

дини, який містить еласта-
зи, лізіс субендотеліального
матриксу, й периваскулярної спо-
тгментацию ендотеліальних
стінок та навколосудин-
калі активованих нейтро-
кодження ендотеліальних
ють посткапілярні вену-
оренні міжендотеліальних
ту, серотоніну чи брадики-
н, чи діють катіонні білки
активні речовини тучних
итокіни, принаймні інтер-
підвищення ПС [11].
не значення лейкоцитів у
о інфекційного запалення.

VASCULAR OCUS

ablastine-induced leukopenia has
ficantly influences the vascular
od of exudation. It inhibits the
the initial period of delayed
ent action the vascular permeabi-
s be more than in the natural
the leukocyte number usual for
e in blood. The results indicate
late and delayed phases of in-
ous focus.

мина и серотонина и проницае-
ения // Бюл. эксперим. биологии

ения и проницаемость сосудов
рита // Физиол. журн. — 1981. —

экссудативной фазы воспале-
1. — № 1. — С. 32—36.

mulation in acute inflammatory
3.

Acta Med. Scand. — 1987. — 715,

e biologic activity of mast cell
ropenia on rat cutaneous late
2837—2842.

ators in microvascular changes
Pharmacol. — 1987. — 65, N 3. —

in the inflammatory reaction //

effects of cetirizine and histag-
gy. — 1987. — 59, N 6, Pt 2. —

icals, inflammation, and tissue
5—6. — P. 403—408.

permeability by polymorphonu-
289, N 5799. — P. 646—650.

tory mechanisms in the Arthus
P. 66—73.

Матеріал надійшов
до редакції 13.07.91

УДК 612.173.1—001.8:616.155.194.6

Л. С. Мхітарян, А. Г. Короткоручко, Г. М. Ліпкан

Вплив гіпоксії, зумовленої залізодефіцитною анемією, на фізико-хімічні властивості біологічних мембран

В опытах на крысах изучали влияние гипоксии, обусловленной желе-
зодефицитной анемией, на структурно-функциональное состояние био-
логических мембран: определяли липидную структуру и проницаемость
для кальция мембран эритроцитов, кардиомиоцитов и гепатоцитов.
Экспериментальная железоздефицитная анемия приводила к статисти-
чески достоверному повышению в мембранах содержания свободных
жирных кислот и уменьшению — фосфолипидов. Количество холесте-
рина оставалось неизменным, микровязкость мембран повышалась,
значительно нарушалась кинетика выхода $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из везикул мембран.
Количественные изменения липидов мембран клеток можно рассматри-
вать как один из важных молекулярных механизмов нарушения систем
транспорта Ca^{2+} в мембранах, повышения их проницаемости для каль-
ция, что приводит к возникновению его избытка в клетках с последую-
щими нарушениями гомеостаза.

Вступ

Дефіцит заліза до цього часу лишається широко розповсюдженою па-
тологією, від якої страждає кожний п'ятий житель нашої планети [8].
У хворих на залізодефіцитну анемію знижується працездатність, від-
мічається підвищена захворюваність. При цій патології відмічається
зниження деяких факторів клітинного та гуморального імунітету, пору-
шення вуглецевого, білкового, жирового, вітамінного обмінів, електро-
літного балансу [6]. Дефіцит заліза, за літературними даними, порушує
також функціональний стан серцево-судинної системи [4, 11], секретор-
ної та екскреторної функцій печінки [3], викликає порушення ферментів
та кислотоутворення у шлунку [2], зниження функції кори наднирників,
порушення зовнішньосекреторної функції підшлункової залози [6]. По-
руч з патологічними змінами еритропоезу дефіцит заліза в організмі
призводить до зменшення міоглобіну та зниження активності залізовмі-
щуючих ферментів тканинного дихання. Внаслідок гемічної та тканин-
ної гіпоксії при залізодефіцитних станах виникають атрофічні та дист-
рофічні процеси в тканинах та органах [7, 10, 12]. Серцевий м'яз хворих
на залізодефіцитну анемію знаходиться в умовах хронічної гемічної гі-
поксії [11]. Є припущення про те, що остання підвищується при поси-
леній фізичній праці. Залізодефіцитне недокрів'я з певним припущен-
ням можна вважати моделлю ішемічної хвороби серця [4]. Показано,
що атеросклеротичні враження у гіперхолестеринемічних кроликів, які
знаходились в умовах гіпоксії, більш виражені ніж у кроликів при гіпер-
оксії. Досліди на культивованих гладком'язових клітинах аорти та фіб-
робластах кролів показали, що вміст холестерину в клітинах в умовах
гіпоксії в 2—3 рази перевищує його рівень в контрольних умовах [14].
В той самий час не можна не відзначити, що клітинні та молекулярні
механізми впливу гіпоксії, зумовленої залізодефіцитною анемією, до
цього часу залишаються практично невивченими.

