

ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ НА ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТОВ И АДИПОЦИТОВ И СПЕКТР ЛИПОПРОТЕИНОВ КРОВИ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ШОКЕ У КОШЕК

Г.Ф. ЛЕСКОВА

Институт общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва
125315 Москва, Балтийская ул., д. 8. Эл почта: nii@pathophys.msk.ru

Изучена возможность защиты фосфолипидного бислоя плазматических мембран гепатоцитов и адипоцитов от повреждений, вызванных геморрагическим шоком с помощью Cu, Zn-супероксиддисмутазы (СОД). У кошек применение через 30 мин от начала кровопотери СОД в дозе 5 мг/кг в значительной степени препятствует нарушению фосфолипидного состава плазматических мембран гепатоцитов. Одновременно инъекция СОД на фоне геморрагического шока приводит к частичному восстановлению в плазматических мембранах адипоцитов мезентериальной жировой ткани содержания фосфолипидов (ФЛ), уровень которых при шоке изменялся. Включение СОД в липосомы ослабляет ее корректирующее воздействие на ФЛ-состав плазматических мембран гепатоцитов у животных, подвергнутых геморрагическому шоку, и одновременно усиливает мембраностабилизирующий эффект СОД на адипоциты. Введение в липосомы СОД, которая в чистом виде не вызывает изменений состава липопротеинов крови у животных, подвергнутых геморрагическому шоку, снижает содержание хиломикрон и липопротеинов очень низкой плотности в венозной крови центральных сосудов. Таким образом, наиболее эффективной формой противошокового применения препарата СОД можно считать ее комбинацию в чистом виде и в составе липосом.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза, фосфолипиды, липопротеины, гепатоциты, адипоциты, геморрагический шок

ВВЕДЕНИЕ. Известно, что одним из существенных факторов повреждения структуры и функции клеток является образование свободных радикалов [1, 2], генерация которых обычно связана со снижением активности антиоксидантной системы, одним из основных компонентов которой является СОД. Существуют сведения, что падение активности СОД может происходить во время длительного периода ишемии [3], а также при ожоговой травме [2] и различных формах шока [4-6]. Из изложенного следует целесообразность применения данного препарата для коррекции патологических состояний, связанных с повышенным образованием супероксидных радикалов и сопровождающихся снижением активности СОД. Вместе с тем, результаты исследований в этом направлении не являются однозначными [2,7-9].

Цель настоящей работы - изучение возможности использования СОД для коррекции нарушений липидного обмена, вызванных геморрагическим шоком, а также определение эффективности противошокового действия различных способов введения СОД - в свободном виде и включенной в липосомы. В качестве объекта исследований были выбраны плазматические мембраны печени - органа, которому принадлежит важная роль в регуляции липидного обмена, - и жирового депо, представляющего основной энергетический резерв организма. Определяли ФЛ-состав плазматических мембран, поскольку нарушение состава отдельных

классов ФЛ в клеточных мембранах тесно связано с осложнением функционального состояния клеток и понижением их жизнеспособности. Кроме того у кошек, подвергнутых геморрагическому шоку, изучалась возможность коррекции обмена липопротеинов (ЛП) крови - основной транспортной формы липидов.

