

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)

20. Herold P., Kinsella J. // Amer. J. clin. Nutr. — 1986. — Vol. 43. — P. 566—598.
21. Kennedy E. // Fed. Proc. — 1961. — Vol. 20. — P. 934—940.
22. Laurell C. // Scand. J. clin. Lab. Invest. — 1972. — Vol. 9. — P. 21—37.
23. Lossoney T., Ruiter J., Bionsgeest-Shoule H. et al. // Amer. J. clin. Nutr. — 1978. — Vol. 31. — P. 1340—1346.
24. Lyman R., Hopkins S., Sheehan G. et al. // Biochim. biophys. Acta. — 1968. — Vol. 152. — P. 197—207.
25. Manual of Laboratory Operation Lipid Research Program. — Washington, 1974.
26. Muto J., Yibson D. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1970. — Vol. 38. — P. 9—15.
27. Nestel P. // Atherosclerosis VII. — New York, 1986. — P. 647—651.
28. Nestel P., Connor W., Reardon M. et al. // J. clin. Invest. — 1984. — Vol. 74. — P. 82—89.
29. Nickols A., Blanche P., Gong E. // High Density Lipoprotein Methodology Workshop. — Bethesda, 1979. — P. 303—309.
30. Nossen J., Rustan A., Gloppstad S. et al. // Biochim. biophys. Acta. — 1986. — Vol. 879. — P. 56—65.
31. Park C., Marrai E., Meakeryca S. // Ibid. — 1972. — Vol. 270. — P. 50—57.
32. Renooij W., Golde V. // Ibid. — 1977. — Vol. 470. — P. 465—474.
33. Shinitzky M., Barenholz J. // J. biol. Chem. — 1974. — Vol. 249. — P. 2952—2657.
34. Shohet S. // Lipid Metabolism in Mammals. / Ed. F. Snyder. — New York, 1977. — Vol. 1. — P. 189—208.
35. Singer P., Wirth M., Voigt S. et al. // Atherosclerosis. — 1985. — Vol. 56. — P. 223—235.
36. Sun J., Tepperman H., Tepperman J. // J. Nutr. — 1979. — Vol. 109. — P. 192—202.
37. Tahin A., Blum M., Carafoly E. // Europ. J. Biochem. — 1981. — Vol. 121. — P. 5—13.
38. Vaskovsky V., Kostetsky E., Vasendin J. // J. Chromatogr. — 1975. — Vol. 144. — P. 129—144.

Поступила 20.12.88

ANALYSIS OF LIPID-PROTEIN SPECTRUM IN LIPOPROTEINS AND FATTY ACID COMPOSITION OF LIPIDS IN BLOOD PLASMA AND ERYTHROCYTES OF CHUCKCHEE LAND INHABITANTS AND MOSCOWITES

E. N. Gerasimova, M. M. Levachev, I. N. Ozerova, V. A. Polesky, I. A. Scherbakova, V. A. Metel'skaya, S. N. Kulakova, T. I. Astakhova, Yu. P. Nikitin, N. V. Perova

All-Union Cardiological Research Centre, Institute of Nutrition, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow, Institute of Therapy, Siberian Branch of the Academy of Medical Sciences of the USSR, Novosibirsk

A lower content of total cholesterol, triglycerides, cholesterol of low density lipoproteins (LDL) and apo B as well as a higher content of cholesterol in high density lipoproteins (HDL) were found in coast and continental Chuckchee land inhabitants as compared with moscowites, which are dissimilar in consumption of polyunsaturated fatty acids n-3. At the same time, the lower content of total cholesterol, LDL cholesterol and higher concentration of HDL cholesterol were detected in blood plasma of coast inhabitants as compared with continental residents of the Chuckchee land, while content of apo B and triglycerides was similar. Concentration of apoA-I was the same in all three groups of the persons examined. The diet of coast Chuckchee land inhabitants, involving the higher level of unsaturated fatty acids n-3, resulted in the higher ratio between HDL cholesterol and apoA-I, in the higher part of unsaturated fatty acids n-3 in blood plasma lipids (phospholipids and cholesterol esters) and erythrocytes; it led to a relative increase of sphingomyelin and phosphatidyl-ethanolamine and to a decrease of phosphatidylcholine in HDL subfractions. The data obtained suggest that the diet, enriched with polyunsaturated fatty acids n-3, exhibited the generalized effect on fatty acid composition of a number of cell membranes and, hence, on their functions.

