

8.Владимиров Ю.А. , Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука. – 1972. – 230 с.

9.Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М. Королюк., Д. Иванова, И. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.

10. Путилина Е. Ф. Определение активности глутатион-редуктазы / Е. Путилина // Методы биохимических исследований. – М.: Ин. Лит. – 1982. – С.181-183.

11. А.С.922637 СССР. МКИ 01 33/48. Способ определения активности глутатион-пероксидазы в биологических тканях / В. Пахомова, Н. Козлянина, Г. Крюкова. – Оpubл. 25.04.82, Бюл. №15. – 2 с.

12. Вережкина И.В. Колориметрический метод определения SH-групп и SS-связей в белках при помощи 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной

кислоты)ДТНБК / И. В. Вережкина, Л. Г. Точилкина, И. А. Попова // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина. – 1977.- С. 223-231.

13. Никитин В. Н. Возрастная и эволюционная биохимия коллагеновых структур / В. Н. Никитин, Е. Э. Перский, Л. А. Утевская – К. Научная думка, 1977. – 279 с.

14. Гублер Е. В. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях / Е. В. Гублер, А. А. Генкин – М. : Медицина, 1969. – 31с.

15. Соколовский В. В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие (обзор) / В. В. Соколовский // Вопросы мед. химии. – 1988. – Т. XXXIV. - №6. – С. 2-11.

УДК 616.127:615. 322:612.273.2

Мамадалиева Нодира Исаковна,

доктор философии PhD

Ташкентский государственный
педагогический университет

Саатов Тальят Саатович,

академик АН РУз

Институт Биофизики и биохимии

Обидова Дильдора Дилишбековна

Студентка 1-года магистратуры

по специальности

«Терапия»

Ташкентский педиатрический

медицинский институт

МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛИПИДОВ В МИОКАРДЕ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ.

MECHANISMS OF VIOLATION OF LIPID METABOLISM IN MYOCARDIUM UNDER CONDITIONS OF HYPOXIA.

Summary. In this article, hypoxia is given as the most universal pathological condition. It arises and determines the severity of the most diverse human diseases: any form of respiratory and cardiovascular failure, blood loss, myocardial ischemia.

Аннотация. В данной статье приводятся что гипоксия – представляет собой наиболее универсальное патологическое состояние. Она возникает и определяет тяжесть течения самых разнообразных заболеваний человека: любые формы дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности, кровопотери, ишемия миокарда.

Key words: *hypoxia, phospholipases, phospholipids, acidosis, oxidative stress, lipid peroxidation (LPO), liposomes.*

Ключевые слова: гипоксия, фосфолипаз, фосфолипидов, ацидоза, окислительного стресса, перекисного окисления липидов (ПОЛ), липосом.

Введение. Гипоксия кислородное голодание, является неотъемлемой частью жизни человеческой популяции во всем мире. Большинство известных болезней и экстремальных состояний прямо или косвенно связаны с дефицитом кислорода. Патогенетическая универсальность кислородной недостаточности включает вопросы гипоксических нарушений в сфере интересов широкого круга специалистов

экспериментальной и клинической медицины: пульмонологов, неврологов, реаниматологов, трансплантологов, кардиологов и другие. Независимо от этиологии гипоксических состояний сердца в их развитии и исходе решающая роль принадлежит степени насыщения тканей кислородом и его участию в метаболических процессах. [1; с. 363–364, 2; с.187-206]

Исследованиями, проведенными в научных центрах мира установлено, что гипоксия является состоянием ассоциированным с существенными изменениями в сердечно-сосудистой системе, более того она служит основой патологических процессов при данных состояниях. Сердечно - сосудистые заболевания остаются ведущей причиной смертности во всем мире, они ответственны ежегодно за 17,3 млн. летальных исходов [3; с.2118-2194] – 31,5% всех смертельных случаев населения планеты. В Европе от сердечно - сосудистых заболеваний ежегодно умирают более 4 млн. человек, из них 1,4 млн. в возрасте до 75 лет, – это 45% всех смертей (40% среди мужчин и 49% среди женщин) [4; с.1-6.].

За последние годы в мировой литературе появилось немало обзоров, в которых детально анализируются нарушения нормальной деятельности органов человека и животных, подвергавшихся действию гипоксии. Установлено, что в условиях недостатка кислорода первым страдает энергетический обмен клеток. Его нарушения приводят к развитию ацидоза, окислительного стресса, активацию эндогенных фосфолипаз и распаду мембранных фосфолипидов, увеличению текучести мембран и их проницаемости, вследствие чего клетка теряет ионы K^+ и перегружается ионами Ca^{2+} , Na^+ [5; с. 7-9, 6; с. 79-81, 7; с. 343].

Несмотря на то, что к настоящему времени накоплен достаточно большой массив данных по эффектам и механизмам гипоксических воздействий на сердечно-сосудистую систему, концептуальное осмысление этих сведений, зачастую противоречивых, затруднено в связи с тем, что эти данные получены в разнообразных моделях гипоксии. И поэтому, полученные в этих работах данные не всегда согласуются. Требуется последовательное и комплексное изучение эффектов и механизмов гипоксии на одной модели и на всех уровнях, включая молекулярные. Особый интерес в данных исследованиях представляет состояние липидного обмена, показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы, играющих важную роль в патогенезе гипоксических состояний. В качестве удобной экспериментальной моделью для подобного рода исследований служит гипобарическая (высотная) гипоксия, создаваемая в барокамере, поскольку она является физиологически адекватным воздействием (встречается в естественных условиях при подъеме на высоту), легко контролируется и дозируется, что создает возможности для ее применения в различных режимах [8; с. 256-74-107, 9; с.145-147].