Виходячи з вищеведеного, метою дослідження було вивчення
впливу гіпоксії, зумовленої залізодефіцитним недокрів'ям, на струк-
турно-функціональний стан біологічних мембран, визначення можли-
вих мембранних механізмів дії залізодефіцитної анемії на організм.

Методика

Досліди проводили на безпородних щурах масою 220—250 г. Інтактні
тварини складали I дослідну групу, тварини з залізодефіцитною ане-
мією — II. Експериментальна залізодефіцитна анемія викликала кро-

© Л. С. МХИТАРЯН, А. Г. КОРОТКОРУЧКО, Г. М. ЛІПКАН, 1992

випусканням з хвостової вени в об'ємі 1 % маси тварини через добу на протязі 9 діб, при цьому на фоні крововтрати кожний день внутрішньо-черевно вводили десферал (20 %-на ЛД₅₀—18,4 мг/100 г маси). Десферал — препарат, який утворює комплексну сполуку з залізом (феріоксамин) та сприяє видаленню заліза з залізовміщуючих білків [12]. Через 9 діб у щурів з анемією та у інтактних тварин з черевної аорти брали кров та визначали: загальну залізов'язуючу здатність сироватки крові (ЗЗЗ), вміст заліза в сироватці, гемоглобін у крові, число еритроцитів та ретикулоцитів, гематокрит.

З гомогенатів клітин серця і печінки виділяли плазматичні мембрани багаторазовим диференційним ультрацентрифугуванням та очищенням їх на сахарозних градієнтах 50—60 %-ної концентрації [15]. Для одержання везикул мембран еритроцитів з цитратної крові [1], після осадження еритроцитів та промивки фізіологічним розчином, їх гемолізували на протязі 30 хв 50-кратним об'ємом розчину, який вміщував (мкмоль/л): 20 — *трис*-HCl буферу, 14 — NaCl, 10 — KCl та 20 — сахарози. Гемолізат центрифугували при 15 000 g. Осад промивали та робили суспензію у буфері, який містив (мкмоль/л): 5 — *трис*-HCl, 7 — NaHCl, 7 — KCl.

Про проникність мембран робили висновок на підставі вивчення пасивного транспорту ⁴⁵Ca²⁺ з попередньо навантажених радіоізотопним кальцієм везикул мембран (на протязі 12 год при 2 °C в середовищі зі 100 мкмоль/л ⁴⁵Ca²⁺, наступним прогріванням при 37 °C на протязі 10 хв). Реакцію припиняли через різні відрізки часу та відмивали везикули від поверхнево зв'язаного кальцію розчином, який вміщував 280 ммоль/л сахарози та 0,5 ммоль/л LaCl₃. Після висушування вимірювали радіоактивність фільтрів на рідинно-стинтиляційному радіометрі [5].

З суспензій досліджуваних мембран одержували ліпідні екстракти хлороформ-метаноловою сумішшю [17], в них визначали кількість холестерину [9], фосфоліпідів [16]. Вміст вільних жирних кислот в мембранах визначали спектрофотометрично [13]. Розраховували молярне співвідношення холестерин/фосфоліпідів в мембрані, яке дає характеристику мікров'язкості біслою.

Вірогідність різниці визначали по критерію t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Як показали наші дослідження, при експериментальній залізодефіцитній анемії з'являлись достовірні зміни всіх вивчаємих показників (табл. 1) — збільшення загальної залізов'язуючої здатності сироватки крові на 90 %, зниження вмісту заліза сироватки на 49 %, змен-

Таблиця 1. Зміни концентрації заліза, загальної залізов'язуючої здатності сироватки крові (ЗЗЗ) та показників периферичної крові щурів при експериментальній залізодефіцитній анемії ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Інтактні тварини	Тварини з неокрів'ям
Концентрація заліза, мкмоль/л	$25,5 \pm 1,9$	$13,21 \pm 0,6$
	$P < 0,01$	
Загальна залізов'язуюча здатність сироватки крові, мкмоль/л	$79,06 \pm 3,5$	$150,38 \pm 6,9$
	$P < 0,001$	
Число еритроцитів, $1 \cdot 10^{12}$	$5,1 \pm 0,16$	$1,3 \pm 0,06$
	$P < 0,001$	
Відносне число ретикулоцитів, %	$2,95 \pm 0,32$	$44,36 \pm 1,1$
	$P < 0,001$	
Концентрація гемоглобіну, г/л	$114,66 \pm 5,9$	$35,83 \pm 2,5$
	$P < 0,001$	
Гематокрит, %	$37,5 \pm 1,6$	$11,1 \pm 0,4$
	$P < 0,001$	

Примітка. P—вірогідність різниці в порівнянні з інтактними тваринами.

шення числа еритроцитів гематокриту — на 71 15 разів.

Крім вказаних анемія призводить до зміни мембран клітин органів — печінки, серця. Вивчення складу мембран провідності та підтримки проникності для речовин були досліджені в мембранах гепатоцитів. Вивчення складу мембран гепатоцитів показало, що в них входили достовірно збільшені вмісту вільних жирних

Вплив експериментальної анемії на швидкість виходу еритроцитів щурів.

33 % в порівнянні з мембранами фосфоліпідів залізодефіцитної анемії не змінюється. У втраті мембранами холестерин/фосфоліпідів або «щільність упаковки» в 1,4 рази в порівнянні з інтактними тваринами.

Накопичення надмірної кількості фосфоліпідів в мембранах можуть стати причиною порушення кінетики виходу еритроцитів з кровообігу, що призводить до анемії. Якщо в умовах експерименту вивчається вихід еритроцитів з кровообігу, то вивчення кінетики виходу еритроцитів з кровообігу, яка залежить від швидкості виходу еритроцитів з кровообігу, знижується.

Таблиця 2. Зміни вмісту холестерину, фосфоліпідів, вільних жирних кислот, мікров'язкості мембран гепатоцитів щурів при експериментальній залізодефіцитній анемії

Показник	Інтактні тварини	Тварини з неокрів'ям
Концентрація у мембранах холестерину, мкмоль/мг	$1,3 \pm 0,06$	$1,3 \pm 0,06$
	$P < 0,001$	
Концентрація фосфоліпідів, мкмоль/мг	$44,36 \pm 1,1$	$44,36 \pm 1,1$
	$P < 0,001$	
Вміст вільних жирних кислот, ммоль/мг	$35,83 \pm 2,5$	$35,83 \pm 2,5$
	$P < 0,001$	
Мікров'язкість мембран	$11,1 \pm 0,4$	$11,1 \pm 0,4$
	$P < 0,001$	

Примітка. P—вірогідність різниці в порівнянні з інтактними тваринами.

си тварини через добу на кожний день внутрішньо- (8,4 мг/100 г маси). Дес- сполуку з залізом (фер- ізовміщуючих білків [12], х тварин з черевної аорти язуючу здатність сироват- емоглобіну в крові, число

иділяли плазматичні мем- центрифугуванням та очи-) %-ної концентрації [15], тів з цитратної крові [1], ізіологічним розчином, їх 5'ємом розчину, який вмі- 14 — NaCl, 10 — KCl та и 15 000 g. Осад проми- гив (мкмоль/л) : 5 — трис-

вок на підставі вивчення авантажених радіоізотоп- 12 год при 2 °С в середо- оіріванням при 37 °С на ці відрізки часу та відми- ьцію розчином, який вмі- LaCl₃. Після висушування инно-стинтіляційному ра-

жували ліпідні екстракти (визначали кількість хо- их жирних кислот в мем- . Розраховували молярне мбрані, яке дає характе- ію t Стюдента.

ментальній залізодефіцит- іх вивчаємих показників уючої здатності сироват- роватки на 49 %, змен- лізов'язуючої здатності ві щурів при експериментальній

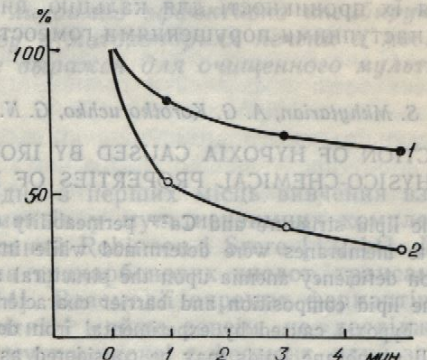
Тварини з анемією	
P<0,01	13,21±0,6
P<0,001	150,38±6,9
P<0,001	1,3±0,06
P<0,001	44,36±1,1
P<0,001	35,83±2,5
P<0,001	11,1±0,4

актними тваринами.

шення числа еритроцитів на 75 %, кількості гемоглобіну — на 69 % та гематокриту — на 71 %. Число ретикулоцитів при цьому зростало в 15 разів.

Крім вказаних змін показників системи крові, залізодефіцитна анемія призводить до порушення структурно-функціональної організації мембран клітин формених елементів крові і життєвоважливих органів — печінки, серця та ін. Беручи до уваги вирішальну роль ліпідного складу мембран в забезпеченні їх бар'єрної функції, кальцієвої провідності та підтримці нормаль- ної проникності для різних речовин, були досліджені деякі показники ліпідного складу мембран гепато- цитів. Так, у плазматичних мем- бранах гепатоцитів (табл. 2) зна- ходили достовірне збільшення вмі- сту вільних жирних кислот (на

Вплив експериментальної залізодефіцитної анемії на швидкість виходу ⁴⁵Ca²⁺ з вези- кул еритроцитів щурів.



33 % в порівнянні з контролем), що вірогідно зв'язано з гідролізом мембранних фосфоліпідів. Вміст останніх в мембранах зменшується при залізодефіцитній анемії на 29 %. Кількість же холестерину в цих умо- вах не змінюється. У зв'язку із збереженням вмісту холестерину та втратою мембранами фосфоліпідів показник молярного співвідношення холестерин/фосфоліпідів (ХС/ФЛ), який характеризує мікров'язкість або «щільність упаковки» ліпідного біслою мембрани, збільшується в 1,4 рази в порівнянні з контролем.

Накопичення надмірної кількості вільних жирних кислот, зменшен- ня вмісту фосфоліпідів у мембранах, згідно сучасним уявленням, мо- жуть стати причиною змін їх бар'єрних властивостей, підвищення їх проникності для різних речовин, в тому числі і для Ca²⁺. Вивчення швидкості пасивного транспорту іонів кальція з везикул мембран ери- троцитів, кардіоміоцитів та гепатоцитів дозволили встановити значне порушення кінетики втрат ⁴⁵Ca²⁺ везикулами мембран в умовах екпе- риментальної залізодефіцитної анемії (малюнок: 1 — інтактні твари- ни, 2 — тварини з експериментальною анемією).

Якщо в умовах контрольних дослідів до кінця першої хвилини ін- кубації з везикул мембран еритроцитів, кардіоміоцитів та гепатоцитів виходить лише 19, 24, 23 % відповідно початкового вмісту кальцію, а кількість його, яка залишилась, надходить в середовище інкубації по- ступово, знижуючись по мірі зменшення градієнту концентрації іонів,

Таблиця 2. Зміни вмісту деяких компонентів ліпідного складу мембран гепатоцитів щурів при експериментальній залізодефіцитній анемії ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Інтактні тварини	Тварини з анемією
Концентрація у мембранах:		
холестерину, мкмоль/мл	0,66±0,01	0,65±0,01
фосфоліпідів, мкмоль Р _н /мг	0,41±0,02	0,29±0,006
вільних жирних кислот, мкг/мг	48,0±2,7	63,83±3,7
Мікров'язкість мембран (ХС/ФЛ)	1,62±0,07	2,24±0,01

Примітка. Р—вірогідність різниці в порівнянні з інтактними тваринами.

го в умовах дослідних проб в першу хвилину з везикул еритроцитів виходить 48 %, кардіоміоцитів — 52 %, гепатоцитів — 55 % початково-го вмісту $^{45}\text{Ca}^{2+}$.

Одержані результати свідчать про те, що в умовах гіпоксії, викликаній експериментальною залізодефіцитною анемією, змінюються ліпідний склад та бар'єрні властивості мембран. Кількісні зміни ліпідів мембран клітин можна розглядати як один з важливих молекулярних механізмів порушення систем транспорту Ca^{2+} в мембранах, підвищення їх проникності для кальцію, виникнення його надлишку в клітинах з наступними порушеннями гомеостазу.

L. S. Mkhitarian, A. G. Korotkoruchko, G. N. Lyphan

ACTION OF HYPOXIA CAUSED BY IRON DEFICIENCY ANEMIA ON THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF BIOLOGICAL MEMBRANES

The lipid structure and Ca^{2+} permeability of red blood cell, hepatocyte and cardiomyocyte membranes were determined while investigating the effect of hypoxia caused by iron deficiency anemia upon the structural and functional state of biological membranes. The lipid composition and barrier characteristics of membranes change under conditions of hypoxia caused by experimental iron deficiency anemia. Quantitative changes in the cell membrane lipids may be considered as an important molecular mechanism of Ca^{2+} transport disorder in membranes, increase of Ca^{2+} permeability producing its surplus in the cells and subsequent metabolic homeostatic disturbances.

