

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 meditsinskoj 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>

8. Castels T. R., Campbell S., Gouge H., Lee C. C. // *J. Pharmacol. exp. Ther.*— 1972.— Vol. 181.— P. 99—103.
9. Clouet D. H. // *Catecholamins and Behav.*— 1975.— Vol. 2.— P. 167—172.
10. Craves F. B., Loh H. H., Meyerhoff J. L. // *J. Neurochem.*— 1978.— Vol. 31, N 5.— P. 1309—1316.
11. Keller E., Zamechnic P. // *J. biol. Chem.*— 1956.— Vol. 221, N 1.— P. 45—59.
12. Kunisuke N., Yasuo O., Hideharu J. et al. // *Biochem. Pharmacol.*— 1986.— Vol. 35, N 20.— P. 3543—3548.
13. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // *J. biol. Chem.*— 1951.— Vol. 193, N 1.— P. 265—275.
14. Rönnbäck L., Hasson E. // *Biochem. Pharmacol.*— 1986.— Vol. 35, N 21.— P. 3685—3692.

Поступила 07.02.91

SPECIFICITY OF METABOLIC IMPAIRMENTS IN LIVER TISSUE DURING MORPHINE INTOXICATION OF VARIOUS DURATION

M. F. Guly, V. N. Sinitsky, N. A. Stogny, V. V. Sushkova, N. V. Silonova, N. F. Shevtsova, N. N. Kas'yanova

A. V. Palladin Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Administration of morphine into rats at a dose of 30 mg/kg within 6 days led to a decrease in total rate of tRNA aminoacylation in liver tissue. Content of lactate, pyruvate, malate and α -ketoglutarate was decreased within 6 days-long course of morphine administration, while content of lactate was only altered after 5 weeks of the intoxication. Adaptation reactions appear to be increased with time in long-term intoxication with morphine.

© Е. В. ЗУБАРЕВА, Р. И. СЕФЕРОВА, 1992

УДК 616-092:612.591]-07:616-008.939.15-092.9

Е. В. Зубарева, Р. И. Сеферова

ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО СОСТАВА ТКАНЕЙ КРЫС ПРИ ГИПЕРТЕРМИИ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ

Институт физиологии и экспериментальной патологии аридной зоны АН Таджикистана, Ашхабад

Многообразные функции биологической мембраны и активность локализованных на ней ферментов, как в обычных, так и в экстремальных условиях, в первую очередь зависят от состояния ее липидного компонента [2, 3, 10, 14]. Существует мнение, что при экстремально высокой температуре прежде всего повреждается клеточная мембрана, липидный бислой которой чрезмерно разжижается, что вызывает потерю функциональной способности биомембраны, а в дальнейшем приводит к гибели клетки [1, 5, 9]. В связи с этим исследование липидного состава биомембран при гипертермии вызывает значительный интерес. Вместе с тем сведения о содержании и составе липидов мембран при действии на организм экстремально высокой температуры весьма ограничены.

Целью настоящего исследования явилось изучение липидного состава (фосфолипиды и холестерин) гомогенатов внутренних органов, мозга и скелетных мышц крыс при гипертермии разной степени.

Методика. Белых беспородных крыс массой 250—300 г перегревали в термокамере при 45 °С. Контролем служили интактные животные такой же массы. Экспериментальные животные были разделены на 3 группы: 1-я — перегревание до повышения ректальной температуры до 40—40,5 °С, 2-я — до 41—42 °С, 3-я — до теплого

шока (ректальная температура повышалась до 43—45 °С). Липиды из тканей экстрагировали по методу Фолча. Разделение фосфолипидов на фракции проводили методом двухмерной тонкослойной хроматографии на силикагеле марки КСК в системе растворителей хлороформ — метанол — аммиак (81,2:31,2:6,0) и хлороформ — метанол — ацетон — ледяная уксусная кислота — вода (62,0:12,5:25,0:12,5:6,25) [8, 11]. Количество фосфолипидов определяли по содержанию общего липидного фосфора методом [13]. Содержание холестерина в липидном экстракте определяли по методу [7]. Пробы фотометрировали на спектрофотометре «Specol 11» при длине волны 550 нм. Математическую обработку результатов проводили на ЭВМ «Искра-226» по стандартным программам статистического анализа.

Результаты и обсуждение. Как видно из представленных результатов, только два фосфолипида обращают на себя внимание: фосфатидилинозит и сфингомиелин (табл. 1). Содержание фосфатидилинозита увеличивается во всех исследованных тканях, кроме почек, при первых двух степенях перегревания и не отличается от контрольного уровня при гипертермическом шоке. Сфингомиелин — единственный фосфолипид, количество которого возрастает во всех исследованных тканях при всех степенях перегревания. Изменение содержания других фосфолипидов наблюдается не всегда и не имеет четкой направленности. Так, количество фосфатидилсерина снижается у крыс, перегретых до 40—40,5 °С, только в сердце и скелетных мышцах. Содержание кардиолипина повышается в печени и мышцах крыс, перегретых до теплового шока.

