

3. Індуковані експериментальні гіпер- і гіпотиреоз сприяють прогресії пухлини Герена, що проявляється зміщенням ядерно-цитоплазматичного співвідношення та зменшенням відносної площі судин і дистанції між ними у тканині пухлини.

4. Гіпертиреоїдний і, більшою мірою, гіпотиреоїдний стан є прогностично несприятливими факторами для перебігу пухлинних процесів в ендометрії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Рак в Україні, 2008–2009: захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби // Бюлетень Національного канцер-реєстру України. – 2010. – № 11. – С. 54.

2. Новые подходы к ведению пациенток с гиперплазией эндометрия / Н. Ю. Мелехова, А. Н. Иванян, З. В. Калоева, И. И. Буцык // Материалы 9-го Российского научного форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С. 463–464.

3. Stavreus A. Paracrine interactions of thyroid hormones and thyroid stimulation hormone in the female reproductive tract have an impact on female fertility / A. Stavreus // Front. En-

docrinology (Lausanne). – 2012. – Vol. 3. – P. 50.

4. Chiamolera M. I. Minireview: Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism / M. I. Chiamolera, F. E. Wondisford // Endocrinology. – 2009. – Vol. 150, N 3. – P. 1091–1096.

5. Паньків В. І. Заболевания щитовидной железы и репродуктивная функция женщины // В. И. Паньків, Е. О. Литвак // Здоровье Украины. – 2011. – Т. 7, № 47. – С. 626–635.

6. Нефф Е. И. Оптимизация методов лечения гиперпластических процессов эндометрия у пациенток с экстрагенитальной патологией / Е. И. Нефф, Т. А. Обоскалова, Е. Ю. Глухов // Материалы 9-го Российского научного форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С. 476–477.

7. Carlsson G. Estimation of liver tumor volume using different formulas — an experimental study in rats / G. Carlsson, B. Gullberg, L. Hafstrom // J. Cancer Res. Clin. Oncol. – 1983. – Vol. 10, N 5. – P. 20–23.

REFERENCES

1. Cancer in Ukraine, 2008–2009: morbidity, mortality, and indicators of cancer service. *Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine* 2010; 11: 54.

2. Melekhova, N.U., Ivanyan, A.N., Kaloeva, Z.V., Butsyk, I.I. New Ap-

proaches to management women suffering from hyperplasia of endometrium, *Materialy 9 Rossiyskogo nauchnogo foruma "Mat i ditya"* (Proceedings of the ninth Russian Scientific Forum "Mother and child"), M., 2007: 463-464.

3. Stavreus, A. Paracrine interactions of thyroid hormones and thyroid stimulation hormone in the female reproductive tract have an impact on female fertility. *Front. Endocrinology (Lausanne)* 2012; 3: 50.

4. Chiamolera, M.I. Minireview: Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism. *Endocrinology* 2009; 150(3): 1091-1096.

5. Pankiv, V.I., Litvak, Ye.O. Diseases of the thyroid gland and reproductive function of a woman. *Health of Ukraine* 2011; 7(47): 626-635.

6. Neff, Ye.I., Oboskalova, T.A., Glukhov, Ye. Yu. Optimizing of the methods of the treatment of endometrial hyperplastic processes in patients with extragenital pathology, *Materialy 9 Rossiyskogo nauchnogo foruma "Math i ditya"* (Proceedings of the ninth Russian Scientific Forum "Mother and child"), M., 2007: 476-477.

7. Carlsson G., Gullberg B., Hafstrom L. Estimation of liver tumor volume using different formulas — an experimental study in rats. *Cancer Res. Clin. Oncol.* 1983; 10(5): 20-23.

Надійшла 10.09.2012

УДК 615.2/3:577.115:[591.143+591.175]:591.139

О. О. Тимофійчук

МОДУЛЯЦІЯ МЕЛІПРАМІНОМ ВМІСТУ ГЛІЦЕРОФОСФОЛІПІДІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ СТАРИХ ЩУРІВ

НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна,
Харків, Україна

УДК 615.2/3:577.115:[591.143+591.175]:591.139

О. А. Тимофійчук

МОДУЛЯЦИЯ МЕЛИПРАМИНОМ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИЦЕРОФОСФОЛИПИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ СТАРЫХ КРЫС

НИИ биологии Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина,
Харьков, Украина

Изучены возрастные особенности содержания глицерофосфолипидов в сыворотке крови, диафрагме, икроножной и камбаловидной мышцах 3- и 24-месячных крыс, а также влияние трициклического антидепрессанта мелипрамина на уровень глицерофосфолипидов в указанных типах тканей старых крыс. Установлено, что мелипрамин при продолжительном внутримышечном введении оказывает модулирующий эффект на сниженное в старости содержание глицерофосфолипидов в скелетной мускулатуре и сыворотке крови крыс 24-месячного возраста.

