

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1990

Том 36 выпуск 2

**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

1990

Volume 36 issue 2

**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>

А. М. Корнева, А. И. Шанская, Ю. Н. Беляева

**ВЛИЯНИЕ ИНFUЗИЙ ЖИРОВОЙ ЭМУЛЬСИИ ИНFUЗОЛИПОЛА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ**

Ленинградский НИИ гематологии и переливания крови Минздрава РСФСР

В настоящее время накоплен достаточный материал об изменениях структуры эритроцитарных мембран при самых различных видах патологии. Особое внимание при этом уделяется липидным компонентам мембраны, так как компенсаторно-приспособительные и патогенетические процессы в организме сопровождаются, как правило, изменением фракционного состава липидов клеточных мембран. Опубликован целый ряд работ, в которых отмечается отклонение от нормы состава структурных липидов эритроцитов (Эр) при патологии печени [2, 18, 25, 27]. Усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гепатоцитах при патологии печени предполагает активизацию этих процессов в мембранах Эр [2, 15]. Однако уровень липидной перекисидации в Эр не всегда отражает интенсивность реакций ПОЛ в печени [7].

Для нормализации функционального состояния Эр необходима коррекция нарушений липидной фазы мембран. Имеется обширная информация о взаимодействии клеток крови с липосомальными препаратами, вследствие чего происходит обмен липидными компонентами или односторонняя их экстракция из мембран. Поскольку жировые эмульсии являются одним из вариантов липосомальных препаратов, представлялось целесообразным исследовать возможность восстановления липидного профиля мембран Эр, нарушенного при токсическом поражении печени, с помощью препарата эмульгированного жира.

**Методика**

В опытах использовали 175 белых беспородных крыс массой 140–230 г, содержавшихся на обычном рационе вивария. Животные были разделены на 3 группы: 1-я — интактные, 2-я — с токсическим гепатитом, 3-я — с введением жировой эмульсии на фоне токсического гепатита. Токсическое поражение печени вызывали однократным введением  $\text{CCl}_4$  в дозе 1 мл 50 % масляного раствора на 100 г массы тела. Препарат жи-

рой эмульсии инфузолипол вводили в хвостовую вену в течение последующих 3 дней из расчета 1 мл 10 % жировой эмульсии на 100 г массы тела. Крыс декапитировали под легким эфирным наркозом на 4-е сутки после затравки. Эр отмывали физиологическим раствором и исследовали содержание в них малонового диальдегида (МДА) [13]. Липиды экстрагировали хлороформ-метанольной смесью (1:1) по методу [26]. Хлороформенную фазу упаривали в вакуум-ротационном испарителе и анализировали с помощью тонкослойной хроматографии на пластинках с силуфолом (ЧССР). Липиды разделяли на фракции в 2 системах: гептан — диэтиловый эфир — ледяная уксусная кислота (35,0:15,0:0,5) и хлороформ — метанол — вода (32,5:12,5:2,0). Количественное определение отдельных фракций осуществляли денситометрированием в отраженном свете после проявления липидов 10 % спиртовым раствором фосфорномолибденовой кислоты. Липопротеидный состав плазмы крови исследовали методом электрофореза в ПААГ. Концентрацию холестерина (ХС) в плазме крови определяли в аликоте хлороформного экстракта по реакции Либермана — Бурхарда. Свободный ХС выделяли осаждением 0,5 % спиртовым раствором дигитонина. Проницаемость Эр мембран оценивали методом мочевинового гемолиза [6]. Осмотическую резистентность Эр определяли по методу [11]. Результаты исследований обрабатывали с использованием критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение**