УДК 616.65-008.939.624-074

А. А. Николаев, Н. И. Аншакова, А. Л. Ильков, С. А. Алтухов

ИММУНОХИМИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОСТАТИЧЕСКОГО БЕТА-ГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА

Медицинский институт, Астрахань

Органоспецифический белок предстательной железы человека — простатический бета-глобулин (ПБГ) — был описан в 1980 г. [4]. К настоящему времени выяснена динамика изменения уровня ПБГ в опухолях предстательной железы [2, 6] и при нарушениях сперматогенеза [1]. Исследования показали ценность определения ПБГ для диагностики назван-

ных состояний, а также важность изучения этого белка для понимания процессов, обеспечивающих оплодотворение. В связи с этим изучение физико-химических и иммунохимических свойств ПБГ позволит разрабатывать эффективные способы очистки и высокочувствительные виды определения этого белка.

Методика

В работе использованы водно-солевые экстракты предстательной железы человека, печени, почки, селезенки, мозга, легкого, сердца, надпочечника, слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, яичка, поджелудочной и щитовидной желез, тимуса, слизистой оболочки мочевого пузыря, матки, яичников, кожи, семенных пузырьков лиц, погибших от случайных причин, а также плаценты человека. Кроме того, использовано 96 образцов семенной плазмы и 39 образцов простатического сока.

Для качественного и количественного определения ПБГ, выделения, очистки и анализа его препаратов применяли методы иммунодиффузии, иммуноэлектрофореза, ракетного иммуноэлектрофореза, гель-фильтрации на сефадексе G-200 и G-75, ионообменной хроматографии на DEAE-сефадексе А-50 и CM-сефадексе С-50, изоэлектрическое фокусирование в ПААГ, содержащем амфолины, гидрофобной хроматографии на фенил-сефарозе CL 4B, а также некоторые другие препаративные и аналитические методы химии белков. Количество ПБГ определяли методом ракетного иммуноэлектрофореза в агарозе L (LKB), содержащей 10 % моноспецифической антисыворотки к ПБГ. Концентрацию белка рассчитывали по калитровочной кривой, полученной путем титрования очищенного препарата ПБГ в каждом опыте ракетного иммуноэлектрофореза.

Выделяли и очищали ПБГ по разработанному нами способу. Экстракт предстательной железы человека готовили на трис-HCl-буфере pH 7,2. После центрифугирования при 6000 об/мин в течение 40—60 мин надосадочную жидкость сменяли с DEAE-сефадексом А-50 из расчета 1 г сухого сефадекса на 70 мл экстракта. При этих условиях ПБГ не связывается с анионообменником. В оставшийся после отделения сефадекса раствор добавляли сухой сульфат аммония до 2 М. Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием, растворяли в трис-HCl-буфере pH 7,2 и диализовали против того же буфера 8—12 ч при +4 °С. Затем ПБГ осаждали из раствора полиэтиленгликолем с молекулярной массой 6000 при конечной концентрации 20 %. Полу-

ченный осадок растворяли в минимальном объеме и наносили на колонку с сефадексом G-75. Хроматографические фракции, содержащие ПБГ, сливали и лиофилизировали. Очистку ПБГ контролировали методами высокоэффективной хроматографии и электрофореза в ПААГ (рис. 1, 2, см. вклейку). Высокоэффективную хроматографию проводили на обращеннофазном носителе в 0,1 % ТФУ с градиентом концентрации ацетонитрила. ПБГ элюируется с колонки при 50—52 % ацетонитрила. Интегрирование хроматограмм дает чистоту препарата ПБГ около 94 %.

Моноспецифическую антисыворотку к ПБГ получали иммунизацией кроликов очищенным препаратом путем многократных внутримышечных и подкожных инъекций.

