

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1992

Том 38 выпуск 3

**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*

1992

Volume 38 issue 3

**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>

The most typical alteration of membrane phospholipids in rat tissues in acute hyperthermia was an increase in content of sphingomyelin and phosphatidylinositol. The increase in phosphatidylinositol appears to occur as a result of unspecific effect of hyperthermia on the cells, while the increase of sphingomyelin is apparently important for stabilization of membrane structure. Indirect data were obtained on increase in membrane liquidity during thermic shock.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 616.89-008.441.13-036.12-07: [616.153.915:547.593.261

Е. А. Корнышева, В. В. Аникин, А. В. Каргаполов

## ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ БЫСТРЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ФОСФОИНОЗИТИДОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ АЛКОГОЛИЗМОМ

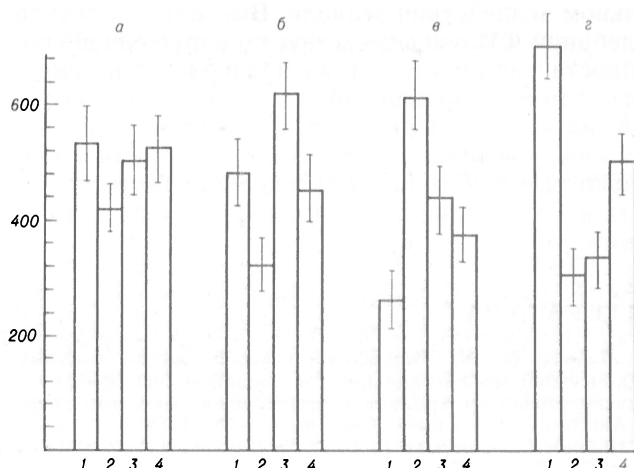
Калининский медицинский институт

В последнее время в литературе появляются сведения об особенностях обмена инозитсодержащих липидов — биорегуляторов биохимических процессов, показаны их изменения при различных воздействиях и патологических состояниях, и в частности при алкогольной интоксикации [2, 3, 5]. Однако имеющиеся данные об уровне фосфоинозитидов (ФИ) в различных тканях при воздействии этанола немногочисленны и противоречивы [6, 10]. Это может быть обусловлено высокой лабильностью этих соединений и методическими трудностями, возникающими при их количественном определении [1, 7]. Поэтому представляло интерес изучить динамику быстрых изменений ФИ непосредственно после взятия крови. Это позволит получить принципиально новую информацию о значении инозитсодержащих липидов в патогенезе алкоголизма.

**Методика.** Уровень ФИ определяли в цельной венозной крови, взятой натощак (через 14 ч после последнего приема пищи) из кубитальной вены в количестве 2 мл. Обследовано 48 мужчин трудоспособного возраста, страдающих хроническим алкоголизмом II стадии [4] на 2-й день после поступления в наркологическое отделение до назначения лечения. Все больные были разделены на 2 группы. В 1-ю группу вошло 10 (20,5 %) больных со сроком злоупотребления алкоголем до 10 лет (в среднем  $7,3 \pm 1,4$  года), во 2-ю — 38 (79,5 %) больных, злоупотреблявших алкоголем более 10 лет (в среднем  $15,2 \pm 2,3$  года). Сопутствующая патология исключалась при клинико-функциональном обследовании, включавшем вело- и эхокардиографическое исследование. Контрольную группу составили 12 здоровых мужчин аналогичного возраста, отрицающих систематическое употребление алкоголя.

Экстракцию липидов проводили по методу [8]. Для изучения динамики быстрых изменений ФИ кровь из общей пробирки переносили дозатором в количествах по 0,5 мл через 30, 60, 90 и 120 с в 4 пробирки, содержащие смесь растворителей. Содержимое отфильтровывали и к полученному фильтрату добавляли 0,02 % раствор хлористого кальция. После образования двух фаз верхний слой отсасывали, а оставшийся липидный экстракт упаривали досуха в токе азота и растворяли в смеси хлороформ — метанол (2:1).

Фракционирование липидов проводили методом проточной тонкослойной хроматографии [11]. В качестве адсорбента использовали силикагель с добавлением соли  $K_2CO_3$ , присутствие которой в слоях силикагеля обеспечивало более четкое и полное выделение фракции ФИ. Время хроматографирования составляло 50—60 мин в системе хлороформ — метанол — аммиак (13:7:1). При этом исследуемая фракция ФИ ( $R_f=0,44$ ) четко отделилась от расположенных рядом фракций фосфатидилсерина ( $R_f=0,59$ ) и фосфатидилхоли-



Динамика быстрых изменений ФИ крови (в мкмоль Р/л крови) у здоровых лиц и больных хроническим алкоголизмом.