Учитывая, что постоянные и односторонние изменения выявлены в содержании только двух фосфолипидов, можно предположить, что именно они играют какую-то роль в компенсации неблагоприятного воздействия гипертермии на клетку. Сфингомиелин — самый насыщенный фосфолипид, и увеличение его количества способствует повышению микровязкости мембран, в которые он входит [3]. Кроме того, было установлено, что сфингомиелин обладает высоким сродством к холестерину [12]. Таким образом, увеличение содержания сфингомиелина должно вызывать снижение жидкости мембраны за счет высокой насыщенности его жирнокислотного состава и выраженного сродства к холестерину. Снижение жидкости мембраны при гипертермии, как известно, — фактор положительный [10, 14]. Следовательно, сфингомиелин может рассматриваться как фосфолипид, предотвращающий чрезмерное разжижение мембран при экстремально высокой температуре.

Второй фосфолипид, содержание которого при гипертермии повышается почти во всех органах (кроме почек), — фосфатидилинозит — образуется в цикле инозитоловых липидов. Инозитоловый цикл необходим для нормального протекания целого ряда физиологических процессов: сокращения мускулатуры, открытия ионных каналов, фоторецепции у беспозвоночных и др. [4]. Имеются сведения об активации этого цикла при действии тепла [6]. В исследованиях на фибробластах хомячков было показано, что гипертермия вызывает увеличение уровня инозитоловых фосфатов, в том числе и фосфатидилинозита, коррелирующее с накоплением свободного кальция в клетке. Влияние тепла на накопление внутриклеточного кальция и инозитоловых фосфатов является

Содержание ФЛ (в % от суммы) в тканях крыс при гипертермии разной степени

ФЛ	Контроль	Перегревание до 40—40,5 °С	Перегревание от 41—42 °С	Перегревание до шока
Мозг				
	(8)	(8)	(8)	(8)
ФС	12,4±0,6	12,5±0,3	13,8±0,4	13,2±0,5
ФИ	2,8±0,1	5,5±0,1****	5,4±0,4****	2,9±0,1
СФМ	3,7±0,3	6,1±0,3****	4,5±0,3	5,8±0,6
ФХ	36,7±0,8	34,4±0,4**	34,6±0,5*	36,1±1,2
ФЭА	16,8±0,7	17,7±0,5	17,7±0,9	17,2±0,6
ФЭА-П	25,1±0,9	23,5±1,0	23,5±1,3	24,7±0,5
КЛ	3,7±0,3	3,7±0,4	4,1±0,6	4,8±0,8
Сумма ФЛ	2209±112	2138±105	2492±95	2289±115
Нас.	1,13	1,02	0,95	1,10
Ненас.				
Печень				
	(10)	(11)	(6)	(6)
ФС	3,7±0,9	3,5±0,5	3,8±0,4	4,7±0,1
ФИ	9,7±0,6	13,2±0,5****	12,6±0,8*	10,2±0,6
СФМ	1,9±0,2	4,7±0,3****	3,9±0,3**	5,7±0,6****
ФХ	47,1±1,2	46,8±2,5	45,5±1,5	43,1±1,3
ФЭА	22,3±0,6	20,2±1,2	20,8±0,8	22,5±0,8
ФЭА-П	10,1±0,6	8,1±0,5	8,5±0,6	7,3±0,4
КЛ	4,9±0,5	5,1±0,4	5,4±0,9	8,5±0,6**
Сумма ФЛ	1120±75	1193±61	1162±73	1141±58
Нас.	1,21	1,23	1,16	1,06
Ненас.				
Почки				
	(6)	(6)	(6)	(6)
ФС	8,9±0,8	8,9±0,8	8,0±0,8	9,2±0,3
ФИ	8,4±0,5	7,3±0,3	8,6±0,5	8,9±0,5
СФМ	7,4±0,5	12,4±0,4****	10,0±0,4****	9,6±0,3****
ФХ	33,8±1,5	37,1±0,6	37,9±0,5**	34,1±1,4
ФЭА	20,8±1,0	21,4±1,1	20,6±1,2	20,7±0,4
ФЭА-П	10,8±0,3	9,7±0,6	9,5±0,3	9,7±0,3
КЛ	8,9±0,8	7,1±1,0	6,6±0,7	8,3±0,4
Сумма ФЛ	976±62	956±71	964±58	982±47
Нас.	0,88	1,11	1,09	0,92
Ненас.				
Сердце				
	(6)	(7)	(7)	(7)
ФС	6,1±0,5	4,2±0,4**	5,2±0,3	5,2±0,6
ФИ	6,8±0,3	8,5±0,8	8,6±0,3*	7,9±0,7
СФМ	5,4±0,3	7,4±0,5**	8,4±0,4****	6,7±0,5*
ФХ	36,0±1,2	35,1±0,8	34,4±0,5	34,4±0,4
ФЭА	21,9±1,3	22,7±0,8	22,1±0,8	22,2±1,0
ФЭА-П	10,2±0,3	9,8±0,6	9,9±0,5	9,2±0,4
КЛ	12,2±0,2	11,7±0,4	12,0±0,5	12,8±0,5
Сумма ФЛ	781±60	772±64	756±57	806±72
Нас.	0,88	0,90	0,89	0,85
Ненас.				
Мышцы				
	(9)	(7)	(7)	(7)
ФС	6,4±1,2	3,5±0,1*	5,8±0,6	5,3±0,6
ФИ	6,9±0,6	7,8±1,1	11,4±0,3****	8,4±0,9
СФМ	4,2±0,3	5,3±0,7	7,8±0,6****	7,0±0,7****
ФХ	54,7±1,6	59,4±2,0	51,8±2,2	52,1±1,0
ФЭА	14,4±0,7	14,6±0,3	12,5±0,6	13,5±0,9
ФЭА-П	12,7±0,8	12,3±0,7	13,5±0,7	11,4±0,8
КЛ	4,9±0,4	5,2±1,0	6,1±0,2*	6,8±0,3*
Сумма ФЛ	344±28	333±30	314±21	340±24
Нас.	1,80	2,08	1,66	1,74
Ненас.				

