

ре которой сохранялись единичных клеток. ГТ по периферии контрольных животных печались группы эпителиоид-гастов (на 12,2%; $P < 0,02$), с тем уменьшалось относительное (на 17,1%; $P < 0,001$), гастов (на 6,4%; $P < 0,01$). На анялась практически на всю зрелой, чем у контрольных еризовался увеличением от-%; $P < 0,001$) и уменьшени-%; $P > 0,5$; макрофагов — на ; $P < 0,05$) клеток вплоть до х лейкоцитов. Повышалась глубоких и субэпикардially ца отмечалась значительная

ут у животных с ИМ сопро-ыми контрольной серии истизированных кардиомиоци-стание молодой ГТ наблю-тельное содержание клеток, йкоцитов, лимфоцитов, мак-общего числа клеток, при-за, в контрольной серии — фибробластов (на 5,1%; ением относительного числа эпителиоидных (на 2,0%; менения биоседа до 12 сут ежуточное положение при х серий исследования. Так, а клеток, инициирующих В агов — на 4,9%, $P < 0,02$), лось от контрольного зна-

и с ИМ в течение 5 сут не заживление. Это подтверж-жением (%) клеток, ини-следований. При продлении 2 сут у крыс с эксперимен-развитии ИМ, а число про-ентов достоверно не отли-выше препаратов показало, кенным репаративным эф-лияние, а стекловидное те-Нашими исследованиями й эффект ретаболила про-е Р ретаболилом обуслов-змы синтеза белка, оказы-бмен в организме [4]. По-ко в меньшей мере, обла-ы стекловидного тела, спо-сформировавшейся рубцо-ания на развитие инфарк-

V. G. Shevchuk, A. I. Pliska, O. V. Sergienko, M. N. Reiko, G. G. Shaf

INFLUENCE OF RETABOLILUM, BIOSSEDUM AND CORPUS VITREUM ON THE REPARATIVE PROCESSES IN THE RAT HEART WITH EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION

Influence of retabolilum, biossedum and corpus vitreum on the inflammation and reparation in the rat heart with experimental infarction has been investigated. It is shown that retabolilum has the most pronounced reparation effect. At the same time biossedum has a slight effect on the reparative processes and corpus vitreum does not influence it at all. It is also found that the most pronounced action of retabolilum has been observed by the 12th day of infarction.

A. A. Bogomoletz Medical Institute, Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов Л. В. Анаболические стероиды в коррекции белкового обмена у больных острым инфарктом миокарда // Современные лабораторно-инструментальные и математические методы в диагностике, терапии и реабилитации инфаркта миокарда. Межвед. сб. науч. тр. — Горький, 1988. — С. 58—64.
2. Афанасьев Т. Н., Лебкова Н. П. Влияние элеутерококка на субклеточные структуры при экспериментальном инфаркте миокарда // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1987. — 97, № 2. — С. 212—215.
3. Афонская Н. И., Ильинский О. В., Кондаленко В. Ф. и др. Влияние опиоидного пептида на заживление экспериментального инфаркта миокарда // Там же. — 1986. — 96, № 12. — С. 754—757.
4. Второв А. Е., Лецинский Л. А., Пименов Л. Т. Терапия инфаркта миокарда средствами метаболического действия // Казан. мед. журн. — 1986. — 67, № 5. — С. 325—328.
5. Лисняк И. А. Выделение и характеристика ингибитора неоваскуляризации из стекловидного тела // Вопр. мед. химии. — 1988. — 34, № 2. — С. 16—18.
6. Михно Л. Е. Критическая оценка влияния биоседа на репаративные процессы в сердечной мышце при остром инфаркте миокарда // Применение тканевых препаратов в медицине. Тез. респ. конф. — Одесса, 1985. — С. 180—181.
7. Cannon R. O., Rodriguez E. R., Speir E. et al. Effect of ibuprofen on the healing phase of experimental myocardial infarction in the rat // Amer. J. cardiol. — 1985. — N 1 (Part 1). — P. 109—113.

