

- мышечных клеток коронарных сосудов / С.С. Лазуко, А.П. Солодков, // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2006– Т. 92, №12. – С.1444-1462.
2. Манухина, Е. Б. Стресс-лимитирующая система оксида азота / Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев // Росс. физиол. ж-л им. И. М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, № 2. – С. 1283-1292.
  3. Меерсон, Ф. З. Постстрессорная активация синтеза нуклеиновых кислот и белков и ее роль в адаптационных реакциях организма / Ф. З. Меерсон, В. И. Павлова, Т. Т. Сухих // Патолог. физиол. и эксперим. терапия. – 1982. – № 5. – С. 3-17.

## **ВЛИЯНИЕ ТЕПЛООВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА УРОВЕНЬ ЖИРНЫХ АЛЬДЕГИДОВ ЭРИТРОЦИТОВ И ПЛАЗМЫ КРОВИ**

*А.Н. Осипенко, Н.В. Акулич  
Могилёв, УО «Могилевский государственный университет  
им. А. А. Кулешова»*

В последние годы появляется все больше фактов в пользу того, что при различных внешних воздействиях на организм в первую очередь развиваются нарушения в структуре клеточных мембран. Одним из факторов, изменяющих ход молекулярных перестроек внутри клетки, является тепловой стресс. Показано, что в условиях перегревания на клеточном уровне наблюдается ослабление иммобилизирующего влияния белков на липиды, отмечается нарушение восстановления кислорода с накоплением его промежуточных высокоактивных метаболитов, что может приводить к повреждению клеточных мембран и изменению осмотической устойчивости клеток [2]. При этом, важными участниками процессов окислительной модификации клеточных мембран являются чувствительные к реакциям окисления жирные альдегиды, входящие в состав плазмалогенных фосфолипидов [3].

Тем не менее, в настоящее время данных об изменении уровня жирных альдегидов и окисленных активными формами кислорода (АФК) жирных радикалов в составе мембранных липидов и липидов плазмы крови в условиях температурного стресса крайне недостаточно.

Таким образом, целью работы является исследование динамики жирных альдегидов и окисгенированных жирных радикалов в составе фосфолипидов эритроцитов и липидов плазмы крови в условиях теплового воздействия.

**Методы и материалы.** Экспериментальное исследование заключалось в изучении влияния повышенной температуры на уровень жирных альдегидов и окисленных АФК жирных радикалов в эритроцитах и плазме крови.

Для этого цельную кровь от 9 здоровых добровольцев в трехкратной повторности выдерживали на водяной бане в течение 30 и 180 минут при 42 °С. Контролем служили образцы крови этих же лиц без температурной экспозиции.

Преаналитический этап состоял в разделении клеточного компонента и плазмы крови путем центрифугирования (5 мин. при 5000 об./мин). Далее эритроциты дважды отмывались в рН сбалансированном изотоническом растворе.

Затем из фиксированных объемов плазмы крови и эритроцитарной массы, используя кислотный этанализ, готовили растворы производных жирных альдегидов и жирных кислот с последующей экстракцией их гексаном. Далее проводился анализ состава и измерение содержания различных жирных альдегидов и жирных кислот плазмы и эритроцитов крови, которые присутствовали в гексановом экстракте в виде соответствующих диэтилацеталей и этиловых эфиров. Идентификация анализируемых соединений осуществлялась с помощью хромато-масс-спектрометра Finnigan DSQ II (США).

Для идентификации окисленных АФК жирных радикалов использовался метод вычитания, когда пики на хроматограмме, соответствующие кето-, эпокси- и гидропероксипроизводным жирных радикалов фосфолипидов исчезали. Для этого к некоторым из полученных экстрактов добавляли с избытком борогидрид натрия. С целью исключения ошибок при идентификации часть экстрактов обрабатывалась 30-35% перекисью водорода. При этом на хроматограммах отмечалось значительное относительное увеличение большей части пиков, исчезавших после обработки борогидридом натрия.

Количественная оценка содержания анализируемых соединений производилась в процентном отношении к сумме полученных в ходе пробоподготовки этиловых эфиров жирных кислот. Измерения проводились методом газо-жидкостной хроматографии с использованием капиллярной хроматографической колонки с фазой SE-30 на хроматографе ЦВЕТ-800 (РФ) с пламенно-ионизационным детектором. Статистический анализ проводился методами параметрической статистики ( $p < 0.05$ ).

