

Биологические науки

**ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ СВОЙСТВ
МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ МЕТОДОМ
ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДИРОВАНИЯ
В ДИНАМИКЕ НИТРИТНОЙ
МЕТГЕМОГЛОБИНИИ**

Филиппова О.Н., Шперлинг И.А.,

Новицкий В.В., Рязанцева Н.В.,

Рогов О.А., Куприна Н.П., Акимова В.В.

Сибирский государственный

медицинский университет,

Томский военно-медицинский институт,

Томск

Гипоксический синдром при метгемоглобинемии во многом определяется нарушением функциональных свойств эритроцитов: формы, агрегируемости, деформабельности, что влияет на способность проникновения красных клеток крови в сосуды микроциркуляции. Вместе с тем, эти свойства эритроцитов зависят от эластичности мембраны, нормальное функционирование которой опосредовано, в основном, состоянием липидной фазы.

Целью нашего исследования явилось изучение микровязкостных свойств липидной фазы мембраны в динамике метгемоглобинемии, индуцированной нитритом натрия.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на крысах-самцах массой 190-250 г, которым с целью моделирования метгемоглобинемии вводили однократно внутривенно 0,6% раствор нитрита натрия (НН) в физиологическом растворе в дозе 90 мг/кг (DL₅₀). Исследовали кровь выживших животных, полученную методом декапитации через 1,5 ч; 1; 3; 5; 7; 13 и 21 сут после введения ксенобиотика. Кровь стабилизировали гепарином (50 ЕД/мл). Контрольным животным вводили эквивалентное количество физиологического раствора. Количество животных в группах – 6.

Концентрацию метгемоглобина (MetHb) в крови определяли спектрофотометрическим методом по М.С. Кушаковскому (1968). Мембраны эритроцитов выделяли по методу J.T. Dodge (1963).

Определение спектральных характеристик взаимодействия мембраны эритроцитов с флуорофором проводили на спектрофлуориметре MPF-4 фирмы «Hitachi». Флуоресценцию пирена измеряли в среде: NaCl-145 мМ, трис-НСl – 10 мМ (рН 7,4). Определяли степень эксимеризации пирена в области анулярных и общих липидов (I₄₇₀/I₃₇₀ при λ_в 285 и 340 нм), полярность окружения молекул пирена (I₃₇₀/I₃₉₀ при λ_в=340 нм). Рассчитывали показатель миграции энергии с триптофановых остатков белков на пирен (Добрецов Г.Е., 1989).

Результаты обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента (достоверность различий считали при p<0,05).

Результаты и обсуждение. Через 1,5 ч после введения НН в крови у экспериментальных животных было зарегистрировано повышение уровня MetHb до 50,5±2,3%. Через 1 сут и в последующие сроки на-

блюдения его содержание не отличалось от значений в контрольной группе (1,2±0,2%).

Оценка параметров взаимодействия пирена с мембраной эритроцитов у животных опытной группы позволила обнаружить отчетливое снижение показателя миграции энергии с триптофана на пирен по сравнению с контрольными значениями. При этом максимальная выраженность указанных изменений была зарегистрирована в остром периоде метгемоглобинемии (через 1,5 ч после введения НН: 26,8±2,2% при 37,0±3,8% в контроле, p<0,05). Вышеуказанные отклонения с меньшей выраженностью сохранялись на протяжении 13 сут. наблюдения.

Поскольку величина эксимеризации пирена обратно пропорциональна вязкости липидной фазы, выявленное нами снижение изучаемых показателей указывает на повышение упорядоченности молекул как интегрального липидного бислоя, так и анулярной липидной фракции.

Выявленные изменения микровязкостных свойств могут быть связаны с изменениями структурно-качественного липидного состава мембран эритроцитов (содержание фракций нейтральных липидов, фосфолипидов и уровня ненасыщенности входящих в их состав жирных кислот) вследствие интенсификации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

В данном случае инициаторами ПОЛ могут быть окислительное повреждение липидных молекул активными формами кислорода с последующей цепной реакцией генерации липидных радикалов, снижение активности антиоксидантных систем ввиду дефицита макроэргов и специфического действия НН. Необходимо отметить, что изменения микровязкости мембран эритроцитов наблюдались довольно продолжительное время по сравнению с относительно коротким периодом метгемоглобинемии. Это свидетельствует в пользу выраженных, в некоторой части, необратимых изменений функциональной активности мембран красных клеток крови при воздействии метгемоглобинообразователей.

В условиях интенсификации липопероксидации увеличение микровязкости мембраны связано с переходом окисленных цепей ненасыщенных жирных кислот в поверхностные слои, тогда как концентрация насыщенных углеводородных цепей в глубоких слоях мембраны приводит к снижению ее текучести.

Таким образом, при изучении параметров флуоресценции липотропного зонда пирен нами было установлено, что развитие метгемоглобинемии сопровождается выраженными нарушениями структурного состояния мембран эритроцитов (увеличением вязкости липидного компонента в целом, в том числе в области белок-липидных контактов; возрастанием полярности окружения молекул пирена).

Работа представлена на заочную электронную конференцию «Фундаментальные исследования», 20-25 февраля 2005 г. поступила в редакцию 15.04.05 г.