

УДК 616.36-088.947.79:616.155.1-074]-092.9

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИПИДНОГО СПЕКТРА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Есауленко Е.Е., Бачко С.С., Ладутько А.А., Быков М.И.

ГОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар,  
e-mail: IlyaMB@ksma.ru

В статье описаны биохимические изменения липидного спектра эритроцитарных мембран, возникающих под действием токсического поражения печени, вызванного четыреххлористым углеродом и этанолом. Согласно полученным данным гепатотоксины способствовали значительному изменению физико-химических свойств эритроцитарной мембраны, уменьшению ее жидкостных свойств и увеличению микровязкости липидного бислоя.

**Ключевые слова:** токсический гепатит, липидный спектр, эритроцитарная мембрана, этанол, четыреххлористый углерод

## THE COMPARATIVE BIOCHEMICAL CHARACTERISTIC OF LIPIDIC SPECTRUM OF ERYTHROCYTES' MEMBRANES AT VARIOUS KINDS OF TOXIC DEFEAT OF A LIVER

Esaulenko E.E., Bachko S.S., Ladutko A.A., Bykov M.I.

Kuban state medical university, Krasnodar, e-mail: IlyaMB@ksma.ru

In the article were described biochemical changes of lipidic spectrum of erythrocytes' membranes arising under the influence of toxic defeat of a liver, caused by four-chloride carbon and ethanol. According to the received data hepatotoxins were promoted considerable change of physical and chemical properties of erythrocytic membrane and reduction of its liquid properties and microviscosity increase of lipidic bilayer.

**Keywords:** toxic hepatitis, lipidic spectrum, erythrocytic membrane, ethanol, four-chloride carbon

В настоящее время заболевания, связанные с токсическими поражениями печени, занимают ведущее место среди патологий, вызывающих необратимые нарушения в функционировании всех систем человеческого организма [2; 3; 4].

Печень является барьером на пути чужеродных веществ, попадающих в организм человека [3]. Изменение активности печеночных ферментов (вследствие наследственных энзимопатий, воздействия неблагоприятных экологических факторов и др.) ведет к снижению детоксикационной функции печени. На фоне этого чужеродные вещества могут оказывать значительное воздействие на печеночную паренхиму, приводящее к формированию токсического поражения этого органа [4].

Исследование функционального состояния эритроцитов – наиболее удачная биологическая модель для изучения динамики многих нарушений, протекающих в организме при развитии патологии [5; 9]. Интерес к изучению липидной составляющей мембран эритроцитов для оценки степени токсического поражения печени возник после того, как оказалось, что действие на организм повреждающих факторов сопровождается существенным сдвигом в липидном обмене, тогда как печень является одним из центральных органов об-

мена липидов [7; 9]. Поскольку этот сдвиг затрагивал фосфолипидный обмен, было очевидно, что он может обусловить и изменения функциональных свойств эритроцитарной мембраны [5; 8]. К сожалению, неспецифический стереотип подобных отклонений, который в литературе рассматривается как атрибут стрессорной реакции, охарактеризован только в самой общей форме. Однако физиологические свойства, такие как деформируемость, осмотическая резистентность и способность к агрегации, обеспечивающие продвижение эритроцитов по кровяному руслу, а следовательно, транспорт кислорода к органам и тканям, определяются лабильностью эритроцитарной мембраны. Последняя, в свою очередь, находится в прямой зависимости от количества и соотношения между различными фракциями эритроцитарных липидов.

**Цель исследования** – изучить особенности липидного состава мембран эритроцитов крыс при экспериментальном токсическом поражении печени, вызванном воздействием этанола и четыреххлористого углерода.

