

УДК 577.391:311

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕТАНОЛ-ІНДУКОВАНИХ ВИРАЗКОВИХ УРАЖЕНЬ

Ковальова В.А., Руденко Я.О., Вишнеvsька А.Г., Томачинська Л.І.

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Надійшла до редакції 28.02.2010

Досліджено жирнокислотний склад плазматичних мембран клітин слизової оболонки шлунка за умов етанолової експериментальної моделі виразки шлунка у щурів. Встановлено різнонаправлені зміни складу жирних кислот у плазматичних мембранах досліджуваних клітин. Це може бути наслідком адаптації клітин до дії етанолу та активації вільно-радикального окиснення.

Ключові слова: виразка шлунка, жирні кислоти, плазматичні мембрани.

ВСТУП

Однією з найактуальніших проблем сучасної медицини є виразкова хвороба шлунка. Це хронічне рецидивуюче захворювання, при якому в результаті порушень нервових і гуморальних механізмів в шлунку утворюється виразка [1]. Ця хвороба є однією з найпоширеніших у світі. За різними літературними даними вона вражає від 1% до 15% населення [2].

На сьогоднішній день прийнято вважати, що виразкова хвороба є поліетіологічним захворюванням. Однією із причин її виникнення є вживання міцних алкогольних напоїв. Відомо, що алкоголь стимулює кислотоутворюючу діяльність шлунка, в результаті чого посилюються агресивні властивості шлункового соку, крім того, порушує бар'єрну функцію слизової оболонки, а також при тривалому вживанні міцних алкогольних напоїв знижується резистентність слизової оболонки [3].

Результати експериментальних та клінічних дослідів дозволяють обґрунтовано стверджувати, що у механізмі розвитку толерантності до дії етанолу важливу роль відіграють характерні фізико-хімічні зміни у біологічних мембранах [4].

У багатьох роботах показано, що етанол здатний зв'язуватись із зовнішньою поверхнею мембран клітин. Важлива роль тут належить гліколіпідам та глікопротеїнам біологічних мембран, оскільки саме полярні полісахаридні ділянки зв'язують етанол та виконують роль своєрідних посередників у реалізації мембранних ефектів етанолу. Зв'язування молекул етилового спирту із зовнішньою поверхнею мембран, їх проникнення між полярними головками молекул фосфоліпідів призводить до зменшення щільності упаковки останніх в мембрані та збільшення її текучості [5].

Відомо, що текучість біологічних мембран багато у чому залежить від ступеню насиченості жирнокислотних залишків у молекулах фосфоліпідів та вмісту холестеролу. Це дозволяє розглядати збільшення вмісту холестеролу та зменшення кількості ненасичених жирних кислот в біологічних мембранах як один з адаптивних механізмів, що дозволяє збільшити толерантність мембран до „флюїдизуючої” дії етанолу [4].

Тому метою нашої роботи було визначити ліпідний та жирнокислотний склад плазматичних мембран (ПМ) клітин слизової оболонки шлунка (СОШ) щурів за умов етанолової експериментальної моделі виразки.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У дослідах використовували щурів лінії Вістар масою близько 200 г, яких утримували на стандартному раціоні виварію. Етанолові ураження СОШ отримували за методом Окабе [6]. Для цього голодним щурам перорально вводили 1 мл 80% етанолу, через добу тварин декапітували під ефірним наркозом. Як контроль використовували здорових щурів. Фракцію плазматичних мембран отримували центрифугуванням у градієнті сахарози [7].

Ліпіди екстрагували хлороформ – метанольною сумішшю за методом Кейтса [8]. Вміст полярних ліпідів та холестеролу досліджували хроматографічним методом на пластинках Silufol. Кількісне оцінювання проводили за допомогою денситометра. Метиллові ефіри жирних кислот отримували додаванням метилового розчину гідроксиду калію. Аналіз метилових ефірів жирних кислот здійснювали на газовому хроматографі Varian Star 1 (USA). Розділення проводили на кварцевих капілярних колонках CP-WAX 57 CB Fused Silica (25 м x 0,53

мм). Температура термостата програмувалася від 50°C до 220°C з кроком 8°C/хв. Температура інжектора – 250°C, детектора – 250°C.

Експериментальні дані обробляли загально-прийнятими методами варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виразкова хвороба шлунка належить до патологій, які супроводжуються процесами активації

перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), гіперпероксидації які негативно впливають на структуру та функції мембран [9]. Стійкість мембрани пов'язана з якісним та кількісним складом ліпідів та жирних кислот. Структурні перебудови в молекулах структурних компонентів мембрани можуть призвести до змін їх функціональної активності та у обміні речовин в цілому.

Таблиця 1.

Ліпідний склад плазматичних мембран клітин слизової оболонки шлунка щурів за умов етанолової моделі виразки (M±m; n = 10)

Групи тварин	ФХ мкг/мг білка	ФС мкг/мг білка	ФЕА мкг/мг білка	Холестерол мкг/мг білка
Контроль	110,8±10,0	17,8±1,5	58,2±5,5	112,3±10,0
Етанолова модель	62,6±5,8*	13,0±1,0*	26,9±2,0*	260,0±20,0*

* p < 0,05 по відношенню до контролю

Таблиця 2.

