

УДК 577.115:612.17

М. В. АРТАМОНОВ

МОДИФІКАЦІЯ ФОСФОЛІПІДНОГО СКЛАДУ ТКАНИНИ ІЗОЛЬОВАНОГО СЕРЦЯ ЩУРІВ N-СТЕАРОІЛЕТАНОЛАМІНОМ (NSE) ЗА ГОСТРОЇ МОДЕЛЬНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ

Изучен фосфолипидный состав ткани миокарда и влияние на него N-стеароилэтанолamina (NSE) при острой ишемии изолированного сердца крыс. Показано, что в условиях ишемизации миокарда происходит увеличение количества общих фосфолипидов и фосфатидилинозитола (PI), а также снижается количество дифосфатидилглицерола (DPG). Добавление NSE к перфузионному раствору имеет достоверную тенденцию к нормализации уровня общих фосфолипидов и DPG в ткани сердца, что можно расценивать как протекторное действие этого липида в условиях ишемии.

К л ю ч е в ы е с л о в а: ишемия, фосфолипиды, дифосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол, N-стеароилэтанолaмин.

Проведення хірургічних операцій на відкритому серці часто викликає необхідність вилучення цього органу із системи кровообігу. Ішемія, що при цьому розвивається, є важливим фактором, який негативно впливає на кардіоміоцити, оскільки за цих умов відбуваються глибокі морфологічні, функціональні та біохімічні пошкодження серцевої тканини. В дослідіах *in vivo* показано, що в умовах недостатнього забезпечення м'язових тканин серця киснем та поживними речовинами спостерігаються значні порушення: зростає кількість іонів Ca^{2+} у цитозолі, активуються процеси вільнорадикального окислення, зменшується утворення АТР [1]. Останнє пов'язано з роз'єднанням окислювального фосфорилування, набуханням мітохондрій, реорганізацією мітохондріальних крист [2]. За таких умов кількість загальних фосфоліпідів у тканині серця зменшується внаслідок активації їх розщеплення фосфоліпазами, відповідно зростає кількість лізофосфоліпідів та арахідонової кислоти. Лізофосфатидилхолін (LPC) є фактором, що викликає появу аритмій в ішемізованому серці [3].

Нещодавно було визначено накопичення малополярних ліпідів з незвичайною структурою — N-ацилфосфатидилетаноламіну (NAPE) та N-ацилетаноламіну (NAE) в інфарктній зоні міокарда собаки після лігування коронарної артерії. Кількість NAPE може зростати до 5% від загального фосфору фосфоліпідів, у той самий час рівень вільних NAE підвищується до 0,5 мкмоль/г маси тканини [4]. Рядом дослідників [5,6] сформульовано гіпотезу про мембранопротекторну роль NAE, яка реалізується в умовах дії на клітину ушкоджуючих факторів.