Цель работы. Целью исследования является определениколичественных и качественных изменений состава фосфо-гликолипидов, состояния системы ПОЛ и АОС сердечной ткани в условиях окислительного стресса, индуцированного гипобарической гипоксией, для установления закономерностей биологического

ответа и разработки нового метода фармакокоррекции на основе нанотехнологии.

Материалы и методы. Объектом исследования являются структурные липиды и система ПОЛ и АОС клеток сердца половозрелых крыс самцов подвергнутых суб - и декомпенсированной гипобарической гипоксии.

Для выполнения поставленных задач были налажены следующие методы: метод моделирования гипобарической гипоксии при помощи барокамеры (создаваемое в барокамере разрежение воздуха соответствовало «подъему на высоту» 4000 м и 7000м над уровнем моря), метод хроматографического разделения фракций фосфолипидов и цереброзидов; метод количественного определения фосфолипидов; количественное определение цереброзидов; количественное определение ганглиозидов. Количественное определение холестерина. Определение концентрации ТБК-АП; определение активности каталазы; определение активности СОД; методы препаративного выделения липидов и их очистку от нелипидных примесей; методы конструирования липосом.

Результаты и обсуждение. Непрерывное снабжение организма кислородом является абсолютным условием существования человека и животных. Нарушение кислородного режима органов и тканей в первую очередь вызывает метаболические изменения в них. В организме человека более 90 % всего потребляемого кислорода восстанавливается с участием цитохромоксидазы митохондрий, и лишь 10 % кислорода метаболизируется в тканях с участием оксигеназ. Дыхательная цепь как единая функционально-метаболическая система исполняет роль регулятора и модификатора потребления кислорода и скорости его поступления из внеклеточной среды к митохондриям. При гипоксии страдают энергозависимые реакции, такие как формирование мембранного потенциала, транспорт ионов, электрогенная функция клеток, мышечное сокращение, функция рецепторов и другие [10; с. 897-904, 11; с. 259].

Содержание животных и проведение экспериментов проводили в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Работа выполнена на взрослых беспородных самцах крыс весом 220-240 г., содержащихся в стандартных условиях (температура окружающей среды 22-25С⁰, чередование суточной освещенности, свободный доступ к воде и пище).

Для проведения эксперимента было использовано 600 крыс: по 12 животных в каждой экспериментальной группе на каждом временном сроке; в контрольных группах было также по 12 крыс. Контрольная группа животных – животные, помещенные в барокамеру на соответствующее время без изменения атмосферного давления.

В экспериментах посвященных фармакокоррекции гипоксии α -липолевой

кислотой животным внутримышечно вводили препарат «Берлитион-300 ЕД» в дозе 10 мг/кг один раз в сутки. Контрольной группе животных данного эксперимента внутримышечно вводили физиологический раствор. В экспериментах посвященных фармакокоррекции гипоксии липосомами животным интернозально вводили липосомы в дозе 2мл/кг один раз в сутки. Контрольной группе животных данного

эксперимента интернозально вводили физиологический раствор.

Животных декапитировали через 10, 20 и 30 экспозиций гипоксии, через 24 ч после последнего сеанса. Далее при температуре +4 °С быстро извлекали сердце, быстро промывали охлажденным физиологическим раствором и подвергали гомогенизации в жидком азоте.

Дизайн эксперимента

Количество экспозиций гипоксии	10 дней	20 дней	30 дней
Длительность экспозиции (час)			
Контрольная группа			
Липиды	К-1, n=12		
ПОЛ и АОС	К-2, n=12		
Контрольная группа фармакокоррекции берлитионом			
4-х часовая гипоксия	КБ4-1, n=12	КБ4-2, n=12	КБ4-3, n=12
8- часовая гипоксия	КБ8-1, n=12	КБ8-2, n=12	КБ8-3, n=12
Контрольная группа фармакокоррекции липосомами			
4-х часовая гипоксия	КЛ4-1, n=12	КЛ4-2, n=12	КЛ4-3, n=12
8- часовая гипоксия	КЛ8-1, n=12	КЛ8-2, n=12	КЛ8-3, n=12
Субкомпенсированная гипоксия			
4-х часовая гипоксия	ОПС4-1, n=12	ОПС4-2, n=12	ОПС4-3, n=12
8- часовая гипоксия	ОПС8-1, n=12	ОПС8-2, n=12	ОПС8-3, n=12
Фармакокоррекция субкомпенсированной гипоксии берлитионом			
4-х часовая гипоксия	БС4-1, n=12	БС4-2, n=12	БС4-3, n=12
8- часовая гипоксия	БС 8-1, n=12	БС8-2, n=12	БС8-3, n=12
Фармакокоррекция субкомпенсированной гипоксии липосомами			
4-х часовая гипоксия	ЛС4-1, n=12	ЛС4-2, n=12	ЛС4-3, n=12
8- часовая гипоксия	ЛС8-1, n=12	ЛС8-2, n=12	ЛС8-3, n=12
Декомпенсированная гипоксия			
4-х часовая гипоксия	ОПД4-1, n=12	ОПД4-2, n=12	ОПД4-3, n=12
8- часовая гипоксия	ОПД8-1, n=12	ОПД8-2, n=12	ОПД8-3, n=12
Фармакокоррекция декомпенсированной гипоксии берлитионом			
4-х часовая гипоксия	БД4-1, n=12	БД4-2, n=12	БД4-3, n=12
8- часовая гипоксия	БД8-1, n=12	БД8-2, n=12	БД8-3, n=12
Фармакокоррекция декомпенсированной гипоксии липосомами			
4-х часовая гипоксия	ЛД4-1, n=12	ЛД4-2, n=12	ЛД4-3, n=12
8- часовая гипоксия	ЛД8-1, n=12	ЛД8-2, n=12	ЛД8-3, n=12

Гипобарическая гипоксия – гипоксическое воздействие, вызываемое общим падением давления в окружающей атмосфере. Встречается в естественных условиях при подъеме в горы. Создаваемая в барокамере гипобарическая гипоксия может рассматриваться как имитация подъема на соответствующую высоту. В работе мы использовали гипобарическую гипоксию в двух режимах – субкомпенсированную и декомпенсированную.