Жирнокислотний склад плазматичних мембран клітин СОШ щурів (% від суми всіх кислот) за умов етанолової моделі виразки шлунка (M±m; n = 10)

Умовне позначення ЖК	Контроль	Етанолова модель
14:0	0,814±0,057	1,343±0,121*
16:0	14,586±1,167	37,704±3,016*
18:0	14,064±1,266	20,448±2,045*
18:1	0,233±0,019	0,399±0,036*
20:0	1,297±0,117	1,653±1,149*
22:0	1,965±0,157	0,532±0,054*

* p < 0,05 по відношенню до контролю

В результаті досліджень ліпідного складу плазматичних мембран було встановлено зменшення вмісту фосфатидилхоліну (ФХ) у 1,8 рази, фосфатиди-серину (ФС) – у 1,4 рази, фосфатидилетаноламіну – у 2,2 рази (табл. 1). Вміст холестеролу збільшився у 2,3 рази.

Відповідно змінилось співвідношення фосфоліпідів/холестерол. Виявлені зміни можуть свідчити про адаптацію ПМ клітин СОШ щурів до дії етанолу. Враховуючи попередні дослідження [4], такі порушення нормального функціонування ПМ ведуть до зміни її фізико-хімічних властивостей, що, в свою чергу відображається на функціонуванні мембранозв'язаних ферментів та сигнальних систем клітин СОШ.

Встановлено, що за умов етанолової моделі виразки шлунка у щурів у ПМ клітин СОШ відбувається зростання вмісту тетрадеканової (міристинової, С 14:0) кислоти у 1,6 рази (табл. 2). Зростання рівня міристинової кислоти може бути опосередкованим критерієм інтенсивності запальних реакцій, а також ознакою мобілізації механізмів антиоксидантного захисту [10]. Також виявлено зростання вмісту гексадеканової (пальмітинової, С 16:0) кислоти у 2,6 рази, та октадеценної (стеаринової, С 18:0) кислоти у 1,5 рази. Оскільки дані

жирні кислоти є найбільш поширеними у складі мембранних фосфоліпідів, зростання їх вмісту може бути ознакою посилення гідролізу фосфоліпідів мембрани, та зростання активності фосфоліпази A₁. Встановлено зростання вмісту октадеценної (олеїнової, С 18:1) кислоти у 1,7 рази та ейкозаної (арахінової, С 20:0) кислоти у 1,3 рази. Виявлено зниження вмісту докозаної (бегенової, С 22:0) кислоти у 3,4 рази, що може бути пов'язано з інтенсифікацією вільно-радикальних процесів у плазматичній мембрані клітин СОШ. Суттєве збільшення вмісту насичених жирних кислот у біологічних мембранах є пристосувально-захисною реакцією, спрямованою на активізацію системи антиоксидантного захисту та гальмування процесу вільно-радикального окиснення ліпідів.

ВИСНОВКИ

Таким чином, отримані результати експериментальних досліджень свідчать про структурні перебудови у плазматичній мембрані клітин СОШ за умов етанолової моделі виразки шлунка у щурів. Такі зміни можуть бути наслідком адаптації клітин до дії етанолу та активації вільно-радикального окиснення.

Література

1. Воробьев А.И. Справочник практического врача. - М.: Медицина. – 1983. – 21 с.
2. Василенко В.Х., Гребенев А.Л., Шептулин А.А. Язвенная болезнь.— М.: Медицина. , 1987. – 285 с.
3. Дегтярева И.И., Харченко Н.В. Язвенная болезнь. - Київ: Здоров'я, 1995. – С. 5-18.
4. Сторожок С.А., Панченко Л.Ф., Филлипович Ю.Д., Глушков В.С. Изменение физико-химических свойств биологических мембран при развитии толерантности к этанолу. // Вопросы медицинской химии – 2001. - №2
5. Klemm W.R. // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 1987. - №11 - P. 633-658.
6. Справочник практического врача по гастроэнтерологии // Под ред. В.Т. Ивашкина, С.И. Рапопорта. - М.: Советский спорт, 1999. – 432 с.
7. Древаль В.И., Финашин А.В., Баранник Е.А. Исследование связывания бромтимолового синего с плазматическими мембранами // Украинский биохимический журнал – 1989. – т.61, №2. – С.94-97.
8. Kates M. Techniques of lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids. – Amsterdam, Elsevier, 1986. – 464 p
9. Ковальова В.А. Вплив пероксидації ліпідів на стан мембран клітин слизової оболонки щурів за умов експериментальної виразки // Автореферат. - „Київський університет”. - 2005. – 18 с.
10. Афонина Г.Б., Кулон Л.А. Липиды, свободные радикалы, иммунный ответ. – К.: НМУ, 2000. – 285 с.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА КРЫС ПРИ УСЛОВИИ ЭТАНОЛ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЯЗВЫ ЖЕЛУДКА

Ковалева В.А., Руденко Я.А., Вишневская А.Г., Томачинская Л.И.

Исследовано жирнокислотный состав плазматических мембран клеток слизистой оболочки желудка при условии этаноловой экспериментальной модели язвы желудка у крыс. Установлено разнонаправленные изменения состава жирных кислот в плазматических мембранах исследуемых клеток. Это может быть следствием адаптации клеток к действию этанола и активации свободно-радикального окисления.

Ключевые слова: язва желудка, жирные кислоты, плазматические мембраны.

THE CONTENT OF FATTY ACIDS IN PLASMA MEMBRANE OF GASTRIC MUCOSAL CELLS UNDER ETHANOL MODEL OF EXPERIMENTAL ULCERATION

Kovalyova V., Rudenko I., Vyshnevskaya A., Tomachynska L.

Fatty acids content of plasma membrane of gastric mucosal cells was examined under ethanol model experimental ulceration in rats. It was determined, that fatty acids of plasma membrane was changed in different directions. This may be result of cell's adaptation to ethanol and free radical processes.

Key words: gastric ulcer, fatty acids, plasma membrane.