Киев, мед. ин-т им. А. А. Богомольца
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 28.06.89

УДК 612.117.7

С. Л. Сашенков, А. Л. Хшиво, Н. В. Егорова,
А. С. Пекрасов, В. З. Ланкин

Влияние липоксигеназных метаболитов арахидоновой кислоты на поверхностный заряд мембраны эритроцитов

В течение последних десяти лет уделяется значительное внимание изучению свойств мембраны эритроцитов, в том числе и лабильности ее поверхностного заряда, отражением которой является электрофоретическая подвижность (ЭФП) эритроцитов [5, 6]. Как известно, поверхностный заряд изменяется при адсорбции на его мембране молекул различных веществ и при различных патологических состояниях [1, 2, 5, 6].

В связи с изложенным выше, представляет интерес изучение роли липоксигеназных метаболитов арахидоновой кислоты в изменении поверхностного заряда мембраны эритроцитов.

Методика

У 89 белых беспородных крыс-самцов массой 200—220 г брали пробы крови. В каждой пробе с помощью секундомера и микроскопа с окулярной сеткой измеряли среднюю скорость передвижения 10 отдельных эритроцитов (разность потенциалов на неполяризующихся электродах 40 В).

Влияние исследуемых веществ изучали методом их инкубации (0,25 мл) в течение 1 ч при 37°C со взвесью эритроцитов интактных животных (0,25 мл) в изотоническом фосфатном буфере (рН 7,4). Исходные растворы исследуемых препаратов в этаноле разводили непосредственно перед опытом изотоническим раствором NaCl, чтобы конечная концентрация этанола составляла не более 1%. Предварительно было установлено, что 1%-ный этанол и изотонический фосфатный буфер не изменяют ЭФП эритроцитов.

Исследовались следующие вещества: арахидоновая кислота (фирма «Sigma», США), 15-НЕТЕ (15-гидрокси-6, 8, 11, 13-эйкозатетраеновая кислота), 5, 15-Di НЕТЕ (5,15-дигидрокси-6, 8, 11, 13-тетраеновая кислота), 8, 15-Di НЕТЕ (8,15-дигидрокси-6, 8, 11, 13-эйкозатетраеновая кислота), липоксин В (5, 14, 15-тригидрокси-6, 8, 10, 12-эйкозатетраеновая кислота), метиловый эфир липоксина В. Липоксигеназные производные получали с помощью различных методов в отделе сердечно-сосудистой патологии человека Института клинической кардиологии ВКНЦ АМН СССР. 15-НЕТЕ получали окислением арахидоновой кислоты соевой липоксигеназой-1 (фирма «Sigma», США), 5, 15-DiНЕТЕ и 8, 15-DiНЕТЕ — окислением арахидоновой кислоты в 0,1 М Na-боратном буфере (рН 7,4) при катализе соевой липоксигеназы-1, липоксин В получали окислением 5, 15-DiНЕТЕ в 0,1 М К⁺, Na-фосфатном буфере (рН 7,4) при катализе гоомогенным соединением 15-липоксигеназы ретикулоцитов кролика с последующим восстановлением NaBH₄. Все соединения были очищены с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и идентифицированы с помощью УФ-спектрометрии и хромато-масс-спектрометрии с использованием соединений-свидетелей.

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с вычислением М, m, Р и критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В первой серии экспериментов исследовали влияние различных концентраций арахидоновой кислоты на ЭФП (табл. 1). Как видно из табл. 1, арахидоновая кислота в диапазоне концентрации $1,5 \cdot 10^{-4}$ — $1,5 \cdot 10^{-8}$ моль/л вызывает увеличение ЭФП эритроцитов. Статистически достоверного дозозависимого эффекта арахидоновой кислоты нет.

Во второй серии экспериментов исследовали влияние на ЭФП 15-НЕТЕ ($1 \cdot 10^{-7}$ — $1 \cdot 10^{-11}$ моль/л), 5,15-Di НЕТЕ ($2,5 \cdot 10^{-6}$ — $2,5 \cdot 10^{-8}$ моль/л), 8,15-Di НЕТЕ ($1 \cdot 10^{-7}$ — $1 \cdot 10^{-9}$ моль/л), липоксина В ($3,6 \cdot 10^{-8}$ — $3,6 \cdot 10^{-10}$ моль/л), метилового эфира липоксина В ($1 \cdot 10^{-7}$ — $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л). Как видно из табл. 2, 15-НЕТЕ, метиловый эфир липоксина В и липо-

Таблица 1. Влияние арахидоновой кислоты на лабильность поверхностного заряда мембраны эритроцита¹

