

УДК 616.34-008.87-092.9:615.27

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГЕНТАМИЦИНА И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ ЭМОКСИПИНА

© Агейченко А.В.², Королёв В.А.¹, Медведева О.А.², Бобынцева О.В.¹, Рыжаева В.Н.¹¹ Кафедра биологии, медицинской генетики и экологии, ² кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии Курского государственного медицинского университета, КурскE-mail: alina7227@mail.ru

Воздействия различных ксенобиотиков, в том числе антибактериальных препаратов широкого спектра действия, на макроорганизм вызывают изменения липидного состава клеточных мембран. При изучении эффективности профилактического применения антиоксиданта «Эмоксипин» для нормализации показателей липидного обмена у мышей при экспериментальном дисбиозе установлено его протективное действие. Антиоксидант стабилизирует некоторые фракции фосфолипидов (лизосфосфатидилхолин, фосфатидилинозит/серин, фосфатидилхолин, кардиолипид, фосфатидилэтаноламин) и нейтральных липидов (холестерин, эфиры холестерина). «Эмоксипин» нормализует липидный обмен, уменьшая выраженность мембранодеструктивных явлений и восстанавливая функциональное состояние клеток крови.

Ключевые слова: дисбиоз, фосфолипиды, нейтральные липиды, «Эмоксипин».

LIPID COMPOSITION OF RED BLOOD CELLS MEMBRANES IN USING GENTAMICIN AND EMOXIPIN PROPHYLAXIS

Ageychenko A.V.², Korolev V.A.¹, Medvedeva O.A.², Bobyntseva O.V.¹, Ryzhaeva V.N.¹¹ Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, ² Department of Microbiology, Virology, Immunology of Kursk State Medical University, Kursk

Exposure of macroorganism to various xenobiotics (including broad-spectrum antibiotics) causes changes in lipid composition of cell membranes. The prophylactic effectiveness of antioxidant "Emoxipine" for normalizing lipid metabolism of experimental dysbiosis in mice was studied. It was established that the antioxidant stabilizes some fraction of phospholipids (lysophosphatidylcholine, phosphatidylinositol/serine, phosphatidylcholine, cardiolipin, phosphatidylethanolamine) and neutral lipids (cholesterol, cholesterol esters). "Emoxipine" normalizes lipid metabolism, reducing the severity of membrane-destructive phenomena and restoring the functional state of blood cells.

Keywords: dysbiosis, phospholipids, neutral lipids, "Emoxipine".

Современную медицину невозможно представить без использования антибактериальных препаратов. Однако, как и все медицинские препараты, они имеют ряд побочных эффектов. Одним из самых распространённых последствий антибиотикотерапии является дисбактериоз кишечника [6].

При различных заболеваниях возможны изменения морфологической картины эритроцитов, которые приводят к нарастанию гипоксии и в определённой степени определяют течение патологического процесса. При этом функциональная полноценность эритроцитов, опосредованная формой, деформационной и агрегационной способностью красных клеток крови, во многом детерминирована состоянием липидного бислоя мембраны эритроцита. Как известно, структурную основу мембран эритроцитов, как и других клеток, составляет фосфолипидный бимолекулярный слой, т.е. мембрана состоит из двойного слоя липидных молекул, каждая из которых имеет гидрофильную головку и неполярный гидрофобный «хвост». Соединяясь гидрофобными концами, молекулы фосфолипидов образуют бимолекулярный слой, на поверхности и в толще которого находятся белки [13].

Изменения указанной морфологической организации мембран могут быть причиной нарушения их проницаемости, дыхательной функции клеток, повышения их агрегационной способности [2, 7]. Особую актуальность эти изменения имеют при заболеваниях, протекающих с выраженным гипоксическим синдромом, в частности при воздействии различных ксенобиотиков, к которым можно отнести и антибактериальные препараты широкого спектра действия [11].

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение состава липидов мембран эритроцитов в условиях экспериментального дисбактериоза и профилактики антиоксидантом препаратом «Эмоксипин».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 60 мышах линии BALB/c массой 18-20 г, которых содержали на стандартном пищевом рационе в условиях вива-

рия. Все животные были разделены на три группы по 20 особей в каждой. Первая группа – контрольная (интактные мыши). Вторую группу составили животные, у которых моделировали лекарственный дисбиоз путём ежедневного в течение 5 дней внутрибрюшинного введения раствора гентамицина в концентрации 80 мкг/мл в пересчёте на массу животного (0,02 мл) [3]. Третью группу составили мыши, которым с профилактической целью внутримышечно вводили антиоксидант «Эмоксипин» в дозе 167,18 мг/кг в пересчёте на массу животного (0,334 мл) в течение 10 суток до начала введения гентамицина. Исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986).