Для создания условий субкомпенсированной гипоксии животных помещали в барокамеру проточного типа при давлении 462 мм.рт.ст. (61,6 кПа), что соответствует подъему на высоту 4000 м, на 4 и 8 часов [Атмосфера стандартная Параметры

ГОСТ 4401— 81 ИПК Издательство стандартов, 2004]. Подъем на соответствующую высоту производили, начиная с 760 мм.рт.ст. Скорость компрессии и декомпрессии составила – 0,5 кПа/мин. Данный способ подъема помогал избежать резкого перепада давления и давал возможность крысам адаптироваться. Одновременно осуществляли продув камеры воздухом для предотвращения развития гиперкапнии. Количество экспозиций составили 10, 20, 30 в зависимости от группы.

С целью создания декомпенсированного воздействия гипобарической гипоксии животных помещали в барокамеру проточного типа при давлении в барокамере 308мм рт.ст. (41,1 кПа), 8%

O₂, что соответствует подъему на высоту 7000м, продолжительность воздействия составляла 4, 8 ч, ежедневно. Количество экспозиций составили 10, 20, 30 в зависимости от группы.

О количестве общих фосфолипидов и их отдельных фракций судили по содержанию в них фосфора, который определяли после минерализации образцов общих липидов и их фракций, с последующим колориметрическим измерением количества образовавшегося неорганического фосфора по реакции реагентом Васьковского. В нашей работе мы применили метод, предложенный Васьковским В.Е[12;с.27-30].

На первом этапе наших исследований было проведено сравнительное изучение качественного и количественного состава фосфолипидов сердечной ткани крыс в норме и при гипобарической гипоксии. Фракционирование фосфолипидов с помощью тонкослойной хроматографии, позволило получить разделение фосфолипидов на 8 фракций (рис. 3.1.1).

Изучение фосфолипидного состава сердечной ткани при экспериментальной гипобарической периодической гипоксии выявило разнонаправленные сдвиги, как в суммарном содержании, так и во фракционном составе фосфолипидов в зависимости от интенсивности, длительности и периодичности гипоксии. 4-х часовая субкомпенсированная гипобарическая гипоксия при атмосферном давлении 61,66 кПа сопровождалась незначительным уменьшением (в статистически недостоверных пределах) содержания суммарных ФЛ на 10 сутки эксперимента и сохранялись в пределах нормы в остальные сроки (таблица 3,1).

Изучение фракционного состава фосфолипидов сердечной ткани в этой серии экспериментов выявило достоверное уменьшение доли фосфатидилхолина (ФХ) на 13,6 % в первой, 14,4% во второй и статистически недостоверное уменьшение на 5,2% в третьей группах. Также наблюдалось динамика уменьшения фракции кардиолипина, составившее 24,9% в первой, 29,5% во второй и 32,3% в третьей группах. Наблюдалось увеличение фракций лизофосфатидилхолина (ЛФХ), фосфатидилсерина (ФС) и фосфатидной кислоты (ФК). Так молярное содержание лизофосфатидилхолина возрастало на 2,76 раз на 10 сутки, на 2,8 раза на 20 сутки и 3,1 раза на 30 сутки эксперимента.

Как известно, липосомы - искусственно создаваемые липидные нановезикулы, состоящие из одного или нескольких фосфолипидных бислоев, разделенных водной фазой, и они могут быть использованы в качестве носителей и переносчиков физиологически активных веществ, в том числе лекарственных препаратов в различные органы и ткани. Иммобилизация на поверхности липосом определенных векторов (белки, гормоны, антитела, гликолипиды) позволяет осуществлять адресную доставку лекарственных препаратов в орган-мишень. Исходя из вышесказанного, нами была разработана оптимальное соотношение липидов входящих в состав липосом применяемых для направленного транспорта лекарственных средств в сердце (таблица 1).

Предложенный нами в качестве кардиопротектора липосомный препарат имеет следующий состав:

Таблица 4.2.1.

№	Наименование компонента	«Жидкокристаллические» липосомы + цереброзиды и ганглиозиды (%)
1	Фосфолипиды из сердца крупного рогатого скота	7
2	Холестерин из сердца крупного рогатого скота	2
3	Ганглиозиды из сердца крупного рогатого скота	0,5
4	Цереброзиды из сердца крупного рогатого скота	0,01
5	Вода	90,49

Фосфолипиды и холестерин, выделенных из сердца крупного рогатого скота, являющегося богатым источником данных соединений, используется для формирования основы липидной

везикулы. Известно, что при взаимодействии липосом с клеткой наблюдается обмен фосфолипидами между мембраной клеток и мембраной липосом.

Таблица 4.2.2.

Фракционный состав фосфолипидов входящих в состав липосом применяемых для направленного транспорта лекарственных средств.

Фракции фосфолипидов	%
Сфингомиелин	5,3
Фосфатидилхолин	41,4
Фосфатидилсерин	3,4
Фосфатидилинозит	5,3
Фосфатидилэтаноламин	30,6
Кардиолипин	14,0

При этом происходит модификация фосфолипидного состава мембран клеток с последующим изменением её функциональных свойств (Ишанходжаев Т.М. и др., 1993). Фосфолипиды, входящие в состав липосом, должны обеспечивать реконструкцию липидного состава мембран клеток сердечной ткани, что в свою очередь, оказывая влияние на внутриклеточные биохимические реакции и регулирующие процессы. Холестерин, включенный в состав липосомного препарата, обеспечивает стабильность и устойчивость мембран липосом (Любешкин А.В., 1994).

