. Кров стабілізували гепарином (50 ЕД/мл). Рівень MtHb в крові визначали за методом М.С. Кушаковського [7]. Мембрану еритроцитів виділяли засобом, який заснований на феномені гіпоосмотичного гемолізу клітин. В мембраній суспензії мікробіуретичним методом визначали кількість білка. Отримували ліпідний екстракт, визначали кількість загальних ліпідів і фосфоліпідів [8]. Препаративне розділення нейтральних ліпідів і фосфоліпідів МЕ проводили методом тонкошарової хроматографії. Ідентифікацію фракцій ліпідів виконували з використанням стандартів «Sigma». Вимірювання власної флуоресценції тіней еритроцитів, а також визначення спектральних характеристик взаємодії МЕ з флуорофором пиреном проводили на спектрофлуорометре MPF-4 («Hitachi», Японія) [5]. Усі дослідження проводили у відповідності з національними «Загальноетичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2011), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), та схвалені 1-им Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Усі маніпуляції, які викликали біль, проводили під барбаміловим наркозом [6].

Аналіз даних виконували методом варіаційної статистики з використанням *t*-критерію Ст'юдента та *U*-критерію Манна-Уїтні. Результати вважали дійсними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення.

Дослідження абсолютного вмісту ліпідів, їх фракційний склад в еритроцитарній мембрані у експериментальних тварин після одноразового введення нітриту натрію (НН) виявило ознаки значної модифікації ліпідної фази в мембрані черво-

них кров'яних клітин. Найбільш наявні зміни спостерігалися через 1,5 год. і 3 діб після введення ксенобіотика, як у зрілих, так і у старих щурів.

Так, зміни кількості ліпідів через 1,5 год. після введення ксенобіотика супроводжувалися перерозподілом фракційного складу ліпідного компонента мембрани червоних кров'яних клітин крові. В еритроцитарній мембрані у тварин групи № 1 реєстрували зниження рівня загальних фосфоліпідів на 24 % в порівнянні з їх вмістом в нормі на тлі достовірного ($p < 0,05$) збільшення (в 1,6 рази) вмісту фракції ефірів холестерину. При оцінці фракційного складу фосфоліпідів в мембрані червоних кров'яних клітин звертало на себе увагу достовірне ($p < 0,05$) збільшення вмісту лізофосфатидилхоліну – в 3,2 рази, сфігномеліну – на 43 % і фосфотиділсерину – на 11 % ($p < 0,05$), тоді як рівень фосфатидилетаноламіна і фосфатиділхоліна, навпроти, був знижен в порівнянні з їх вмістом в МЕ у інтактних тварин на 39 % і 16 % відповідно ($p < 0,05$) (табл. 1). Через 3 доби після дії ксенобіотика були виявлені суттєві зміни фракційного складу нейтральних ліпідів мембрани еритроцитів: на долю фракції загальних фосфоліпідів приходилося $28,91 \pm 1,03$ %, що було в 1,3 рази нижче їх вмісту у тварин контрольної групи ($p < 0,05$).

Звертало не себе увагу також достовірне збільшення частки фракції холестерину та його ефірів. Вказані зміни призводили до зростання (в 1,7 рази) середніх значень величини співвідношення холестерин:фосфоліпідів ($1,48 \pm 0,06$ % при $0,86 \pm 0,05$ % в контролі, $p < 0,05$) (табл. 1).

Накоплення холестерину в МЕ небезпечно збільшенням мікрров'язкості бішару, порушенням латеральної дифузії рецепторів, іонного транспорту, що робить МЕ менш пристосованою до виконання своїх функцій [2].

Модифікація фосфоліпідного спектра мембрани червоних кров'яних клітин

Таблиця 1

Вміст загальних ліпідів, загальних фосфоліпідів і їх фракційний склад в мембрані еритроцитів у зрілих щурів за умов гемічної гіпоксії ($X \pm Sx$)

Показники	Контроль	Зрілі щури		
		1,5 год.	1 доба	3 доба
Загальні ліпіди, мг/мл білка	1,89 ± 0,05	1,32 ± 0,07*	1,42 ± 0,05*	1,54 ± 0,08*
Загальні фосфоліпіди, мг/мл білка	0,98 ± 0,06	0,65 ± 0,06*	0,71 ± 0,06*	0,77 ± 0,08*
Фракції фосфоліпідів, %				
Лізофосфатиділхолін,	4,05 ± 0,53	12,84 ± 0,98*	10,98* ± 0,73*	8,80 ± 0,86*
Фосфатиділінозитолі	7,80 ± 0,63	7,20 ± 0,75	7,15 ± 0,68	6,89 ± 0,51
Сфінгомієлін	11,40 ± 0,89	16,34 ± 0,44*	16,22 ± 0,89*	15,67 ± 1,12*
Фосфатиділхолін	39,12 ± 0,74	32,76 ± 0,84*	34,40 ± 0,92*	35,08 ± 0,74*
Фосфатиділсерін	17,40 ± 0,52	19,28 ± 0,77*	18,56 ± 0,63	17,85 ± 0,51
Фосфатиділетаноламін	19,80 ± 0,91	11,98 ± 0,85*	12,35 ± 0,77*	14,84 ± 0,59*

Примітка: 1. * — $p < 0,05$ в порівнянні з контролем;
2. $n = 10$ в кожній групі тварин;
3. маса щурів 180,0-200,0

ліну і фосфатиділсерину (табл. 2). Варто відмітити, що порушення ліпідної фази (більшого ступеня наявності, чим під дією НН) зберігалися на протязі всього періоду спостереження.