При исследовании липидного состава мембран Эр в группе крыс с токсическим гепатитом было установлено отчетливое увеличение содержания фракции фосфатидилхолина (ФХ) и некоторое снижение фракции сфингомиелина (СМ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ) в составе фосфолипидов (ФЛ), а также повышение отношения ХС/ФЛ по сравнению с интактными животными. Вместе с тем различий в суммарном содержании фосфатидилсерина и лизолецитина (ФС+ЛЛ) выявлено не было. Трехдневный курс влияний жировой эмульсии полностью восстанавливал липидный профиль исследуемых мембран (см. таблицу). Содержание МДА в мембранах Эр животных всех экспериментальных групп было практически одинаковым, что ставит под сомнение роль активизации процессов ПОЛ в изменении состава мембран Эр в условиях нашего опыта. Изучение липопротеидного спектра плазмы крови показало, что у крыс с токсическим поражением печени отсутствует фракция  $\beta$ -липопротеидов и значительно снижено содержание пре- $\beta$ -липопротеидов (рис. 1). Уровень ХС в плазме достоверно снижался почти в 2 раза, соответственно падала концентрация этерифицированного ХС, но особенно выраженным было уменьшение содержания свободной формы ХС (рис. 2). Имеющиеся в литературе сведения о содержании  $\beta$ -липопротеидов и ХС в плазме крови больных с поражением печени весьма противоречивы, что объясняется, по-видимому, проведением исследований на разных стадиях заболевания. Результаты наших опытов подтверждают мне-

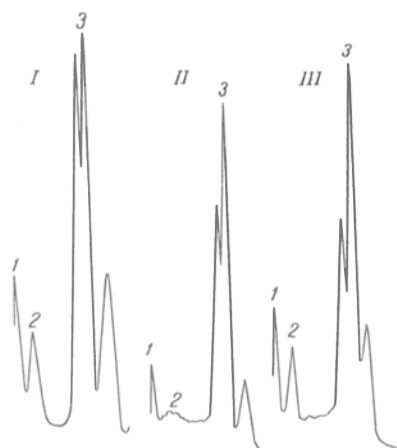
**Липидный состав и содержание МДА в мембранах эритроцитов крыс при введении  $\text{CCl}_4$  и инфузолипола ( $M \pm m$ )**

Условия эксперимента	Общие липиды, %			ФЛ, %				МДА, нмоль/мл
	ФЛ	свободный ХС	свободный ХС/ФЛ	ФС+ЛЛ	СМ	ФХ	ФЭ	
Контроль	29,2 $\pm$ 0,39	70,8 $\pm$ 0,39 <i>n</i> =13	2,5 $\pm$ 0,05	0,7 $\pm$ 0,21	7,2 $\pm$ 0,68 <i>n</i> =18	45,1 $\pm$ 0,63	47,7 $\pm$ 0,50	0,92 $\pm$ 0,10 <i>n</i> =10
$\text{CCl}_4$	23,0 $\pm$ 0,38*	77,0 $\pm$ 0,38* <i>n</i> =17	3,4 $\pm$ 0,08*	0,7 $\pm$ 0,6	5,1 $\pm$ 0,3* <i>n</i> =15	52,9 $\pm$ 0,8*	42,7 $\pm$ 0,9*	0,79 $\pm$ 0,07 <i>n</i> =10
$\text{CCl}_4$ +инфузолипол	28,4 $\pm$ 0,41	71,5 $\pm$ 0,32 <i>n</i> =20	2,5 $\pm$ 0,03	—	5,9 $\pm$ 0,7 <i>n</i> =20	44,1 $\pm$ 0,5	50,0 $\pm$ 0,7	0,61 $\pm$ 0,05 <i>n</i> =10

Примечание. Звездочка — достоверность различий с контролем; *n* — число опытов.

Рис. 1. Влияние инфузий жировой эмульсии на липопротеидный спектр плазмы крови крыс с токсическим гепатитом.

I — пре- $\beta$ -липопротеиды, 2 —  $\beta$ -липопротеиды, 3 —  $\alpha$ -липопротеиды; здесь и на рис. 2 и 3: I — контроль; II —  $\text{CCl}_4$ ; III —  $\text{CCl}_4$  + инфузолинол.



ние некоторых авторов о характере изменений этих показателей при патологии печени [10, 21].