Результаты и обсуждение

Исследование иммунохимических свойств ПБГ начато с выяснения специфичности этого белка как антигена для различных тканей и жидкостей организма. Ранее доказана органная специфичность ПБГ методом иммунодиффузионного титрования [4]. Чувствительность этого метода для ПБГ — около 3 мкг/мл. Мы исследовали органную специфичность ПБГ на более высоком уровне чувствительности без снижения специфичности обнаружения белка. Такую возможность предоставляет вариант метода ракетного иммуноэлектрофореза с промежуточным гелем, содержащим испытуемый антиген, который принято называть линейно-ракетным иммуноэлектрофорезом [3]. По нашим данным, этим методом удается обнаружить ПБГ в концентрации около 0,1 мкг/мл при объеме нанесения 20 мкл. Увеличение объема нанесенного образца до 60 мкл повышает чувствительность метода до 0,033 мкг/мл. Подобную чувствительность мы принимали в расчет при оценке результатов определения органной специфичности ПБГ. На рис. 3 показаны результаты определения ПБГ методом линейно-ракетного иммуноэлектрофореза. На основе испытания не менее 23 индивидуальных экстрактов печени, почки, селезенки, легкого, мозга, слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, яичка, кожи, матки, надпочечника, слизистой оболочки мочевого пузыря, яичников, тимуса, поджелудочной железы, щитовидной железы, миокарда, а также образцов мочи, слюны можно заключить, что ПБГ не содержится в названных органах в концентрации выше 0,033 мкг/мл.

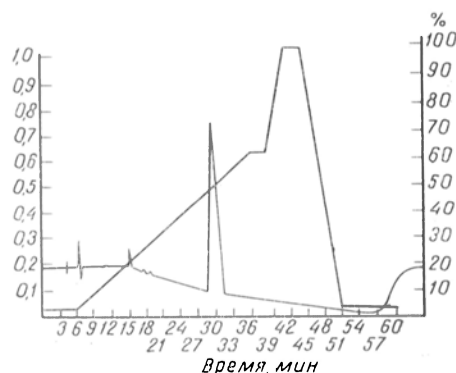


Рис. 1. Высокоэффективная хроматография препарата ПБГ.

Колонка Nucleosil 30C18 (4,6×115 мм, 10 м). По оси ординат: справа — градиент концентрации ацетонитрила в 0,1 % ТФУ, слева — оптическая плотность.

К ст. *Николаева* и соавт.

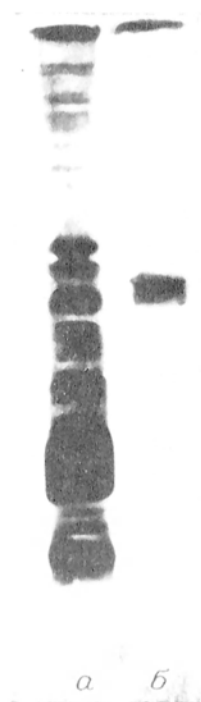


Рис. 2. Электрофорез ПБГ в 7 % ПААГ.
а — образец экстракта предстательной железы;
б — очищенный препарат ПБГ.

К ст. *Никулиной* и соавт.



Рис. 3. Выявление флюоресцентного свечения в гепатоцитах при инкубации клеточных культур с липосомами, нагруженными флюоресцентным метчиком FITC, пришитым к высокомолекулярному носителю — декстрану (об. 70, ок. 5).

