

2. Толстой, А. Д. Острый панкреатит: протоколы диагностики и лечения / А. Д. Толстой, С. Ф. Багненко, В. Б. Красногоров // Хирургия. — 2005. — № 7. — С. 19–23.
3. Чазов, Е. И. Направленный транспорт лекарств: проблемы и перспективы / Е. И. Чазов, В. Н. Смирнов, В. П. Торчилин // Журнал Всесоюзного химического общества им. Менделеева. — 1987. — № 5. — С. 485–487.
4. Cuthbertson, C. M. Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis / C. M. Cuthbertson [et al.] // Br J Surg. — 2006. — № 93(5). — P. 518–530.
5. Gardner, T. B. Hemoconcentration and pancreatic necrosis: further defining the relationship / T. B. Gardner, C. A. Olenec, J. D. Chertoff // Pancreas. — 2006. — № 33(2). — P. 169–173.

УДК 577.115: 577.121.7]+[546.215+539.1.03/.06]

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МЕМБРАНАХ ТИМОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО ДЕЙСТВИЕМ ПЕРОКСИНИТРИТА И ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

Никитина И. А.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Многие патологические состояния организма обуславливаются нарушениями в функционировании компонентов биологических мембран. Такие нарушения могут быть обусловлены как действием внешних физических и химических факторов, так и различными внутренними функциональными расстройствами. Одно из центральных мест в развитии нарушений биологических мембран занимает процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ). Наиболее типичные проявления ПОЛ — это ограничение молекулярной подвижности фосфолипидов, образование и рост доменов, содержащих, преимущественно, липиды с насыщенными жирными кислотами, приводящие к возрастанию вязкости мембраны и нарушение липид-белковых взаимодействий. Кроме того, нарушается характерная для нативных мембран трансбислойная асимметрия липидов, уменьшается толщина гидрофобной зоны мембран и усиливается трансмембранная миграция интегральных белков, а также появляются каналы проницаемости для ионов, снижается каталитическая активность и термостабильность мембранных белков, снижается электрическая прочность мембран, происходит их деинтеграция и фрагментация. В клетках присутствуют активные формы кислорода (АФК) и азота (АФА). Наибольший вклад в их образование вносит дыхательная цепь митохондрий, а также система цитохрома P₄₅₀. При нормальном протекании метаболических процессов свободные радикалы, как правило, не накапливаются вследствие их обезвреживания антиоксидантной системой клеток, включающей как антиокислительные ферментные системы, так и различные низкомолекулярные антиоксиданты.

В исследованиях Ю. А. Владимирова и А. И. Арчакова [1972] было установлено, что ионы Fe²⁺ оказывают каталитическое действие на образование перекисей; при этом Fe²⁺ окисляется до Fe³⁺. В водной фазе ионы железа могут взаимодействовать с диоксидом и перекисью водорода [2], приводя к образованию гидроксильных радикалов, которые, в свою очередь, могут инициировать реакции ПОЛ. Компоненты, взаимодействующие с ионами железа (АТФ, АДФ, Ф_н, цитрат, аскорбиновая кислота, цистеин, глутатион, и др.) сильно влияют на скорость реакций ПОЛ [3].

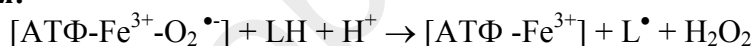
Таким образом, анализ состояния процессов ПОЛ в биомембранах клеток позволяет оценить степень развития в них деструктивных процессов, что может способствовать ранней профилактике заболеваний, разработке новых методов лечения и созданию необходимых лекарственных средств.

Целью настоящей работы явился анализ влияния окислительного стресса на динамику перекисного окисления липидов в тимocyтaх животных различных возрастных групп.