МЕТОДИКА. Опыты выполнены на 62 кошках массой $3,0 \pm 0,5$ кг под нембуталовым наркозом (40 мг/кг внутривенно). Геморрагический шок воспроизводили по методу Уиггерса-Файна [10, 11]. Для предупреждения свертываемости крови в катетерах животным вводили гепарин в дозе 2000 ЕД/кг. Через 30 мин после введения гепарина выпускали кровь в резервуар, снижая давление до 40 мм рт.ст. в течение 30 мин и поддерживая его на этом уровне в течение 1 часа. Контролем к опытным группам служили интактные животные, которым вводили гепарин в указанной выше дозе. На фоне геморрагического шока изучали действие СОД в дозе 5 мг/кг массы тела. СОД вводили в/в через 30 мин от начала кровопускания в свободной форме или в составе липосом. Липосомы готовили по методу [12]. При приготовлении «пустых» липосом лецитин в концентрации 0,5 мг/мл диспергировали в дистиллированной воде, а при приготовлении липосом, включавших СОД, - в водной среде, содержащей СОД в концентрации 5 мг/мл. Липосомы вводили животным в/в (1 мл/кг массы тела). Материал для исследования у контрольных животных брали через 1, 1,5 ч и 2 ч после введения гепарина, у опытных животных - через 30 мин, 1 и 1,5 от начала кровопотери и у животных, получавших СОД, - через 1 ч после введения препарата. Печень извлекали после ее перфузии охлажденным 1 мМ раствором NaHCO_3 . После выделения плазматических мембран гепатоцитов по методу [13] и адипоцитов по методу [14] и экстрагирования из них общих липидов [15] ФЛ разделяли на фракции с помощью тонкослойной хроматографии на пластинках "Silufol UV - 254" в системе растворителей: хлороформ - метанол - уксусная кислота - вода (25: 15: 4: 2, по объему) [16]. Хроматограммы денситометрировали на "Chromoscan - 201" фирмы "Юсс-Loebl". Обсчет денситограмм проводили на полуавтоматическом анализаторе изображений фирмы "Leitz - A.S.M." В сыворотке крови определяли содержание хиломикронов (ХМ), липопротеинов низкой (ЛПНП) и очень низкой (ЛПОНП) плотности [17]. Данные обрабатывали методом вариационной статистики по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Установлено, что через 30 мин от начала кровопотери основные изменения содержания фосфолипидов (ФЛ) в плазматических мембранах гепатоцитов были связаны с фосфатидилхолином (ФХ) (снижение в 10 раз; $P < 0,001$), фосфатидилэтаноламином (ФЭ) (повышение в 3 раза; $P < 0,001$) и фосфатидилинозитолом (ФИ) (снижение на 38,7%; $P < 0,05$) (таблица 1). Спустя 1 ч от начала кровопотери уровень ФЭ все еще превышал контрольный показатель в 1,3 раза ($P < 0,05$). Вместе с тем, он был снижен по сравнению с предыдущим сроком наблюдений в 1,8 раза ($p < 0,001$). Через 1 ч от начала кровопотери выявлено резкое увеличение концентрации ФС: она превышала контрольное значение в 10 раз ($P < 0,001$). Уровень ФИ к этому сроку превышал контрольный показатель в 3 раза ($P < 0,001$), а содержание ФХ оставалось ниже контрольного в 6 раз ($P < 0,001$). Изменения ФЛ-состава плазматических мембран гепатоцитов через 1,5 ч от начала кровопотери были связаны с вариациями в содержании ФИ и ФХ. Уровень ФИ оказался увеличенным по сравнению с контрольным показателем в 6 раз ($P < 0,001$), а содержание ФХ было ниже контрольного в 3,5 раза ($P < 0,001$).

Таким образом, при развитии геморрагического шока установлены изменения фосфолипидного состава плазматических мембран гепатоцитов, которые отражают как процессы деградации, так и восстановления структуры клеток печени. Основной вклад в модификацию ФЛ-состава плазматических мембран гепатоцитов при геморрагическом шоке вносит прогрессивное падение уровня ФХ. Кроме того, на начальной стадии развития геморрагического шока в

плазматических мембранах гепатоцитов имело место снижение содержания ФИ. Необходимо подчеркнуть, что обмен ФИ и ФХ плазматических мембран связан с

Таблица 1. Изменение состава фосфолипидов (в %) плазматических мембран гепатоцитов у кошек, подвергнутых геморрагическому шоку ($X \pm m$)

Срок определения, ч	Группа	ФЭ	ФС	ФИ	ФХ	СМ	ЛФХ	Другие фосфолипиды
0,5	Контроль (5)	21,1±0,9	3,4±0,6	11,1±1,2	43,5±1,4	5,3±1,1	2,1±0,9	13,5±1,8
	Шок (5)	61,0±1,8*	3,3±0,6	6,8±0,9*	4,3±0,5*	4,3±1,2	1,7±0,3	18,5±1,8
1,0	Контроль (5)	26,8±1,6	1,4±0,2	8,4±0,5	44,4±1,8	3,5±0,7	1,2±0,1	14,3±2,5
	Шок (5)	34,8±2,4*	**15,6±1,5*	**26,0±1,1*	**7,5±0,6*	**2,4±0,5	1,1±0,3	12,0±2,2
1,5	Контроль (6)	23,9±5,8	7,9±2,0	6,0±1,1	42,0±4,2	4,7±1,5	7,1±3,4	8,0±1,7
	Шок (8)	25,8±5,0	7,7±0,6	37,2±3,1*	**12,1±3,3*	5,0±1,2	3,9±1,4	8,3±0,9