### Материалы и методы исследования

Опыты были проведены на 150 белых нелинейных крысах-самцах массой 150–200 г. Экспериментальные животные были разделены на две опытные и

контрольную группу. У крыс первой опытной группы ( $n = 50$ ) модель токсического поражения печени создавали подкожным введением 50%-го масляного раствора четыреххлористого углерода, а у животных второй опытной группы – внутрижелудочным введением 40%-го раствора этанола. Формирование моделей подтверждали патогистологическим исследованием печени крыс. Контрольную группу ( $n = 50$ ) составили интактные животные. Липидный спектр мембран эритроцитов изучали через 72 часа после моделирования токсического гепатита. На всех этапах эксперимента соблюдались правила гуманного обращения с животными.

Определение содержания общих липидов (общих фосфолипидов (ФЛ), холестерина (ХС)) и фосфолипидов (лизофосфатидилхолина (ЛФХ), фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилсерина (ФС), фосфатидилэтаноламина (ФЭ), лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ), сфингомиелина (СМ)) в эритроцитах производили с помощью высокоэффективной тонкослойной хроматографии [5; 6].

Полученные экспериментальные данные были обработаны методами вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 [1].

### Результаты исследования и их обсуждение

Согласно полученным данным, липидный спектр мембран эритроцитов крыс в условиях экспериментального токсического гепатита, вызванного интоксикацией этиловым спиртом и четыреххлористым углеродом, изменялся однонаправленно. При интоксикации как тетрахлорметаном, так и этанолом в эритроцитах возрастало содержание холестерина и снижалось количество общих фосфолипидов. Содержание ХС в мембранах эритроцитов увеличилось в среднем на 20% ( $p < 0,001$ ) при действии  $CCl_4$  и на 17% ( $p < 0,001$ ) при действии этанола по сравнению с данными в контрольной группе. Степень снижения количества общих фосфолипидов при интоксикации  $CCl_4$  была значительнее (на 22%,  $p < 0,001$ ), чем при действии этанола (на 14%,  $p < 0,001$ ). Значение коэффициента ХС/ФЛ при интоксикации этанолом возросло на 38% ( $p < 0,001$ ), тогда как при интоксикации четыреххлористым углеродом – на 62% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой интактных животных.

Как известно, в результате встраивания холестерина в мембраны эритроцитов увеличиваются их размеры и изменяется форма: происходит превращение двояковогнутых дисков в сфероциты и эхиноциты. Этот процесс сопряжен с изменением физико-химических свойств эритроцитарной мембраны: повышением ее микровязкости, ухудшением деформируемости клеток, способности к прохождению в микроциркулярном русле и снижением активности  $Na^+, K^+$ -АТФазы.

При изучении фосфолипидного спектра эритроцитарных мембран было обнаружено примерно одинаковое снижение содержания ФХ во всех экспериментальных группах (в среднем, на 8–10% относительно контроля) с одновременным ростом образования ЛФХ, что свидетельствует об активации фосфолипазы  $A_2$ . Однако компенсация недостатка ФХ в наружном монослое мембран эритроцитов осуществлялась за счет повышения количества СМ. Расчет коэффициента ФХ/СМ, характеризующего уровень перераспределения фосфолипидных фракций внутри мембранного бислоя, показал значительные отличия от нормы. Так, при интоксикации этанолом значение коэффициента ФХ/СМ составило 2,46 условных единиц (усл. ед.), а при интоксикации  $CCl_4$  2,21 усл. ед., тогда как в группе здоровых животных данный коэффициент составил 3,87 усл. ед. Таким образом, при обеих моделях токсического поражения печени наблюдалась общая тенденция к снижению этого коэффициента, что предполагает уменьшение жидкостных свойств и увеличение микровязкости липидного бислоя.