Ключевые слова: фосфолипиды, мелипрамин, скелетная мускулатура, сыворотка крови, старение.



PHOSPHOLIPID CONTENT MODULATION BY MELIPRAMIN IN SERUM AND SKELETAL MUSCLES OF OLD RATS

Research Institute of Biology of the V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

Phospholipids (PL) are important structural components of the cell membranes and also major precursors of bioactive metabolites, which take part in phosphatidylinositol-3-kinase signal pathway. Human and animal aging is associated with alterations of PL turnover, that causes the development of insulin resistance and diabetes mellitus type 2. Since tricyclic antidepressants are able to modulate PL metabolism, therefore the purpose of this study was research influence of melipramin on age-associated PL content differences in skeletal muscle and serum of rats. This study was carried out on male Wistar rats (3- and 24-month old rats. Old experimental rats were treated with melipramin (intramuscularly, 10 mg/kg, 14 days), control rats — 0.9% NaCl. Lipids were extracted by Bligh and Dyer method, PL were fractionated by one-dimensional rising thin layer chromatography. The quantitative content of PL was measured by March and Weinstein method, of protein — by Lowry method. It has been shown that PL content was significantly reduced in skeletal muscle and serum with aging. This problem was caused by PL biosynthesis decrease and enhancement of its degradation. However the melipramin has reversed age-associated PL content differences (in old animals), which is likely due to inhibition of lysosomal phospholipases activity and transport by melipramin. Thereby, melipramin is an effective modulator of PL content in different morphofunctional tissue types of old animals.

Key words: phospholipid, melipramin, skeletal muscle, serum, aging.

Вступ

Гліцерофосфоліпіди (ГФЛ) виконують важливу структурну функцію та відіграють роль попередників важливих ліпідних месенджерів. Проте численні дослідження показали, що в процесі старіння у скелетних м'язах (СМ) зменшується швидкість ацильного обміну, змінюється жирокислотний склад ФЛ і порушується їх біосинтез [1]. Вважають, що вказані зміни можуть знижувати плинність ліпідного бішару та зумовлювати, внаслідок порушення зв'язування інсуліну з мембранними рецепторами, розвиток інсулінорезистентності (ІР) та цукрового діабету 2 типу [2]. Останнє визначає актуальність пошуку шляхів корекції асоційованих із віком порушень обміну та вмісту ГФЛ у СМ.

Результати численних досліджень на культурі клітин НерG2 указують на здатність катіонних амфіфільних лікарських препаратів, що є трициклічними антидепресантами (десипрамін, амітриптилін та ін.), істотно посилювати синтез ГФЛ і пригнічувати їх катаболізм [3; 4]. Проте механізми реалізації біологічних ефектів антидепресантів здебільшого невідомі, а їхній вплив на обмін і вміст ГФЛ у СМ на пізній стадії постнатального онтогенезу не досліджено.

Отже, зважаючи на важливу роль порушень метаболізму ГФЛ у патогенезі захворювань, асоційованих із віком, а також на недостатнє вивчення вмісту даних ліпідів у СМ старих тварин при дії трициклічних антидепресантів, **метою** даної роботи стало вивчення вікових особливостей вмісту загальних ГФЛ, фосфатидилхоліну (ФХ) і фосфатидилетаноламіну (ФЕА) у СМ і сироватці крові 3- і 24-місячних тварин, а також впливу трициклічного антидепресанта меліпраміну на вміст даних ГФЛ у СМ і сироватці крові старих щурів.

Матеріали та методи дослідження

Нами були використані інтактні щури-самці лінії Wistar (розплідник НДІ біології ХНУ імені В. Н. Каразіна) віком 3 і 24 міс., що утримувалися в стандартних умовах віварію. Дослідна група старих щурів отримувала внутрішньом'язову ін'єкцію меліпраміну (EGIS, Угорщина; 10 мг/кг маси тварини, 14 діб), контрольна група — ін'єкцію 0,9 % розчину NaCl. Тварин наркотизували діетилловим ефіром. Після декапітації щурів кров збирали для отримання сироватки; із черевної порожнини видаляли діафрагму, а із задніх кінцівок — камбалоподібний та литковий м'язи.

