УДК 547.419.5:577.164.15:616.36

В. Й. Кресюн, В. В. Годован

ДИНАМІКА ФОСФОЛІПІДНОЇ КОМПОНЕНТИ ПЕЧІНКИ ПРИ ГАЛАКТОЗАМІНОВОМУ УРАЖЕННІ ТА ЗАСТОСУВАННІ ОКСІЕТИЛІДЕНДИФОСФОНАТОГЕРМАНАТІВ

Одеський державний медичний університет

Сучасні наукові дані свідчать, що дефіцит есенціальних жирних кислот є універсальною детермінантою розвитку гострих і хронічних уражень печінки [1]. Фосфоліпіди (ФЛ), або фосфогліцериди, належать до класу високоспеціалізованих ліпідів і являють собою складні ефіри гліцерофосфорної кислоти. Їх також називають есенціальними, або незамінними, тому що вони у своєму складі містять незамінні вищі жирні кислоти, які не виробляються у нашому організмі. У цьому полягає їх значення як незамінних факторів росту та розвитку, необхідних для функції усіх без винятку клітин [2]. Разом із холестерином (ХС) вони служать структурною основою клітинних мембран і мембран органел. В організмі ФЛ виконують багато різноманітних функцій, проте головна із них полягає у формуванні ліпідного бішару клітинних мембран [3; 4].

Біологічна мембрана є основою, на якій відбуваються найважливіші процеси життєдіяльності. Порушення морфофункціонального стану мембран, як правило, є не тільки причиною, але й наслідком розвитку патологічних процесів. Згідно із загальноприйнятою нині рідинно-мозаїчною моделлю структури, біомембрани — це рідинно-кристалічний бімолекулярний шар ліпідів із гідрофобними групами ззовні та гідрофільними — зсередини, в якому вільно рухаються периферичні й інтегральні білки [5; 6]. Найбільш поширені мембранні ліпіди належать до класу ФЛ, бішар яких стабілізується молекулами ХС, протеїнами та гліколіпідами [7]. Також відомо, що в мембранах роль ліпідної компоненти полягає у створенні відповідного гідрофобного матриксу для повноцінного функціонування ферментів, а рідинний стан самої мембрани надає їй динамічності. Якщо фермент залишається без ліпідної фази, то він стає нестабільним, агрегує і, нарешті, втрачає свою активність. Таким чином, в'язкість ліпідного бішару та склад ліпідів відіграють найважливішу роль в активності вбудованих у мембрани маркерних ферментів [8].

Вищеперераховані функції клітинних мембран надзвичайно важливі для печінки, в якій відбуваються численні біохімічні реакції з утворенням макромолекул, які використовуються іншими органами та тканинами. Для нормального функціонування гепатоцитів, у яких постійно утворюються ендоплазматичні везикули, у першу чергу, потрібні ФЛ. Ушкодження тканин, і перш за все печінки, починається з ушкодження мембрани. Вона раніше ніж інші клітинні структури стикається з ушкоджуючими агентами і захищає внутрішнє середовище клітини від їх шкідливого впливу. Багатьма дослідженнями доведено, що при всіх захворюваннях печінки в першу чергу ушкоджуються мембрани, а тому відновлення клітинних мембран є одним із найважливіших елементів лікування гепатитів, цирозу печінки тощо незалежно від їх етіології [9]. Провідним універсальним фактором у патогенезі гострих і хронічних уражень печінки є зменшення кількості та перерозподіл окремих фракцій ФЛ. За нашими даними, це перш за все пов'язане з активацією перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) — головного патогенетичного механізму в розвитку ушкоджень печінки [10].

Відновлення «упакування» мембран гепатоцитів ФЛ зменшує доступ до них кисню і тим самим знижує швидкість утворення вільних радикалів. У попередніх дослідженнях нами вивчено фосфоліпідний склад мембран еритроцитів. Враховуючи спільність будови плазматичних мембран різних органів і тканин організму можна припустити, що процеси, які відбуваються в мембранах еритроцитів, подібні зі змінами морфофункціонального стану інших мембран [11].

Метою роботи було вивчення впливу токсичного ураження печінки галактозаміном на фосфоліпідний спектр гепатоцитів і можливості його корекції за допомогою нових біологічно активних речовин (БАР) — похідних оксіетилідендифосфонатогерманатів.

Матеріали та методи дослідження

Досліди з вивчення динаміки вмісту фосфоліпідних фракцій у мембранах гепатоцитів проводилися на щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г, які утримувались у стандартних умовах віварію. Тварини у кіль-

кості 270 особин були розподілені на 6 груп: 1-ша група (10 тварин) — контрольна; 2-га (70 тварин) — із нелікованим галактозаміновим гепатитом; 3-тя, 4-та, 5-та та 6-та (190 особин) — із галактозаміновим гепатитом на фоні профілактично-лікувального введення МІГУ-4, 5, 6 і препарату порівняння — гептралу. Кожна група цієї серії експериментів розподілялася на підгрупи по 10 тварин залежно від часу відновлення показників.