При изучении изменений фосфолипидных фракций, характеризующих внутренний монослой мембраны эритроцитов (ФЭ, ЛФЭ, ФС), также отмечались рассогласования в их соотношении. Количество ФЭ уменьшалось во всех группах животных, подвергнутых стрессорным воздействиям, но наиболее было выражено при токсическом действии тетрахлорметана (на 32%,  $p < 0,001$ ), чем этанола (на 21%,  $p < 0,001$ ) по сравнению с данными в контрольной группе. При этом как в первой, так и во второй группах наблюдалось значительное увеличение доли ЛФЭ в мембранах эритроцитов, что может быть обусловлено не только активацией фосфолипаз, но и воздействием радикалов трихлорметана, хлорина (из  $CCl_4$ ) и этильных радикалов (из этанола). Также обращает на себя внимание увеличение количества ФС. Расчет коэффициента ФЭ/ФС показал, что при интоксикации этанолом его величина составляет 1,91 усл. ед., а при интоксикации  $CCl_4$  – 1,96 усл. ед. (в контрольной группе – 3,22 усл. ед.). Описанные биохимические изменения липидного спектра эритроцитарных мембран свидетельствуют о наличии глубоких структурно-функциональных нарушений внутри мембранного бислоя эритроцитарной мембраны при действии токсического агента.

Другой характеристикой лабильности липидного бислоя является его асимметрия. ФХ совместно с СМ располагаются преимущественно во внешнем монослое

липидного бислоя мембраны, а ФЭ и ФС во внутреннем монослое. Расчет коэффициента  $(ФЭ + ФС)/(ФХ + СМ)$ , который отражает отношение суммы фосфолипидов с меньшей насыщенностью жирных кислот к фосфолипидам с большей насыщенностью, позволяет получить представление о жидкости мембраны. Так, при интоксикации этанолом значение коэффициента асимметрии составило 0,44 усл. ед., а при интоксикации  $CCl_4$  – 0,46 (в контроле 0,53), т.е. во всех вышеназванных экспериментах коэффициент асимметрии был ниже контрольной величины, что обуславливает повышение насыщенности липидного бислоя и соответственно потери воды и увеличение микровязкости.

### Заключение

Таким образом, токсическое действие четыреххлористого углерода и этанола затрагивает не только паренхиму печени, но и имеет выраженные системные проявления. При этом оба вещества вызывают неспецифическую реакцию организма, которая проявляется в однонаправленном изменении липидной составляющей мембран эритроцитов.

### Список литературы

1. Герасимов А.Н. Медицинская статистика: учебное пособие. – М.: Медицинское информационное агентство, 2007. – 480 с.
2. Изучение влияния флавоноидов на системы детоксикации ксенобиотиков при курсовой алкоголизации у крыс / Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева, Л.А. Саджая, А.Ю. Терехов, Е.П. Парфентьева, И.В. Скульте // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – №1, Т.ХІХ, приложение №33. – С. 74.
3. Ерохин Ю.А., Ануфриева Е.Ю. Злоупотребление алкоголем в России и его последствия // Экология и безопасность жизнедеятельности: сборник статей VI Международной научно-практической конференции. – Пенза: РИО ПГСХА, 2006. – С. 111–113.
4. Ивашкин В.Т., Маевская М.В. Алкогольно-вирусные заболевания печени. – М.: Литера, 2007. – 160 с.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
6. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – 322 с.
7. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – СПб.: Питер, 1999. – 512 с.
8. Применение биологически активных веществ морских гидробионтов для коррекции нарушений липидного обмена при алкогольной интоксикации / Н.Ф. Кушнерова, Ю.А. Рахманин, Т.Н. Гордейчук, С.Е. Фоменко, Ю.И. Добряков, Л.Н. Лесникова, Е.Ю. Добряков // Гигиена и санитария. – 2000. – № 3. – С. 70–73.
9. Лесникова Л.Н., Кушнерова Н.Ф., Добряков Е.Ю. Особенности метаболизма организма при остром стрессе и его коррекция хаурантином и эссенциале // Новые медицинские технологии на Дальнем Востоке: материалы V Региональной науч.-практ. конф. Хабаровск, 2002. – Владивосток: Дальнаука, 2002. – С. 71.

### Рецензенты:

Пескова Т.Ю., д.б.н., доцент, профессор ГОУ ВПО «Кубанский государственный университет Министерства образования и науки РФ», г. Краснодар;

Каде А.Х., д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей и клинической патофизиологии ГОУ ВПО «Кубанский государственный Медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Краснодар.