

(РГП «Институт физиологии человека и животных» КН МОН РК, г. Алматы)

## ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕНОСА ЛИПИДОВ НА ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

### Аннотация

Изучались физиологические границы биохимических параметров липидного обмена в разных возраст-ных группах белых беспородных крыс. Было выявлено, что физиологическое состояние организма в разные фазы онтогенеза сопровождается изменениями в переносе липидов на поверхности «молодых» и «старых» эритроцитов. Увеличение концентрации общего холестерина, триглицеридов и холестерина низкой плотности в смывах с эритроцитов коррелировало с возрастом. Выявлено заметное увеличение содержания триглицеридов в плазме и на поверхности «молодых» и «старых» эритроцитов с увеличением возраста животных. Такие же изменения наблюдаются в отношении общего холестерина и холестерина низкой плотности. Имелась тенденция снижения антиатерогенного холестерина высокой плотности в группе старых крыс по сравнению с половозрелыми животными. Это указывает на общее существенное увеличение атеро-генных липидов по мере старения организма. Полученные нами данные указывают также на то, что адсорбционные свойства как «молодых», так и «старых» эритроцитов явно не связаны с процессом этого известного «возрастного» увеличения атерогенных липидов в крови и организме. Максимальный уровень переноса холестерина высокой плотности на мембране «молодых» и «старых» эритроцитов наблюдался в группе половозрелых животных. Возрастное повышение холестерина низкой плотности обусловлено прогрессивным угнетением катаболизма холестерина низкой плотности вследствие чего происходит изменение распределения холестерина между плазмой крови и тканями в пользу первой.

**Ключевые слова:** изучение, перенос, липиды, поверхность, эритроциты, крысы, возраст, физиология, биохимические, параметры, группы.

**Кілт сөздер:** тасымал, липидтер, бет, эритроциттер, егеуқұйрықтар, жас, физиология, биохимиялық зерттеу, параметрлер, топтар.

**Keywords:** study, transfer, lipids, surface, red corpuscles, rats, age, physiology, biochemical, parameters, groups.

Среди биомедицинских проблем связанных со старением организма изучение биохимических показателей крови занимает одно из важных мест. Наиболее универсальным признаком старения организма является снижение способности организма адаптироваться с увеличением возраста [1, 2], что приводит к формированию возрастзависимых патологий, по проявлениям которых можно судить о старении организма. Возраст и нарушение липидного обмена также является причиной развития возраст – ассоциированных патологических состояний организма.

Цитоплазматические мембраны эритроцитов подвержены действию большинства метаболических факторов и их структурно-функциональное состояние представляет чувствительный индикатор изменений нормального хода физиологических, биохимических и биофизических процессов в организме [3, 4]. Существенные изменения при старении организма претерпевают морфофункциональные характеристики циркулирующих эритроцитов. Эритроциты представляют собой гетерогенную по возрасту и биохимическим параметрам популяцию. Связывание и транспорт метаболитов и биологически активных соединений осуществляется всеми эритроцитами, однако характер связывания разными по возрасту клетками неодинаков [5]. Это должно отражаться в количественно-качественных показателях адсорбции различных липидов на поверхности эритроцитов.

### **Материалы и методы исследования**

Исследование биохимических показателей крови крыс в разные возрастные периоды выполняли на белых беспородных крысах, содержащихся на стандартном рационе вивария. Для опытов были сформированы 3 группы крыс: первая группа – неполовозрелые крысы (1-1,5 мес.); вторая – половозрелые (5-7 мес.) и третья группа старые крысы (12-18 мес.). Забор крови для биохимического анализа осуществляли утром до кормления крыс. Смешанную кровь забирали у наркотизированных крыс путем декапитации. Кровь стабилизировали гепарином (2-3 Ед/мл). После центрифугирования (15 мин при 1500 об/мин) плазму отделяли от эритроцитов. Эритроциты разделяли на фракции молодых (МЭ) и старых (СЭ) центрифугированием клеток с последовательным отбором верхней и нижней части эритроцитарного столба [6]. Тестируемые вещества с эритроцитов крыс смывали однократно путем добавления и перемешивания эритроцитарной массы с 3% раствором хлористого натрия. Взвесь вновь центрифугировали. Отделяли супернатант (смыв). В смывах с эритроцитов и в плазме определяли содержание холестерина, холестерина высокой плотности ХС-ЛПВП, холестерина низкой плотности (ХС-ЛПНП), триглицеридов, на биохимическом анализаторе А-25 BioSystems (Испания).