Примечание. Здесь и в таблицах 2-5: * - достоверность различий по сравнению с контролем, $P < 0,05$; ** - достоверность различий по сравнению с предыдущим сроком наблюдений, $P < 0,05$; в скобках - количество животных.

реализацией биологической активности гормонов, участвующих в механизмах адаптации [18]. При этом гормоны проявляют свой эффект через опосредованную G-белком активацию фосфолипаз A₂, C и D, следствием которой являются глубокие изменения клеточного метаболизма. Увеличение содержания ФЭ, ФС и ФИ в плазматических мембранах гепатоцитов можно оценить как проявление усиления регенерационных процессов, направленных на поддержание структуры фосфолипидного бислоя мембран и обеспечение жизнедеятельности гепатоцитов в экстремальных условиях кровопотери. Стадия развитого геморрагического шока характеризовалась некомпенсированным нарушением обмена двух функционально наиболее важных ФЛ - ФИ и ФХ.

В другой серии опытов при применении раствора СОД в дозе 5 мг/кг фосфолипидный состав плазматических мембран гепатоцитов у кошек, подвергнутых геморрагическому шоку, был сходен с таковым, наблюдавшимся у нелеченых животных через 30 мин от начала кровопотери: по сравнению с контрольными показателями содержание ФЭ увеличилось в 2,4 раза ($P < 0,001$), концентрация ФХ оказалась сниженной в 11,1 раза ($P < 0,001$), а уровень ФИ достигал контрольного значения (таблица 2).

Таблица 2. Изменение состава фосфолипидов (в %) плазматических мембран гепатоцитов у кошек, подвергнутых геморрагическому шоку и леченых СОД ($X \pm m$)

Группа животных	ФЭ	ФС	ФИ	ФХ	СМ	ЛФХ	Другие фосфолипиды
Контроль (6)	23,9±5,8	7,9±2,0	6,0±1,1	42,0±4,2	4,7±1,5	7,1±3,4	8,0±1,7
Шок (8)	25,8±5,0	7,7±0,6	37,2±3,1*	12,1±3,3*	5,0±1,2	3,9±1,4	8,3±0,9
Шок+СОД(5)	63,1±3,6* #	9,9±1,5	4,6±0,7#	3,8±0,6* #	1,3±0,4#	0,5±0,2#	17,2±3,5* #
Шок+СОД-липосомы(5)	46,5±3,4* #	3,1±0,8#	31,7±3,1*	12,9±2,6*	1,5±0,3#	1,2±0,1	3,0±1,4* #

Примечание: Здесь и в таблицах 3 и 5: # - достоверность различий по сравнению с соответствующими показателями у нелеченых животных, $P < 0,05$.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что применение СОД на фоне геморрагического шока существенным образом воздействует на фосфолипидный состав плазматических мембран гепатоцитов. При этом наблюдали изменения концентрации тех фосфолипидов, уровень которых влияет на проницаемость клеточных мембран для ионов Ca²⁺ - ФЭ (его содержание

находится в прямой зависимости с активностью кальциевого насоса клеточных мембран [19]) и ФИ, метаболизм которого определяет скорость входа кальция в цитоплазму [20]. Можно полагать, что действие СОД при геморрагическом шоке способно коррегировать Ca^{2+} -зависимые метаболические механизмы.

При введении животным, подвергнутым геморрагическому шоку, липосом, содержащих СОД, наблюдали повышение уровня ФЭ в плазматических мембранах гепатоцитов в 1,8 раза ($P < 0,01$) по сравнению с таковым нелеченых животных. Вместе с тем, данный показатель был ниже по сравнению с содержанием ФЭ у животных с геморрагическим шоком, получавших чистую СОД в дозе 5 мг/кг, в 1,4 раза ($P < 0,02$). Следовательно, включение СОД в липосомы снижает ее коррегирующее воздействие на ФЛ-состав плазматических мембран гепатоцитов.