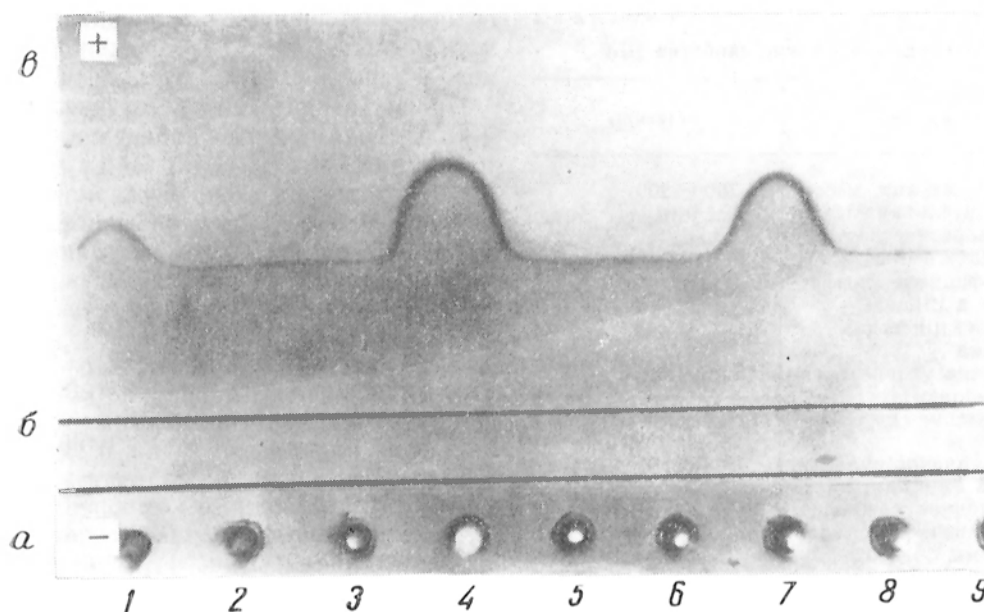


Рис. 3. Ракетно-линейный иммуноэлектрофорез ПБГ.

1 — экстракт предстательной железы человека; 2 — экстракт печени человека; 3 — экстракт почки; 4 — простатический сок; 5 — экстракт слизистой оболочки мочевого пузыря; 6 — экстракт яичка; 7 — семенная плазма; 8 — экстракт мозга; 9 — экстракт семенных пузырьков. а — 1 % гель агарозы L, буфер веронал-медпикаловый, pH 8,9; б — гель А, содержащий 10 мкг/мл чистого препарата ПБГ; в — гель А, содержащий 10 % моноспецифической антисыворотки к ПБГ.

Все 96 образцов семенной плазмы и 39 образцов простатического сока, а также 37 экстрактов предстательной железы взрослых мужчин содержали ПБГ.

Эти данные свидетельствуют о высокой степени органной специфичности ПБГ. Строгая органная специфичность этого белка может быть расценена как наличие у этого белка специфической функции в системе обеспечения жизнеспособности сперматозоидов или в акте оплодотворения.

Выяснив высокую степень органной специфичности ПБГ, мы провели изучение иммунохимических и физико-химических свойств препарата ПБГ, полученного из ткани простаты. При гель-фильтрации на сефадексе G-200 была рассчитана молекулярная масса ПБГ. Расчет проводили по калибровочной кривой, построенной на основе хроматографии белков с известной молекулярной массой — гемоглобин лошади («Serva»), пероксидаза («Serva»), овальбумин («Реахим»), сывороточный альбумин («Реанал»). Молекулярная масса ПБГ в нативном экстракте составила $32\,900 \pm 2400$, а чистого ПБГ — $31\,700 \pm 2200$. Очевидно, что эти различия обусловлены погрешностью измерения и молекулярная масса

ПБГ в процессе очистки не изменяется.

Изоэлектрическую точку измеряли методом изоэлектрического фокусирования в трубках ПААГ [5], содержащих амфолины (LKB) с диапазоном pH 3,0—10,0. Для чистого препарата ПБГ изоэлектрическая точка оказалась равной 7,2. Определение изоэлектрической точки ПБГ в составе экстракта простаты путем иммунохимического тестирования участков разрезанного столбика ПААГ показало наличие ПБГ в зоне pH 7,0—7,4.

Хроматография экстракта предстательной железы на фенол-сефарозе CL-4B показала, что ПБГ обладает высокой гидрофобностью. Подтверждением этого являются данные обращеннофазной хроматографии на силиосорбах C_8 и C_2 («Хемапол»). На первом из этих носителей ПБГ сорбируется необратимо, а со второго элюируется при концентрации этанола 20—25 % или ацетонитрила 35—40 %. Описанные выше и некоторые другие свойства ПБГ приведены в табл. 1.

В процессе исследования физико-химических и иммунохимических свойств ПБГ мы обратили внимание на некоторое расхождение в свойствах очищенного препарата ПБГ и нативного белка в составе тканевого экстракта. Так,

Т а б л и ц а 1
Физико-химические свойства ПБГ

Свойства	Результат
Молекулярная масса	31 700±2200
Относительная электрофоретическая подвижность	0,42±0,01
Коэффициент диффузии в агарозе	1,42·10 ⁻⁷ см ² ·с ⁻¹
Изоэлектрическая точка	7,2
Наличие углеводного компонента	Присутствует
Отношение к температуре	Устойчив при 80 °С в течение 30 мин
Высаливание сульфатом аммония:	
полное осаждение	50 % насыщение
диапазон осаждения	30—50 % насыщение
Осаждение 30 % ацетоном	Не осаждается
Осаждение 50 % этанолом	То же
Осаждение 0,4 % раствором риванола	То же
Ферментативная активность:	
фосфатазная	Отсутствует
эстеразная	»
протеазная	»