Досліди з вивчення вмісту загального холестерину та загальних фосфоліпідів, а також їх співвідношення, були проведені на 235 щурах, які були розподілені на 6 груп аналогічно попереднім дослідам. Галактозаміновий гепатит спричинювали методом, описаним раніше [12]. Досліджувані БАР і препарат порівняння гептрал вводили внутрішньочеревинно у раніше відпрацьованих дозах: МІГУ-4 — 17,0 мг/кг, МІГУ-5 — 28,0 мг/кг, МІГУ-6 — 18,5 мг/кг, гептрал — 10,0 мг/кг маси за профілактично-лікувальною схемою: 7 діб до введення гепатотоксину та 7 діб після його застосування. Контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин у відповідному об'ємі.

Важливими структурними компонентами, які регулюють динамічний стан бішару мембран, є ФЛ і ХС. Їх вміст визначали у ліпідних екстрактах, виділених з 200 мг тканини печінки за методом J. Folch et al. [13]. Екстракт фільтрували і випарювали у вакуумі при 37 °С у струмі азоту. Фракціонування ФЛ проводили методом одномірної висхідної тонкошарової хроматографії на пластинах "Silufol-UV-254" [14]. Осад розчиняли в 0,2 мл суміші хлороформ-метанол (1:1) і у кількості 0,02 мл наносили на попередньо активовані (30 хв при 110 °С) пластини розміром 150 × 150 мм. Розподіл фосфоліпідних фракцій проводили у хроматографічній камері в системі розчинників хлороформ-метанол-аміак (65 : 25 : 5), виявляли плями, ненасичені парами йоду, ідентифікували їх за відомими значеннями Rf, забарвленими реакціями і фосфоліпідами-маркерами [14]. Вміст окремих фосфоліпідів — лізофосфатидилхоліну (ЛФХ), сфінгомієліну (СФМ), фосфатидилхоліну (ФХ), фосфатидилетаноламіну (ФЕА) і фосфатидилсерину (ФС) — оцінювали методом «згорання» плям за допомогою 72%-ї хлорної кислоти при 200 °С до їх повного знебарвлення з наступним етапом — визначенням ліпідного фосфору [15]. Вміст фосфору розраховували за допомогою калібрувального графіка, побудованого за стандартним розчином KH_2PO_4, і виражали в мікрограмах $P_н$ на 1 г тканини печінки. Вміст загальних ФЛ розраховували за сумою окремих фракцій.

Як відомо за даними літератури, сума неорганічного фосфору, визначеного у ЛФХ, СФМ, ФХ, ФЕА і ФС, приблизно становить 75–80 % фосфору від решти фосфоліпідів і фосфатних кислот [16].

Паралельно у ліпідних екстрактах тканини печінки визначали вміст загального ХС і загальних ФЛ у міліграмах на грам і розраховували їх співвідношення, яке виражали коефіцієнтом ХС/ФЛ [17].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою ІВМ із використанням програм "Statgraf".

Результати дослідження та їх обговорення

До складу мембран гепатоцитів входять ліпіди різних класів: фосфоліпіди, сфінголіпіди, гліколіпіди і стероїди (холестерин). У найбільшій кількості в мембранах присутні ФЛ, які утворюють її головну структурну компоненту й ніколи не нагромаджуються в організмі про запас. До складу головки ФЛ послідовно входять пов'язані між собою залишки азотистої основи (холіну, коламіну або серину), фосфатної групи і гліцерину. Залишки жирних кислот, які утворюють гідрофобні хвости, сполучені з гліцерином. Насиченою кислотою здебільшого є пальмітинова, а ненасиченою — олеїнова, лінолева, ліноленова та ін. Та сполука, яка не має азотистої основи, називається фосфатидною кислотою; у вільному стані вона міститься в тканинах у дуже невеликій кількості та відіграє роль проміжного продукту синтезу ФЛ [18].

Отримані дані свідчать, що розвиток галактозамінового гепатиту супроводжується суттєвою зміною вмісту загального ХС, загальних ФЛ і коефіцієнта їх співвідношення у печінці щурів (рис. 1). У контрольній групі вміст ХС становив (2,62± ±0,07) мг/г, ФЛ — (25,70± ±1,81) мг/г, а коефіцієнт співвідношення ХС/ФЛ дорівнював 0,10. Після введення тваринам галактозаміну вміст загального ХС збільшувався, а загальних ФЛ зменшувався, що призводило до суттєвого збільшення коефіцієнта їх співвідношення. Ці зміни були найбільш вираженими на 3-тю добу розвитку гепатиту, тобто 3-тя доба є піком несприятливих проявів хвороби, коли вміст ХС досягав 211,5 %, а ФЛ — 42,7 % відносно контролю ($P<0,05$). Таким чином, при даній патології вміст ХС більш ніж удвічі збільшувався, а ФЛ — більш ніж удвічі зменшувався, що докорінно змінювало їх співвідношення: коефіцієнт ХС/ФЛ зростав рівно у 5 разів. Починаючи з 4-ї доби експерименту, вміст ХС і ФЛ поступово нормалізувався і досягав контрольних величин на 13-ту добу, тимчасом як у мембранах еритроцитів — на 11-ту добу. Паралельно відновлювався й коефіцієнт співвідношення ХС/ФЛ до 0,11 (у контролі — 0,10; $P>0,05$). Одержані дані повністю збігаються з раніше проведеними дослідженнями в мембранах еритроцитів при галактозаміновому гепатиті, крім того вони є об'єктивним наслідком порушення ліпідного обміну [10; 19].