Анализ полученных данных позволяет предположить, что изменение липидного профиля мембран Эр крыс при токсическом гепатите обусловлено нарушением липидного состава плазмы. Многие исследователи отмечали положительную корреляцию отношения свободный ХС/ФЛ в мембранах Эр с уровнем свободного ХС и липопротеидов низкой плотности в плазме крови [3, 28]. Ряд авторов [24, 27] указывают на отсутствие влияния гиперхолестеринемии на уровень ХС в Эр. По мнению других [17, 22], содержание ХС в Эр может быть повышенным и при гипохолестеринемии. Возрастание доли ХС в мембранных липидах было четко показано также при  $\alpha$ , $\beta$ -липопротеинемии [16]. Подобные нарушения липопротеидного спектра плазмы крови были установлены для больных с спиг-клеточной анемией, у которых уровень эритроцитарного ХС был увеличен на 15—50 %, что рассценивается как результат неспособности липопротеидов плазмы таких больных акцентировать свободный ХС с мембран Эр [17].

Исследование спектра ФЛ цельной крови и сыворотки крови у больных вирусным гепатитом показало повышение уровня ФХ и снижение СМ у данной категории больных [6, 12]. В связи с этим представляется возможным предположить, что альтерации ФЛ-спектра эритроцитарных мембран у крыс с поражением печени  $\text{CCl}_4$  явились отражением нарушения ФЛ-части плазменных липопротеидов.

По окончании 3-дневного инфузионного периода с использованием препарата жировой эмульсии инфузолинола мы наблюдали полную нормализа-

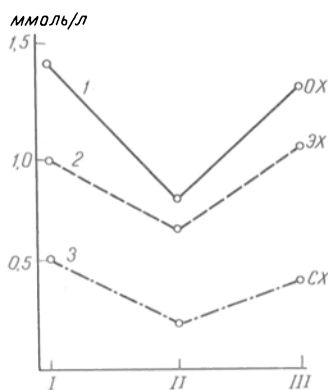


Рис. 2. Влияние инфузий жировой эмульсии на содержание ХС и его фракций в плазме крови крыс с токсическим гепатитом.

По оси ординат: концентрация ХС (в ммоль/л); I — общий ХС; 2 — этерифицированный ХС; 3 — свободный ХС.

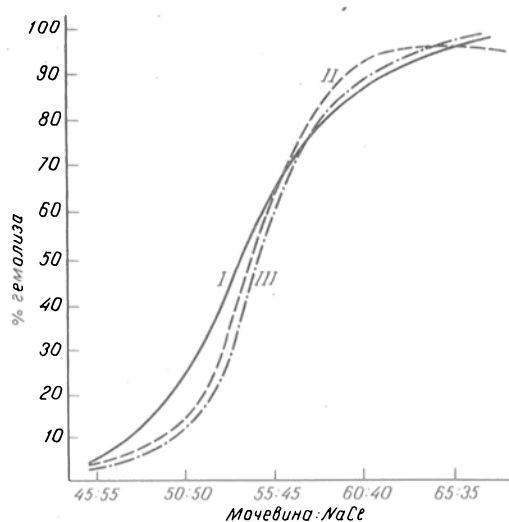


Рис. 3. Влияние инфузий жировой эмульсии на проницаемость мембран Эр для мочевины у крыс с токсическим гепатитом.

цию липопротеидного спектра плазмы крови (см. рис. 1). Уровень плазменного ХС и его фракций также приближался к показателям, установленным для интактных животных (см. рис. 2). Исходя из этих данных, можно предположить, что изменение липидного профиля мембран Эр под влиянием жировой эмульсии могло осуществляться двумя путями. Известно, что частицы липосомального характера, какими являются жировые эмульсии, способны экстрагировать из оболочки Эр излишки ХС [9, 18, 19]. Обогащенные стероидом, они могут взаимодействовать с липопротеидами плазмы и соответственно менять их состав. Вторым возможным путем регуляции липидной структуры мембран с помощью жировой эмульсии предполагается, что первичным является изменение липопротеидного состава плазмы, а вторичным — обмен между липидами Эр и плазмы [14].

Нарушения липидного профиля мембран Эр, вызванные введением  $\text{CCl}_4$ , сопровождались повышением осмотической резистентности клеток крови (в среднем на 37 %). Кривая проницаемости мембран Эр для мочевины была несколько сдвинута вправо, что говорит о снижении степени пропускания этого электролита через мембрану (рис. 3). После 3-дневного курса вливаний жировой эмульсии осмотическая стойкость Эр снижалась на 22 % по сравнению с таковой у животных, которым вводили  $\text{CCl}_4$ . Проницаемость мембран Эр для мочевины практически оставалась на прежнем уровне.