Сама процедура получения липосом состояла из следующих этапов:

1. Образование липосом из смеси фосфолипидов и холестерина;

2. Первичная ультразвуковая обработка липосом при чистоте 22 кГц в течении 30 секунд.

3. Смешивание липосом, полученных на первом этапе с гликолипидами.

4. Вторичная ультразвуковая обработка липосом при чистоте 22 кГц в течении 30 секунд.

Следует отметить, что по своим физико-химическим свойствам липосомы относились к жидкокристаллическим, то есть соотношение фосфолипидов к холестерину составляло 7:2, кроме того липосомы были покрыты цереброзидами и ганглиозидами из сердечной ткани крупного рогатого скота.

Таблица 4.3.1.

Изменение содержания фосфолипидов в тканях сердца при фармако-коррекции 4-х часовой субкомпенсированной гипобарической гипоксии берлитином. (атмосферное давление 61,66 кПа, «высота» 4000 м над уровнем моря, ммоль липидного фосфора /кг ткани, n=12)

	Контрольные группы (К)	Группы с гипоксией			Группы с фармакокоррекцией			
	Абс. значения	Абс. значения	% отн. К	Т	Абс. значения	% отн. К	Т	Т ₁
10 экспозиций 4-х часовой гипоксии								
	КБ4-1, n=12	ОП4-1, n=12			БС4-1, n=12			
ЛФХ	0,46 ± 0,02	1,27 ± 0,06	275,3	-13,4	0,94 ± 0,04	204,2	-10,13	4,68
СФМ	1,86 ± 0,09	2,02 ± 0,09	108,7	-1,29	1,94 ± 0,08	104,0	-0,61	0,71
ФХ	14,52 ± 0,64	12,58 ± 0,37	86,6	2,63	12,76 ± 0,57	87,9	2,05	-0,26
ФС	1,21 ± 0,05	1,34 ± 0,06	110,4	-1,62	1,35 ± 0,06	111,6	-1,80	-0,16
ФИ	1,90 ± 0,09	1,81 ± 0,08	95,4	0,73	1,76 ± 0,08	92,4	1,21	0,51
ФЭА	10,74 ± 0,48	10,66 ± 0,48	99,3	0,12	10,82 ± 0,49	100,8	-0,12	-0,24
ДФГ	4,90 ± 0,23	3,70 ± 0,18	75,6	4,06	4,21 ± 0,13	85,9	2,59	-2,22
ФК	0,41 ± 0,01	0,57 ± 0,03	138,8	-5,84	0,74 ± 0,03	179,5	-9,76	-4,08
Сумма	36,00 ± 1,61	33,95 ± 1,34	94,3	0,98	34,51 ± 1,49	95,8	0,68	-0,28
20 экспозиций 4-х часовой гипоксии								
	КБ4-2, n=12	ОП4-2, n=12			БС4-2, n=12			
ЛФХ	0,48 ± 0,02	1,28 ± 0,08	267,4	-9,7	1,13 ± 0,07	236,3	-9,46	1,44
СФМ	1,91 ± 0,08	1,91 ± 0,25	99,8	0,01	1,99 ± 0,09	104,4	-0,70	-0,33
ФХ	14,52 ± 0,65	12,50 ± 0,25	86,1	2,90	13,29 ± 0,60	91,5	1,39	-1,22
ФС	1,19 ± 0,06	1,74 ± 0,25	146,4	-2,15	1,28 ± 0,06	107,5	-1,08	1,80
ФИ	1,89 ± 0,09	2,09 ± 0,25	110,5	-0,74	2,13 ± 0,10	112,9	-1,85	-0,17
ФЭА	10,72 ± 0,50	11,28 ± 0,25	105,2	-1,00	11,02 ± 0,49	102,8	-0,42	0,47
ДФГ	4,91 ± 0,23	3,43 ± 0,25	69,9	4,36	4,08 ± 0,15	83,1	3,04	-2,25
ФК	0,41 ± 0,01	0,83 ± 0,25	203,3	-1,69	0,93 ± 0,04	226,2	-12,18	-0,37
Сумма	36,03 ± 1,64	35,06 ± 0,25	97,3	0,58	35,86 ± 1,59	99,5	0,08	-0,50
30 экспозиций 4-х часовой гипоксии								
	КБ4-3, n=12	ОП4-3, n=12			БС4-3, n=12			
ЛФХ	0,46 ± 0,02	1,42 ± 0,06	308,6	-14,3	1,44 ± 0,06	312,7	-14,34	-0,21
СФМ	1,88 ± 0,07	2,07 ± 0,09	110,0	-1,62	2,03 ± 0,11	108,1	-1,18	0,24
ФХ	14,57 ± 0,64	13,81 ± 0,62	94,8	0,86	14,02 ± 0,63	96,3	0,61	-0,24

ФС	1,20 ± 0,06	1,67 ± 0,07	139,1	-4,89	1,53 ± 0,09	127,6	-3,17	1,21
ФИ	1,86 ± 0,08	2,19 ± 0,10	118,0	-2,64	2,21 ± 0,10	118,6	-2,73	-0,09
ФЭА	10,75 ± 0,48	10,69 ± 0,48	99,5	0,09	10,17 ± 0,46	94,6	0,87	0,78
ДФГ	4,87 ± 0,23	3,34 ± 0,16	68,5	5,43	3,71 ± 0,16	76,1	4,16	-1,63
ФК	0,41 ± 0,01	0,84 ± 0,04	203,9	-11,02	0,88 ± 0,04	214,4	-11,87	-0,80
Сумма	36,00 ± 1,59	36,02 ± 1,63	100,1	-0,01	36,39 ± 1,65	101,1	-0,17	-0,16
Т – Значения коэффициента Стьюдента между значениями животных контрольной группы и группами с гипоксией, фармакокоррекцией соответственно. Т1 - значения Стьюдента между группами с гипоксией и с фармакокоррекцией. % - За 100% процентов принято содержание параметров относительно контрольной группы.								