Вариант опыта	Электрофоретическая подвижность (ЭФП) эритроцита (M±m), мкм·с ⁻¹ ·В ⁻¹ ·см	Число опытов n	Достоверность различия (Р) опыта
До введения арахидоновой кислоты (контроль)	1,319±0,007	89	—
После введения арахидоновой кислоты различной концентрации:			
$1,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	1,458±0,04	3	P<0,05
$1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л	1,49±0,03	3	P<0,02
$1,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л	1,509±0,014	6	P<0,02
$1,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л	1,444±0,02	3	P<0,01
$1,5 \cdot 10^{-8}$ моль/л	1,396±0,011	3	P<0,01
$1,5 \cdot 10^{-9}$ моль/л	1,325±0,04	3	P>0,5

¹ Измерена ЭФП 20 клеток (10 эритроцитов до переключения полюсов и 10 — после) в каждом опыте.

ксин В вызывали уности эффекта с д действие оказывали концентрациях они

Таким образом болиты обладают роцитам. Следует с тоническим фосфат виях добавления к ния ЭФП эритроци направленность изм ческого строения эритроцитов в усло сийэйкозатетраеноат и три-гидроксизейко ка снимает действи способности адсорб

Таблица 2. Влияние на лабильность поверхно

Концентрация метаболита

$1 \cdot 10^{-7}$ моль/л
 $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л
 $1 \cdot 10^{-9}$ моль/л

$2,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л
 $2,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л
 $2,5 \cdot 10^{-8}$ моль/л

$1 \cdot 10^{-7}$ моль/л
 $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л
 $1 \cdot 10^{-9}$ моль/л

$3,6 \cdot 10^{-8}$ моль/л

$1 \cdot 10^{-7}$ моль/л
 $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л

¹ В таблице приведены контрольных.

Таблица 3. Влияние на лабильность поверхнос

Концентрация блокатора

$1 \cdot 10^{-4}$ моль/л
 $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л

$1 \cdot 10^{-4}$ моль/л
 $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л

$1 \cdot 10^{-4}$ моль/л
и $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л соот-
ветственно

—220 г брали пробы крови. В каж-
с окулярной сеткой измеряли сред-
цитов (разность потенциалов на не-

ом их инкубации (0,25 мл) в тече-
ых животных (0,25 мл) в изотониче-
юры исследуемых препаратов в эта-
отоническим раствором NaCl, чтобы
ее 1 %. Предварительно было уста-
сфатный буфер не изменяют ЭФП

оновая кислота (фирма «Sigma»,
траеновая кислота), 5, 15-Di HETE
8, 15-Di HETE (8,15-дигидрокси-6,
5, 14, 15-тригидрокси-6, 8, 10, 12-эй-
на В. Липоксигеназные производные
сердечно-сосудистой патологии цело-
ИН СССР. 15-HETE получали окис-
зой-I (фирма «Sigma», США), 5,
овой кислоты в 0,1 М Na-боратном
зы-I, липоксин В получали окисле-
ере (pH 7,4) при катализе гомоген-
кролика с последующим восстанов-
мощью высокоэффективной жидко-
стью УФ-спектрометрии и хромато-
идетелей.

ной статистики с вычислением М,

ли влияние различных кон-
П (табл. 1). Как видно из
не концентрации $1,5 \cdot 10^{-4}$ —
П эритроцитов. Статистиче-
арахидоновой кислоты нет.
ли влияние на ЭФП 15-HETE
 $5 \cdot 10^{-6}$ — $2,5 \cdot 10^{-8}$ моль/л)
поксина В ($3,6 \cdot 10^{-8}$ — $3,6 \times$
В ($1 \cdot 10^{-7}$ — $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л).
эфир липоксина В и липо-

абильность поверхностного заряда

д- нта см	Число опытов п	Достоверность различия (Р) опыта
89	—	—
3	3	$P < 0,05$
3	3	$P < 0,02$
6	3	$P < 0,02$
3	3	$P < 0,01$
3	3	$P < 0,01$
3	3	$P > 0,5$

печения полюсов и 10—после) в

ксин В вызывали увеличение ЭФП эритроцитов, сравнимое по выраже-
ности эффекта с действием арахидоновой кислоты. Противоположное
действие оказывали 5,15-DiHETE и 8,15-DiHETE. Во всех исследуемых
концентрациях они вызывали достоверное снижение ЭФП эритроцитов.