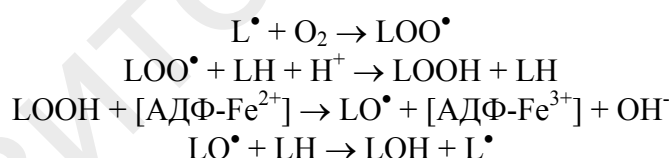
Материалы и методы

Исследования проводились на белых беспородных крысах, которых содержали на стандартном рационе. Рандомизированным отбором было сформировано три группы: одна из 3-месячных животных, одна из 8-месячных и одна из 8-месячных животных с инкорпорацией ^{137}Cs , в таких количествах, что доза внутреннего облучения составила 1,2 мЗв. Трехмесячный возраст соответствует половому созреванию крыс — периоду, с которого только начинается возрастная инволюция тимуса, тогда как для 8-месячных животных характерна развитая инволюция данного органа. Животных умерщвляли путем декапитации. Извлекали тимус, отмывали его от крови физиологическим раствором и переносили в раствор Хэнкса. Извлеченный орган сначала разрезали на крупные части, а затем пинцетом выщипывались более мелкие фрагменты. Полученная взвесь ресуспензировалась, отмывалась в фосфатном буфере (рН 7,4). Окислительный стресс вызывался обработкой суспензии клеток пероксинитритом в концентрации 30 и 110 мкМ/л с последующей отмывкой. Потом клетки переносились в среду инкубации, содержащую 175 мМ КСl и 10 мМ Tris-HCl (рН 7,4). Определение количества клеток производилось стандартным методом путем подсчета в камере Геррисона. Перекисное окисление липидов оценивали по потреблению кислорода полярографическим методом при помощи установки Record 4 в ячейке объемом 1 мл с закрытым платиновым электродом Кларка при температуре 30°C. Для инициации ПОЛ в ячейку вносили 1,5 мМ АТФ и 1,8 мМ FeSO₄. Образовавшийся комплекс [АТФ-Fe³⁺-O₂^{•-}] является инициатором ПОЛ [4]. Комплекс захватывает из среды кислород, который в результате одноэлектронного восстановления железом приобретает повышенную реакционную способность. Эти события запускают каскад реакций ПОЛ, вовлекающий максимально-возможное количество ненасыщенных жирных кислот в среде. Протекающий в ячейке процесс может быть представлен в виде схемы:

инициация:



перекисное окисление:



где LH — ненасыщенная жирная кислота (НЖК), LOOH — гидроперекись НЖК, L[•] — липидный радикал, LO[•] — липидный радикал спиртовой группы, LOO[•] — пероксирадикал.

В связи с трудностями точного определения времени инициации, обычно используется метод подсчета Δt-50 — время потребления 50 % O₂ в результате ПОЛ.

Результаты и их обсуждение

В наиболее распространенных методах оценки перекисного окисления липидов используется определение уровня конечного продукта ПОЛ — тиобарбитурат-положительных продуктов либо степени развития собственной или усиленной люминофорами люминесценции, сопровождаемой реакцией ПОЛ. Накопление МДА отражает лишь конечный результат ПОЛ и не позволяет судить непосредственно о кинетике этого процесса. Определение концентрации промежуточных продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов (ДК), позволяет регистрировать кинетику ПОЛ. Но определение ДК сопряжено с выполнением длительных препаративных процедур. В проведенных нами исследованиях использовались условия, позволяющие сохранять в процессе инкубации клеток относительно стационарную концентрацию [АТФ-Fe²⁺]-комплекса — инициатора ПОЛ

[5]. В этих условиях можно пренебречь изменениями концентрации Fe^{2+} , имеющими место в ходе инициации и цепной реакции ПОЛ. Благодаря этому появилась возможность проследить кинетику ПОЛ в мембранах живых клеток по регистрации потребления кислорода полярографическим методом. Кроме того, данный метод позволяет наглядно по степени ингибирования потребления кислорода в результате ПОЛ оценить антиоксидантные свойства различных субстанций (как гидрофильных, так и липофильных).

Скорость процессов ПОЛ, рассчитанного по времени 50 % потребления кислорода, в тимocyтах животных 3-месячной возрастной группы составила 42 ± 5 с, а у 8-месячной 73 ± 20 с соответственно ($p < 0,05$). Ускорение процессов ПОЛ в клетках тимуса 3-месячных животных возможно обусловлено особенностями метаболизма тимocyтов и составом мембранных липидов. Так известно, что перекисному окислению, в первую очередь, подвергаются ненасыщенные жирные кислоты с 6, 4 и 2 двойными связями, причем тем быстрее, чем выше степень их ненасыщенности [3] (рисунок 1).

Окислительный стресс, вызванный действием пероксинитрита в концентрации 30 мкМ, ускорил процессы индуцированного ПОЛ в мембранах тимocyтов животных 8-месячной группы более чем в два раза. У животных 3-месячной группы скорость процессов ПОЛ увеличивается незначительно и достоверно не отличается от контроля.

Инкорпорирование ^{137}Cs у животных старшей возрастной группы приводит к увеличению скорости процессов ПОЛ, которая становится сопоставима со временем ПОЛ при действии пероксинитрита в концентрации 30–110 мкМ. Дальнейшее усиление окислительного стресса с помощью пероксинитрита в концентрации 30 и 110 мкМ в тканях у животных 8-месячной группы с инкорпорацией ^{137}Cs не приводит к значимым изменениям скорости процессов ПОЛ. Интересно, что при сочетании воздействий этих факторов процессы ПОЛ замедляются в сравнении с воздействием только одного пероксинитрита.

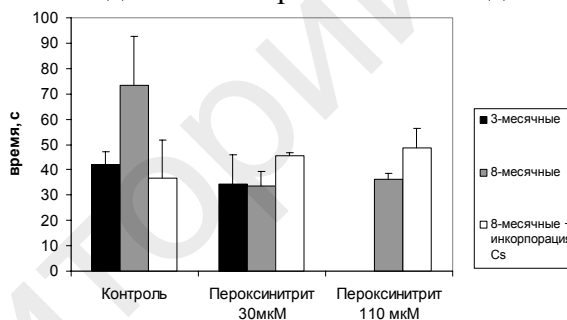


Рисунок 1 — Время 50 % потребления кислорода на процессы ПОЛ в мембранах тимocyтов разных возрастных групп в условиях окислительного стресса, индуцированного пероксинитритом и инкорпорацией ^{137}Cs

Заключение

1. Выявлены возрастные различия в динамике $[AT\Phi-Fe^{3+}-O_2^{\cdot-}]$ -индуцированного перекисного окисления липидов в мембранах тимocyтов крыс.