Таблица 4.3.2.

Изменение содержания фосфолипидов в тканях сердца при фармакокоррекции 4-х часовой субкомпенсированной гипобарической гипоксией липосомами.
(атмосферное давление 61,66 кПа, «высота» 4000 м над уровнем моря, ммоль липидного фосфора /кг ткани, n=12)

	Контрольные группы (К)	Группы с гипоксией			Группы с фармакокоррекцией			
	Абс. значения	Абс. значения	% отн. К	Т	Абс. значения	% отн. К	Т	Т ₁
10 экспозиций 4-х часовой гипоксии								
	КЛ4-1, n=12	ОПС4-1, n=12			ЛС4-1, n=12			
ЛФХ	0,49 ± 0,02	1,27 ± 0,06	258,5	-12,9	0,67 ± 0,02	135,9	-5,87	10,07
СФМ	1,90 ± 0,08	2,02 ± 0,09	106,6	-1,03	1,96 ± 0,08	103,1	-0,54	0,55
ФХ	± 0,66 14,48	12,58 ± 0,37	86,9	2,51	14,79 ± 0,70	102,2	-0,33	-2,80
ФС	1,18 ± 0,06	1,34 ± 0,06	113,2	-1,85	1,23 ± 0,05	104,5	-0,70	1,35
ФИ	1,86 ± 0,09	1,81 ± 0,08	97,4	0,39	1,78 ± 0,08	95,8	0,65	0,26
ФЭА	± 0,52 10,65	10,66 ± 0,48	100,1	-0,01	10,91 ± 0,56	102,5	-0,34	-0,34
ДФГ	± 0,22 4,92	3,70 ± 0,18	75,3	4,24	4,47 ± 0,10	90,8	1,86	-3,62
ФК	0,43 ± 0,01	0,57 ± 0,03	132,3	-5,10	0,57 ± 0,03	131,6	-4,75	0,08
Сумма	± 1,66 35,91	± 1,34 33,95	94,6	0,92	± 1,61 36,38	101,3	-0,20	-1,16
20 экспозиций 4-х часовой гипоксии								
	КЛ4-2, n=12	ОПС4-2, n=12			ЛС4-2, n=12			
ЛФХ	0,47 ± 0,02	1,28 ± 0,08	273,1	-9,8	0,94 ± 0,13	199,3	-3,59	2,29
СФМ	± 0,08 1,89	1,91 ± 0,25	100,9	-0,06	1,93 ± 0,10	102,2	-0,33	-0,09
ФХ	± 0,66 14,54	12,50 ± 0,25	86,0	2,89	13,97 ± 0,59	96,1	0,65	-2,30
ФС	1,18 ± 0,06	1,74 ± 0,25	147,6	-2,19	1,29 ± 0,05	109,4	-1,37	1,76

ФИ	$\pm 0,08$ 1,87	2,09 $\pm 0,25$	111,7	-0,83	2,09 $\pm 0,08$	111,9	-1,95	- 0,0 2
ФЭА	$\pm 0,49$ 10,74	11,28 $\pm 0,25$	105,0	-0,98	11,42 $\pm 0,47$	106,3	-1,00	- 0,2 6
ДФГ	$\pm 0,22$ 4,86	3,43 $\pm 0,25$	70,6	4,29	4,24 $\pm 0,13$	87,2	2,45	- 2,8 8
ФК	$\pm 0,01$ 0,42	0,83 $\pm 0,25$	198,5	-1,65	0,73 $\pm 0,05$	172,8	-6,15	0,4 2
Сумма	1,62 35,97	$\pm 0,25$ 35,06	97,5	0,55	$\pm 1,59$ 36,60	101,7	-0,28	- 0,9 5
30 экспозиций 4-х часовой гипоксии								
	КЛ4-3, n=12	ОП4-3, n=12			ЛС4-3, n=12			
ЛФХ	$\pm 0,02$ 0,46	$\pm 0,06$ 1,42	309,8	-14,3	$\pm 0,05$ 1,07	234,4	11,83	4,3 7
СФМ	$\pm 0,09$ 1,86	$\pm 0,09$ 2,07	111,1	-1,62	$\pm 0,09$ 1,95	104,6	-0,69	0,9 4
ФХ	$\pm 0,67$ 14,57	$\pm 0,62$ 13,81	94,8	0,83	$\pm 0,64$ 13,91	95,5	0,71	- 0,1 1
ФС	$\pm 0,06$ 1,19	$\pm 0,07$ 1,67	139,7	-5,07	$\pm 0,06$ 1,43	119,8	-2,81	2,4 4
ФИ	$\pm 0,09$ 1,88	$\pm 0,10$ 2,19	116,6	-2,35	$\pm 0,09$ 2,06	109,5	-1,41	1,0 0
ФЭА	$\pm 0,51$ 10,75	$\pm 0,48$ 10,69	99,5	0,08	$\pm 0,46$ 10,48	97,6	0,38	0,3 1
ДФГ	$\pm 0,24$ 4,93	$\pm 0,16$ 3,34	67,7	5,56	$\pm 0,16$ 4,28	86,7	2,30	- 4,1 2
ФК	$\pm 0,01$ 0,40	$\pm 0,04$ 0,84	209,7	11,31	$\pm 0,04$ 0,81	203,4	-9,22	0,4 4
Сумма	$\pm 1,68$ 36,04	$\pm 1,63$ 36,02	100,0	0,01	$\pm 1,60$ 36,00	99,9	0,02	0,0 1
Т – Значения коэффицента Стьюдента между значениями животных контрольной группы и группами с гипоксией, фармакокоррекцией соответственно. Т1 - значения Стьюдента между группами с гипоксией и с фармакокоррекцией. % - За 100% процентов принято содержание параметров относительно контрольной группы.								