На фоне геморрагического шока в плазматических мембранах адипоцитов мезентериальной жировой ткани наблюдали увеличение уровня ФЭ в 3,7 раза ($P < 0,01$), в то время как содержание ФИ и ФС снизилось соответственно в 2,8 и 3,2 раза ($P < 0,02$) (таблица 3).

Таблица 3. Изменение состава фосфолипидов (в %) плазматических мембран адипоцитов мезентериальной жировой ткани у кошек, подвергнутых геморрагическому шоку и леченых СОД (x + m)

Группа животных	ФЭ	ФС	ФИ	ФХ	СМ	ЛФХ	Другие фосфолипиды
Контроль(5)	15,3±3,9	25,0±4,8	35,9±5,9	8,5±2,1	3,9±1,3	4,9±1,3	6,3±2,3
Шок (4)	49,5±7,2*	7,1±1,4*	13,8±2,4*	8,5±2,8	4,7±2,0	5,1±1,8	11,3±1,7
Шок+СОД(5)	24,7±5,2#	13,0±1,0* #	20,2±0,9* #	25,6±2,5* #	6,0±1,3	3,3±0,7	7,2±1,2
Шок+СОД-липосомы(5)	4,9±0,8* #	31,0±7,2#	38,5±5,4#	10,7±4,6	7,6±1,9	4,6±0,7	11,3±1,7

Следует отметить, что усиление обмена ФИ в адипоцитах связано с активацией α_1 -адренорецепторов за счет катехоламинов [21], воздействие которых на жировую ткань в связи с кровопотерей возрастает [22]. Принимая во внимание тот факт, что распад ФИ сопровождается входом кальция в клетку [20], при геморрагическом шоке, в связи со снижением содержания ФИ в плазматических мембранах адипоцитов, можно ожидать существования опасности повышенного поступления кальция в цитозоль жировых клеток, следствием которого является снижение их функциональной активности. Представляет интерес истощение в плазматических мембранах адипоцитов активатора протеинкиназы С - ФС. В этой связи следует отметить, что транслокация ФС из клеточных мембран в митохондрии с последующим превращением ФС в ФЭ является одним из признаков повреждения клеток. Учитывая роль ФИ и ФС в активации аденилатциклазы [24, 25], ключевого фермента регуляции липолиза в жировых клетках [26], можно ожидать, что одновременное уменьшение содержания ФИ и ФС в плазматических мембранах адипоцитов является одним из основных механизмов повреждения пути регуляции липолиза в жировой ткани при геморрагическом шоке.

Применение СОД в свободной форме у животных с геморрагическим шоком способствовало нормализации ФЛ-состава плазматических мембран адипоцитов. Уровень ФЭ приблизился к контролю. Концентрация ФС повысилась по сравнению с показателями нелеченых животных в 1,8 раза ($P < 0,02$), а ФИ - в 1,5 раза ($P < 0,05$). Однако содержание двух последних ФЛ все еще не достигало контрольного уровня. Обращает на себя внимание резкое повышение уровня ФХ в плазматических мембранах адипоцитов - в 3 раза ($P < 0,001$). При введении липосомальной формы СОД животным, подвергнутым геморрагическому шоку, ФЛ-спектр плазматических мембран адипоцитов мезентериальной жировой ткани в основном соответствовал контрольным показателям. Исключение составило содержание ФЭ, которое уменьшилось не только по сравнению с показателем

нелеченых животных (в 10 раз; $P < 0,001$), но и по сравнению с контрольными данными (в 3,0 раза; $P < 0,05$) Следовательно, включение СОД в липосомы усиливает ее мембраностабилизирующий эффект на адипоциты.