Таким образом, арахидоновая кислота и ее липоксигеназные мета-
болиты обладают мембранотропным действием по отношению к эри-
throцитам. Следует отметить, что трехкратная отмывка эритроцитов изо-
тоническим фосфатным буфером (pH 7,4) после их инкубации в усло-
виях добавления каждого из исследуемых веществ возвращала значе-
ния ЭФП эритроцитов к исходным. Важным представляется различная
направленность изменений ЭФП эритроцитов в зависимости от хими-
ческого строения липоксигеназных метаболитов: замедление ЭФП
эритроцитов в условиях добавления в инкубационную среду дигидрок-
сизйкозатетраеноатов и ее ускорение в условиях добавления гидрокси-
и три-гидроксизйкозатетраеноатов. Тот факт, что трехкратная отмыв-
ка снимает действие всех исследуемых веществ, свидетельствует об их
способности адсорбироваться на мембране эритроцита. С целью изу-

Таблица 2. Влияние липоксигеназных метаболитов арахидоновой кислоты
на лабильность поверхностного заряда мембраны эритроцита¹

Концентрация метаболита	Электрофоретическая подвиж- ность (ЭФП) эритроцита ($M \pm m$), мкм·с ⁻¹ ·В ⁻¹ ·см	Число опытов п	Достоверность разли- чия (Р) по сравнению с контролем
15-HETE			
$1 \cdot 10^{-7}$ моль/л	$1,496 \pm 0,07$	3	$< 0,05$
$1 \cdot 10^{-8}$ моль/л	$1,466 \pm 0,036$	3	$< 0,02$
$1 \cdot 10^{-9}$ моль/л	$1,453 \pm 0,02$	6	$< 0,01$
5, 15-DiHETE			
$2,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л	$1,213 \pm 0,024$	3	$< 0,05$
$2,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л	$1,20 \pm 0,047$	3	$< 0,05$
$2,5 \cdot 10^{-8}$ моль/л	$1,13 \pm 0,06$	3	$< 0,05$
8, 15-DiHETE			
$1 \cdot 10^{-7}$ моль/л	$1,095 \pm 0,02$	3	$< 0,001$
$1 \cdot 10^{-8}$ моль/л	$1,134 \pm 0,019$	3	$< 0,001$
$1 \cdot 10^{-9}$ моль/л	$1,178 \pm 0,007$	3	$< 0,001$
Липоксин В			
$3,6 \cdot 10^{-8}$ моль/л	$1,381 \pm 0,016$	3	$< 0,001$
Метилловый эфир липоксина В			
$1 \cdot 10^{-7}$ моль/л	$1,585 \pm 0,016$	5	$< 0,05$
$1 \cdot 10^{-8}$ моль/л	$1,565 \pm 0,018$	5	$< 0,05$

¹ В таблице приведены значения ЭФП, статистически достоверно отличающиеся от
контрольных.

Таблица 3. Влияние финоптина, трифтазина и их совместного применения
на лабильность поверхностного заряда мембран эритроцитов

Концентрация блокатора	Электрофоретическая подвиж- ность (ЭФП) эритроцитов ($M \pm m$), мкм·с ⁻¹ ·В ⁻¹ ·см	Число опытов (n)	Достоверность разли- чия (Р) по сравнению с контролем
Финоптин			
$1 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$1,845 \pm 0,02$	5	$< 0,001$
$1 \cdot 10^{-5}$ моль/л	$1,55 \pm 0,00$	5	$< 0,001$
Трифтазин			
$1 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$1,7 \pm 0,013$	5	$< 0,001$
$1 \cdot 10^{-5}$ моль/л	$1,57 \pm 0,014$	5	$< 0,002$
Финоптин и трифтазин			
$1 \cdot 10^{-4}$ моль/л и $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л соот- ветственно	$1,634 \pm 0,02$	5	$< 0,002$

чения возможных механизмов изменения заряда мембраны исследовано действие блокатора кальциевых каналов финоптина (верапамила) и трифтазина — вещества, угнетающего действие кальмодулина. Как видно из табл. 3, финоптин, трифтазин и совместное применение этих препаратов вызвали значительное увеличение ЭФП эритроцитов. Выяснение всех возможных механизмов влияния липоксигеназных метаболитов арахидоновой кислоты на поверхностный заряд мембраны эритроцитов требует дальнейшего изучения.