Зміни ліпідного компонента мембрани еритроцитів, які були виявлені після введення нітриту натрію, скоріш всього, являються слідством багатофакторного впливу на клітини червоної крові і еритроцитарну мембрану метгемоглобіноутворювача.

Дослідження МЕ неполярним зондом піреном, діфундіруючим в її гідрофобном компартменті, у щурів при метгемоглобінемії, індукованої НН, дозволило отримати фактичні докази порушення структури мембран червоних клітин крові. Було встановлено, що середні значення відношення

мала аналогічний характер в порівнянні з попередніми періодами експерименту. Через добу спостереження була відмічена виразна тенденція до відновлення показників що вивчалися. Однак ознаки дезорганізації ліпідного складу мембран еритроцитів зберігався і на 5 добу після початку досліду. Аналогічний характер змін ліпідного бішару МЕ було відмічено у старих тварин. Вони були найбільш наявні в гострий період метгемоглобінемії. Звертало на себе увагу зниження абсолютної кількості загальних ліпідів і фосфоліпідів, відносного вмісту фосфотиділхоліну, фосфотиділетаноламіну та загальних фосфоліпідів при одночасному збільшенні долі холестерину і його ефірів, лізофосфотиділхоліну, сфінгоміє-

Таблиця 2

Вміст загальних ліпідів, загальних фосфоліпідів і їх фракційний склад в мембрані еритроцитів у старих щурів за умов гемічної гіпоксії ($X \pm Sx$)

Показники	Контроль	Зрілі щури		
		1,5 год	1 доба	3 доба
Загальні ліпіди, мг/мл білка	1,89 ± 0,05	1,90 ± 0,03	1,18 ± 0,06*	1,28 ± 0,07*
Загальні фосфоліпіди, мг/мл білка	0,98 ± 0,06	1,00 ± 0,06	0,57 ± 0,09*	0,61 ± 0,06*
Фракції фосфоліпідів, %				
Лізофосфатиділхолін,	4,05 ± 0,53	4,03 ± 0,55	12,52 ± 0,84*	11,73 ± 0,91*
Фосфатиділінозитолі	7,80 ± 0,63	7,82 ± 0,65	6,72 ± 0,61*	7,05 ± 0,48*
Сфінгомієлін	11,40 ± 0,89	11,43 ± 0,90	17,52 ± 0,51*	16,54 ± 0,66*
Фосфатиділхолін	39,12 ± 0,74	39,13 ± 0,76	31,24 ± 0,58*	32,01 ± 0,43*
Фосфатиділсерін	17,40 ± 0,52	17,38 ± 0,54	22,34 ± 0,48*	19,13 ± 0,65*
Фосфатиділетаноламін	19,80 ± 0,91	19,89 ± 0,95	10,42 ± 0,59*	11,23 ± 0,41*

Примітка: 1. * — $p < 0,05$ в порівнянні з контролем; 2. $n = 10$ в кожній групі тварин; 3. маса щурів 300,0-350,0 г

величин інтенсивності флуоресценції ексімерних та мономерних молекул пірена достовірно нижче середньої величини аналогічного показника у тварин контрольної групи, що вказувало на підвищення впорядкованості ліпідної фази МЕ. Ознаки підвищення мікрів'язкості ліпідного матриксу мембрани еритроцитів у старих щурів значно наявні в порівнянні зі зрілими тваринами (табл. 2).

Висновки

1. Нітрит натрію викликає порушення ліпідного бішару мембрани еритроцитів у тварин різних вікових груп.
2. Зміни структури еритроцитарної мембрани при метгемоглобінемії у зрілих та старих щурів носять односпрямований характер і виявляються зниженням абсолютного вмісту загальних ліпідів і фосфоліпідів, порушенням ліпідного спектру – збільшенням частки холестерину, лізофосфатиділхоліну, сфінгомієліну і фосфатиділсерину на фоні зниження вмісту фосфатиділетаноламіну і фосфатиділхоліну, а також збільшенням мікрів'язкості ліпідної фази. У старих тварин зміни носять більш наявний і тривалий характер.
3. Молекулярні порушення мембрани еритроцитів максимально виражені у перші години та добу після введення нітритів натрію і мають стійкий характер.