### **Результаты и их обсуждение**

Возрастным нарушениям обмена липидов придается большое значение в ускорении темпа старения [7].

В плазме крови крыс нами зарегистрировано возрастное повышение содержания липидов (таблица 1, рисунок 1).

Таблица 1 – Содержание липидов в плазме и смывах с эритроцитов в изучаемых возрастных группах экспериментальных животных

Группы	Показатели			
	Холестерин ммоль/л	ХС-ЛПВП ммоль/л	ХС-ЛПНП ммоль/л	Триглицериды, мг/ л
В плазме				
Неполовозрелые	1,38±0,05	1,27±0,04	0,45±0,07	3,79±0,44
Половозрелые	1,74±0,06	1,43±0,04	0,63±0,07	6,58±1,04
Старые	1,98±0,04	1,38±0,04	0,75±0,07	11,7±0,23
В смывах с «молодых» эритроцитов				
Неполовозрелые	0,46±0,02	0,35±0,01	0,20±0,01	1,37±0,08
Половозрелые	0,72±0,04	0,63±0,01	0,29±0,01	3,40±0,07
Старые	0,78±0,02	0,54±0,01	0,35±0,01	5,03±0,06
В смывах со «старых» эритроцитов				
Неполовозрелые	0,47±0,03	0,34±0,01	0,22±0,01	1,38±0,075
Половозрелые	0,81±0,03	0,75±0,01	0,32±0,01	3,51±0,05
Старые	0,86±0,03	0,68±0,01	0,38±0,01	5,67±0,04

Уровень общего холестерина в плазме крови крысят был на 21% ниже, а в группе старых крыс на 14% выше, чем в контрольной группе половозрелых крыс (рисунок 1 А). В группе старых крыс значительно повышается содержание атерогенного холестерина низкой плотности и триглицеридов на 19% и 78%, соответственно, относительно группы половозрелых крыс (рисунок 1 В, Г). Что касается уровня холестерина высокой плотности, то пик концентраций его приходится на контрольную группу животных (рисунок 1 Б).