S. L. Sashenkov, A. L. Khshivo, N. V. Egorova,
A. S. Nekrasov, V. Z. Lankin

THE INFLUENCE OF LIPOXYGENASE METABOLITES OF ARACHIDONIC ACIDS ON THE SURFACE CHARGE OF THE ERYTHROCYTE MEMBRANES

The influence of metabolites of arachidonic acids on the electrophoretic mobility of the rat erythrocytes has been investigated. It is found that they can increase or decrease the surface charge of the erythrocyte membranes.

Medical Institute, Ministry of Public Health
of the RSFSR, Chelyabinsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Захаров Ю. М., Глазырина П. В., Бордуновская В. П. и др. О некоторых морфо-функциональных свойствах эритроцитов акклиматизированных к теплу животных // Физиол. журн. СССР. — 1986. — 72, № 12. — С. 1647—1652.
2. Козинец Г. И., Зоделава М. М., Борзова Л. В., Кульман Р. А. Электрофорез клеток гомопоэтической ткани. — Тбилиси: Сабчота Сакартвело, 1986. — 150 с.
3. Ларионов Н. П. Кальмодулин. — Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1984. — 84 с.
4. Харамоненко С. С., Ракитянская А. А. Электрофорез клеток крови в норме и патологии. — Минск: Беларусь, 1973. — 143 с.
5. Bate A. I., Deeley I. O. T., Pritchard I. A. V. Anevaluation of a video image correlation technique for the estimation of electrophoretic mobilities of human blood cells // Electrophoresis '83. — Berlin; New York. — 1984. — P. 301—308.
6. Seaman J. V. F. Electrokinetic behavior of red cells // Red blood cell. — New York etc.: Acad. press., 1979. — P. 1145—1229.

Челябин. мед. ин-т
М-ва здравоохранения РСФСР

Материал поступил
в редакцию 15.07.88

УДК 612.015.6:539.227

В. А. Элькина, А. Я. Розанов

Динамика поглощения ¹⁴C-биотина клетками крови и связывание белками плазмы в онтогенезе

Биохимические функции биотина (его участие в карбоксилировании и синтезе жирных кислот) достаточно изучены, однако практически не известны механизмы его транспорта в животном организме, поступления в клетки крови и проникновения через клеточные мембраны и гистогематические барьеры. Также совершенно не изучены возрастные особенности транспорта биотина в клетки и ткани высших организмов. Только для микроорганизмов (*Lactobacillus arabinosus* и *Saccharomyces cerevisiae*) показано существование активного транспорта этого витамина [8, 10]. На клетках *E. coli* (штамм K — 12 (Y10—1), не нуждающийся в биотине) обнаружены регуляторные механизмы транспортной системы биотина по типу репрессии [9].

Цель нашей работы — изучение возрастных особенностей транспорта биотина *in vitro* в клетки крови и роли белков плазмы в этом процессе.

Методика

Исследование проведено *in vitro* групп: I группа — молодые (2–10 мес, масса 150–280 г); III — взрослых декапитировали, кровь (1:3) с добавлением гепарина титрования и стабилизации форм во меченного по углероду каршам», Великобритания), кото 1 мкмоль, что сопоставимо с После инкубации при температурбы по 1 мл и разделяли фот 5 000 г). Белки плазмы из концентрации 80 % с последующияли, осадки белков и клеток 0,5 мл (около 15 мг плотного цельной крови.

В специальных экспериментах и очищенную фракцию лейкоц4, 7] и изучали динамику погло в растворе при том же конечном лейкоцитов использовали кровь

Радиоактивность всех образцов плазмы подсчитывали на газорасфигиентов поглощения β-излучески [5] с использованием кр тина в крови *in vitro* в данных тодом на бумаге в системе ственно).

Результаты и их обсужде

Значительная часть ¹⁴C-биотина: при добавлении его 2,5 до 27 % этого витамина 38,6% — с форменными повышается с увеличением характерно для I и III возрастов поглощения ¹⁴C-биотина 61% у молодых животных метки связывается уже плазмы крови молодых животных ¹⁴C-биотина, чем белки косвенным доказательством крови при старении и, с портной функции. Однако ние общей метки через младших возрастных групп медляется способность плазмы.

Для обеих исследуемых во всех трех возрастных связывания ¹⁴C-биотина. взрослых (I группа) через поглощение ¹⁴C-биотина и половозрелых животных нуты в сторону более поздипик поглощения ¹⁴C-биотина плазмы и клеток крови стив 15 и 30 мин для I и