сравнивая иммуноэлектрофореграммы экстракта предстательной железы человека и чистого ПБГ, мы обнаружили, что очищенный препарат ПБГ движется в электрическом поле быстрее, чем тот же белок в составе экстракта предстательной железы. Дуга преципитации, образованная нативным ПБГ, несимметрична и сильно вытянута в анодной части. Электрофоретическая подвижность этого белка в составе экстракта предстательной железы, вычисленная по вершине основной части дуги, составляет $0,37 \pm 0,01$ (за 1 принимали подвижность альбумина человека). Электрофоретическая подвижность чистого препарата ПБГ равна $0,42 \pm 0,01$. Дуга преципитации симметричная, равномерно выгнутая (табл. 2).

Мы предположили две причины изменения заряда ПБГ в процессе очистки. Во-первых, могла произойти частичная деградация молекулы ПБГ, не изменяющая его антигенных свойств, но приводящая к сдвигу физико-химических характеристик. Во-вторых, можно считать вероятным и то, что молекула белка в процессе очистки не повреждалась, но потеряла свое естест-

венное микроокружение в виде низкомолекулярных лигандов, связанных нековалентными взаимодействиями.

Против первого предположения свидетельствуют данные определения молекулярной массы ПБГ. Нами не выявлено различий в молекулярной массе чистого препарата и нативного белка в составе исходного экстракта.

Более вероятной нам представляется вторая версия. Для ее подтверждения были проведены дальнейшие исследования. Показано (рис. 4), что обработка ПБГ нейраминидазой («Serva») приводит к уменьшению электрофоретической подвижности до $0,33 \pm 0,02$. Это свидетельствует о наличии в молекуле ПБГ углеводного компонента, несущего концевую нейраминовую или сиаловую кислоту.

Было изучено действие на электрофоретическую подвижность ПБГ некоторых полисахаридов. Показано, что гиалуроновая кислота не влияла на электрофоретическую подвижность ПБГ. Гепарин увеличивает электрофоретическую подвижность до $0,47 \pm 0,02$, а декстрансульфат тормозит до $0,30 \pm 0,02$. Наблюдаемый эффект может быть вызван снижением суммарного отрицательного заряда декстрансульфата при взаимодействии с ПБГ и большой инертностью образующегося комплекса. Масса молекулы декстрансульфата достигает 2 000 000 и, следовательно, на его поверхности может

Т а б л и ц а 2
Изменение относительной электрофоретической подвижности ПБГ под влиянием некоторых факторов

Исследуемый образец	Относительная электрофоретическая подвижность по альбумину человека
Нативный экстракт простаты	$0,37 \pm 0,01$
Очищенный препарат ПБГ	$0,42 \pm 0,01$
Очищенный препарат ПБГ после обработки нейраминидазой	$0,33 \pm 0,02$
Нативный экстракт простаты, содержащий 1 ммоль гепарина (2 г на 100 мг)	$0,47 \pm 0,02$
Экстракт простаты, содержащий 2 % декстрансульфата	$0,3 \pm 0,02$
Экстракт простаты, содержащий 3 ммоль сульфата цинка	$0,29 \pm 0,03$
Экстракт простаты после диализа против 0,1 М раствора цитрата натрия	$0,42 \pm 0,02$

