

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1989

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

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1989

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

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

ТОМ 35

БЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. В. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. Н. 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)
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)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

воздействию активаторов. Эти же факторы могут определить изменения корригирующего влияния на ПМЯЛ физиологических регуляторов (ПГ₁₂) и лекарственных средств (нифедипин).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бергельсон Д. Д. // Биол. мембраны. — 1985. — № 5. — С. 483—486.
2. Габриелян Э. С., Акопов С. Э. Клетки крови и кровообращение. — Ереван, 1985.
3. Габриелян Э. С., Акопов С. Э., Амроян Э. А., Григорян М. Р. // Современные проблемы нейробиологии. — Тбилиси, 1986. — С. 78—79.
4. Григорян М. Р., Бакунц Г. О., Габриелян Э. С. // Журн. exper. и клин. мед. — 1987. — № 4. — С. 365—368.
5. Клебанов Г. И., Туркменова Э. М., Крейнина М. В. и др. // Биол. мембраны. — 1987. — № 10. — С. 1084—1092.
6. Окунь И. М., Капер Г. В., Врлновец Т. М. и др. // Биохимия. — 1986. — Т. 51. — № 7. — С. 1132—1140.
7. Gabig T. G., Berman S. I., Babior B. // Blood. — 1979. — Vol. 53, N 6. — P. 1133—1139.
8. Gennazo R., Pozzan T., Romeo D. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1984. — Vol. 81, N 5. — P. 1416—1420.
9. Korchak H., Vienne K., Rutherford L., Weissmann G. // Fed. Proc. — 1984. — Vol. 43, N 2. — P. 2749—2754.
10. Lechi A., Lechi C., Bonadonna G. et al. //

Hypertension. — 1987. — Vol. 9, N 3. — P. 230—235.

11. Meade C., Harvey J., Boot J. R. // Biochem. Pharmacol. — 1984. — Vol. 33, N 2. — P. 289—293.
12. Rink T., Shmith S., Tsien R. // FEBS Lett. — 1982. — Vol. 148, N 1. — P. 21—26.
13. Tsien R. Y. // Nature. — 1981. — Vol. 290. — P. 527—528.
14. Tsien R. Y., Pozzan T., Rink T. J. // Cell Biol. — 1982. — Vol. 94, N 2. — P. 325—334.
15. Warzinger L., Blasberg P., Schmid-Schönhein H. // Vasa. — 1984. — Vol. 13, N 4. — P. 305—310.

Поступила 06.12.88

IMPAIRMENTS OF CA²⁺ METABOLISM IN POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES FROM PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS

S. E. Hakopov, M. R. Grigoryan, E. S. Gabrielyan

Medical School, Yerevan

Homeostasis of calcium was impaired in polymorphonuclear leukocytes of patients with atherosclerosis of cerebral vessels. Transformation of leukocyte membrane properties, related to Ca²⁺ permeability, was observed. At the same time, in some of these patients alterations of blood serum characteristics were found, which acquired an ability to sensitize the leukocyte Ca²⁺-transport system to the effect of activators.

УДК 616.98:579.842]-078.73:543.544

Т. И. Маякова, Э. Э. Кузнецова, М. В. Лазарева, Г. С. Долгушина

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕТУЧИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ НЕКЛОСТРИДАЛЬНОЙ АНАЭРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ

Институт хирургии Восточно-Сибирского филиала Сибирского отделения АН СССР, Иркутск

В последние годы произошли существенные изменения в этиологии хирургической инфекции. Грамположительная флора постепенно вытесняется грамотрицательными микробами, возрастает клиническое значение так называемых условно-патогенных микроорганизмов и сапрофитов [2, 13, 14]. Видное место среди них занимают анаэробные неспорообразующие грамотрицательные бактерии, главным образом бактероиды. Заметно возросший интерес к их изучению объясняется как увеличением удельного веса бактероидов в возникновении заболеваний человека, особенно при установлении этиологии легочных и плевральных

нагноений [1, 3—5], так и усовершенствованием методов культивирования строгих анаэробов.