Данные литературы, касающиеся изменений проницаемости мембран Эр при нарушении их липидного профиля, носят весьма противоречивый характер. В опытах *in vitro* было показано, что включение дополнительного количества ХС в мембраны Эр или липосом изменяет их проницаемость и увеличивает осмотическую стойкость [6, 19, 20]. Однако В. Н. Колмаков и соавт. [4] не обнаружили изменений устойчивости Эр в гипотонической среде у кроликов с пищевой гиперхолестеринемией, вызвавшей повышение содержания свободного ХС в эритроцитарной мембране. Увеличение молярного отношения свободного ХС/ФЛ в Эр больных с поражением печени коррелировало с повыше-

нием резистентности Эр к осмотическому лизису [25]. При токсическом гепатите, вызванном  $\text{CCl}_4$ , также отмечалось возрастание устойчивости Эр к гемолизу [11]. Другие авторы наблюдали снижение осмотической резистентности Эр при патологических состояниях печени различной этиологии [1, 8].

Принимая во внимание результаты наших опытов, можно предположить, что именно снижение уровня свободного ХС в Эр под влиянием препарата жировой эмульсии восстанавливало нормальную проницаемость их мембраны для воды. Тот факт, что проницаемость мембран Эр для мочевины не повышалась по мере нормализации содержания свободного ХС в мембране, можно объяснить преимущественным использованием транспортных белков при прохождении гидрофильных электролитов через мембрану.

Анализируя полученные данные, можно сказать, что 3-дневный курс вливаний препарата жировой эмульсии инфузолипола восстанавливает липидный профиль мембран Эр, измененный вследствие острого токсического поражения печени  $\text{CCl}_4$ . Нормализация состава липидной фазы мембран Эр приводит к восстановлению проницаемости оболочки, обусловленной ее липидными компонентами.

## ЛИТЕРАТУРА

- Безуглый В. П. // Успехи гепатологии.— Рига, 1971.— Вып. 3.— С. 94—110.
- Гичев Ю. П., Хаснулин В. И. // Биологические мембраны и патология клетки.— Рига, 1986.— С. 97.
- Дудаев В. А., Парфенов А. С., Торховская Т. И. и др. // Кардиология.— 1983.— № 3.— С. 37—42.
- Колмаков В. Н., Пожиленкова А. М., Торхов Ю. А. // Атеросклероз и мембранная проницаемость.— Л., 1974.— С. 55.
- Колмаков В. Н., Радченко В. Г. // Тер. арх.— 1982.— № 2.— С. 59—62.
- Левина Л. Д., Алимова Е. К., Зуева В. В. // Всесоюзная конф. по клинической биохимии, морфологии и иммунологии инфекционных болезней, 5-я: Материалы.— Рига, 1977.— С. 74—75.
- Логонов А. С., Матюшин Б. Н., Ткачев В. Д. и др. // Тер. арх.— 1985.— № 2.— С. 63—67.
- Мазырко Э. Д., Дегтерев В. М., Крюкова Л. В. // Всесоюзная конф. по клинической биохимии и клинической морфологии инфекционных болезней, 4-я: Материалы.— Рига, 1973.— С. 195.
- Марголис Л. Б., Нейфах А. А. // Успехи соврем. биол.— 1982.— Т. 93, № 2.— С. 214—219.
- Оргель М. Я., Бондаренко Б. П., Сокол А. С. и др. // Вопр. мед. химии.— 1980.— № 4.— С. 548—552.
- Сниедзе Т. П., Васариня В. А. // Биологические мембраны и патология клетки.— Рига, 1986.— С. 119—122.
- Сосницкая Э. Н., Крюкчиева И. Г. // Всесоюзная конф. по клинической биохимии и морфологии инфекционных болезней, 4-я: Материалы.— Рига, 1973.— С. 246.
- Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. // Современные методы в биохимии.— М., 1977.— С. 66—68.
- Халилов Э. М., Ли В. С., Азизова О. А. и др. // Вопр. мед. химии.— 1982.— № 1.— С. 81—86.
- Хаснулин В. И. // Проблемы общей патологии хронических процессов в клинике и эксперименте.— Новосибирск, 1977.— С. 66—73.
- Mc Bride J. A., Jacob H. S. // Brit. J. Haemat.— 1970.— Vol. 18.— P. 383—397.
- Cooper R. A. // Seminars Haemat.— 1970.— Vol. 7.— P. 296—322.
- Cooper R. A., Gulbrandsen C. L. // J. Lab. clin. Med.— 1971.— Vol. 78.— P. 323—335.
- Demel R. A., Kruyff B. // Biochim. biophys. Acta.— 1976.— Vol. 457.— P. 109—132.
- Galluci E. // Nature.— 1975.— Vol. 255.— P. 722—723.
- Mc Intyre N., Calandra S., Pearson A. J. G. // Scand. J. clin. Lab. Invest.— 1974.— Suppl. 137.— P. 115—119.
- Harlan W. R., Zelkowitz M., Shaw W. A. et al. // Clin. Res.— 1969.— Vol. 17.— P. 328.
- Neerhout R. C. // J. Lab. clin. Med.— 1968.— Vol. 71.— P. 438.
- Nelson G. // Blood Lipid and Lipoproteins.— New York, 1972.— P. 1—54.
- Salvioli G., Rioli G., Lugli R. et al. // Gut.— 1978.— Vol. 19.— P. 844—850.
- Seijfert P. // Med. J. Austr.— 1974.— Vol. 1.— P. 276—277.
- Simon J. B. // J. Lab. clin. Med.— 1971.— Vol. 77.— P. 891—893.
- Vakakis N., Redgrave T. G., Small D. M. et al. // Biochim. biophys. Acta.— 1983.— Vol. 751.— P. 280—285.