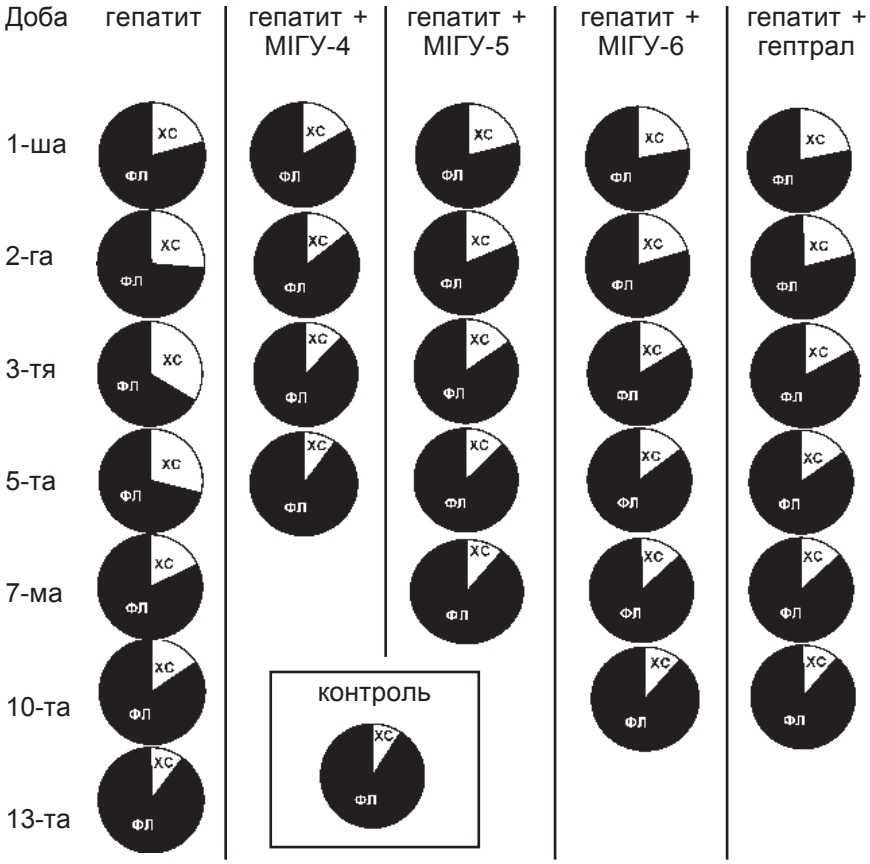

Рис. 1. Вміст загального холестерину і загальних фосфоліпідів (ммоль/л) та їх молярне співвідношення у мембранах еритроцитів щурів при галактозаміновому гепатиті на фоні введення сполук, що вивчалися

Наступні дослідження були присвячені вивченню фосфоліпідного пулу печінки у різні періоди розвитку галактозамінового гепатиту та його корекції запропонованими БАР. Результати експериментів свідчать про те, що галактозамінове ураження печінки призводить не тільки до надзвичайно вираженого зменшення вмісту загальних ФЛ у печінці, а й до перерозподілу їх окремих фракцій (рис. 2). На піку розвитку гепатиту (3-тя доба) спостерігалося вірогідне збільшення вмісту ЛФХ і СФМ відповідно на 191,0 і 122,0 % ($P<0,05$); більш ніж удвічі зменшувався вміст ФХ і ФЕА, становлячи 49,6 і 41,1 % ($P<0,001$); вміст ФС зменшувався до 82,4 % ($P<0,05$), але не виражено, а вміст ФФК зменшувався більш ніж удвічі (42,9 %; $P<0,001$).

Поряд із цим, галактозаміновий гепатит спричинював серйозні зміни у співвідношенні окремих фракцій ФЛ. У контрольній групі тварин середній вміст фракцій ФЛ був таким: ЛФХ — 8,2; СФМ — 16,4; ФХ — 49,7; ФЕА — 17,8; ФС — 3,1 і ФФК — 4,8 % (таблиця). Введення гепатотоксину призводило до від-