Література

1. Тино Г. Транспорт газов к периферическим тканям и обратно. Патологическая физиология легких. 3-е изд. испр. / Г. Тино, М. А. Гриппи. – М. : БИНОМ – СПб.: Невский диалект, 2001. – С. 144–162.
2. Новицкий В. В. Физиология и патология эритроцита / В. В. Новицкий, Н. В. Рязанцева, Е. А. Степоя. – Томск : Изд-во Томск. ун-та, 2004. – 202с.
3. Механизмы повреждения эритроцитов при токсическом воздействии метгемоглобинообразователей / О. Н. Филипова, И.А. шперлинг, О.А. Рого-

ва и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – № 1. – С. 32–37.

4. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю. А. Владимиров // Вести РАМН. – 1998. – № 7. – С. 43–51.
5. Владимиров Ю. А. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран / Ю. А. Владимиров, Г. Е. Добрецов. – М. : Наука, 1980. – 320 с.
6. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М. : Медицина, 2000. – 352 с.
7. Кушаковский М. С. Клинические формы повреждения гемоглобина / М. С. Кушаковский. – Л. : Медицина, 1968. – 324 с.
8. Кальнова Н. Ю. Изменение фосфолипидного состава и антиокислительной активности липидов эритроцитов при опухолях молочной железы и их радиационном лечении / Н. Б. Кальнова, Н. П. пальмина // Биохимия. – 1980. – Т. 45, № 9. – С. 1646–1653.

Резюме

ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ И МИКРОВЯЗКОСТНЫЕ СВОЙСТВА ЛИПИДНОГО МАТРИКСА МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ.

Жемела О.Д.

В работе представлены результаты исследования фракционного состава и микровязкостных свойств липидного матрикса мембраны эритроцитов у зрелых и старых крыс в условиях гемической гипоксии. Установлено, что нитрит натрия вызывает нарушения липидного бислоя мембраны эритроцитов у животных разных возрастных групп. Изменения структуры эритроцитарной мембраны при метгемоглобинемии у зрелых и старых крыс носят односторонний характер и проявляются снижением абсолютного содержания общих липидов и фосфолипидов, нарушением липидного

спектра, а также возрастанием микровязкости липидной фазы. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов максимально выражены в первые часы и сутки после введения нитрита натрия и имеют стойкий характер.

Ключевые слова: мембрана эритроцитов, гемическая гипоксия, микровязкость, липидный матрикс.

Summary

FRACTIONAL COMPOSITION AND MICROVISCOSITY PROPERTIES OF THE LIPID MATRIX ERYTHROCYTE MEMBRANE OF MATURE AND OLD RATS IN HEMIC HYPOXIA

Jemela O.D.

The results of the study of fractional composition and microviscosity properties of the lipid matrix erythrocyte membrane of mature and old rats in hemic hypoxia. It is

proved that sodium nitrite causes lipid bilayer erythrocyte membranes in animals of different age groups. Changes in the onedirection structure erythrocyte membrane in methemoglobinemia in mature and old rats have and show reduction of the absolute content of can all types of the lipids and phospholipids, disturbance lipid spectrum, as well as an increase in microviscosity of the lipid phase. Molecular disturbances of the red blood cells membrane of red blood cells are expressed in the first hours and days after the injection of sodium nitrite and remain without.

Key words: *the blood cells membrane, hemic hypoxia, microviscosity, lipid matrix.*

Впервые поступила в редакцию 12.05.2013 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК: 616.718+616-005.4+616-008.6-08:615.3:616-092.4

СОЧЕТАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ АНАЛОГОВ ЕСТЕСТВЕННОГО ПРОСТАГЛАНДИНА E1, ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕОЛИЗА И АНТИОКСИДАНТОВ ДЛЯ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РЕПЕРФУЗИОННОГО СИНДРОМА

**Федосов М.И., Мальченко О.А., Кубышкин А.В., Бабанин А.А.,
Пылаева Н.Ю.**

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского», г. Симферополь

Развитие реперфузионного синдрома сопровождается усилением протеолитической активности, угнетением активности ингибиторов протеиназ, повышением уровня основных провоспалительных цитокинов сыворотки крови, максимально выраженными через 12 часов после реперфузии. Сочетанное применение аналогов естественного простагландина E1, ингибиторов протеолиза и антиоксидантов для медикаментозной коррекции экспериментального реперфузионного синдрома сопровождается более выраженным суммарным снижением протеолитической активности, увеличением активности ингибиторов протеиназ, снижением концентрации основных провоспалительных цитокинов сыворотки крови в сравнении с эффектами от применения только ингибиторов протеолиза и антиоксидантов.

Ключевые слова: *ишемия, реперфузия, протеиназы, цитокины, ингибиторы протеолиза, антиоксиданты, простагландин E1.*

Введение

Реперфузионный синдром, развивающийся в результате восстановления

кровотока в ранее ишемизированной ткани, является широко распространённым явлением и довольно часто встречается