Поступила 31.01.89

## EFFECT OF INFUSIONS WITH FATTY EMULSION "INFUSOLIPOL" ON STRUCTURE-FUNCTIONAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTE MEMBRANES IN RATS WITH TOXIC IMPAIRMENT OF LIVER TISSUE

A. M. Korneva, A. I. Shanskaya, Yu. N. Belyaeva

Institute of Hematology and Blood Transfusion, Ministry of Public Health of the RSFSR, Leningrad.

Normalization of erythrocyte membranes lipid composition as well as restoration of the membranes lipid moiety functions were observed after administration of fatty emulsion "infusolipol" into rats, the liver tissue of which was impaired with  $\text{CCl}_4$ .

© Т. М. МИШУНИНА, 1990

УДК 612.12:547.466.3].08

Т. М. Мишунина

## СОДЕРЖАНИЕ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ И АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМАТДЕКАРБОКСИЛАЗЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

НИИ эндокринологии и обмена веществ Минздрава УССР, Киев

Исследование состояния нейромедиаторных систем мозга человека при физиологических и патологических состояниях ЦНС по вполне понятным причинам затруднено. Особое значение приобретает в этом плане изучение уровня медиаторов, их предшественников или метаболитов в биологических жидкостях организма. Поиск соответствующих периферических «индикаторов» функционального состояния системы основного тормозного медиатора мозга — гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) — в настоящее время ограничивается определением уровня ГАМК и активности фермента ее синтеза глутаматдекарбоксилазы (ГДК) в спинномозговой жидкости и крови [10, 17].

В ряде исследований установлены параллельные изменения активности ГАМК-ергической системы мозга и уровня ГАМК в плазме крови [9, 14]. Это позволило сделать заключение, что содержание ГАМК в крови в какой-то мере отражает состояние ГАМК-ергической системы ЦНС [4, 7] и может быть использовано для биохимической и клинической оценки эффективности ГАМК-ергических препаратов [9]. Однако в последующем в одних работах, посвященных изучению содержания ГАМК и активности ГДК в крови больных различными психическими заболеваниями, это предположение нашло дальнейшее подтверждение [12, 16], в других — получены противоположные результаты [17].