Наиболее выраженные изменения спектра ЛП наблюдали через 30 мин от начала кровопотери (таблица 4). При этом уровень ЛПОНП по сравнению с контрольными показателями понизился в крови брюшной аорты в 4,0 раза ($P < 0,05$), воротной вены - в 3,0 раза ($P < 0,02$), печеночной вены - в 4,0 раза ($P < 0,05$). Содержание ЛПНП также уменьшилось по сравнению с контрольными значениями в крови брюшной аорты в 2,7 раза ($P < 0,02$), воротной вены - в 2,3 раза ($P < 0,01$), печеночной вены - в 2,6 раза ($P < 0,01$). Через 1 ч от начала кровопотери уменьшение содержания ЛПОНП по сравнению с контрольными показателями наблюдали лишь в крови брюшной аорты: оно оказалось уменьшенным на 28,4% ($P < 0,05$). Уровень ЛПНП был ниже контрольного в крови брюшной аорты (на 29%; $P < 0,05$) и воротной вены (26,4%; $P < 0,05$). Через 1,5 ч от начала кровопотери отличий содержания отдельных фракций ЛП от контрольных показателей в крови центральных сосудов не наблюдали.

Таблица 4. Содержание липопротеинов (в мг %) в крови у кошек, подвергнутых геморрагическому шоку ($\bar{X} \pm m$)

Время, ч	Условия опыта	ХМ	ЛПОНП	ЛПНП
		Брюшная аорта		
	Контроль (5)	68,1±12,8	46,7±11,2	123,8±21,5
	Шок (4)	47,4±7,4	11,6±4,1*	46,2±8,2*
		Воротная вена		
0,5	Контроль (5)	64,1±11,7	33,8±5,8	119,6±18,0
	Шок (4)	56,1±8,6	11,2±3,8*	52,7±4,9*
		Печеночная вена		
	Контроль (6)	63,6±10,7	37,4±10,5	130,2±17,8
	Шок (8)	49,2±6,6	9,3±1,8*	51,0±10,8*
		Брюшная аорта		
	Контроль (5)	81,9±9,8	54,6±5,2	129,7±9,4
	Шок (4)	85,4±9,8	39,1±0,8	92,1±10,0*
		Воротная вена		
1,0	Контроль (5)	77,4±11,0	44,6±6,1	141,8±9,7
	Шок (5)	84,7±7,4	42,3±6,0	104,3±11,1*
		Печеночная вена		
	Контроль (5)	78,3±11,3	46,2±9,7	122,6±16,9
	Шок (5)	80,8±5,6	45,9±2,9	104,1±8,0
		Брюшная аорта		
	Контроль (4)	61,1±8,2	21,4±6,8	125,0±21,1
	Шок (5)	54,6±8,5	28,5±9,0	157,2±26,7
		Воротная вена		
1,5	Контроль (4)	58,2±9,6	23,2±3,3	131,2±16,9
	Шок (4)	64,5±9,0	34,2±10,4	162,0±26,6
		Печеночная вена		
	Контроль (4)	62,7±7,0	25,9±3,0	106,4±8,3
	Шок (5)	55,7±13,5	24,8±6,8	160,8±32,4

Полученные данные свидетельствуют о том, что в процессе развития геморрагического шока среди основных липид-переносящих ЛП катаболизму подвергаются два класса - ЛПОНП и ЛПНП. Учитывая, что данные фракции ЛП являются основными переносчиками холестерина, можно полагать, что в процессе развития геморрагического шока повышенное выведение ЛПОНП и ЛПНП из циркуляции обеспечивает увеличенную потребность организма в синтезе глюкокортикоидов и в стабилизации мембранных структур. Содержание ХМ в крови центральных сосудов на всем протяжении наблюдений не менялось, что указывает на сохранение энергетического резерва крови. Такая стабильность,

возможно, связана с наблюдаемым при развитии геморрагического шока быстрым снижением липолиза в жировой ткани [27], липопротеинлипаза которой играет, как известно, основную роль в регуляции первой стадии гидролиза ХМ [28].

У кошек, подвергнутых геморрагическому шоку, применение СОД в свободной форме не влияло на состав ЛП крови, в то время как применение СОД-липосом вызывало снижение в крови воротной вены содержания ХМ на 30,6 % ($P < 0,05$) по сравнению с показателями нелеченых животных (таблица 5), что указывает на эффективность использования СОД-липосом для обеспечения энергией организма при массивной кровопотере.