**Результаты и их обсуждение.** Склонность плазмалогенных фосфолипидов к реакциям окисления определяется тем, что первичная ОН группа глицерола замещена не радикалом жирной кислоты, а радикалом жирного альдегида. По имеющимся данным такие фосфолипиды обладают в основном антиоксидантными свойствами, так как окисление жирного альдегида в sn-1 положении остатка молекулы глицерола снижает вероятность окисления полиненасыщенной жирной кислоты (ПНЖК), находящейся в sn-2 положении глицерола.

Показано, что высокое содержание жирных альдегидов в нервной ткани предохраняет ПНЖК от ускоренного окисления. Так, снижение уровня плазмалогенных фосфолипидов в мозге больных синдромом Альцгеймера коррелирует с уровнем перекисного окисления молекул ПНЖК. С другой стороны, отмечается накопление плазмалогенных фосфолипидов в миокарде при ишемии [3].

По нашему мнению, высокий уровень плазмалогенных фосфолипидов значительно снижает вероятность окисления жирной кислоты активным кислородом, но, тем не менее, сам становится причиной образования окисленных метаболитов, влияющих на процессы клеточного гомеостаза.

Как показали наши эксперименты, обработка смеси этиловых эфиров жирных кислот и производных жирных альдегидов (диэтилацеталей) концентрированной перекисью водорода приводит к резкому сокращению содержания диэтилацеталей и образованию значительного количества жирных радикалов, содержащих активный кислород.

Анализируя результаты 3 часового теплового воздействия на образцы цельной крови, мы пришли к выводу, что, наряду с увеличением уровня оксигенированных производных жирных радикалов (с  $0,77 \pm 0,14\%$  до  $1,02 \pm 0,17\%$ ) в составе эритроцитарных фосфолипидов, произошло и увеличение содержания жирных альдегидов (с  $11,21 \pm 1,22\%$  до  $15,81 \pm 0,58\%$ ), что может являться компенсаторной реакцией на усиление процессов генерации АФК.

По нашему мнению, одним из факторов увеличения содержания плазмалогенных фосфолипидов в составе клеточной мембраны может быть тканевая гипоксия. Так, известно, что активность мембраносвязанного фермента фосфолипазы  $A_2$  (ФЛА2) в отношении мембранных фосфолипидов возрастает в анаэробных условиях и зависит от концентрации внутриклеточного кальция. При этом, плазмалогенные фосфолипиды являются субстратом специфической кальцийнезависимой плазмалогенной ФЛА2 [2, 3].

Увеличение относительного уровня жирных альдегидов (с  $1,55 \pm 0,68\%$  до  $2,84 \pm 0,86\%$ ) отмечалось и в плазме крови.

Известно, что насыщенные жирные кислоты увеличивают вязкость клеточных мембран [2]. В этой связи нужно отметить, что увеличение уровня жирных альдегидов в эритроцитах также может являться фактором, приводящим к уплотнению клеточных мембран, так как жирные альдегиды, как правило, в своей углеводородной цепи имеют не более одной двойной связи. Следовательно, показанное нами ранее [1] увеличение содержания насыщенных жирных кислот (в основном миристиновой и пальмитиновой) и параллельное снижение полиненасыщенных жирных кислот, а также увеличение уровня жирных альдегидов в составе мембран эритроцитов может представлять важный механизм краткосрочной адаптации клеток при тепловом стрессе.

**Выводы.** Установлен факт увеличения уровня оксигенированных жирных радикалов в составе эритроцитарных фосфолипидов и увеличение содержания жирных альдегидов как в плазме крови, так и в эритроцитарной массе, что может являться компенсаторной реакцией на усиление процессов генерации АФК.

#### Список литературы

1. Осипенко А.Н., Акулич Н.В. // Проблемы регуляции висцеральных функций: сб. науч. ст.: в 2 кн. 2008. Кн. 1. С. 126-131.
2. Хавинсон В. Х., Баринов В.А., Арутюнян А.В., Малинин В.В. Свободнорадикальное окисление и старение. СПб., 2003.
3. Mushfiquddin Khan, Jaspreet Singh, and Inderjit Singh. Plasmalogen deficiency in cerebral adrenoleukodystrophy and its modulation by lovastatin. // J Neurochem. 2008. August; 106(4): 1766–1779.