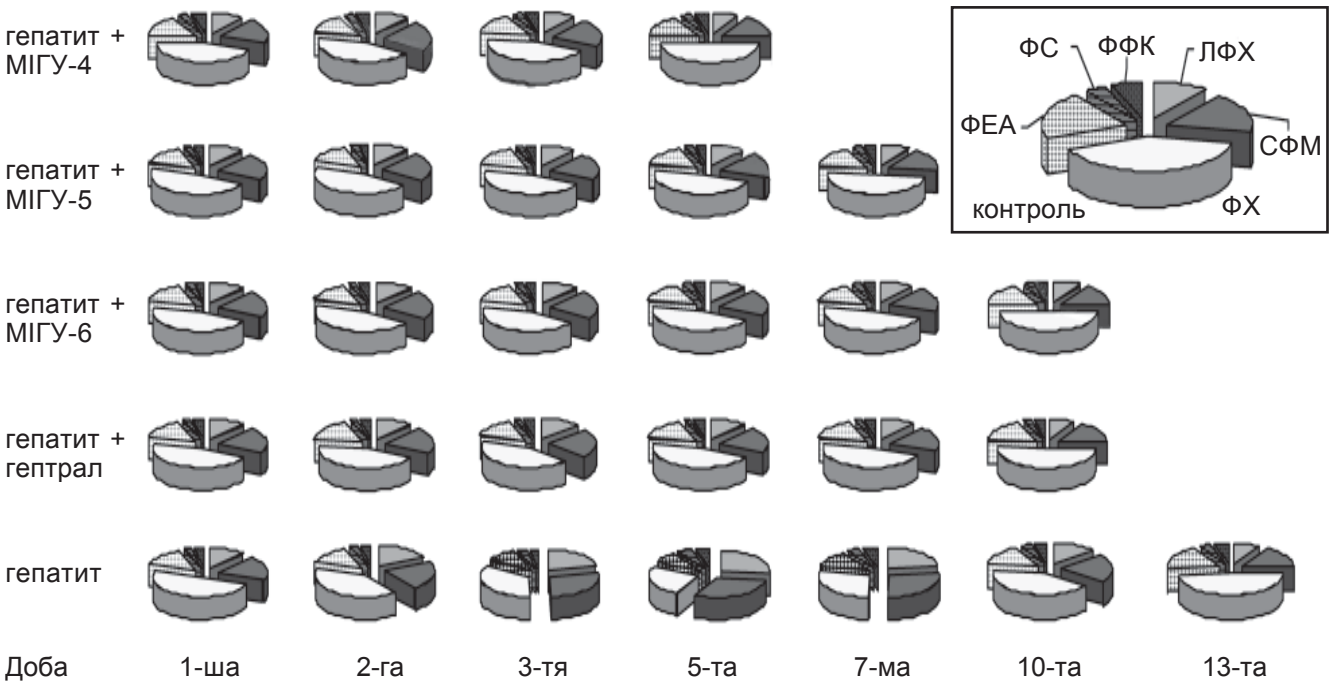

Рис. 2. Динаміка змін процентного співвідношення окремих фракцій фосфоліпідів у мембранах еритроцитів щурів при галактозаміновому гепатиті на фоні введення сполук, що вивчалися

Таблиця

Фосфоліпідний спектр печінки щурів у контролі, при гепатиті та на фоні застосування БАР, %

Умови експерименту	Загальні фосфоліпіди	ЛФХ	СФМ	ФХ	ФЕА	ФС	ФФК
Контроль	100,0	8,2	16,4	49,7	17,8	3,1	4,8
Гепатит (3-тя доба)	100,0 (2-1)	21,7 264,6*	27,7 168,9*	34,2 68,8*	10,1 56,7*	3,5 112,9	2,8 58,3*
Гепатит (3-тя доба) + МІГУ-4	100,0 (3-1)	10,5 128,0*	21,9 133,5*	44,0 88,5*	16,0 89,9	2,9 93,5	4,7 97,9
Гепатит (3-тя доба) + МІГУ-5	100,0 (4-1)	11,5 140,2*	21,4 130,5*	45,8 92,2	15,6 87,6	2,5 80,6*	3,2 66,7*
Гепатит (3-тя доба) + МІГУ-6	100,0 (5-1)	12,8 156,1*	21,3 131,5*	44,9 90,3	15,0 84,3*	2,7 87,1	3,3 68,8*
Гепатит (3-тя доба) + гептрал	100,0 (6-1)	13,8 168,3*	22,8 139,0*	43,1 86,7	14,5 81,5*	2,2 71,0*	3,6 75,0*

Примітка. * — вірогідність при P<0,05.

соткових змін вмісту окремих фракцій ФЛ, які відрізнялися від контрольних показників і найбільш вираженими були також на 3-тю добу розвитку гепатиту. Вміст ЛФХ і СФМ відповідно збільшився до 264,6 і 168,9 % (P<0,001); вміст ФХ і ФЕА відповідно зменшився до 68,8 і 56,7 % (P<0,001). Збільшення фракції ФС до 112,9 % було не вірогідним, а ФФК зменшилися до 58,3 % (P<0,001).

Проведений аналіз пулу фосфоліпідних фракцій продемонстрував важливі патогенетичні закономірності розвитку галактозамінового гепатиту. Зменшення вмісту ФХ, з одночасним підвищенням вмісту ЛФХ, є прямим доказом активації фосфоліпази A_2, що підтверджено іншими дослідженнями [20; 21]. Нестача ФХ як однієї з основних фракцій ФЛ, причому легкоокиснюваної, тобто «стартової», компенсується за рахунок підвищення кількості СФМ, що й продемонстровано у наших експериментах (кількість СФМ на 3-тю добу досліду зросла до 168,9 %). Слід також зауважити, що СФМ переважно знаходиться на зовнішньому боці мембран і еритроцитів, і гепатоцитів. Розрахунок коефіцієнта співвідношення ФХ/СФМ, який характеризує рівень перерозподілу фосфоліпідних фракцій всередині мембранного бішару, свідчить про суттєві його зміни. Якщо у контролі співвідношення ФХ/СФМ становило 3,03, то на 3-тю добу розвитку гепатиту воно зменшилося до 0,41, тобто у 7,4 разу. Ці зміни свідчать про зменшення рідинних властивостей мембрани та збільшення мікров'язкості ліпідного бішару. Додатковим підтвердженням викладеного є той факт, що у мембранах із високим вмістом ХС зменшується кількість води. На 3-тю добу нашого експерименту кількість ХС збільшувалася більш ніж удвічі [22; 23].