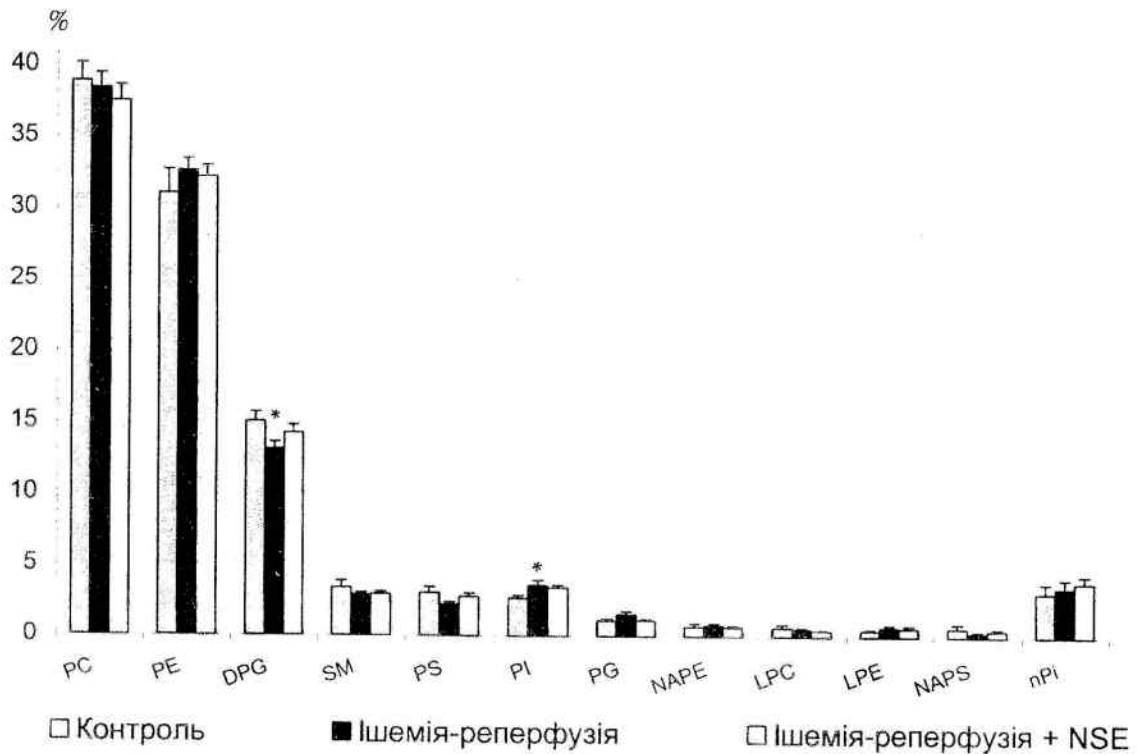
Метою роботи було вивчити зміни складу

фосфоліпідів тканини міокарда та вплив на них NSE за умов ішемії та ішемії-реперфузії.

Матеріали та методи

Для проведення досліджень було використано серця 26 дев'ятимісячних щурів-самців лінії Вістар. Досліди проводили у трьох підгрупах: "контроль" (підгрупа, в якій серця після підключення до апарату штучного кровообігу піддавали перфузії протягом 1 год), "ішемія-реперфузія" (підгрупа, в якій на 30-й хв після підключення сердець до перфузії, припиняли на 10 хв постачання кисню та перфузату з наступною 20-хвилинною реперфузією) та "ішемія-реперфузія + NSE" (підгрупа, в якій на 30-й хв перфузії сердець припиняли на 10 хв постачання кисню та перфузату з наступною 20-хвилинною реперфузією і з додаванням у перфузат NSE 18:0 у кінцевій концентрації 1 мкмоль/л). Етанольний розчин NSE вводили з концентрацією етанолу в перфузаті 0,01%. Коронарну перфузію здійснювали за Лагендорфом [7]. Перфузат аерували карбогеном ($O_2 : CO_2 = 95 : 5$). Температура розчину становила $37^\circ C$, рН 7,4. Ізольоване серце скорочувалося у спонтанному ритмі за ізоволюмічного режиму. Упродовж 30 хв ізольоване серце адаптували до перфузійних умов. Через півгодини перфузії в групах "ішемія-реперфузія" та "ішемія-реперфузія + NSE" доступ перфузійного розчину до серця повністю перекривали, моделюючи гостру ішемію. Живлення відновлювали через 10 хв і протягом наступних 20 хв проводили реперфузію. Після закінчення досліду серце вміщували (не пізніше ніж через 10-20 с) в скрапленний азот до початку проведення біохімічних досліджень.

Ліпідний екстракт готували згідно з мето-



Фосфоліпідний склад серця щурів за умов постішемичної реперфузії:

PC — фосфатидилхолін; PE — фосфатидилетаноламін; DPG — дифосфатидилглицерол; SM — сфінгомієлін; PS — фосфатидилсерин; PI — фосфатидилінозитол; PG — фосфатидилглицерол; NAPE — N-ацилфосфатидилетаноламін; LPC — лізофосфатидилхолін; LPE — лізофосфатидилетаноламін; NAPS — N-ацилфосфатидилсерин; nPi — неідентифіковані фосфоліпіди.

Примітка: * вірогідні зміни в порівнянні з групою "контроль"; $p < 0,05$.

дом Блая та Даєра [8]. Фосфоліпідний склад серця аналізували методом високоефективної двовимірної тонкошарової хроматографії МТШХ на силікагелі КСК-2 (Росія) з використанням системи хлороформ : метанол : бензол : 28%-й аміак (65 : 30 : 10 : 6) у першому напрямку, та системи хлороформ : метанол : бензол : ацетон : льодова оцтова кислота : вода (70 : 30 : 10 : 4 : 5 : 1) — у другому [9].