Таблица 5. Содержание липопротеинов (в мг %) в крови у кошек, подвергнутых геморрагическому шоку и леченых СОД ($X \pm m$)

Условия опыта	ХМ	ЛПОНП	ЛПНП
Брюшная аорта			
Контроль (6)	64,0+5,6	22,0+4,9	116,4+17,6
Шок (8)	53,0+7,1	26,6+6,0	140,2+21,2
Шок+СОД (4)	50,4+5,8	23,6+4,2	102,9+14,9
Шок+СОД- липосомы (5)	39,4+3,3*	21,1+4,7	140,0+18,4
Воротная вена			
Контроль (6)	60,7+6,9	24,4+2,3	125,7+11,8
Шок (7)	58,4+7,6	30,7+6,2	141,8+23,4
Шок+СОД (4)	51,2+5,8	25,0+4,1	115,4+14,4
Шок+СОД- липосомы (5)	40,5+2,6*#	18,8+3,7	151,8+17,2
Печеночная вена			
Контроль (6)	64,1+5,2	31,7+4,4	108,9+9,3
Шок (5)	53,8+9,6	24,4+4,2	139,2+24,4
Шок+СОД (4)	51,7+7,1	26,7+5,4	115,1+17,1
Шок+СОД- липосомы (5)	43,6+4,4*	17,2+3,8*	153,5+13,4*

Проведенные исследования дают основание полагать, что среди основных причин нарушений метаболических процессов в гепатоцитах и реализации эффекта регуляторных пептидов при геморрагическом шоке следует рассматривать перекисное окисление липидов (ПОЛ). Установлен один из определяющих механизмов усиления ПОЛ в печени - прогрессивное снижение в плазматических мембранах гепатоцитов содержания ФХ, обладающего антиоксидантными свойствами [29, 30]. В этой связи следует отметить, что ФХ действует как сильный активатор антиокислительной активности природных антиоксидантов, в частности, α -токоферола [29]. Учитывая такие данные, можно полагать, что истощение ФХ в плазматических мембранах гепатоцитов в процессе развития геморрагического шока может приводить к нарушению синергического взаимодействия между ФХ и антиоксидантами, вследствие чего происходит активация ПОЛ. По-видимому, на начальной стадии развития геморрагического шока снижение защитного действия ФХ в плазматических мембранах гепатоцитов компенсировалось отчасти за счет резкого увеличения содержания ФЭ, также обладающего свойством усиливать антиоксидантную активность природных антиоксидантов [29]. Постепенное уменьшение содержания ФЭ на отдаленных стадиях развития геморрагического шока могло явиться одной из причин некомпенсированного усиления ПОЛ. Не исключено, что существенное накопление ФИ в плазматических мембранах гепатоцитов на отдаленных стадиях развития геморрагического шока может быть связано с нарушением взаимодействия регуляторных пептидов, стимулирующих распад ФИ, с рецепторами, модифицированными при активации свободнорадикальных процессов.

Применение СОД на ранней стадии геморрагического шока в значительной степени воздействует на фосфолипидный состав плазматических мембран гепатоцитов у кошек, перенесших 1,5-часовую гипотензию, причем показатели отдельных классов фосфолипидов приближены к таковым у нелеченых животных через 30 минут от начала кровопотери. Известно, что для усиления

распада ФИ плазматических мембран гепатоцитов решающим моментом является связывание вазопрессина с рецепторами [30]. В то же время вазопрессин и агонисты α -адренорецепторов обнаруживают способность активировать синтез ФЭ и ингибировать синтез ФХ [31]. Учитывая изложенное, механизм изменения ФЛ-состава плазматических мембран под воздействием СОД, связанный с усилением распада ФИ и уменьшением содержания ФХ, сочетавшегося с накоплением ФЭ, можно представить как восстановление способности Ca^{2+} -регулирующих агонистов связываться с рецепторами плазматических мембран гепатоцитов. Введение СОД кошкам, переживающим геморрагический шок, способствовало нормализации содержания ФЛ плазматических мембран адипоцитов мезентериальной* жировой ткани, обмен которых в условиях геморрагического шока был нарушен, что можно оценить как следствие облегчения функционального состояния жировых клеток.