Аналіз змін вмісту фосфоліпідних фракцій, які характеризують внутрішній моношар мембран (ФЕА, ФС), у даному випадку гепатоцитів, також свідчить про виражену дискоординацію їх співвідношення. Кількість ФЕА на 3-тю добу розвитку гепатиту зменшилась у 2,5 рази (з (183,3± ±9,6) до (75,4±2,9) мкг $P_н$/ 1 г; P<0,001). При цьому, протягом даного проміжку часу більш всього зріс вміст лізоформ, зокрема ЛФХ (на 191,0 %, P<0,001), що може бути зумовлене не тільки активацією фосфоліпаз, а й впливом радикалів активованого ПОЛ. Вміст ФС суттєво не змінювався. Розрахунок коефіцієнта співвідношення ФЕА/ФС показав, що під впливом галактозаміну він зменшувався удвічі (2,87 проти 5,75 у контролі; P<0,001). Таким чином, простежується чітке зниження обох коефіцієнтів при токсичному гепатиті, що свідчить про наявність глибоких структурно-функціональних зрушень у фосфоліпідному бішарі.

Важливим моментом, який характеризує лабільність фосфоліпідного бішару мембран, є його морфологічна й функціональна асиметрія. Як зазначалося вище, ФХ і СФМ розміщуються переважно у зовнішньому моношарі ліпідного бішару мембрани, а ФЕА і ФС — у внутрішньому. Розрахунок коефіцієнта співвідношення ФЕА + ФС / ФХ + СФМ, який відбиває відношення суми ФЛ із меншою насиченістю жирних кислот до ФЛ із більшою насиченістю, дозволяє одержати уяву про плинність мембрани. Так, у контролі цей коефіцієнт становив 0,32, а на 3-тю добу розвитку гепатиту — 0,22, тобто на третину був меншим, а значить, асиметрія була на третину більш вираженою, що й зумовлювало підвищення насиченості ліпідного бішару і, відповідно, втрату води мембраною та збільшення її мікров'язкості. Як наслідок цього, коефіцієнт окиснюваності, який характеризує відношення легкоокиснюваних фракцій ФЛ до важкоокиснюваних (ФЕА + ФС / ФХ + СФМ), також знижувався. Так, у контролі цей показник дорівнював 0,32, а на 3-тю добу розвитку гепатиту — 0,22, тобто був меншим майже на третину (31,3 %; P<0,05). Зменшення коефіцієнта окиснюваності, як і коефіцієнта асиметрії, прийнято вважати критерієм підвищення мікрощільності та жорсткості мембрани [24].

Подальші дослідження показали, що повне довільне відновлення вмісту загальних ФЛ, їх окремих фракцій, загального ХС та їх співвідношення у гепатоцитах наставало на 13-ту добу, тимчасом як у мембранах еритроцитів — на 11-ту.

Наведені факти про спектральний склад фосфоліпідів печінки при токсичному гепатиті та характер їх змін свідчать, що не тільки в мембранах еритроцитів, а й у мембранах гепатоцитів порушується динамічна рівновага їх синтезу та деградації. Це призводить до низки порушень морфофункціонального стану мембран.

Одержані дані послужили підставою для вивчення профілактично-лікувальної дії нових БАР як мембранопротекторів. Курсове введення похідних оксіетилідендифосфонатогерманатів (МІГУ-4, 5, 6) продемонструвало їх високу фармакологічну активність, яка характеризувалася дійсним запобіганням змінам вмісту ХС і ФЛ, їх співвідношення та утримувала якісний та кількісний склад фосфоліпідних фракцій на рівні контрольних величин.

Похідне нікотинової кислоти — МІГУ-4 (нікогерм) — у досліджуваній дозі запобігало зменшенню вмісту загальних ФЛ і збільшенню вмісту загального ХС, порушенню дискоординації вмісту та співвідношення окремих фракцій ФЛ, зберігало стабільним співвідношення ХС/ФЛ у печінці щурів. Ці зміни не були таким критичними, як при нелікованому гепатиті (див. рис. 1, 2). Якщо на 2-гу добу розвитку гепатиту без лікування вміст загальних ФЛ зменшувався майже удвічі (до 51,8 %), а вміст ХС майже удвічі збільшувався (до 182,3 %), що призводило до зростання співвідношення ХС/ФЛ у 3,6 разу, то у цей проміжок часу на фоні введення МІГУ-4 дані показники відповідно становили 135,2; 82,3; 170,0 % ($P<0,05$), тобто були значно меншими. На 4-ту добу вони ще більше наблизилися до рівня контролю (116,9; 84,6; 140,0 %; $P<0,05$), а на 5-ту добу повністю нормалізувалися, на відміну від мембран еритроцитів, де повне відновлення спостерігалося на 3-тю добу експерименту.