Выделение неклостридиальных анаэробов и их идентификация при использовании общепринятых микробиологических методов занимают обычно не менее недели, поэтому в последнее время все чаще применяется метод газожидкостной хроматографии. С его помощью возможно обнаружение в исследуемом материале летучих жирных кислот: уксусной (C₂), пропионовой (C₃), масляной (C₄), изомасляной (иC₄), валериановой (C₅), изовалериановой (иC₅), капроновой (C₆), изокапроновой (иC₆), являющихся конечными

ми продуктами метаболизма большинства анаэробных микроорганизмов, которые вызывают тяжелую хирургическую инфекцию, часто приводящую к летальным исходам. Сообщения о количественном определении анаэробных метаболитов немногочисленны [6—9, 10, 11, 16]. В работах [16] и [9] исследования проводились на гемокультурах, и количественные данные использовались для идентификации вида анаэробных бактерий. Газо-хроматографический анализ применяли только в целях диагностики анаэробной инфекции без установления видового принаследия микроорганизмов [10, 15].

Первоначально для детектирования летучих жирных кислот (ЛЖК) использовали катарометр, который позволял обнаруживать кислоты с точностью до 0,01 мкмоль/мл. В дальнейшем при широком введении в хроматографическую практику ионизационно-пламенных детекторов этот предел удалось снизить. При исследовании крови больных раком [6], оперированных на желчном пузыре и по поводу цирроза печени [7], а также больных с синдромом Рея [11] концентрацию ЛЖК определяли с точностью до 0,001 мкмоль/мл, 0,0001 и 0,00001 мкмоль/мл соответственно. Однако уровень кислот в сыворотке крови практически здоровых людей был установлен только в одном исследовании [7] при анализе крови доноров. Данных о содержании ЛЖК в других биологических средах здорового организма в доступной литературе нами не найдено. Тем не менее, диагностически значимыми для брюшной и плевральной полостей считают количества, превышающие 0,02 мкмоль/мл [15].

Методика

За основу методики взяты разработки, описанные в литературе [9, 12]. Обработку клинического образца проводили следующим образом. К 1 мл пробы добавляли 1 мл физиологического раствора, смесь центрифугировали, отделяли супернатант, подкисляли его 50 % серной кислотой до pH 2,0 по универсальной индикаторной бумаге и проводили полную экстракцию свободных кислот серным эфиром. Количественное содержание ЛЖК устанавливали при сравнении высот пиков на хроматограммах пробы и стандартного раствора с известной (5 мкмоль/мл) концентрацией аутентичных кислот. Для полной достоверности количественных результатов стандартный раствор хроматогра-

фировали перед каждой серией анализов, выполняемых последовательно при установленном режиме работы прибора. При исследовании клинического материала содержание кислот в пробе определяли до 0,0001 мкмоль/мл. Анаэробные метаболиты изучали на хроматографе марки «Хром-5» с ионизационно-пламенным детектором, ЛЖК разделяли на стеклянной набивной колонке (длина 2 м, диаметр 3 мм), заполненной супелкопортом 80/100, пропитанным специальной фазой для свободных жирных кислот — FFAP (10 %) при программировании температурного режима от 130 до 150 °C, температуре испарителя 170 °C, температуре детектора 160 °C. Газ-носитель азот, скорость азота 50 мл/мин, скорость водорода 26 мл/мин, скорость воздуха 500 мл/мин. Экстракт клинической пробы упаривали до 50 мкл, в колонку вводили 1 мкл аликвоты. Время проведения анализа, включая обработку клинического материала, 30—40 мин. С целью учета полноты перехода кислот из водной фазы в эфирную сравнивали хроматограммы эфирного раствора концентрации 5 мкмоль/мл и эфирного экстракта из 1 мл водного раствора той же концентрации. Найденно, что ЛЖК переходят из водной фазы в эфирную не полностью, поэтому введены поправочные коэффициенты (К) для установления истинного содержания кислот в образце. Таким образом, K_{C_2} равен 8, пропионовой, масляной и изовалериановой — 1,5; K_{C_3} , C_6 , и C_6 — 1, т. е. цифру, обозначающую количество кислоты в пробе, необходимо умножить на соответствующий К.

Результаты и обсуждение

Для выявления фонового уровня ЛЖК в слюне проведено обследование здоровых людей. Анализируемый материал брали у контрольной группы из 67 человек, из которых у 46 % обнаружены кислоты в следующих количествах: C_2 — $0,7056 \pm 0,0177$ мкмоль/мл; C_3 — $0,1130 \pm 0,0116$ мкмоль/мл, и C_4 — $0,0113 \pm 0,0055$ мкмоль/мл, C_4 — $0,0552 \pm 0,0270$ мкмоль/мл, и C_5 — $0,0289 \pm 0,0040$ мкмоль/мл, C_5 — $0,0235 \pm 0,0021$ мкмоль/мл, и C_6 — $0,0660 \pm 0,0012$ мкмоль/мл, C_6 — $0,0089 \pm 0,0005$ мкмоль/мл.