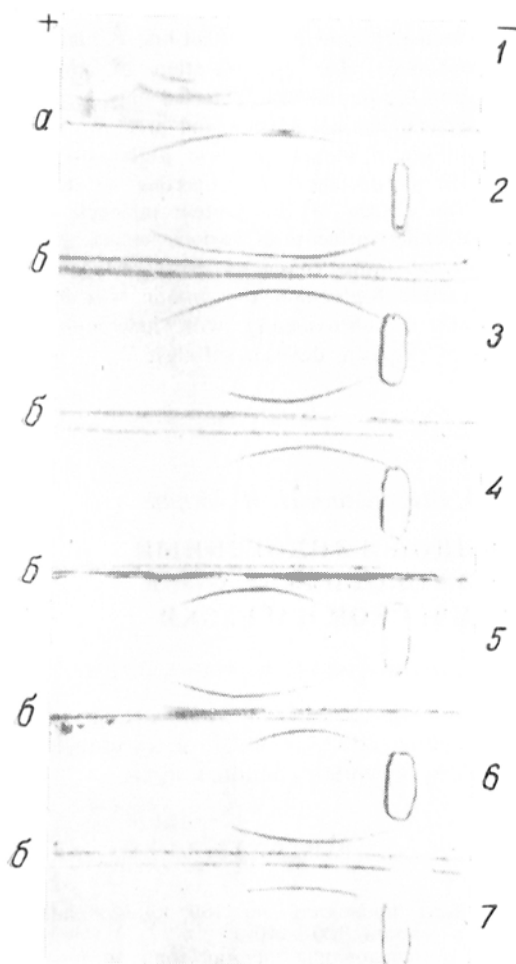


Рис. 4. Иммуноэлектрофорез ПБГ.

1 % агароза L, буфер веронал-мединаловый, pH 8,9. 1 — сыворотка крови; 2 — экстракт предстательной железы; 3 — очищенный препарат ПБГ; 4 — препарат ПБГ после обработки нейраминидазой; 5 — препарат ПБГ, содержащий гепарин; 6 — препарат ПБГ, содержащий декстрансульфат; 7 — препарат ПБГ, содержащий ионы цинка. а — кроличья антисыворотка к белкам сыворотки крови человека. б — моноспецифическая кроличья антисыворотка к ПБГ.

связываться несколько молекул ПБГ, которые несут, вероятно, большое количество положительных зарядов. Ускорение комплекса ПБГ — гепарин также свидетельствует о высокой плотности положительных зарядов на ПБГ. Так как масса гепарина невелика (16 000—20 000), то в этом случае преобладает эффект нейтрализации положительных зарядов ПБГ сульфогруппами гепарина. Другими словами, в случае обработки ПБГ гепарином комплекс образуется в результате сорбции нескольких молекул гепарина на одну молекулу ПБГ, а в случае декстрансульфата, наоборот, несколько молекул

ПБГ связываются с одной молекулой декстрансульфата.

Выяснив наличие высокого положительного заряда на поверхности ПБГ, мы попытались определить его природу. Известно, что простата — самый богатый цинком орган человеческого организма. Поэтому представляет интерес отношение цинка к ПБГ. Возможность связывания цинка ПБГ оценивали двумя путями. Во-первых, показано, что добавление ионов цинка в экстракт простаты в 10-кратном молярном избытке по отношению к ПБГ (концентрация ПБГ в экстракте около 0,3 мМ) приводило к уменьшению подвижности ПБГ до $0,29 \pm 0,03$. Аналогичные изменения наблюдались и с чистым препаратом ПБГ. Другое подтверждение вероятности связывания иона двухвалентного металла — диализ против 0,1 М раствора цитрата натрия. Эта процедура приводит к повышению электрофоретической подвижности ПБГ до $0,42 \pm 0,02$.

Таким образом, с помощью иммуноэлектрофоретического анализа удалось показать, что молекула ПБГ содержит небольшой углеводный компонент и способна к нековалентному взаимодействию с гетерополисахаридами (гепарин, декстрансульфат). Эти взаимодействия носят, видимо, ионный характер и обусловлены наличием высокого положительного заряда на поверхности молекулы ПБГ. Часть этого положительного заряда может быть образована ионами цинка. Обладая высокой гидрофобностью, молекула ПБГ может нести в нативном состоянии на своей поверхности ряд низкомолекулярных лигандов, которые теряет в процессе очистки. Выяснение характера этих лигандов и детальное изучение микроокружения ПБГ может способствовать выяснению его физиологической роли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аншакова Н. И., Афанасьева А. В., Рассказов Н. И., Николаев А. А. // Вестн. дерматол. — 1982. — № 3. — С. 59—63.
2. Аншакова Н. И., Мельман Н. М., Николаев А. А., Антонов Н. М. Способ диагностики опухолей простаты. А. с. 1169212 СССР.
3. Березин В. А., Шевцова А. И., Сегал И. В. // Биохимия. — 1984. — Т. 49. — № 5. — С. 742—748.
4. Николаев А. А., Афанасьева А. В., Хайруллин Ю. Х. // Бюл. экспер. биол. — 1980. — № 11. — С. 583—586.

5. *Остерман Л. А.* Исследование биологических макромолекул электрофокусированием иммунофорезом и радиоизотопными методами. — М., 1983. — С. 38—42.
6. *Afanasyeva A. V., Nikolaev A. A., Khayrulin J. K.* // Embryonic Antigen in Cancer. — Tallin, 1980. — P. 96.

Поступила 06.12.88

IMMUNOCHEMICAL AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF HUMAN PROSTATE BETA-GLOBULIN

A. A. Nikolaev, N. I. Anshakova, A. L. Ilkov, S. A. Allukhova

Medical School, Astrakhan

Distribution of prostate β -globulin in tissues was studied by means of rocket-linear immunoelectrophoresis. The concentration of protein, exceeding 0.1 $\mu\text{g/ml}$, was detected only in prostate extracts, seminal plasma and prostatic fluid. Purification of human prostate β -globulin and its main physico-chemical properties are described. The charge of the protein molecule was altered under influence of various factors. A minor carbohydrate component was detected in the prostate β -globulin; the protein was found to interact noncovalently with heteropolysaccharides (heparin, dextran sulfate).

УДК 616.74-005.4-02:617-001]-092:612.592]-07:616.74-008.939.15-074-092.9

Ю. П. Литвин, А. И. Дворецкий, А. М. Шаинская, Н. И. Мороз

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ЭНДОГЕННЫЙ ФОСФОЛИПАЗНЫЙ ГИДРОЛИЗ В УСЛОВИЯХ ТРАВМЫ И ДОЗИРОВАННОЙ ГИПОТЕРМИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

НИИ биологии Днепронетровского университета; Днепронетровский медицинский институт

Показана ведущая роль перекисного окисления липидов (ПОЛ) и эндогенного фосфолипазного гидролиза (ФЛГ) при повреждениях клетки [6, 7, 13]. Процесс ПОЛ имеет патогенетическое значение и при различных травмах конечностей с ишемией тканей и угрозой их жизнеспособности [8, 11].

Не исключено, что определенное место в патогенезе ишемии мышц, вызванной механической травмой, занимает изменение активности эндогенных фосфолипаз. Однако участие процессов ПОЛ и ФЛГ и их взаимодействие в развитии температурной реакции травмированных и неповрежденных тканей конечностей в условиях применения кратковременной дозированной тестовой холодовой нагрузки для диагностики ишемии остаются неясными.

Кинетические закономерности развития ПОЛ и ФЛГ в условиях нарушения кровоснабжения мышц в первые часы после травмы и холодового воздействия изучены недостаточно. Между тем можно полагать, что анализ состояния динамики этих процессов (ПОЛ и ФЛГ) и вызванных их продуктами структурно-функциональных нарушений в мембранах клеток может явиться одним из способов прогноза жизнеспособности тканей [2, 3, 14].

Мы изучали влияние локальной холодовой нагрузки на интенсивность

процессов ПОЛ и ФЛГ в здоровых и травмированных мышцах крыс.

Методика

Опыты проводили на 180 крысах линии Вистар массой 120—140 г.

Для исследования ишемии травмированных конечностей использовали операцию по моделированию травматической ишемии [16] в нашей модификации (в отличие от оригинальной модели пересекали мышцы и сосуды вокруг бедренной кости). Оперированных крыс помещали в специальный станок из пластмассы поливик, что позволяло хорошо фиксировать животное. Травму наносили под наркозом (оксibuтират натрия). Станок с крысой помещали в камеру с температурой —10—12 °С таким образом, чтобы в камере находились только нижние конечности (здоровая и травмированная). Одновременно охлаждали конечности 3 животных. Температуру регистрировали подкожно на уровне обеих бедер. В травмированной конечности температура снижалась до 17—15 °С и сохранялась в таких пределах в течение 30 мин. Затем охлаждение прекращали, животных, находившихся в паркетизированном состоянии, деканитировали; мышцы бедра поврежденной и здоровой конечности брали для биохимических исследований. Животных другой группы травмировали аналогично, охлаждали в течение 30 мин, извлекали из холодильника, отогревали при комнатной температуре 20—22 °С и через 30 мин также деканитировали для взятия материала. Аналогично моделировали травму и в третьей группе животных, однако их не охлаждали, а мышцы брали через 30 и 60 мин.

Об интенсивности ПОЛ в мышечной ткани судили по накопленному малонового диаль-