Тканини заморожували у рідкому азоті та гомогенізували. Ліпіди з гомогенатів СМ екстрагували згідно з методом [5]. Фракціонування ліпідів проводили за методом висхідної хроматографії у тонкому шарі силікагелю у системі розчинників. Плями ліпідів проявляли у парах йоду й ідентифікували, порівнюючи зі стандартами. Кількісне визначення вмісту ліпідів у пробах проводили за методом [6], вміст білка — за методом [7]. Для порівняння отриманих даних використовували одно- та двофакторний дисперсійний аналіз і t-критерій Стьюдента. Різницю між групами вважали статистично значущою при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Даний експеримент продемонстрував, що на стадії пізнього постнатального онтогенезу вміст ГФЛ значно нижчий у сироватці крові та в різних типах СМ порівняно з молодими тваринами. Зміни вмісту загальних ГФЛ в усіх досліджених типах тканин старих щурів відбуваються з однаковою інтенсивністю (зниження в 1,5 рази) порівняно з молодими тваринами (табл. 1).

Проте найбільш суттєве зниження базального рівня ФХ (рис. 1, а) було зафіксовано тільки у камбалоподіб-



Таблиця 1

Вікові відмінності вмісту загальних гліцерофосфоліпідів у тканинах щурів та їх корекція меліпраміном, нмоль/мг білка, $M \pm m$, $n=6$

Тип тканини	Інтактні щури		24-місячні щури	
	3-місячні	24-місячні	Контрольна група	Дослідна група
Сироватка	159,68±4,89	96,94±2,95*	112,95±4,05*	142,46±8,32#
Діафрагма	47,73±1,97	29,28±1,15*	35,07±1,00*	52,31±2,06#
Литковий м'яз	44,52±1,43	27,24±1,03*	25,98±1,54*	39,37±0,89#
Камбалоподібний м'яз	28,46±1,12	18,66±0,52*	17,93±0,74*	29,89±0,68#

Примітка. * — порівняно з 3-місячними щурами ($p < 0,05$), # — порівняно зі щурами контрольної групи ($p < 0,05$).

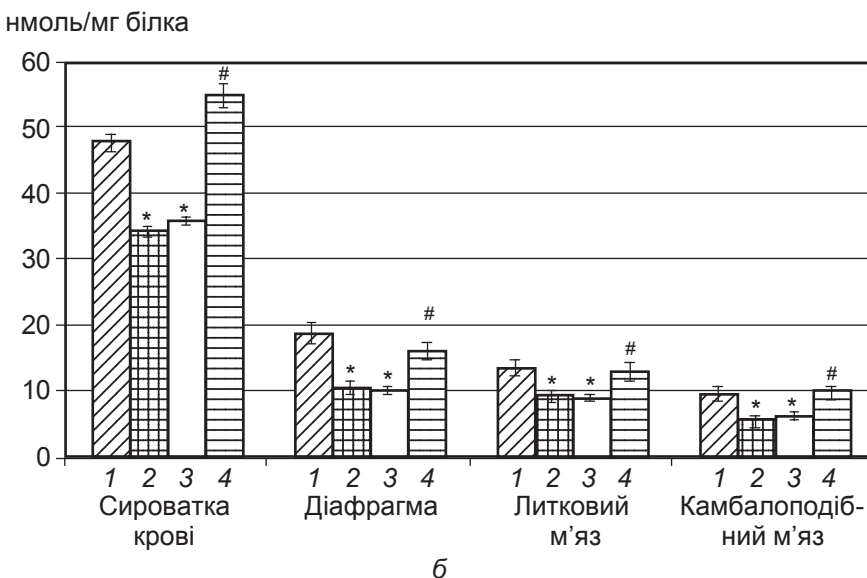
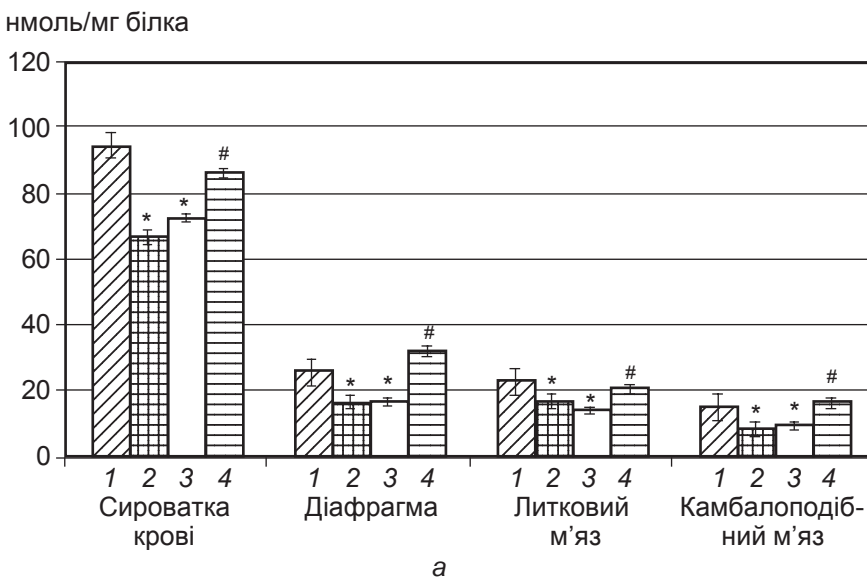