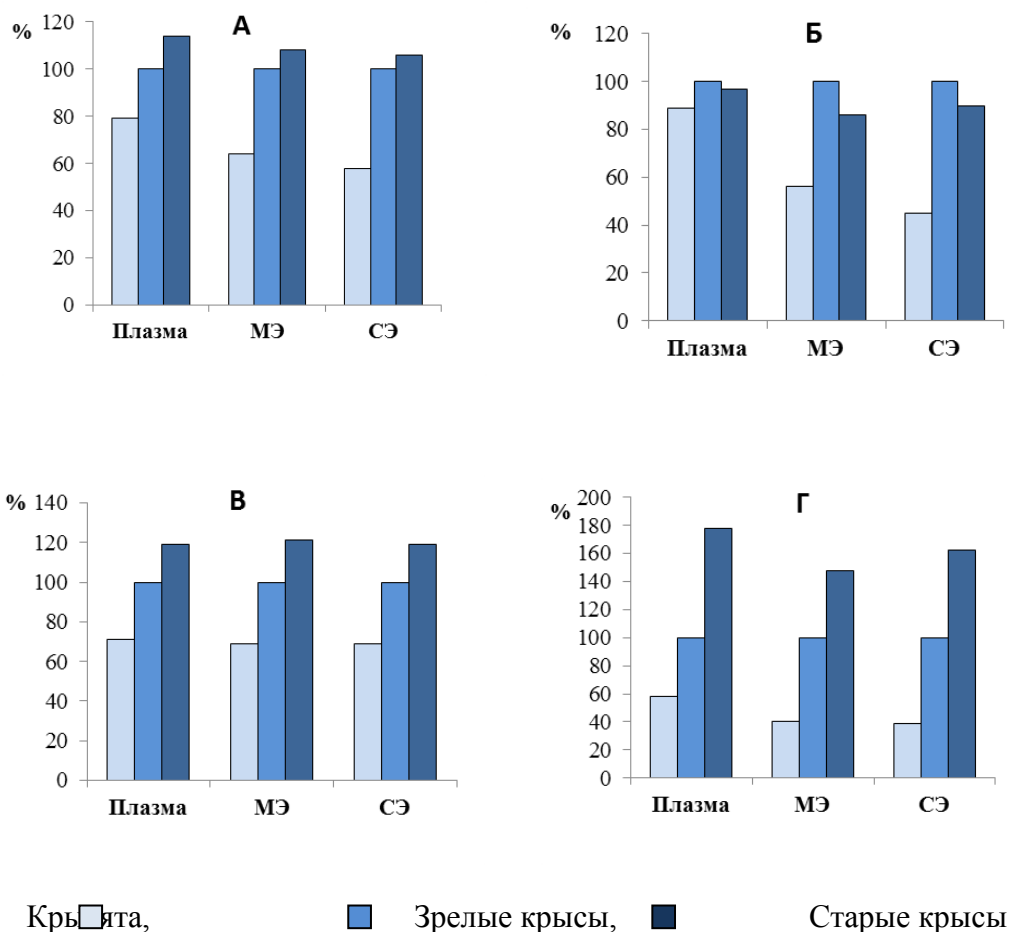


Рисунок 1 – Содержание: А – холестерина, Б – XС-ЛПВП, В – XС-ЛПНП, Г – триглицеридов в плазме крови

и в смывах с «молодых» (МЭ) и «старых» (СЭ) эритроцитов в разных возрастных группах

Исследование переноса липидов на поверхности эритроцитов выявило ту же тенденцию, что и в плазме крови (таблица 1, рисунок 1 А-Г). При сравнении транспорта липидов на поверхности «молодых» и «старых» эритроцитов нами установлено, что в группах половозрелых и старых крыс более значимая сорбция происходит на «старых» эритроцитах. В группе неполовозрелых животных концентрации переносимых липидов разными фракциями эритроцитов незначительно отличались друг от друга (рисунок 1 А-Г). Скорее всего, это можно объяснить, тем, что у крыс 4-6 недельного возраста, при разделении эритроцитов на возрастные фракции, в верхней и нижней части эритроцитарного столба, содержатся клетки красной крови одного возраста.

Выявленное нами повышение уровня общего холестерина в плазме крови и в смывах с эритроцитов в онтогенезе исследованных животных, вероятно, происходит за счет фракции холестерина атерогенных липопротеинов (XС-ЛПНП). Наибольшая концентрация холестерина антиатерогенных (XС-ЛПВП) обнаружена нами в сыворотке

крови 12-18 месячных животных, наименьшая – в сыворотке крови 4-6 недельных крыс. Несмотря на то, что содержание ХС-ЛПВП в сыворотке крови половозрелой и старой групп животных выше по сравнению с 4-6 недельными крысами, имеется тенденция к снижению концентрации данного показателя у старых крыс. Пониженное содержание ХС-ЛПВП в плазме крови, по данным литературы, свидетельствует о замедлении процесса выведения холестерина из тканей [8].

Таким образом, по мере увеличения возраста животных увеличивается перенос на поверхности эритроцитов общего холестерина, триглицеридов, холестерина ХС-ЛПНП и снижается перенос холестерина ХС-ЛПВП.