При исследовании мокроты больных с бактериальными деструкциями легких, у которых можно было предполагать наличие неклостридиальной анаэробной флоры, обнаружены низшие жирные кислоты такого же количественного и качественного состава, как и в слюне здоровых людей. Это, вероятно, объясняется контаминацией мокроты микроорганизмами из верхних дыхательных путей и ротовой полости при откашливании ее больным. Следовательно, результаты, получаемые при анализе мокроты больных, малоинформативны. Наиболее подходящим

Таблица 1

Содержание ЛЖК (в мкмоль/мл) при бактериальных деструктивных заболеваниях легких

Анализируемый материал	C ₂	C ₃	ис ₄	C ₄	ис ₃	C ₅	ис ₆	C ₆
Содержимое абсцесса	0,7285±0,0124	0,2015±0,0113	0,0500±0,0078	1,2084±0,3015	0,7101±0,0341	0,8211±0,1102	2,7803±0,2701	0,6600±0,0507
Экссудат плевральной полости	3,6512±0,7115	0,1804±0,0275	0,1800±0,0185	1,5706±0,3605	0,5917±0,0302	0,0800±0,0091	0,2814±0,0174	0,1471±0,0781
Некротизированная ткань	3,5607±0,2115	2,1500±0,7163	2,0714±0,7801	2,1764±0,9105	0,7005±0,0315	0,0080±0,0009	0,7223±0,1883	0,0900±0,0084

Таблица 2

Содержание ЛЖК (в мкмоль/мл) при гнойно-септических заболеваниях брюшной полости

Анализируемый материал	C ₂	C ₃	ис ₄	C ₄	ис ₃	C ₅	ис ₆	C ₆
Содержимое брюшной полости	5,1987±0,9105	2,4213±0,1379	2,3705±0,1425	2,2117±0,2317	1,0197±0,1781	2,1614±0,3115	0,7671±0,0987	0,7144±0,0756
Некротизированная ткань	3,2911±0,8714	0,2781±0,0811	0,2137±0,0714	0,4615±0,0712	0,4521±0,0812	0,4403±0,0623	0,6504±0,0743	0,1634±0,0900

Таблица 3

Содержание ЛЖК (в мкмоль/мл) в крови здоровых людей и больных хирургическим и гинекологическим сепсисом

Анализируемый материал	C ₂	C ₃	ис ₄	C ₄	ис ₃	C ₅	ис ₆	C ₆
Кровь доноров	0,0752±0,0083	0,0032±0,0009	—	0,0009±0,0001	0,0006±0,0001	0,0082±0,0010	0,0041±0,0004	0,0085±0,0015
Кровь больных сепсисом	1,1168±0,0785	0,0371±0,0076	0,0590±0,0031	0,0388±0,0072	0,0321±0,0065	0,0616±0,0101	0,0536±0,0097	0,0444±0,0087

Таблица 4

Содержание ЛЖК (в мкмоль/мл) в желчи и ткани стенки желчного пузыря у больных острым и хроническим калькулезным холециститом

Анализируемый материал	C ₂	C ₃	ис ₄	C ₄	ис ₃	C ₅	ис ₆	C ₆
Желчь	0,4700±0,2000	0,0140±0,0090	0,0022±0,0010	0,0080±0,0010	0,0038±0,0010	0,0043±0,0013	0,0190±0,0080	0,0190±0,0030
Ткань стенки желчного пузыря	0,5200±0,2700	0,0280±0,0140	0,0080±0,0010	0,0077±0,0027	0,0062±0,0027	0,0034±0,0005	0,0120±0,0060	0,0090±0,0008

клиническим материалом для идентификации неклостридиальной анаэробной инфекции являются некротизированные ткани, содержимое абсцессов, экссудаты брюшной и плевральной полостей, тампоны из ран, пропитанные отделяемым, смывы бронхиального дерева, лаважная жидкость.

В областном центре хирургической инфекции обследованы больные с бактериальными деструкциями легких (1-я группа) и с гнойно-септическими заболеваниями брюшной полости (2-я группа). В 1-й группе неклостридиальная анаэробная инфекция обнаружена у 46 (75 %) больных, во 2-й — у 18 (73 %). Данные о содержании найденных кислот в биологических субстратах у этих больных представлены в табл. 1 и 2.