Рис. 1. Вікові відмінності вмісту гліцерофосфоліпідів у тканинах щурів та їх корекція меліпраміном: а — ФХ; б — ФЕА; 1 — 3-місячні інтактні щури; 2 — 24-місячні інтактні щури; 3 — 24-місячні щури контрольної групи; 4 — 24-місячні щури дослідної групи; * — вірогідно порівняно з 3-місячними щурами, # — вірогідно порівняно з щурами контрольної групи ($p < 0,05$)

ному м'язі, тимчасом як маса ФЕА (рис. 1, б) найінтенсивніше (на 45 %) знижується і в камбалоподібному м'язі, і в діафрагмі старих тварин порівняно зі щурами 3-місячного віку.

Виявлене вікове зниження вмісту ГФЛ може бути результатом: інтенсифікації процесів їх перекисного окиснення [8]; інгібування фосфоліпази А2 (каталізує гідроліз ГФЛ) церамідом, який нагромаджується у тканинах під час старіння; порушення біосинтезу ГФЛ, внаслідок інгібування церамідом цитидиндифосфат-холінових (ЦДФ) шляхів [2].

Оскільки ГФЛ — це субстрати фосфоліпази D — одного з ключових ферментів фосфатидилінозитол-3-кіназного (ФІЗК) сигнального шляху, який є основним у реалізації біологічних ефектів інсуліну, можна припустити, що асоційоване з віком зниження маси ГФЛ здатне зумовити розвиток таких патологічних станів, як ІР і цукровий діабет 2 типу [2].

З огляду на це ми спробували відкорегувати вікові зміни вмісту даних ліпідів у різних типах тканин за допомогою трициклічного антидепресанта — меліпраміну. Виявлено, що введення меліпраміну тваринам на пізній стадії постнатального онтогенезу дозволяє модулювати вміст ГФЛ у різних морфофункціональних типах тканин, повертаючи їх до рівня молодих щурів. Найбільш виражений ефект даного препарату спостерігали у камбалоподібному м'язі, де вміст загальних ГФЛ (див. табл. 1) збільшився на 66,7 % порівняно з контрольною групою. Рівень ФХ (див. рис. 1, а) збільшується у старих щурів у діафрагмі та камбалоподібному м'язі на 90,4 і 72,3 % відповідно; а найінтенсивніше нагромадження маси ФЕА (див. рис. 1, б) було зафіксовано також у діафрагмі та литковому м'язі (на 63,8 %) тварин дослідної групи порівняно з контролем.

Існує кілька думок щодо можливих причин акумуляції ГФЛ у клітинах тварин: 1) трициклічні антидепресанти, зв'язуючись із гідрофобним і гідрофільним компонентами ГФЛ, утворюють стійкі до дії лізосомальних фосфоліпаз комплекси; 2) трициклічні антидепресанти спричиняють інгібування активності лізосомальних фосфоліпаз та їх транспорт [3; 4; 9]; 3) оскільки дослідження на фібробластах і гепатоцитах [10] показали, що меліпрамін пригнічує активність кислих сфінгомеліназ (кСФМаз), сповільнює нагромадження кераміду (не виключено, що меліпрамін здатен інгібувати кСФМазу і в клітинах СМ), то можна припустити, що зниження маси кераміду зумовлює інгібування фосфоліпази А2 й активацію ЦДФ-холінових шляхів, внаслідок чого знижується інтенсивність катаболізму ГФЛ [2].

Таким чином, у даній роботі встановлено, що меліпрамін при тривалому внутрішньом'язовому введенні сприяє корекції зниженого у старості вмісту ГФЛ, зокрема ФХ і ФЕА, у сироватці крові та в різних типах СМ 24-місячних тварин. