

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)

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 Днепропетровского университета; Днепропетровский 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 парктонизированном 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-

Интенсивность ПОЛ (в наномолях МДА на 1 мг белка) в мышцах крыс с травмой конечности в условиях дозированной холодовой нагрузки ($M \pm m$; $n = 8 - 12$)

Группа	Аскорбатзависимое ПОЛ		НАДФ·Н*-зависимое ПОЛ	
	без гипотермии	с гипотермией	без гипотермии	с гипотермией
Контрольная <i>p</i>	$1,956 \pm 0,016$ $\leq 0,05$	$1,626 \pm 0,012^*$ $\leq 0,05$	$0,857 \pm 0,009$ $\leq 0,05$	$0,752 \pm 0,007^*$ $\leq 0,05$
Опытная: контралатеральная конечность <i>p</i>	$1,992 \pm 0,054$ $\leq 0,05$	$1,632 \pm 0,036^{**}$ $\leq 0,05$	$0,798 \pm 0,013$ $\leq 0,05$	$0,759 \pm 0,024$ $\leq 0,05$
травмированная конечность <i>p</i>	$2,302 \pm 0,072$ $\leq 0,05$	$1,697 \pm 0,048^{**}$ $\leq 0,05$	$0,820 \pm 0,018^*$ $\leq 0,05$	$0,872 \pm 0,038^{**}$ $\leq 0,05$

* Достоверные изменения по отношению к контрольной группе.

** Достоверные изменения по отношению к контралатеральной конечности без гипотермии.

дегида (МДА) при инкубации гомогенатов в присутствии аскорбата и НАДФ·Н.

Гомогенизацию ткани проводили в стеклянном гомогенизаторе Поттера стеклянным пестиком при 0°C в течение 5 мин при 1500—2000 об/мин. В качестве среды гомогенизации использовали 40 мМ трис-НСI-буфер pH 7,4, в соотношении 1:9. В зависимости от целей эксперимента в среду инкубации добавляли по 0,3 мл аскорбата (0,8 мМ) и НАДФ·Н (1 мМ). Количество вносимого в инкубационную среду белка составляло 2,71 мг.

По методу, описанному ранее [6], измеряли содержание МДА в наномолях на 1 мг белка, определенного по методу [16] с использованием молярного коэффициента экстинкции, равного $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$. Эндогенный ФЛГ оценивали по количеству свободных жирных кислот (СЖК), которые определяли по методу [7] в микрограммах стеариновой кислоты на 1 мг белка.

Данные обрабатывали статистически на ЭВМ СМ-4. Различия между сравниваемыми результатами считали достоверными при уровне значимости $p=0,05$.

Результаты и обсуждение

Как видно из табл. 1, травма конечности вызывает достоверное повышение интенсивности аскорбатзависимого ПОЛ через 1 ч после нанесения травмы. При этом незначительное повышение количества МДА наблюдается и в контралатеральной конечности. Уровень МДА в мышцах травмированной конечности повышался в среднем на 16—18 % по отношению к контралатеральной конечности и по сравнению с контрольными животными. НАДФ·Н-зависимое ПОЛ также несколько активируется по отношению к контралате-

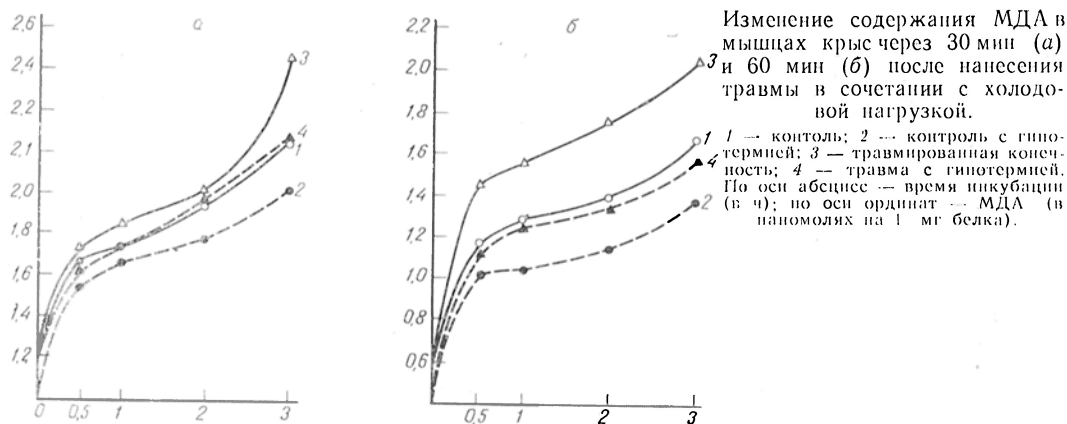
ральной конечности, но эти изменения неярко выражены.

Применение гипотермии на фоне травмы конечности вызывает снижение аскорбатзависимого ПОЛ в травмированной и контралатеральной конечности до значений, характерных для контрольных конечностей (контролем были значения МДА в нормальных мышцах конечности на фоне умеренной гипотермии). Количество МДА при этом снижалось на 36 %. При изучении НАДФ·Н-зависимых (ферментативных) процессов ПОЛ не наблюдали столь существенных изменений и в случае сочетанного действия травмы и гипотермии.

Таким образом, можно отметить, что травматическая ишемия конечности вызывает наиболее заметные изменения в аскорбатзависимых процессах ПОЛ, которые нормализуются в условиях локальной дозированной гипотермии. Во всех изучаемых случаях направленность изменений процессов ферментативного и неферментативного ПОЛ была различна.

В связи с тем что наиболее интенсивные сдвиги наблюдаются при изучении процессов неферментативного ПОЛ, дальнейшее исследование по накоплению МДА проводили при инкубации гомогенатов в присутствии аскорбата.

Изучение динамики аскорбатзависимого ПОЛ в мышцах конечностей через 30 мин после нанесенной травмы (см. рисунок, а) показало, что во все



исследуемые сроки содержание МДА в мышцах травмированной конечности достоверно выше, чем в контрольной. Максимальное накопление МДА наблюдали в обоих случаях через 3 ч инкубации. При гипотермии как в травмированной, так и в контралатеральной конечности также происходит накопление МДА [13]. Характерно, что как исходные значения, так и все последующие, взятые в динамике накопления МДА, значительно снижены по отношению к экспериментальным данным, полученным при исследовании травматической ишемии без холодового воздействия.

Аналогичные эксперименты по изучению процессов ПОЛ через 60 мин после нанесения травмы (см. рисунок, б) показали, что применение умеренной холодовой нагрузки в данном слу-

чае оказывает такое же влияние, как и в первом. Применение холодовой нагрузки сразу после травмы в течение 30 мин приводит к наиболее существенному снижению процессов ПОЛ.

Продукты ПОЛ, обладающие высокой реакционной способностью, могут оказывать системное повреждающее действие на клетки [10]. Ведущими факторами дезорганизации клеточного метаболизма при этом являются разобщение окислительного фосфорилирования и активация лизосомных ферментов [6]. В результате эндогенного ФЛГ образуются лизофосфатиды, дающие выраженный цитолитический эффект [5].

Мы изучали состояние эндогенного ФЛГ в мышцах конечностей при травматической ишемии в сочетании с холодовой нагрузкой. Как видно из

Таблица 2
Накопление СЖК (в мкг стеариновой кислоты на 1 мг белка) в мышцах крыс с травмой конечности в условиях дозированной холодовой нагрузки ($M \pm m$; $n = 8 - 12$)

Группа	Время после операции		Время после гипотермии	
	30 мин	60 мин	30 мин	30 мин самосогревание (60 мин после травмы)
Контрольная <i>p</i>	$10,540 \pm 0,158$ $\leq 0,05$		$7,188 \pm 0,516^{**}$ $\leq 0,05$	$11,556 \pm 0,214$ $\leq 0,05$
Опытная: контралатеральная конечность <i>p</i>	$10,808 \pm 0,047$ $\leq 0,05$	$11,876 \pm 0,177$ $\leq 0,05$	$6,784 \pm 0,712^{**}$ $\leq 0,05$	$9,101 \pm 0,196^{**}$ $\leq 0,05$
травмированная ко- нечность <i>p</i>	$17,236 \pm 0,196^{**}$ $\leq 0,05$	$19,960 \pm 0,272^{**}$ $\leq 0,05$	$13,930 \pm 0,219^{**}$ $\leq 0,05$	$14,915 \pm 0,222^{**}$ $\leq 0,05$

* В контрольной группе представлены данные содержания СЖК у неоперированных животных, а также подвергшихся гипотермической обработке.

** Отмечены достоверные изменения.

табл. 2, уровень СЖК в мышцах травмированной конечности увеличивается на 59, 48 и 68 % соответственно через 30 и 60 мин после травмы. Применение гипотермии в течение 30 мин после травмы вызывает снижение содержания СЖК на 19,26 % и через 30 мин отогрева (60 мин после нанесения травмы) на 25,3 %, однако полного восстановления до контрольных значений не наблюдается.

Сравнительно быстрое (уже через 30 мин) повышение содержания СЖК в мышцах травмированной конечности может быть обусловлено активацией ПОЛ, липазного гидролиза и ФЛГ. Накопление продуктов ПОЛ приводит к повышению фосфолипазной активности [5].

Эндогенные фосфолипазы участвуют в процессах репарации мембран, липиды которых подвергались усиленному переокислению [12]. Активация ФЛГ может рассматриваться как один из компенсаторных механизмов. Функционирование фосфолипаз может способствовать обновлению фосфолипидов по типу межмолекулярных замещений и ускорять элиминирование из мембраны переокисленных жирных кислот.

После отщепления от молекул фосфолипидов СЖК остаются в бислое и дезорганизуют его [4, 5], что в свою очередь приводит к увеличению проницаемости мембран, ингибированию мембранно-связанных ферментов, нарушению процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях [1, 6].

Интенсификация ПОЛ наблюдается еще до того, как наступает лабильзация мембран лизосом [9]. Отмеченные нами факты быстрого снижения и в некоторых случаях нормализация уровня МДА и СЖК при локальном охлаждении травмированной конечности, по всей вероятности, следует рассматривать как показатель функционального состояния мышцы. Умеренная гипотермия как фактор угнетения аэробного обмена благоприятно влияет на показатели липидного обмена при травматической ишемии конечностей, не ухудшает функционального состояния мышечной ткани и ее жизнеспособности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов В. Ф. Липиды и ионная проницаемость мембран. — М., 1982.

2. Белоус А. М., Бондаренко В. А., Бондаренко Т. П. // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. — М., 1978. — Т. 9. — С. 80—114.
3. Белоус А. М., Бондаренко В. А. Структурные изменения биологических мембран при охлаждении. — Киев, 1982.
4. Болдырев А. А. Биологические мембраны и транспорт ионов. — М., 1985.
5. Брокерхоф Х., Дженсен Р. Липолитические ферменты: Пер. с англ. — М., 1978.
6. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М., 1972.
7. Воронько В. А., Никушкин Е. В., Крыжановский Г. Н., Германов С. Б. // Бюл. экспер. биол. — 1982. — № 12. — С. 28—30.
8. Герасимов А. М., Фурцева Л. Н. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии. — М., 1986.
9. Джафиров А. И., Магомедов Н. М., Касумов В. М. // Бюл. экспер. биол. — 1981. — № 10. — С. 422—424.
10. Коган В. Е. Механизмы структурно-функциональных модификаций биологических мембран при перекисном окислении липидов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1981.
11. Коган А. Х., Ловес Н. И., Кудрин А. Н., Миезгомбын А. // Бюл. экспер. биол. — 1986. — № 5. — С. 538—539.
12. Коган В. Е., Шведова А. А., Новиков К. Г. // Биофизика. — 1978. — Т. 23. № 2. — С. 279—284.
13. Кожевников Ю. Н. // Вопр. мед. химии. — 1985. — № 5. — С. 2—7.
14. Юфит П. М., Алимова Е. К., Аствацатурян А. Г. // Там же. — 1983. — № 5. — С. 2—5.
15. Lorwy O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265—275.
16. Okutsu J. // Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi. — 1982. — Vol. 56, N 5. — P. 369—385.

Поступила 12.11.88

LIPID PEROXIDATION AND ENDOGENOUS PHOSPHOLIPASE HYDROLYSIS IN TRAUMA AND DOSE-DEPENDENT HYPOTHERMIC LOADING

Yu. P. Litvin, A. I. Dvoretzky, A. M. Shain-skaya, N. I. Moroz

Institute of Biology, State University, Medical School, Dnepropetrovsk

Rates of lipid peroxidation and endogenous phospholipase hydrolysis were studied under conditions of simultaneous moderate hypothermia and traumatic ischemia of muscles. Activation of the reactions studied, which was expressed as an increase in content of malonic dialdehyde and free fatty acids, was of importance for pathogenesis of muscles impairments occurring in trauma. Local cooling affected favourably these patterns of lipid metabolism.