Примечание. Здесь и в табл. 2: ФЛ — фосфолипиды, сумма ФЛ дана в микрограммах фосфора на 1 г сырой массы ткани, ФС — фосфатидилсерин, СФМ — сфингомиелин, ФХ — фосфатидилхолин, ФЭА — фосфатидилэтаноламин, ФЭА-П — плазмалогенная форма ФЭА, КЛ — кардиолипин, нас. — сумма насыщенных ФЛ, ненас. — сумма ненасыщенных ФЛ; одна звездочка — $p < 0,05$, две — $p < 0,02$, три — $p < 0,01$, четыре — $p < 0,001$; в скобках — число определений.

распространенным феноменом, подтвержденным на клетках человека, крысы и мыши [6].

Данных о влиянии высокой температуры на фосфоинозитиды *in vivo* мы в литературе не

встретили. Полученные нами результаты позволяют предположить, что и в живом организме тепло стимулирует синтез инозитоловых липидов. Вероятно, увеличение содержания фосфати-

Содержание ХЛ (в мг на 1 г сырой массы) и молярное отношение ХЛ/ФЛ в тканях крыс при гипертермии разной степени

Исследуемый показатель	Контроль	Перегревание до 40—40,5 °С	Перегревание до 41—42 °С	Перегревание до шока
Мозг				
ХЛ	(9) 10,74±0,18	(7) 10,22±0,09	(7) 10,40±0,20	(8) 9,42±0,16
ХЛ/ФЛ	0,40	0,39	0,35	0,39
Печень				
ХЛ	(7) 4,95±0,08	(6) 5,06±0,17	(7) 5,02±0,23	(8) 4,81±0,1
ХЛ/ФЛ	0,37	0,35	0,34	0,35
Почки				
ХЛ	(7) 4,44±0,06	(7) 4,35±0,14	(7) 4,46±0,13	(7) 4,73±0,02
ХЛ/ФЛ	0,37	0,34	0,40	0,40
Сердце				
ХЛ	(6) 8,97±0,19	(7) 8,40±0,28	(8) 8,41±0,25	(7) 9,20±0,29
ХЛ/ФЛ	0,96	0,92	0,92	0,96
Мышцы				
ХЛ	(8) 3,95±0,05	(7) 3,68±0,17	(6) 3,08±0,08	(7) 3,70±0,13
ХЛ/ФЛ	0,96	0,95	0,96	0,96

Примечание. ХЛ — холестерин.

дилинозита при остром тепловом воздействии является результатом неспецифического влияния гипертермии на клетку. Отсутствие изменений в содержании фосфатидилинозита в почках крыс, вероятно, связано с их специфической функцией по транспорту электролитов (в частности, кальция), претерпевающей изменения при гипертермии.

Количество холестерина при остром тепловом воздействии статистически достоверно не изменяется ни в одной из исследованных тканей (табл. 2). Не выявлено существенных изменений и в молярном соотношении холестерина и фосфолипидов.