## ЛИТЕРАТУРА

- 1 Frolkis V. V. Hypothalamic mechanisms of aging and antiaging // *Neurophysiology*. – 1999. Vol. 31. – P. 3-7.
- 2 Hirokawa K., Utsuyama M. Animal models and possible human application of immunological restoration in the elderly // *Mech. Ageing Dev.* – 2002. – Vol. 123. – P. 1055-1063.
- 3 Донцов В. И., Крутько В. Н., Подколзин А. А. Профилактика старения, продления жизни и биоактивация: методические подходы // *Геронтология*. – 1999. – Вып. 2. – С. 28-34.
- 4 Новожилов А. В. Динамика реологических и гематологических показателей крови у незрело- и зрелорождающихся животных в постнатальном онтогенезе: Автореф. ... канд. биол. наук: 03.00.13. – СПб., 2009. – 18 с.
- 5 Котельникова Л.В. Метаболический статус эритроцитов и его коррекция стабилизаторами клеточных мембран при нарушении энергетического гомеостаза: Автореф. ... канд. биол. наук: 03.00.04. – Курск, 2000. – 20 с.
- 6 Аврамова Т.Н., Титова Н.М. Руководство по большому биохимическому практикуму. – Красноярск, 1978. – 107 с.
- 7 Приходько В.Ю., Коваленко Л.И., Масленникова Н.А. и др. Эффективность Энерлива у больных ИБС пожилого возраста, получающих гиполипидемическую терапию статинами // *Клинические исследования*. – 2010. – Т. 8(321). – С. 28-36.
- 8 Терешина Е.В., Свободные жирные кислоты – маркер возрастного изменения гомеостаза и старения // *Международ. журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2010. – № 4. – С. 71-78.

## REFERENCES

- 1 Frolkis V.V. Hypothalamic mechanisms of aging and antiaging. *Neurophysiology*. **1999**. 31. P. 3-7. (in Russ.).
- 2 Hirokawa K., Utsuyama M. Animal models and possible human application of immunological restoration in the elderly. *Mech. Ageing Dev.* **2002**. 123. P. 1055–1063. (in Russ.).
- 3 Doncov V. I., Krut'ko V. N., Podkolzin A. A. Profilaktika starenija, prodlenija zhizni i bioaktivacija: metodicheskie podhody. *Gerontologija*. **1999**. Vypusk 2. S. 28-34.
- 4 Novozhilov A. V. Dinamika reologicheskikh i gematologicheskikh pokazatelej krovi u nezrelo - i zrelozhdajuvihsja zhiivotnyh v postnatal'nom ontogeneze: *avtoref. kand. biol. nauk*: 03.00.13. Sankt-Peterburg, **2009**. 18 s. (in Russ.)
- 5 Kotel'nikova L. V. Metabolicheskij status jeritrocitov i ego korrekciya stabilizatorami kletochnyh membran pri narushenii jenergeticheskogo gomeostaza: *avtoref. kand. biol. nauk*: 03.00.04. Kursk, **2000**. 20s. (in Russ.).
- 6 Avramova T.N., Titova N.M. *Rukovodstvo po bol'shomu biohimicheskomu praktikumu.*- Krasnojarsk, **1978**. 107s. (in Russ.).
- 7 Prihod'ko V. Ju., Kovalenko L.I., Maslennikova N.A. i dr. Jefferektivnost' Jenerliva u bol'nyh IBS pozhilogo vozrasta, poluchajuvihsja gipolipidemicheskiju terapiju statinami. *Klinicheskie issledovanija*. **2010**. T. 8(321). S. 28-36. (in Russ.).
- 8 Tereshina E.V., Svobodnye zhirnye kisloty - marker vozrastnogo izmenenija gomeostaza i starenija. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. **2010**. №4. S. 71-78. (in Russ.).

## Резюме

*З. Ш. Смағұлова, С. Г. Макарушко, Е. С. Ефанова, Т. Д. Ким, К. Т. Тәшенов*

(ҚР БҒМ ҒК «Адам және жануарлар физиологиясы институты» РМҚ, Алматы қ.)