Содержание фосфатидилхолина при фармакокоррекции берлитином хотя и не достоверно, но ниже уровня контрольных показателей независимо от длительности гипоксии, однако восстанавливалось до контрольных величин при введении липосом. Из представленных данных видно, что содержание лизофосфатидилхолина значительно выше контрольных во всех опытных группах. Однако при коррекции гипоксии с использованием липосомального препарата прослеживается эффект в сторону снижения содержания лизофосфатидилхолина. Кроме того, молярная доля лизофосфатидилхолина была примерно на одинаковом уровне после 20(группа ЛС4-2) и 30 сеансов (группа ЛС4-3) гипоксии на фоне введения липосом.

Содержание фосфатидной кислоты при коррекции гипоксии не имело тенденцию к снижению относительно опытной группы с гипоксией, однако оставалось значительно выше

контрольного уровня во все сроки исследования независимо от способа коррекции.

Заслуживают особого внимания результаты, полученные при исследовании изменения содержания другой крупной фракции фосфолипидов – дифосфатидилглицерола. Здесь прослеживалось увеличение содержания данного фосфолипида вне зависимости от коррекции и длительности сроков гипоксии. Введение берлитиона и липосомального препарата не влияло на количественное содержание сфингомиелина, и оказывало схожий эффект на содержание фосфатидилсерина и фосфатидилинозита.

Схожие результаты были получены в экспериментах с фармакокоррекцией содержания фосфолипидов при 8-часовой субкомпенсированной гипобарической гипоксии. Здесь также наблюдалась восстановление содержания ДФГ и суммарного количества фосфолипидов независимо от типа

фармакокоррекции, на фоне восстановления фракции ФХ при введении липосом.

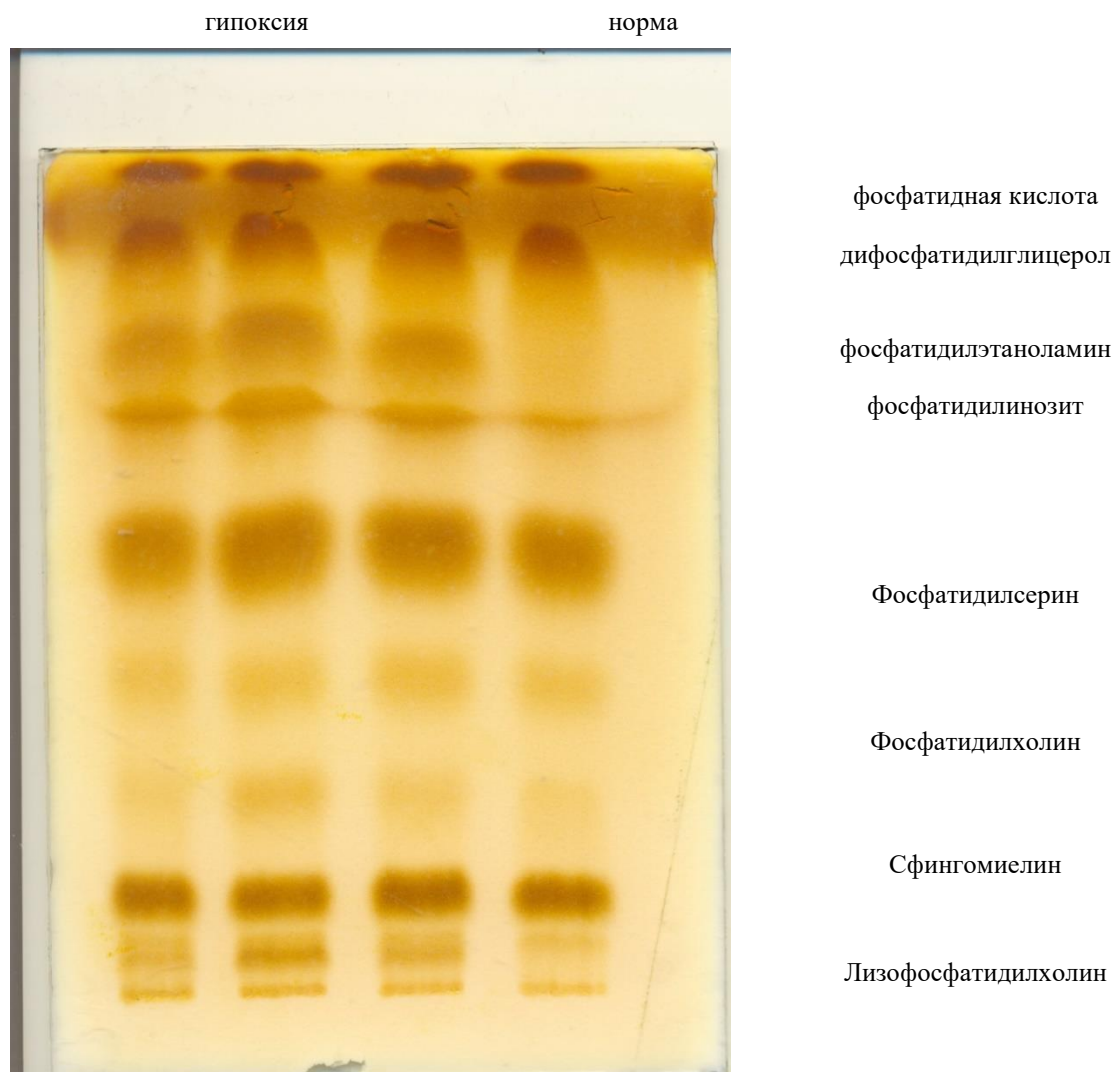


Рис. 3.3.1. Тонкослойная хроматография фосфолипидов сердца

Значительно возростала и доля фосфатидной кислоты, которая увеличивалась в первой группе 42%, во второй на 109,1% и в третьей на 109,7%, соответственно ($p < 0,05$). Абсолютное содержание фосфатидилсерина достоверно отличалось от нормы лишь на 20 (увеличение на 145,8% относительно нормы) и 30 (увеличение на 139,7% относительно нормы) сутки эксперимента. Содержание остальных фракции фосфолипидов либо оставалось в пределах нормы либо подвергалось незначительным изменениям.