The Strazhesko Research Institute of Cardiology,
Ministry of Public Health of the Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ануховская Л. И., Ивашкевич С. П., Венди Р. П. Влияние стероидов на свойства мембран эритроцитов при экспериментальном рахите // *Вопр. мед. химии*.— 1979.— 24, № 5.— С. 548—564.
2. Бухаловский И. П., Петров В. Н. Обмен и дефицит железа у подростков // *Терапевтический архив*.— М.: Медицина.— 1984.— № 2.— С. 137—140.
3. Верболов П. А., Утешев А. Б. Железо в животном организме.— Алма-Ата: Наука, 1967.— С. 197—199.
4. Волков В. С., Кириленко Н. П. Об изменениях ЭКГ в покое и во время физиологической нагрузки у больных желездефицитной анемией // *Клин. медицина*.— 1986.— 64, № 5.— С. 64—68.
5. Воробец Э. Д., Курский М. Д., Марченко С. М. Роль цАМФ-зависимого фосфорилирования в пассивном транспорте Ca^{2+} сарколеммой миокарда // *Биохимия*.— 1983.— 48, вып. 6.— С. 1020—1025.
6. Выговская Я. И., Подорожный А. П. Амбулаторно-поликлиническое лечение больных желездефицитной анемией // *Гематология и трансфузиология*.— 1985.— № 12.— С. 15—17.
7. *Патологическая физиология* // Под. ред. Н. Н. Зайко.— К.: Вищ. шк., 1985.— С. 346.
8. Казанова Л. Н. Дефицит железа у детей // *Педиатрия*.— 1984.— № 12.— С. 52—55.
9. Кейтс М. Техника липидологии.— М.: Мир.— 1975.— С. 257—290.
10. Никуличева В. И., Хусаинова Ф. С., Фазлыева Р. М., Лепилина Л. А. Состояние гемостаза и фибринолиза у больных желездефицитными анемиями // *Лаб. дело*.— 1984.— № 4.— С. 220.
11. Щерба М. М., Петров В. Н., Рысс Е. С., Тенигина Н. Г. Железодефицитные состояния.— Л.: Наука, 1975.— С. 177—185.
12. Петров В. Н. Физиология и патология обмена железа.— Л.: Наука, 1982.— 224 с.
13. Duncombe W. C. The colorimetric determination nonesterified fatty acids in plasma // *Clin. Chim. Acta*.— 1964.— 9, N 2.— P. 122—125.
14. Effect of tissue hypoxia on the development of atherosclerosis / Ishikawa Y., Mukodani J., Okamoto R. et al. // *Role Blood Flow Atherogenesis: Proc. Int. Symp.*, Hyogo, Oct., 1987.— Tokyo ect., 1988.— P. 245—251.
15. Lunis P. I., Sulake P. V. Isolation of sarcolemmal membranes from cardiac muscle // *Int J. Biochem.*, 1976.— 7, N 11.— P. 547—558.
16. Fiske S. H., Subarrow J. The colorimetric determination of phosphorus // *J. Biol. Chem.*.— 1925.— 66.— P. 375.
17. Folch J. M., Lees C. H., Sloane-Stanley A. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // *Ibid.*.— 1957.— 226.— P. 497—509.

Київ. наук.-досл. ін-т кардіології
ім. акад. М. Д. Стражеско
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 13.08.91

УДК 594.124[262.5]

Фан Ван Ты, С. А. Пет

Взаємодія ліпосидів з аспартат- і аланін-амінооксидазами у мультіензимному комплексі мозку щурів

Показано, що ліпосиди аспартат- і аланін-амінооксидази крив. Указанный э

Вступ

Сучасна енімологія емоції окремих ферментів, одним з яких є його складу входять назви і деякі інші ферментів у метаболізм [5, 7, 8]. У цьому має центральне місце сама е мультаензимна система, що входять до її складу. Цей кофермент гідрогеназу реакції метаболізму, витоки слот — субстрат регулюються різним вітамінами і їх метаболітами.

В зв'язку з цим слот і її метаболіти тивність аспартат-метаболіти метаболіти мітохондріальні.

Методика

В досліді ми виконали метаболіти виділяли і Srere [13]. Для виділення середовищем виділяли, 2 ммоль/л НЕРЕС-середовища.

Печінку і мозок шенні 1 г тканини на рефрижераторній якій містив ядра і но центрифугували рії ресуспендували 20 мг білка на 1 мл на ультразвуковому сального випромінювання 22 кВ вали на ультрацентри при 32 000 г на про НЕРЕС-середовища.

Активність АсТ тодом [3]. Для виз поєвої кислоти, ліп

© ФАН ВАН ТЫ, С. А. ПЕ