2. Окислительный стресс, вызванный действием пероксинитрита, ускоряет процессы $[AT\Phi-Fe^{3+}-O_2^{\cdot-}]$ -индуцированного перекисного окисления липидов в мембранах тимocyтов крыс.

3. Инкорпорация ^{137}Cs вызывает двукратное увеличение скорости $[AT\Phi-Fe^{3+}-O_2^{\cdot-}]$ -индуцированного перекисного окисления липидов в мембранах тимocyтов крыс. Последующая обработка клеток пероксинитритом практически не изменяет достигнутой скорости процессов ПОЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артюхов, М. А. Биологические мембраны: структурная организация, функции, модиф. физ.-хим. агентами / М. А. Артюхов, В. Г. Наквасина. — Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 2000. — 296 с.
2. Владимиров, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. — М.: Наука, 1972. — 231 с.

3. Tany, L. X. Effects of additional iron-chelators on Fe^{2+} – initiated lipid peroxidation: evidence to support the $Fe^{2+} \cdots Fe^{3+}$ complex as the initiator / L. X. Tany, F. L. Yang // J. of Inorganic Biochemistry. — 1997. — Vol. 68, № 4. — P. 265–272.

4. Sassa, H. Structural basis of potent antiperoxidation activity of the triterpene celastrol in mitochondria: effect of negative membrane surface charge on lipid peroxidation / H. Sassa [et al.] // Free Radic Biol Med. — 1994. — Vol. 17, № 3. — P. 201–208.

5. Gutteridge J. M. Effect of ferritin-containing fractions with different iron loading on lipid peroxidation / J. M. Gutteridge [et al.] // J. Biochem. — 1983. — Vol. 209, № 2. — P. 557–560.

УДК 616.72-08:616.15

СЫВОРОТКА КРОВИ, КАК БАЗОВЫЙ «АНТИАРТРОЗНЫЙ» ПРЕПАРАТ ДЛЯ ИНТРААРТИКУЛЯРНОЙ ТЕРАПИИ

¹Николаев В. И., ²Белецкий А. В., ³Ермаков С. Ф.

¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

²Государственное учреждение

Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии

³Учреждение образования

«Институт механики металлополимерных систем им. В. А. Белого

Национальной академии наук Беларуси»

г. Минск, Республика Беларусь

Введение

Остеоартроз, как правило, локальное заболевание, поражающее, преимущественно, суставы нижних конечностей, несущие максимальную опорную нагрузку. В настоящее время признано, что дегенерация суставного хряща возникает вследствие двух основных причин: чрезмерной нагрузки на хрящ и снижения его резистентности к обычным физиологическим нагрузкам. Однако, независимо от этиопатогенетических особенностей основные гистопатологические, биохимические и метаболические изменения при остеоартрозе сходны и, в конечном итоге, ведут к повреждению клеточных структур хряща — хондроцитов [1]. Как следствие, нарушается динамическое равновесие между синтезом и разрушением ткани хряща. Поэтому в условиях дефицита нормального синтеза и избытка патологически измененного хондроциты оказываются неспособными компенсировать недостаток его матрикса в сульфатированных мукополисахаридах (хондроитинсульфат и хитин). При развитии остеоартроза в суставе резко усиливаются процессы расщепления и деполимеризации гиалуроновой кислоты (ГУК), а, поскольку ГУК является природным полимером, ответственным за вязкоупругие свойства, то такие свойства синовиальной жидкости соответственно заметно снижаются. В результате увеличивается механическая нагрузка на суставные хрящи, что приводит к процессам их разрушения и, следовательно, к возникновению боли и ограничению подвижности в суставе.

Таким образом, исторически сложилось, что для приостановления развития и лечения остеоартроза одним из необходимых условий является восполнение дефицита извне, с одной стороны, сульфатированных мукополисахаридов, а с другой — ГУК [1, 3]. Очевидно, что наиболее эффективным является внутрисуставное введение таких препаратов, терапевтический эффект которых связан как с участием их ингредиентов в построении основного вещества хрящевой ткани, так и улучшением вязкоэластичных свойств синовиальной жидкости и восстановлением ее ударопоглощающей функции. Снижение механической нагрузки на пораженный сустав за счет восстановления в нем синовиального гомеостаза, как правило, влечет за собой уменьшение боли и улучшение подвижности, которые могут сохраняться и длиться несколько месяцев после окончания курса лечения.

Жидкокристаллическое состояние присуще живой материи во всех ее проявлениях и представляется идеальной средой для протекания многих биохимических реакций и обес-