Аналогічним був вплив МІГУ-4 на співвідношення окремих фракцій ФЛ. Тенденція перерозподілу фосфоліпідних фракцій була такою ж, як і при нелікованому гепатиті, проте кількісно менш вираженою. Якщо відсоткове співвідношення фракцій ФЛ при гепатиті без лікування на 3-тю добу становило: ЛФХ — 264,6; СФМ — 168,9; ФХ — 68,8; ФЕА — 56,7; ФС — 112,9; ФФК — 58,3 %, — то при введенні МІГУ-4 воно виглядало відповідно так: 128,0; 133,5; 88,5; 89,9; 93,5; 97,9 % (див. таблицю). На 5-ту добу спостереження ці показники не відрізнялися від контролю. Таким чином, МІГУ-4 суттєво запобігав змінам вмісту ХС, ФЛ та їх окремих фракцій у гепатоцитах.

Похідне нікотинаміду МІГУ-5 (гермамід) також ефективно запобігало змінам фосфоліпідної компоненти мембран гепатоцитів. На відміну від МІГУ-4, МІГУ-5 нормалізував вміст ХС, ФЛ, їх співвідношення та відсотковий вміст окремих фракцій ФЛ на 7-му добу експерименту (див. рис. 1, 2).

МІГУ-6 (гермакорд) — магній-оксіетилідендифосфонатогерманат — також виявив виражену фармакотерапевтичну активність, проте відновлення цих показників до контрольних величин відбувалося тільки на 10-ту добу спостереження. Очевидно, що фармакологічна ефективність МІГУ-6 була меншою, ніж у МІГУ-5 і, особливо, у МІГУ-4, який нормалізував обмін ФЛ у печінці на 5-ту, МІГУ-5 — на 7-му, МІГУ-6 — на 10-ту добу. Для порівняння, у мембранах еритроцитів дані БАР нормалізували ці показники відповідно на 3-тю, 5-ту, 7-му добу спостереження.

Порівняльний аналіз ефективності запропонованих БАР з еталонним препаратом — гептралом — показав, що останній виявив найменшу фармакологічну активність на моделі галактозамінового гепатиту. Повне відновлення показників, які вивчалися, при введенні гептралу відбувалося на 10-ту добу експерименту. Слід зауважити, що довільне відновлення цих показників у печінці спостерігалося на 13-ту добу спостереження, тимчасом як у мембранах еритроцитів — на 11-ту.

У таблиці представлена порівняльна характеристика фармакологічної активності даних БАР і препарату порівняння гептралу. Для наочності продемонстровано результати спостереження на 3-тю добу дослідження (див. таблицю).

Висновки

1. Галактозаміновий гепатит супроводжується суттєвою зміною вмісту загального холестерину, загальних фосфоліпідів та їх співвідношення у печінці щурів, що виражається підвищенням вмісту холестерину майже удвічі, зменшенням вмісту фосфоліпідів більш ніж удвічі, збільшенням співвідношення ХС/ФЛ у 5 разів. Найбільш виражені зміни спостерігаються на 3-тю добу розвитку гепатиту.

2. Дослідження фосфоліпідного складу печінки свідчать, що паралельно катастрофічному зменшенню вмісту загальних фосфоліпідів відбувається й перерозподіл їх окремих фракцій. Так, при галактозаміновому гепатиті на піку його розвитку (3-тя доба) майже вдвічі збільшується вміст ЛФХ і у 1,2 разу — рівень СФМ. При цьому вміст ФХ і ФЕА зменшується більш ніж удвічі, а ФС — усього на 17,6 %, вміст фракції фосфатних кислот — удвічі.

3. Паралельно відбувається різкий перерозподіл окремих фракцій фосфоліпідів. Зменшення вмісту ФХ, з одночасним підвищенням вмісту ЛФХ, є прямим доказом активації фосфоліпази A_2. Нестача ФХ як однієї з основних фракцій ФЛ (у нормі ФХ становить майже 50 % від суми інших ФЛ), причому лег-

коокиснюваної, тобто «стартової», компенсується за рахунок підвищення кількості СФМ (на 3-тю добу вміст СФМ збільшується в 1,7 разу).

4. Враховуючи те, що СФМ розміщується переважно на зовнішній частині мембран, розрахунок коефіцієнта співвідношення ФХ/СФМ, який характеризує рівень перерозподілу фосфоліпідних фракцій внутрішнього бішару мембрани, показав суттєві його зміни. Якщо співвідношення ФХ/СФМ у контролі дорівнювало 3,03, то на 3-тю добу розвитку гепатиту зменшилося до 0,41, тобто у 7,4 разу. Ці зміни свідчать про серйозні зрушення рідинних властивостей мембрани та збільшення мікров'язкості ліпідного бішару внаслідок зменшення вмісту води та збільшення рівня холестерину.