Согласно литературным данным, в мозгу снижается содержание холестерина в первые минуты острого теплового воздействия на организм, что ведет к повышению жидкости клеточных мембран [2].

Показателем, косвенно характеризующим жидкость мембран, является соотношение суммы насыщенных фосфолипидов (фосфатидилхолин и сфингомиелин) к сумме ненасыщенных (фосфатидилинозит, фосфатидилсерин, кардиолипин, фосфатидилэтанолламин). Как видно из табл. 1, это соотношение имеет тенденцию к снижению при гипертермическом шоке во всех тканях (за исключением почек), что позволяет говорить о тенденции к повышению жидкости мембран.

Полученные нами результаты показали, что наиболее характерной реакцией липидов мембран печени, почек, сердца, мозга и скелетных мышц крыс на острое тепловое воздействие является повышение содержания сфингомиелина и фосфатидилинозита. Увеличение количества фосфатидилинозита, вероятно, является результатом неспецифического влияния гипертермии на клетку. Физиологическое значение повышения содержания сфингомиелина, по-видимому, заключается в

стабилизации структуры мембран за счет высокой насыщенности его жирнокислотного состава и высокого сродства к холестерину. Тем не менее во всех исследованных тканях (кроме почек) обнаружена тенденция к повышению жидкости мембран при гипертермическом шоке, что может привести к дискоординации клеточных функций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков Е. И., Полежаев А. А. // Успехи соврем. биол.— 1983.— Т. 96, № 3 (6).— С. 353—365.
2. Гурий В. Н. Обмен липидов при гипотермии, гипертермии и лихорадке.— Минск, 1986.
3. Крепс Е. М. Липиды клеточных мембран.— Л., 1981.
4. Berridge M. // Ann. Rev. Biochem.— 1987.— Vol. 55.— P. 159—193.
5. Bowler K. // J. therm. Biol.— 1981.— Vol. 6, N 4.— P. 171—178.
6. Calderwood S. K., Stevenson M. A., Hahn G. M. // Radiat. Res.— 1988.— Vol. 113, N 3.— P. 414—425.
7. Courhaine A. J., Miller W. H., Stein D. B. // Clin. Chem.— 1959.— Vol. 5, N 6.— P. 609—614.
8. Horrocks L. A., Sun G. I. Research Methods in Neurochemistry.— New York, 1972.— P. 223—231.
9. Lepock J. R. // Radiat. Res.— 1982.— Vol. 92.— P. 433—438.
10. Niedleman S. L. // Biotechnol. Genet. Engl. Rev.— 1987.— Vol. 5.— P. 245—268.
11. Rouser G., Siakotos A. N., Fleischer S. // Lipids.— 1966.— Vol. 1, N 1.— P. 83—96.
12. van Blitterswijk W. J., van der Meer W., Hilkmann H. // Biochemistry (Wash.).— 1987.— Vol. 26, N 6.— P. 1746—1756.
13. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin I. M. // J. Chromatogr.— 1975.— Vol. 114, N 1.— P. 129—141.
14. White F. N., Somero G. // Physiol. Rev.— 1982.— Vol. 62, N 1.— P. 74—88.

Поступила 24.09.90

ALTERATIONS IN LIPID COMPOSITION OF RAT TISSUES IN HYPERTHERMIA OF VARIOUS DEGREE

E. V. Zubareva, R. I. Seferova

Institute of Physiology and Experimental Pathology in the Aride Zone, Academy of Sciences of the Turkmen SSR, Ashkhabad

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

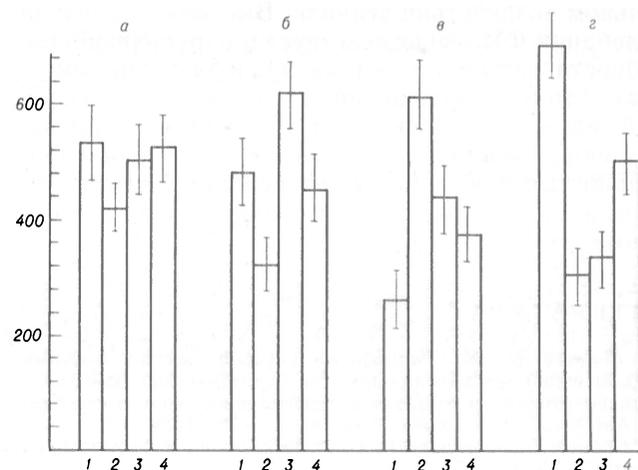
Калининский медицинский институт

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 перенесли 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 отделялась 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 $200^\circ C$. 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 ± 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 ± 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-