а — ФИ в крови здоровых лиц; б — ФИ в крови больных 1-й группы; в, г — ФИ в крови больных 2-й группы (соответственно в подгруппах с различным исходным уровнем липида). 1—4 — содержание ФИ в крови соответственно через 30, 60, 90 и 120 с после забора крови.

на ( $R_f=0,34$ ). ФИ идентифицировали при помощи свидетеля ФИ фирмы «Сигма». Хроматограммы после высушивания сжигали непосредственно над хромовой смесью при  $200^\circ\text{C}$ . Количественное определение ФИ проводилось при помощи денситометрии. Результаты обработаны статистически с помощью критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Проведенные исследования показали, что как в исследуемой, так и в контрольной группе существует динамика быстрых изменений ФИ крови (см. рисунок), причем характер изменений при хроническом алкоголизме отличается от такового у здоровых лиц. Так, в контрольной группе динамика характеризовалась тем, что к концу 1-й минуты отмечалось снижение уровня ФИ в 1,26 раза и уже через 120 с уровень липида возвращался к исходному. В отличие от контроля у больных алкоголизмом 1-й группы к концу 1-й минуты отмечалось более существенное ( $p<0,05$ ) снижение уровня ФИ — в 1,48 раза. Затем в последующий временной интервал количество ФИ возрастало в 1,87 раза и лишь к концу 3-й минуты возвращалось к исходному уровню. При этом амплитуда колебаний содержания ФИ крови составила  $265 \pm 58$  мкмоль Р/л крови. Исходный уровень в этой группе существенно не отличался от контроля. Больные 2-й группы характеризовались еще большей ( $p<0,01$ ) амплитудой колебаний ФИ крови, которая составила  $343 \pm 61$  мкмоль Р/л. При этом к концу 1-й минуты уровень липида менялся в 2,3 раза. К концу 3-й минуты отмечалась тенденция к возвращению уровня ФИ к исходному, но без достижения последнего. Следует отметить, что в этой группе больных возможно выделение двух подгрупп — с низким и высоким исходными уровнями ФИ (25 и 13 больных соответственно).

Таким образом, в результате проведенной работы показано, что при алкоголизме изменяется обмен инозитсодержащих липидов — важнейших биорегуляторов организма, что согласуется с литературными данными [3, 9]. Получена принципиально новая информация, касающаяся динамики быстрых изменений ФИ крови при дли-

тельном воздействии этанола. Высокая амплитуда колебаний ФИ свидетельствует о нарушенной способности систем организма поддерживать гомеостаз данных соединений в условиях исследуемой патологии. При этом отмечается корреляция между величиной амплитуды колебаний и длительностью алкогольной интоксикации, что может быть использовано в диагностике тяжести алкоголизма.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мацуль В. М. Разработка способа оценки быстрых изменений фосфатидилинозитов биологических мембран с использованием проточной тонкослойной хроматографии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1988.
2. Набиев А., Баширова Н. С. // Мед. журн. Узбекистана. — 1987. — № 9. — С. 61—63.
3. Островский Ю. М., Сотановская В. И., Островский С. Ю. Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя. — Минск, 1988.
4. Портнов А. А., Пятницкая И. И. Клиника алкоголизма. — М., 1973.
5. Швец В. И., Степанов А. Е., Крылова В. П., Гулак П. В. Миоинозит и фосфоинозитиды. — М., 1987.
6. Aloia R. C., Paxton J., Daviai J. S. // Life Sci. — 1985. — Vol. 36, N 10. — P. 1003—1017.
7. Berridge M. J., Danson R., Downes R. P. et al. // Biochem. J. — 1983. — Vol. 212, N 2. — P. 473—482.
8. Bligh E. C., Dyer W. J. // Canad. J. Biochem. Physiol. — 1959. — Vol. 37. — P. 911—917.
9. Gandhi G. R., Ross D. H. // Experientia (Basel). — 1989. — Vol. 45, N 5. — P. 407—413.
10. Magruder J. D., Waid-Jones M., Reitj R. C. // Molec. Pharmacol. — 1985. — Vol. 27, N 2. — P. 256—262.