### ӘРТҮРЛІ ЖАСТАҒЫ ЕГЕУҚҰЙРЫҚ ЭРИТРОЦИТТЕРІНІҢ СЫРТҚЫ ҚАБАТЫНА ЛИПИДТІ АПАРУДЫ ЗЕРТТЕУ

Әртүрлі топтағы ұрықсыз ақ егеуқұйрықтардың липидті апарудағы биохимиялық параметрлерінің физиологиялық шекарасы зерттелді. Ағзаның физиологиялық жағдайының онтогенездік (жеке даму) даму барысында «жас» және «кәрі» эритроциттердің сыртқы қабатына липидті апарып орналастыруға болатын-дығы анықталды. Жасқа сай ерекшеліктері бойынша эритроциттерде жалпы жоғары қысымды холестерин мен үшглицерин мөлшері бірде көбейіп, бірде азайып отырады. Жасқа сай плазма құрамындағы үшглицерин-нің мөлшері артып, сонымен қатар «жас» және «кәрі» эритроциттердің сыртқы қабатында төменгі қысымды холестерин мөлшерінің жоғарылағаны байқалды. Жоғары қысымды жалпы холестерин мен төменгі қысымды холестерин мөлшерінің өзгеретіндігі анықталып, жас егеуқұйрықтарға қарағанда кәрі топтағы егеуқұйрық-тардың тенденциялық жоғары қысымды холестериннің антиатерогенді мөлшері азаятындығы анықталды. Бұл ағзаның қартаю кезінде болатын атерогенді май мөлшерінің едәуір артуымен ерекшеленеді. Алынған нәтижелер бойынша «жас» және «кәрі» эритроциттердің адсорбциялық құрамы, ағза мен қан құрамының «жасқа сай» ерекшелігі бойынша атерогенді липидтер мөлшерінің жоғарылауымен байланысы жоқ. «Жас» және «кәрі» эритроцит мембранасында жоғары қысымды холестериннің максимум (жоғары) дәрежеге жетуі тек жыныстық дамыған жастағы жануарларда ғана кездеседі. Ал төменгі қысымды холестериннің жасқа сай жоғарылап,

холестерин катабализмінің едәуір төмендеуімен ерекшеленеді. Нәтижесінде ұлпа мен қан плазмасы арасындағы холестерин бөлінуі кезінде қан плазмасына холестерин көбірек бөлінеді.

**Кілт сөздер:** тасымал, липидтер, бет, эритроциттер, егеуқұйрықтар, жас, физиология, биохимиялық зерттеу, параметрлер, топтар.

## Summary

*Z. Sh. Smagulova, S. G. Makarushko, E. S. Efanova, T. D. Kim, K. T. Tashenov*

(RSE "Institute of Human and Animal Physiology" SC MES RK, Almaty)

### STUDY OF TRANSFER OF LIPIDS ON SURFACE OF RED CORPUSCLES FOR RATS OF DIFFERENT AGE

The physiological borders of biochemical parameters of lipid exchange were studied in the different age-related groups of white outbred rats. It was educed, that the physiological state of organism in the different phases of ontogenesis is accompanied by changes in the transfer of lipids on the surfaces of "young" and "old" red corpuscles. Increase of concentration of general cholesterol, triglycerides and cholesterol of low-density in washings off from red corpuscles correlated with age. The noticeable increase of maintenance of triglycerides is educed in plasma and on the surface of "young" and "old" red corpuscles with the increase of age of animals. The same changes are observed in regard to a general cholesterol and cholesterol of low-density. There was a tendency of decline of antiatherogenic cholesterol of high-density in the group of old rats as compared to pubertal animals. It specifies on the common substantial increase of atherogenic lipids as far as aging of organism. Got by us data specify also on that adsorption properties of both "young" and "old" red corpuscles are obviously unconnected with the process of this well-known "age-related" increase of atherogenic lipids in blood and organism. The maximal level of transfer of cholesterol of high-density on the membrane of "young" and "old" red corpuscles was observed in the group of pubertal animals. The age-related increase of cholesterol of low-density is conditioned by the progressive oppressing of catabolism of cholesterol of low-density because of what a change of distribution of cholesterol is between plasma of blood and fabrics in behalf on the first.

**Keywords:** study, transfer, lipids, surface, red corpuscles, rats, age, physiology, biochemical, parameters, groups.

*Поступила 11.01.2013г.*