5. Вивчення вмісту ФЕА, ФС, які характеризують внутрішній моношар мембран, свідчить про різкі зміни їх співвідношення. Кількість ФЕА на 3-тю добу розвитку гепатиту зменшилася вдвічі, а вміст ФС суттєво не змінювався, що призводило до зменшення вдвічі коефіцієнта співвідношення ФЕА/ФС. Враховуючи одночасне збільшення майже удвічі вмісту ЛФХ, можна припустити, що ці зміни зумовлені не тільки активацією фосфоліпаз, а й впливом радикалів активованого ПОЛ. Чітка закономірність зменшення обох коефіцієнтів свідчить про наявність грубих структурно-функціональних зрушень фосфоліпідного бішару при токсичному гепатиті.

6. Коефіцієнт співвідношення ФЕА + ФС, які належать до легкоокиснюваних фракцій ФЛ із меншою насиченістю жирних кислот і переважно знаходяться у внутрішньому моношарі ліпідного матриксу, до ФХ + СФМ, які є важкоокиснюваними фракціями ФЛ із більшою насиченістю жирних кислот і переважно розміщуються у зовнішньому моношарі, показав таке. Зменшення цього коефіцієнта майже на третину (31,3 %; $P<0,05$), з одного боку, свідчить про морфологічну та функціональну асиметрію, яка розвивається у внутрішньому та зовнішньому моношарах мембран, а з другого — про зменшення окиснюваності. Ці зміни є доказом підвищення мікрощільності та жорсткості мембрани.

7. Подальші спостереження показали, що повне довільне відновлення вмісту загальних ФЛ, їх окремих фракцій, загального ХС і співвідношення ФЛ/ХС у гепатоцитах наставало на 13-ту добу.

8. Курсове профілактично-лікувальне введення похідних оксіетилідендифосфонатогерманатів показало, що вони вірогідно запобігають порушенням вмісту загальних фосфоліпідів і співвідношення окремих фракцій, загального холестерину та ХС/ФЛ, тобто деструктивним змінам мембран гепатоцитів. Повне відновлення даних показників при введенні МІГУ-4 відбувалося на 5-ту добу, МІГУ-5 — на 7-му, а МІГУ-6 — на 10-ту.

9. За фармакологічною активністю щодо запобігання порушенням фосфоліпідного складу мембран гепатоцитів при токсичному гепатиті нові БАР можна розташовувати таким чином: МІГУ-4 > МІГУ-5 > МІГУ-6. Порівняння їх ефективності з препаратом гептралом показало, що останній проявив найменшу активність, тобто зміни показників, які вивчалися, майже не відрізнялися від даних, одержаних при гепатиті без лікування. При довільному відновленні зміни відбувалися на 13-ту добу, при введенні гептралу — на 10-ту.

10. Аналіз отриманих результатів дозволяє зробити припущення, що при галактозаміновому гепатиті існують загальні патогенетичні закономірності модифікації фосфоліпідної компоненти мембран еритроцитів і гепатоцитів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Plasma* phospholipid fatti acid patern in severe liver disease / J. O. Clemmesen, C. E. Hoy, P. B. Jeppessen, P. Ott // J. Hepatol. — 2000. — Vol. 32, N 3. — P. 4817-4821.

2. *Mi L. J., Mak K. M., Lieber C. S.* Attenuation of alcohol-induced apoptosis of hepatocytes in rat liver by polyenylphosphatidylcholine (PPC) // Alcohol Clin. Exp. Res. — 2000. — Vol. 24, N 2. — P. 20712-20717.

3. *Мушкамбаров Н. Н., Кузнецов С. Л.* Молекулярная биология. — М.: МНА, 2003. — 218 с.

4. *The structural* role of cholesterol in biological membranes / Sugahara Michihiro, Uragami Maki, Yan Xun, Regen Steven L. // J. Amer. Chem. Soc. — 2001. — Vol. 123, N 32. — P. 7939-7940.

5. *Арифуллина З. А., Бунатян Н. Д., Кузнецова А. С.* Дженерики — реальная альтернатива оригинальным лекарственным препаратам // Фармация. — 2002. — № 1. — С. 25-28.

6. *Биологические* мембраны: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Б. С. Финдлея, В. Х. Эванза. — М.: Медицина, 1990. — 232 с.

7. *Геннис Р. Б.* Биомембраны. Молекулярная структура и функции. — М.: Мир, 1997. — 622 с.

8. *Надирадзе Н. И., Грекулова А. Н., Кавтарадзе В. Г.* Проницаемость мембран эритроцитов для Na^+ и K^+ и их фосфолипидный состав у больных гипертонической болезнью // Бюл. эксперим. мед. и биол. — 1993. — Т. 125, № 2. — С. 135-136.

9. *Суханова Г. А., Серебров В. Ю.* Биохимия клетки. — Томск: Чародей, 2000. — 184 с.

10. *Годован В. В., Кресюн В. Й.* Корекція перекисного окислення ліпідів при токсичному гепатиті новими комплексними сполуками германію з біолігандами // Досягнення біології та медицини. — 2007. — № 2. — С. 13-16.

11. *Структурно-функциональные* изменения мембран лимфоцитов и эритроцитов под воздействием переменного поля / Ю. Н. Бордюшков, И. А. Горошинская, Е. М. Франциец и др. // Вопр. мед. химии. — 2000. — № 1. — С. 72-80.