Гнойные воспалительные процессы часто осложняются сепсисом. Нередко при септическом состоянии трудно установить входные ворота инфекции и выявить септический очаг. В такой ситуации единственным доступным для анализа материалом служит кровь. С целью установления фонового содержания ЛЖК в крови были обследованы 35 доноров. Полученные результаты давали представление о нормальной концентрации короткоцепочечных жирных кислот в крови. Изучение 50 больных с гинекологическим и хирургическим сепсисом показало, что содержание у них в крови короткоцепочечных жирных кислот значительно превышает таковое у доноров (табл. 3).

Метод газожидкостной хроматографии впервые был использован для обнаружения анаэробной микрофлоры в желчи и ткани стенки желчного пузыря у больных острым и хроническим калькулезным холециститом. Неклостридиальная анаэробная инфекция идентифицирована у 17 (25 %) больных. Содержание ЛЖК в желчи и ткани стенки желчного пузыря приведено в табл. 4.

Для экспресс-диагностики неклостридиальной анаэробной инфекции газохроматографическим методом в клинике целесообразно проведение рутинного анализа на любом газовом хроматографе с использованием набивной колонки с неподвижной жидкой фазой полиэтиленгликолевой природы, такой, как доступная отечественная фаза карбовакс 20М с 1 %

фосфорной кислоты, SP-1000 или FFAP. Газохроматографический метод позволяет значительно сократить длительность диагностики неклостридиальной анаэробной инфекции в любом биологическом материале, а также осуществлять контроль за ходом лечения больных. В качестве клинического материала можно использовать содержимое абсцесса, гнойное отделяемое, некротизированную ткань, экссудаты плевральной и брюшной полостей, смывы бронхиального дерева, промывные воды, тампоны, пропитанные раневым секретом, желчь, кровь. При проведенном исследовании установлено фоновое содержание ЛЖК в крови доноров. Содержание этих кислот в сыворотке крови больных хирургическим и гинекологическим сепсисом в 10—30 раз превышает фоновый уровень и может служить признаком анаэробного сепсиса при газохроматографическом экспресс-анализе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Астрожников Ю. В., Богомолова Н. С., Еремина Г. В. и др. // Хирургия. — 1983. — № 12. — С. 111—116.
2. Баженов Л. Г., Исхакова Х. И. // Вестн. хир. — 1983. — № 3. — С. 120—123.
3. Колесов А. В., Королюк А. М., Кочетков А. В. и др. // Там же. — 1985. — № 1. — С. 17—23.
4. Колесов А. П., Столбовой А. В., Кочетков А. В. // Неклостридиальная анаэробная инфекция. — Л., 1982. — С. 5—10.
5. Королюк А. М., Кочеровец В. И., Столбовой А. В. // Там же. — 1982. — № 11. — С. 13—19.
6. Brazier W. E. C., Desmet G., Pieri F., Daniel F. // Clin. chim. Acta. — 1985. — Vol. 148, N 3. — P. 261—265.
7. Dankert J., Zijlstra J. B., Wolthers B. G. // Ibid. — 1981. — Vol. 110. — P. 301—307.
8. Edson R. S., Rosenblatt J. E., Washington J. A., Stewart J. B. // J. clin. Microbiol. — 1982. — Vol. 15, N 6. — P. 1059—1061.
9. Holdeman L. V., Moore W. E. C. Anaerobe Laboratory Manual. — 3rd. Ed. — Virginia, 1975.
10. Legakis N. J., Xanthopoulou K., Ioannidou H., Papavassiliou J. // Ann. Microbiol. — 1982. — Vol. 133-B, N 2. — P. 281—290.
11. McArthur B., Sarnaik A. P. // Clin. Chem. — 1982. — Vol. 28, N 9. — P. 1983—1984.
12. Mitruka P. M. // Gas-Chromatographic Application in Microbiology and Medicine. — New York, 1975.
13. Peroment M. // Acta chir. belg. — 1978. — Vol. 77, N 1. — P. 29—32.
14. Thadepalli H. // Surg. Gynec. Obstet. — 1979. — Vol. 148, N 6. — P. 937—951.
15. Watt B., Geddes P. A., Greenan O. A. et al. // J. clin. Path. — 1982. — Vol. 35. — P. 706—708.
16. Wüst J. // J. Microbiol. — 1977. — Vol. 6, N 6. — P. 586—590.