Результаты настоящего исследования показали, что применение СОД в составе липосом при геморрагическом шоке ослабляет ее защитное воздействие на фосфолипидный состав плазматических мембран гепатоцитов и одновременно усиливает ее защитный эффект на фосфолипидный бислой плазматических мембран адипоцитов. В связи с изложенным следует отметить результаты работ, посвященных изучению механизмов действия липосомальной формы СОД, свидетельствующих о том, что включение СОД в липосомы в значительной степени влияет на характер воздействия липосом на клетки, причем содержание СОД в органах при применении СОД-липосом определялось природой СОД, а также ионным составом среды липосом и составом липосомального лецитина [32]. Установлено, что обработка эндотелиальных клеток СОД в липосомальной форме защищала их от повреждения свободными радикалами, в то время как свободная СОД в отсутствие или присутствии пустых липосом не воздействовала на активность внутриклеточной СОД эндотелиальных клеток и не защищала их от повреждения свободными радикалами [1]. В исследованиях *in vitro* была установлена возможность слияния липосом, содержащих СОД, с мембранами эритроцитов [32]. Показано также, что в/в введение СОД, включенной в липосомы, оказывается мало эффективным при попытке устранения повреждения легких, вызванного избытком кислорода, в то время как в/в применение СОД, конъюгированной с полиэтиленгликолем, повышало ее эффективность [34]. Учитывая изложенное, можно полагать, что выявленные отличия воздействия липосом, содержащих СОД, на фосфолипидный состав плазматических мембран гепатоцитов и адипоцитов при геморрагическом шоке отражают тканевую специфичность механизмов взаимодействия липосом с клетками. Кроме того, не исключена возможность, что причиной снижения защитного действия ФХ-липосом на фосфолипидный бислой плазматических мембран гепатоцитов при включении в них СОД, наблюдавшегося в настоящих исследованиях, является отчасти избыточное поступление СОД в гепатоциты, поскольку известно, что чрезмерное увеличение активности СОД в клетках приводит к аномальному снижению содержания O_2 , которое, в свою очередь, отрицательно сказывается на метаболических окислительных процессах [32].

Характерной особенностью применения на фоне геморрагического шока липосом, содержащих СОД, явилось усиление выведения из циркуляции ХМ. Данное явление может быть следствием восстановления липолитической активности жирового депо, поскольку одновременно с этим наблюдали значительную коррекцию структуры плазматических мембран адипоцитов мезентериальной жировой ткани.