Білок визначали за методом Лоурі [10].

Для статистичного аналізу використовували t-критерій Ст'юдента; вірогідними вважали дані при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Внаслідок ішемії-реперфузії відбуваються певні зміни у фосфоліпідному складі тканини міокарда. Так, якщо у контролі рівень загальних фосфоліпідів досягає $11,82 \pm 0,25$ мг/г тканини, то за ішемії-реперфузії він дорівнює $13,95 \pm 0,56$ ($p < 0,05$), таким чином відбувається зростання

загальної кількості фосфоліпідів на 15 %. А за ішемії-реперфузії при додаванні NSE кількість фосфоліпідів складає $12,6 \pm 0,52$ ($t=1,78$).

Як представлено на рисунку, відбуваються певні зміни у складі окремих фосфоліпідів. Зокрема, за цих умов зростає процентний вміст PI на 25 %. Крім того, достовірно і досить значно зменшується відносна кількість DPG (на 14 %). Введення у перфузат NSE в концентрації 1 мкмоль/л має достовірну тенденцію до нормалізації кількості загальних фосфоліпідів і DPG.

Враховуючи, що DPG майже повністю міститься у мітохондріях, забезпечуючи процеси транспорту електронів та беручи участь у спряженні процесів окисного фосфорилування, зміни в кількості цього фосфоліпідів здатні віддзеркалюватись у порушенні функції серця. NSE, запобігаючи змінам рівня DPG, проявляє таким чином певні кардіопротекторні властивості. Отримані нами дані про підвищення концентрації загальних фосфоліпідів та PI в умовах ішемічного пошкодження тканини міокарда узгоджується з

даними літератури [11].

Робота була частково підтримана грантом Міннауки України № 02.03 / 05560.

M. V. Artamonov

PHOSPHOLIPID COMPOSITION OF THE ISOLATED RAT HEART TISSUE UNDER ACUTE ISCHEMIA AND MODIFICATION OF IT BY THE N-STEAROILETHANOLAMINE (NSE)

S u m m a r y

The phospholipid composition of the myocardial tissue of the isolated rat heart under acute ischemia and effect of NSE on the level of phospholipid were studied. It was shown that the level of phospholipids and PI under ischemia increased by 15 % and 25 % respectively, but the level of DPG decreased by 14%. The addition of NSE into the perfusion medium prevents the alterations of phospholipids and DPG levels. This suggests that NSE has some cardioprotective properties.

К е у w o r d s: ischemia, phospholipids, diphosphatidilglycerol, N-stearoilethanolamine.

O.V. Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences

1. *Burton K.P., Buja L.M., Sen A. et al. // Am. J. Pathol. 1986. 124, № 2. P. 238–245.*
2. *Musters R.J., Probsti-Biegelmann E., van Veen T.A. et al. // Mol. Membr. Biol. 1996. 13, № 3. P. 159–164.*
3. *Corr P.B., Yamada K.A. // Herz. 1995. 20, № 3. P. 156–168.*
4. *Schmid H.H.O., Schmid P.C., Natarajan V. // Prog. Lipid Res. 1990. 29. P. 21–24.*
5. *Гула Н.М., Марзімич В.М., Горідько Т.М. і др. // Теоретична медицина. 1996. 2, № 4 С. 712–721.*
6. *Hansen H.S., Lauritzen L., Moesgaard B. et al. // Biochem. Pharmacol. 1998. 55. P. 719–725.*
7. *Fallen T.L., Elliot W.C., Gorlin R. // J. Appl. Physiol. 1967. 22, № 4. P. 836–839.*
8. *Bligh E.G., Dyer W.I. // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. 37. P. 911–917.*
9. *Vaskovsky V.E., Terechova T.A. // J. Chromatogr. 1979. 2. P. 671–672.*
10. *Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. et al. // J. Biol. Chem. 1951. 193, № 2. P. 265–275.*
11. *Torkunov P.A., Sapronov N.S. Novoselova N.Lu. et al // Patol. Fiziol. Eksp. Ter. 1997. 2. P.21–23.*

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України