Поступила 25.08.90

## TIME-COURSE OF RAPID CHANGES IN PHOSPHOINOSITIDE CONTENT IN BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC ALCOHOLISM

E. A. Kornysheva, V. V. Anikin, A. V. Kargapolov

Medical Institute, Tver

The time-course of rapid changes in blood phosphoinositide content was studied in 48 patients with Stage II chronic alcoholism of and in healthy volunteers. Content of phosphoinositides was estimated within short intervals 30, 60, 120 and 180 sec after the samples were obtained. In the blood of the patients with alcoholism as compared with healthy volunteers the time-course of rapid changes in phosphoinositide content exhibited a higher amplitude and failed to return to the initial level within 3 min. Alterations in content of the phospholipid correlated with duration of alcohol abuse. The data obtained suggest that homeostasis of main biochemical regulators is impaired after alcohol consumption.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 616.36-008.931-02:615.357]-07

Ю. И. Губский, Е. Л. Левицкий, В. А. Жила, А. Я. Литошенко

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ФРАКЦИОНИРОВАННОГО ХРОМАТИНА ПЕЧЕНИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

Институт фармакологии и токсикологии Минздрава УССР, Институт геронтологии АМН СССР, Киев

Свободнорадикальное повреждение ядерного хроматина является молекулярной основой модификации структуры и изменения функциональной активности генетического аппарата клетки при различных повреждающих воздействиях, в том

числе при действии на организм ксенобиотиков. Классический мембранотоксический агент тетрахлорметан оказывает повреждающее действие на липидную матрицу гепатоцитов, а также вызывает при отравлении резко выраженные изменения структурно-функционального состояния ядерного хроматина печени [4]. Одним из механизмов повреждения хроматина при отравлении тетрахлорметаном может быть стимуляция процессов перекисного окисления липидов хроматина [5]. При этом фракция транскрипционно активного хроматина в гораздо большей степени подвержена повреждающему действию тетрахлорметана по сравнению с фракцией репрессированного хроматина [6]. Не исключено, что различия в повреждаемости фракций хроматина при отравлении тетрахлорметаном могут быть обусловлены как неодинаковой величиной связывания этого ксенобиотика фракциями хроматина, так и различной степенью свободнорадикального повреждения ДНК этих фракций вследствие количественных и качественных различий в их липидном составе [7]. Проверке этих предположений и посвящена настоящая работа.

Методика. В работе использовали крыс-самок линии Вистар в возрасте 3 мес массой 100—150 г. Тетрахлорметан вводили внутривенно в дозе 2 мл/кг массы тела, что соответствует ЛД<sub>50</sub> для данной популяции животных. Животных декапитировали под легким эфирным наркозом. В некоторых экспериментах животным в течение 3 сут вводили по 80 мг/кг массы тела фенobarбитала натрия («Merck», ФРГ) — 3 введения. Фракции хроматина, различающиеся по степени транскрипционной активности, получали по методу [13]. Для исследования величины связывания тетрахлорметана различающихся по транскрипционной активности фракций хроматина животным вводили меченый <sup>14</sup>CCl<sub>4</sub> («Изотоп», СССР, мол. активность 95 ГБк/моль), разведенный немеченым тетрахлорметаном (20 мБк в 2,5 мл CCl<sub>4</sub>), в токсической дозе. В опытах по связыванию меченого тетрахлорметана с фракциями хроматина *in vitro* хроматин (40 мкл, 2—5 мг белка/мл) или ДНК тимуса теленка (1,5 мг/мл) инкубировали с <sup>14</sup>CCl<sub>4</sub> (конечная концентрация 0,1 М) в течение 2 ч при 37 °С, после чего наносили на полоски бумаги ватман-3 мм, которые обрабатывали, как описано ранее [10]. Эндогенную ДНК-полимеразную активность фракций хроматина определяли, как описано в [6]. О структурном состоянии ДНК фракций хроматина судили на основании ее чувствительности к ограниченному нуклеолитическому расщеплению ДНКазой I («Serva», ФРГ), S<sub>1</sub>-нуклеазой («Sigma», США), а также эндогенными нуклеазами хроматина. ДНК хроматина метили <sup>3</sup>H-тимидином («Изотоп», СССР, мол. активность

Таблица 1  
Связывание <sup>14</sup>CCl<sub>4</sub> с чистой ДНК и фракциями хроматина

Условия эксперимента	Величина связывания, расп/мин на 1 мг	
	белка	ДНК
In vitro:		
PX	5871	7302
TAX	2875	30 057*
ДНК тимуса теленка	—	0*
In vivo:		
контроль		
PX	23	31
TAX	32	661*
фенobarбитал		
PX	30	51
TAX	27	300*

Примечание. Здесь и в табл. 2—4: PX — репрессированный хроматин; TAX — транскрипционно активный хроматин. Звездочка —  $p < 0,01$  по сравнению с PX. Представлены средние данные 3 опытов.