Липидный состав фракций определяли традиционными методами [15]. Хроматографирование проводили по методу В.И. Крылова [9] в насыщенных парах растворителей камерах на пластинках «Silyfol» (Россия). Для идентификации липидных фракций применяли стандартные образцы нейтральных липидов (холестерин (ХС), моноглицериды (МГ), диглицериды (ДГ), свободные жирные кислоты (СЖК), триглицериды (ТГ), эфиры холестерина (ЭХС)) и фосфолипидов (лизофосфатидилхолин (ЛФХ), фосфатидилинозит/серин (ФИ/ФС), фосфатидилхолин (ФХ), кардиолипид (КЛ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ)) производства фирмы «Sigma» (США), путем определения относительной подвижности фракций. Уровень содержания липидов определяли денситометрическим методом на ПБМ IBM PA/AT с использованием программы «OneDscan» в отраженном свете [4, 9, 12]. Статистическую значимость различий средних величин вычисляли по t-критерию Стьюдента после проверки нормальности распределения изучаемых параметров с помощью программы Statistica 6.0 [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях экспериментального дисбиоза кишечника были выявлены следующие изменения показателей липидного состава клеточных мембран эритроцитов крови животных. Наблюдалось достоверное увеличение количественного содержания фракций фосфолипидов (таблица 1): ЛФХ на 104,15% и СМ на 59,31%, также достоверное снижение фракций ФИ/ФС на 32,96%, ФХ на 21,52%, КЛ на 43,89% и ФЭ на 28,71%.

При профилактическом использовании антиоксиданта «Эмоксипин» происходит достоверное снижение количественного содержания фракции ЛФХ на 37,40%. Выявлено достоверное увеличение фракции ФИ/ФС на 38,39% по сравнению с группой «дисбиоз», важно отметить, что количественный показатель в данной группе достиг значений контроля. Фракции ФХ, КЛ и ФЭ увеличились на 31,99%, 52% и 31,36% соответственно в сравнении с группой экспериментального дисбактериоза. Изменение количественного содержания СМ при профилактическом применении антиоксиданта было ниже уровня достоверности.

В исследовании также было проведено изучение мембранных нейтральных липидов (таблица 2).

Из представленных данных видно, что введение гентамицина способствует достоверному увеличению фракции ХС на 17,19%, ЭХС на 38,80% и ТГ на 40,20%. Изменения количественного содержания фракций МГ, ДГ и СЖК имели разнонаправленный характер и были ниже уровня достоверности.

Профилактическое применение антиоксиданта «Эмоксипин» привело к снижению содержания фракций ХС и ЭХС на 10,91% и 14,91% соответственно в сравнении с группой «дисбиоз», но данные показатели не достигли значений у интактных животных.

Таблица 1
Количественные характеристики фосфолипидов мембран эритроцитов крови мышей

Группа животных	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Профилактика дисбиоза (эмоксипин)
Фосфолипиды (М ± m)			
Лизофосфатидилхолин	2,92±0,73	5,97±0,78**	3,74±0,44 ^x
Сфингомиелин	7,23±0,27	11,52±1,09**	9,03±1,01
Фосфатидилинозит/серин	16,93±1,19	11,35±0,95***	15,71±0,94 ^{xx}
Фосфатидилхолин	14,75±1,01	11,57±1,10*	15,28±1,00 ^x
Кардиолипид	2,51±0,23	1,41±0,17***	2,14±0,30 ^x
Фосфатидилэтаноламин	15,82±0,96	11,28±1,17**	14,82±1,16 ^x

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** – $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** – $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x – $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} – $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} – $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Таблица 2

Количественные характеристики мембранных нейтральных липидов эритроцитов крови мышей

Группа животных Нейтральные липиды ($M \pm m$)	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Профилактика дисбиоза (эмоксипин)
Холестерин	47,27±1,12	55,40±1,17***	49,35±1,86 ^x
Моноглицериды	2,89±0,24	3,51±0,40	3,46±0,40
Диглицериды	2,09±0,24	2,65±0,24	2,58±0,21
Свободные жирные кислоты	1,91±0,18	1,47±0,16	1,49±0,17
Триглицериды	6,79±0,69	9,52±0,84*	7,50±0,81
Эфиры холестерина	27,75±1,79	38,52±1,84***	32,77±1,63 ^x