12. *Годован В. В., Кресюн Н. В.* Галактозаміновий гепатит як модель вивчення морфофункціональних порушень клітинних мембран // Одес. мед. журнал. — 2005. — № 3. — С. 11-15.

13. *Folch J., Lees M., Sloan G. H. S.* A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. — 1957. — Vol. 226, N 4. — P. 497-502.

14. *Метод* тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов / В. И. Крылов, А. Ф. Виноградов, С. И. Еремеева и др. // Лаб. дело. — 1975. — № 4. — С. 205-206.

15. *Зубер В. Л.* Определение содержания и удельной радиоактивности отдельных фракций фосфолипидов

// Методы биохимических исследований / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. — С. 79-80.

16. *Фосфолипидный* состав эритроцитов при неврологических нарушениях у детей; влияние сопутствующей патологии / Е. М. Васильев, М. И. Баканов, Г. Ф. Гордеев и др. // Мед. науч. и учеб.-метод. журнал. — 2001. — № 2. — С. 92-109.

17. *Лабораторные* методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 363 с.

18. *Молекулярные* нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы / В. В. Новицкий, Н. В. Рязанцева, Е. А. Степовая и др. // Бюл. сибир. медицины. — 2006. — № 2. — С. 62-67.

19. *Годован В. В., Кресюн В. Й.* Стан системи антиоксидантного захисту клітини при галактозаміновому гепатиті та застосуванні похідних оксіетиліденфосфонатогерманатів (повідомлення 1) // Одес. мед. журнал. — 2007. — № 4. — С. 36-41.

20. *Афонина Г. Б., Куюн Л. А.* Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. — К., 2000. — 285 с.

21. *Скатков С. А.* Фосфолипиды и их значение в организме человека // Фарматека. — 2001. — № 7. — С. 26-30.

22. *Гуревич К. Г.* Какие фосфолипиды «эссенциальнее»? // Клин. фармакология. — 2004. — № 1. — С. 1-5.

23. *Ушкалова Е. А.* Место эссенциальных фосфолипидов в современной медицине // Фарматека. — 2003. — № 10. — С. 10-15.

24. *Mechanisms* of Hepatoxiticy / H. Jaeschke, G. S. Gores, A. I. Cederbaum et al. // Toxicological sciense. — 2002. — Vol. 65, N 2. — P. 166-176.

УДК 616.61:612.43/.47:612-092.9

С. И. Доломатов, В. С. Шпак

ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ НА ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПОЧЕК КРЫС

Одесский государственный медицинский университет,
Научно-исследовательский институт регенеративной
и репродуктивной биомедицины, Одесса

Введение

Баланс уровней ренальной продукции молекулы оксида азота (NO) и ангиотензина-II (A-II) — важное условие стабильности физиологических констант почечного кровотока, величины скорости клубочковой фильтрации, канальцевой реабсорбции осмотически активных веществ (ОАВ) и жидкости, темпов потребления кислорода эпителиальными клетками канальцевого отдела нефрона [13; 50]. Соотношение синтеза и секреции NO и ренина клетками *macula densa* в значительной степени определяет состояние тубуло-гломерулярной обратной связи [11; 27]. Подтверждено наличие полярных эффектов NO и A-II на почечную гемодинамику [52] и канальцевый транспорт веществ [26]. Блокада NO-синтазного звена цикла оксида азота [7] усиливает чувствительность тканей-мишеней к влиянию A-II [10], стимулирует канальцевую реабсорбцию жидкости, ОАВ и физиологически активных метаболитов NO — нитритов эпителием канальцевого отдела нефрона [21]. Блокада ренин-ангиотензиновой системы (РАС) — эффективный способ коррекции ренальных дисфункций [22; 38]. Однако влияние блокаторов РАС на патогенетические механизмы почечной недостаточности требует более глубокого исследования [47].

Целью работы было изучение воздействия блокаторов РАС на деятельности почек крыс с экспериментальной патологией почек.

Материалы и методы исследования

В эксперимент отбирали беспородных крыс-самцов с массой тела 160–180 г. Путем случайного отбора животных распределили на 7 групп. Крысам 1-й группы (n=15) внутрибрюшинно вводили гентамицин в дозе 50 мг на 1 кг массы тела. Животных 2-й группы (n=15) в течение 24 ч с момента введения гентамицина (50 мг/кг) выпаивали водным раствором каптоприла (концентрация 10 мг/л). В качестве контроля (n=20) в данной серии исследований использовали крыс, содержавшихся в течение 24 ч с момента ложного введения антибиотика на стандартном рационе питания. Крысам 4-й группы в течение 5 сут внутрижелудочно вводили 1%-й крахмальный гель, содержавший натриевую соль тироксина (ежедневная доза Т4 — 50 мкг/100 г). В 5-й группе животных (n=15) 5-дневное введение Т4 сочетали с выпаиванием водным раствором каптоприла. Крысам 6-й группы водный раствор лозартана (10 мг/л) назначали в течение 24 ч после завершения 5-дневного введения Т4. Крысам 7-й