Проведенное исследование свидетельствует о целесообразности сочетанного применения СОД (в свободной форме и в форме липосом) для коррекции метаболических процессов при геморрагическом шоке.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Freeman B.A., Yong S.L., Crabo J.D.* (1983) *J. Biol. Chem.*, **258**, 12534-12542
2. *Агаджанов М.И., Симонян М.А., Казарян Ш.А.* (1989) *Вопр. мед. химии*, **35**, № 4, 28-30
3. *Rao P.S., Mueller H.S.* (1983) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **161**, 347-363
4. *Брюсов П.Г. и др.* (1992) *Вест. хирургии*, N 9-10, 216-219
5. *Шнейвас В.Б., Амилов К.С., Левин Г.С.* (1994) *Пат.физиол.и эксперим.тер.*, N 1, 27-32
6. *Maruyama N.* (1996) *Mausi*, **45**, 59-65
7. *Gallagher K.P., Buda A.J., Pace D. et al.* (1985) *Circulation*, **73**, 1065-1076
8. *Koller P.T., Bergmann S.R.* (1989) *Circulat. Res.*, **65**.
9. *Simon H.M., Scalea T., Yang B.* (1996) *Am. Med. Sci.*, **312**, 155-159
10. *Wiggers C.Y.* (1950) *Physiology of Shock*. N.Y.
11. *Fine J.* (1962) *Shock: pathogenesis and therapy*. London, 25-39
12. *Mishima K., Satch K., Ogihara T.* (1987) *Biochim. Biophys. Acta*, **898**, 231-238
13. *Поспелова А.В.* (1977) в кн.: *Современные методы в биохимии.* (ред. В.Н. Орехович), М., 326-329
14. *Harword J.P., Low H., Rodbell M.* (1973) *J. Biol. Chem.*, **248**, 6239-6245
15. *Bligh E.G., Dyer W.J.* (1959) *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917
16. *Skipsky V.P., Barclay M.* (1969) *Meth. Enzymol.*, **14**, 530-598
17. *Teipel J.W., Meode B.* Single sample method for determination of lipoprotein concentrations in blood (Orto Diagnostics, Inc.) Пат. США N 4.039.285 кл. 23/230
18. *Irving N.R., Exton J.H.* (1987) *J. Biol. Chem.*, **262**, 3440-3443
19. *Yeagle P.L.* (1989) *FASEB J.*, **3**, 1833-1842
20. *Sekar M.C., Hokin L.E.* (1986) *J. Membrane Biol.*, **89**, 193-210
21. *Fain J.N., Garcia-Sains J.A.* (1980) *Life Sci.* **26**, 1183-1194
22. *Kovach A.G.B., Rosell S., Sandor P. et al.* (1970) *Circulat. Res.*, **26**, 733-741
23. *Voelker D.R.* (1989) *J. Biol. Chem.*, **264**, 8019-8025
24. *Levy G.S.* (1971) *J. Biol. Chem.*, **246**, 7405-7410
25. *Levy G.S.* (1971) *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **43**, 108-113
26. *Arner P.* (1995) *Ann. Med.*, **27**, 435-438
27. *Левин Г.С., Каменецакая Ц.Л.* (1982) *Метаболизм липидов при кровопотере и шоке*. Ташкент.
28. *Quarfordt S.H., Goodman D.S.* (1967) *J. Lipid. Res.*, **8**, 264-273
29. *Hudson B.J.F., Mahgoul S.E.* (1981) *J. Sci. Food Agric.*, **32**, 208-210
30. *Yoshida K., Mohserin V.* (1991) *Life Sci.*, **39**, 1359-1365
31. *Fain J.N., Lin S.-H., Litsch J. et al.* (1983) *Life Sci.*, **32**, 2055-2067 838-846
32. *Tijburg L.B., Schuurmans E.A., Geelen M.J. et al.* (1987) *Biochim. Biophys. Acta*, **919**, 49-57
33. *Michelson A.M., Puget K., Durosay P.* (1981) *Mol. Physiol.*, **1**, 85-96.
34. *Mc Donald R.J., Berger E.M., Wite C.W. et al.* (1985) *Am. Rev. Respir. Dis.*, **32**, 164-167

Поступила 12. 11. 98.

PROTECTIVE EFFECT OF DIFFERENT FORM SUPEROXIDE DISMUTASE ON THE PLASMA MEMBRANE PHOSPHOLIPID COMPOSITION OF HEPATOCYTE AND ADIPOCYTE AND ON THE BLOOD LIPOPROTEIN COMPOSITION IN HEMORRHAGIC SHOCK IN CATS

G. F.LESKOVA

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow,
Russia 125315 Moscow Russia,
Baltiyskaya str., 8 E-mail: nii@pathophys.msk.ru

Using a model of hemorrhagic shock, the possibility of protection by Cu,Zn-superoxide dismutase (SOD) of the phospholipid bilayer of plasma membranes of hepatocytes and adipocytes as well as of the blood lipoproteins was studied. SOD (5 mg/kg), injected 30 min after the onset of bleeding, efficiently prevented changes in the phospholipid bilayer of hepatocytic plasma membranes in cats. Simultaneous injection of SOD partly restored the concentration of different classes of phospholipids in plasma membranes of mesenterial fatty tissue adipocytes altered by shock. When incorporated into liposomes, SOD exerted a weaker corrective effect on the phospholipid composition of hepatocytic plasma membranes in animals with hemorrhagic shock and simultaneously produced a membrane-stabilizing effect on adipocytes. In contrast to pure SOD (which had no effect on the lipoprotein composition of the blood in animals with hemorrhagic shock), SOD-containing liposomes decreased the amount of chylomicrons and very low density lipoproteins in the venous blood of central vessels.

Key words: superoxide dismutase, phospholipid, hepatocytes, adipocytes, hemorrhagic shock.