В экспериментах проведенных при 4-х часовой декомпенсированной гипобарической гипоксии было установлено увеличение суммарного количества и большинства фракций фосфолипидов (таблица 3.1.2.). Как видно из таблицы суммарное количество фосфолипидов в сердце животных подвергнутых субкомпенсированной гипобарической гипоксии, имело выраженную тенденцию к увеличению, хотя эти изменения не всегда были статистически достоверными ($p > 0,05$). Так суммарное содержание фосфолипидов

достоверно отличалось от контроля только после 20 и 30 экспозиций гипоксии (36,07 мМ/кг сырой ткани в контрольной, против 42,15 мМ/кг при 20 экспозиций гипоксии и 42,91 мМ/кг на 30 сутки эксперимента, соответственно).

Из представленных на таблице 3.1.2. данных видно, что содержание лизофосфатидилхолина и фосфатидной кислоты значительно выше контрольных во всех опытных группах. Так молярное содержание лизофосфатидилхолина возростало в 3 раз на 10 сутки, на 4,6 раза на 20 сутки и 5,4 раза на 30 сутки эксперимента. Значительно возростала и доля фосфатидной кислоты, которая увеличивалась в первой группе на 3,2 раза, во второй 3,8 и в третьей на 4,3 раза ($p < 0,05$). Также наблюдался прирост абсолютных значений сфингомиелина (на 10-20%), фосфатидилсерина (на 19-29%) и фосфатидилинозитола (на 30-56%). В количественном содержании фракций фосфатидилхолина наблюдались незначительные изменения. Содержание дифосфатидилглицерола

уменьшалось в статистически достоверных пределах во все сроки эксперимента.

Заслуживают особого внимания увеличение содержания другой крупной фракции нейтральные фосфолипидов – фосфатидилэтаноламина. Прослеживалось увеличение содержания данного фосфолипида вне зависимости длительности сроков гипоксии. Как видно из таблицы, на 10 суток эксперимента содержание фосфатидилэтаноламина находилось в

пределах $13,6 \pm 0,61$ мМ, на 20 и 30 сутки $15,15 \pm 0,68$ и $14,46 \pm 0,59$ мМ соответственно.

При 8 часовой субкомпенсированной гипобарической гипоксии так же как и в предыдущих случаях, значительно возрастает содержание ЛФХ и ФК, на фоне достоверного снижения доли ДФГ (1,3 раза во все сроки исследований) и повышения суммарного количества фосфолипидов (Таблицы 3.1.3.). Как видно из таблицы 3.1.3, абсолютное содержание ЛФХ было повышено в 4,1; 4,2 и 4,3 раза по сравнению с контролем; ФЭА- увеличено в 1,1; 1,2 и 1,2 раза; ФК- в 2,2; 2,4 и 2,8 раза относительно нормы на 10, 20 и 30 сутки гипоксии соответственно. Уровень легкоокисляемых ФЛ возрастал только на 20 и 30-е сутки эксперимента: ФИ – на 11%; 16%; ФС - 21%; 45% соответственно. Выявлено недостоверное изменение содержания фосфатидилхолина в течение всего периода наблюдения и сфингомиелина в начальные сроки исследований.

В следующей серии экспериментов было установлено, что 8 часовая декомпенсированная гипобарическая гипоксия вызывает тотальное отклонение липидных показателей от контрольных значений, которые следует оценить как результат сублетального воздействия гипоксического повреждения мембран клеток – уменьшение количества структурных липидов, в следствие утилизации последних.

При данной модели гипоксии было выявлено критическое снижение как суммарного содержания, так и основных фракций фосфолипидов сочетанного с увеличением доли ЛФХ и ФК. Молярное содержание лизофосфатидилхолина возрастало в 3 раза на 10 сутки, в 4,4 раза на 20 сутки и 4,9 раза на 30 сутки эксперимента. Значительно увеличивалась и доля фосфатидной кислоты (3,8-4,6 раза ($p < 0,05$)). Как видно из таблицы 3.1.4, абсолютное содержание ФХ было понижено на 15; 26 и 29% по сравнению с контролем; ДФГ - на 42; 49 и 49,5%; ФИ- на 29; 31 и 34% на 10, 20 и 30 сутки эксперимента соответственно. Выявлено недостоверное снижение содержания фосфатидилэтаноламина в течение всего периода наблюдения, а СФМ и ФС в начальные сроки исследований.

Как показали наши результаты, гипоксия способствует значительному снижению количественного содержания дифосфатидилглицерола в тканях сердца,

предположительно этот факт указывает на усиление деградации митохондриальных структур клеток сердца при гипоксии. В некоторых работах было показано, что в условиях дефицита кислорода вслед за фазовым увеличением супероксида и H_2O_2 может нарастать уровень гидроксил радикала [13; с.2-4], одной из основных мишеней которого является митохондриальный кардиолипид, фосфолипид, содержащий четыре остатка линолевой кислоты [14; с.1864-1884]. Предположительно схожие процессы происходят и при гипоксическом поражении сердечной ткани.

Суммируя полученные результаты, нами сделан вывод о том, что гипобарическая гипоксия сопровождается качественными и количественными изменениями как суммарного, так и фракционного состава фосфолипидов клеток сердечной ткани и степень этих нарушений находится в прямой зависимости от интенсивности и длительности гипобарической гипоксии.

Выводы.