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** – $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** – $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x – $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} – $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} – $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Воздействие антибиотика широкого спектра действия (гентамицина) приводит к нарушению липидного состава мембран клеток. Так, при экспериментальном дисбактериозе кишечника в мембранах эритроцитов происходило уменьшение содержания ФЭ и ФХ, которые обладают свойствами ингибиторов процессов перекисного окисления липидов, и их истощение в эритроцитах может приводить к ослаблению антиоксидантной защиты клеточных мембран [1, 8]. Уменьшение содержания этих фракций может быть связано с их частичным гидролизом фосфолипидом А2, на что указывает одновременное возрастание моноцильного лизопродукта – ЛФХ, содержание которого увеличивалось в эритроцитах периферической крови мышей после введения гентамицина. Накопление в мембранах эритроцитов ЛФХ является непосредственным результатом усиленного распада структурных ФЛ в органах и тканях, откуда гидрофильные метаболиты могут легко поступать в кровь. Накапливающиеся лизоформы являются токсическими для клеточных мембран и могут вызывать гемолиз эритроцитов [2, 7].

Увеличение содержания ФИ/ФС может быть опосредовано повышением занятости скавенджер-рецепторов, вследствие чего осложняется выведение из кровотока повреждённых клеток и модифицированных липопротеидов, приводящее к возникновению воспалительных процессов в организме [8]. С другой стороны, накопление ФИ/ФС является проявлением адаптационно-компенсаторных механизмов в структуре и функции клеточных мембран [14].

В мембране эритроцитов выявлены изменения и в спектре нейтральных липидов, что, в свою очередь, сказывается и на организации мембраны в целом. Так, повышенный уровень ХС и ЭХС уменьшает подвижность жирных кислот, снижает латеральную диффузию липидов и белков [5].

Профилактическое применение антиоксиданта «Эмоксипин» привело к нормализации измене-

ний в количественном содержании ряда липидных фракций. «Эмоксипин» стабилизирует липидный обмен, уменьшая выраженность мембрано-деструктивных явлений и восстанавливая функциональное состояние клеток крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии // Биохимия. – 2004. – Т. 69, № 1. – С. 5-7.
2. Ишутина Н.А., Дорофиев Н.Н., Болелова С.М. Фракционный состав фосфолипидов мембран эритроцитов у беременных с бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2009. – № 31. – С. 60-62.
3. Кашкин К.П., Караев З.О. Имунная реактивность организма и антибиотическая терапия. – Л.: Медицина, 1984. – 200 с.
4. Кең Э. Количественный анализ хроматографическими методами (пер. с англ.) – М.: Мир, 1990. – 320 с.
5. Конопля А.И., Гаврилюк В.П., Долгарева С.А., Блинков Ю.А., Шатохин М.Н. Белки и липиды мембраны эритроцитов при хроническом простатите; возможности фармакологической коррекции нарушений // Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2011. – № 4. – С. 166-169.
6. Костюкевич О.И. Современное представление о микробиоценозе кишечника. Дисбактериоз и его коррекция // Рус. мед. журнал. – 2007. – № 28. – С. 2176–2182.
7. Кудяшева А.Г., Шевченко О.Г., Загорская Н.Г. Ранние эффекты раздельного и совместного действия нитрата свинца и облучения в малых дозах на морфо-физиологические и биохимические показатели мышей // Вестн. Поморского ун-та. Сер.: Естест. и точн. науки. – 2007. – № 1. – С. 56-65.
8. Лескова Г.Ф. Особенности воздействия перфторана на структурно-метаболические нарушения в печени при экспериментальном атеросклерозе // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2003. – Т. 136, № 10. – С. 386–389.

9. Олышанова К.М. Практикум по хроматографическому анализу. – М.: Высш. школа, 1970. – 312 с.
10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
11. Рогов О.А., Шперлинг И.А., Новицкий В.В., Рязанцева Н.В. Поверхностная архитектура и липидный состав мембраны эритроцитов при отравлении монооксидом углерода в эксперименте // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 6. – С. 92-93.
12. Сафонова Е.Ф., Назарова А.А., Селеменев В.Ф., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. Выбор оптимальных параметров разделения фосфолипидов в тонком слое сорбента // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – Т. 36, № 4. – С. 41-43.
13. Трошкина Н.А., Циркин В.И., Дворянский С.А. Эритроцит: строение и функции его мембраны // Вятский медицинский вестник. – 2007. – № 2-3. – С. 32-40.
14. Эндакова Э.А., Новгородцева Т.П., Светашев В.И. Модификация состава жирных кислот крови при сердечно-сосудистых заболеваниях. – Владивосток : Дальнаука, 2002. – С. 5-11.
15. Ohvo-Rekilä H., Ramstedt B., Leppimäki P., Slotte J.P. Cholesterol interactions with phospholipids in membranes // Prog. Lipid Res. – 2002. – Vol. 41, N 1. – P. 457–468.