Поступила 01.11.88

QUANTITATIVE ESTIMATION OF VOLATILE FATTY ACIDS BY MEANS OF GAS CHROMATOGRAPHY IN EXPRESS DIAGNOSIS OF NONCLOSTRIDIAL ANAEROBIC INFECTION

T. I. Mayakova, E. E. Kuznetsova, M. V. Lazareva, G. S. Dolgushina

Institute of Surgery, East Siberian Branch, Siberian Department of the Academy of Sciences of the USSR, Irkutsk

Gas chromatographic procedure was used for quantitative estimation of metabolic [volatile fatty acids (C_2 - C_6)] of anaerobic bacteria in express diagnosis of nonclostridial anaerobic infection in surgical patients with purulent bacterial destruction of lungs and with abdominal impairments as well as in patients with calculous cholecystitis. Only traces of acid metabolites were detected in donor blood. A 10-30-fold increase in their content in blood of patients with surgical and gynecologic sepsis enabled to diagnose the anaerobic form of the disease.

УДК 616.831-008.939.15/455-02:615.917:547.262]-092.9

М. И. Селевич

МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОЛИПИДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ ЭТАНОЛА

Институт биохимии АН БССР, Гродно

В последние годы наблюдается быстрый прогресс в области липидологии мозга. Липиды, содержание которых в нервной ткани наиболее высокое (исключая жировую), всегда вызвали особый интерес исследователей. Многим из них (например, сульфатидам и цереброзидам) свойственны специфические функции (участие в межклеточном взаимодействии, структурообразовании миелиновых мембран, регенерации, старении и др.) в процессах жизнедеятельности нервных и глиальных клеток.

Исследований метаболизма гликолипидов в головном мозге крыс при различных видах алкогольной интоксикации практически нет, а встречающиеся единичные работы по содержанию сульфатидов и цереброзидов при алкоголизации неоднозначны. Так, установлено, что этанол тормозит окисление жирных кислот, увеличивает содержание цереброзидов в головном мозге животных [11]. Другими авторами [10] показано, что у умерших от цирроза печени алкогольной этиологии в богатых миелином (серое и белое вещество) областях мозга, наоборот, понижено содержание цереброзидов. У крыс, получавших на протяжении 6 мес 32 % раствор этанола, в мозжечке обнаружены изменения в уровне сфингофосфолипидов и сульфocereброзидов [14].

Целью настоящего исследования явилось изучение не только содержания гликолипидных фракций в головном мозге крыс при острой и хронической

алкогольной интоксикации, но и включение в них $1,2\text{-}^{14}\text{C}$ -этанола как предшественника в биосинтезе липидов [5]. Отличительной особенностью данного эксперимента является то, что нами проведен анализ включения меченого этанола в составные части гликолипидов (жирные кислоты, сфингозин, галактоза).

Методика

В опыте использовали крыс-самок массой 160—180 г. Острую алкогольную интоксикацию на 1 ч вызывали однократным введением 25 % раствора этанола (внутрижелудочно в дозе 4 г/кг), хроническую — ежедневными инъекциями 25 % концентрации алкоголя (внутрижелудочно в дозе 7 г/кг) в течение 21 дня. В обоих экспериментах за 1 ч до декапитации животным подкожно вводили $1,2\text{-}^{14}\text{C}$ -этанол в дозе 20 мкКи на 100 г массы тела. Избранный срок мечения липидов соответствует ситуации, в которой мы ранее [5] обнаруживали наиболее высокую удельную радиоактивность липидных фракций головного мозга после введения меченого этанола (применяемая доза была такой же, как в настоящем эксперименте). В каждой серии опыта использовано по 16 крыс (8 контрольных и 8 подопытных).

Экстракцию липидов проводили по методу Фолча [9], очистку от нелипидных примесей по описанной методике [4]. Гликолипиды разделяли с помощью ТСХ в системе растворителей хлороформ — метанол — концентрированный аммиак (80 : 20 : 0,4), содержание их определяли по углеводному компоненту и выражали в миллиграммах на 1 г ткани [4]. Удельную радиоактивность подсчитывали в толуольном сцинтилляторе на спектрометре «Mark-II» фирмы «Nuclear Chicago», выражая ее в импульсах на 1 моль галактозы за 1 мин. Для определения включения метки из $1,2\text{-}^{14}\text{C}$ -этанола в составные части гликолипидных фракций (жирные кислоты, сфингозин, галактоза) проводили их жесткий кислотный гидролиз [4].