1. Впервые исследовано изменение фракционного состава фосфолипидов сердечной ткани в зависимости от интенсивности и продолжительности гипобарической гипоксии. Выявлено значительное изменение количественного состава фосфолипидов, как в условиях субкомпенсированной, так и декомпенсированной гипоксии. Установлено, что субкомпенсированная гипоксия 4-х часовой продолжительности характеризуются нарастанием количества лизоформы ФХ, ФС и ФК на фоне уменьшения фракций ФХ и ДФГ при неизменном количестве суммарных ФЛ, достоверно не отличающихся от контроля во все сроки наблюдения.

2. Схожая ситуация наблюдалась и при субкомпенсированной гипоксии 8-часовой продолжительности. При декомпенсированной гипобарической гипоксии 4-х часовой продолжительности наблюдалось достоверное снижение содержания ФХ, ДФГ и возрастания уровня ЛФХ, ФС, ФИ, ФК, ФЭА на фоне увеличения суммарного количества фосфолипидов.

3. Однако при 8-часовой декомпенсированной гипобарической гипоксии было установлено увеличение содержания ЛФХ и ФК при существенном снижении содержания остальных фракций и суммарного содержания фосфолипидов.

4. Фармакокоррекции при гипобарической гипоксии липосомальным препаратом содержащим, обеспечивает нормализацию как суммарного содержания, так и отдельных фракционного состава фосфолипидов сердечной ткани.

Список использованной литературы.

1. Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П. Основы патохимии. ЭЛБИ - СПб, 2000. - С. 687- 363–364.
2. Wattanapitayakul S.K., Bauer J.A. Oxidative pathways in cardiovascular disease: roles, mechanisms,

and therapeutic implications. Pharmacology & therapeutics, vol. 89 (2), 2001.p.187-206.

3. Giaccia A. J., Simon M. C. and Johnson R. The biology of hypoxia: the role of oxygen sensing in development, normal function, and disease. Genes & Development. 2004 18: p.2183- 2194.

4. Bruder E. D., Raff H. Cardiac and plasma lipid profiles in response to acute hypoxia in neonatal and young adult rats. Lipids in Health and Disease. 9(1):3. January 2010. - p.1 – 6.

5. Мекенбаева Р.Т., Фаттахов А. Р. Изменения в миокарде при гипоксии умерших новорожденных. Медицинский журнал Узбекистана. 2012. № 5. -С. 7-9.

6. Шамиров А.К., Курбанов С.Д., Азимова Э.И. Морфологическая характеристика плацент женщин, страдающих хроническим пиелонефритом // Педиатрия спец выпуск 1999. - С. 79-81.

7. Чарный А.М. Патофизиология гипоксических состояний. – М.: Медгиз, 1961. - С. – 343.

8. Меерсон Ф.З., Пшеничкова М.Г. Адаптация к стрессовым ситуациям и

физиологическим нагрузкам. - М.: Медицина, 1988. - С. – 256 - 74–107.

9. Harman D. A biologic clock: the mitochondria // J. Am. Geriatrics Soc. – 1972. – Vol. 20. – p.145– 147.

10. Silachev D.N. The Mitochondrion as a Key Regulator of Ischaemic Tolerance and Injury. Heart Lung Circ. – 2014. – Vol. 23 – p. 897- 904.

11. Бергельсон Л. Д., Дятловицкая Э. В., Молотковский Ю. Г. и др. Препаративная биохимия липидов. отв. ред. Бергельсон Л. Д. - Москва: Наука, 1981. –С. 259.

12. Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Перчаткин В.А., Максимов И.В., Марков В.А. Экспер. клин. фармакол., (2004). 67 (2).-С.27-30.

13. Wang W, Toran P.T, Sabol R.J, Brown T.J. Epigenetics and Sphingolipid Metabolism Health and Disease. Int J Biopharm Sci. 2018 an;l(2):105 -p.2-4

14. Zheng, W., Kollmeyer J., Symolon H., Momin A., Munter E., Wang E., Kelly S., Allegood J. C., Liu Y., Peng Q. et al. 2006. Ceramides and other bioactive sphingolipid backbones in health and disease: lipidomic analysis, metabolism and roles in membrane structure, dynamics, signaling and autophagy. Biochim. Biophys. Acta. 1758:-p.1864–1884.

УДК 581.143:635.21:631.531

¹*Podhaietskyi Anatolii Adamovich.*

Doctor of Agricultural Science

²*Matskevych Vyacheslav Viktorovich,*

Candidate of Agricultural Science

²*Filipova Larisa Mykolayivna,*

Candidate of Agricultural Science

¹*Kravchenko Nataliya Volodimirivna.*

Candidata of Agricultural Science

¹*Hnitetskyi Maksim Olehovich,*

PhD

ADAPTIVITY OF PLANTS IN STAGE IN VITRO-EX VITRO

¹*Подгаєцький Анатолій Адамович,*
д. с.-г. н., професор

²*Мацькевич В'ячеслав Вікторович,*
к. с.-г. н., доцент

²*Філіпова Лариса Миколаївна,*
к. с.-г. н., доцент

¹*Кравченко Наталія Володимирівна,*
к. с.-г. н., доцент

¹*Гнітецький Максим Олегович,*
аспірант

¹*Сумський національний аграрний університет,*
Україна, м. Суми, вул. Г. Кондратьєва 160, 40021

²*Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна*

АДАПТИВНІСТЬ РОСЛИН НА ЕТАПІ IN VITRO-EX VITRO

Abstract. The results of studies on generalization of ways to improve the adaptation of test tubes in vitro-ex vitro are presented. The causes of stressful situations that cause changes in metabolism, anatomically-morphological, and restructuring of the whole organism in the process of growing under in vitro conditions are described, which ultimately influences the postseptic healing of plants. Taking into account the biological characteristics of the studied cultures, different approaches have been tested to reduce material loss in the in vitro-ex vitro. The possibility of using to increase the adaptability of test tubes to the state of their dormancy has been proved, which will allow the regenerating plants to "prepare" for stress. This was confirmed in experiments with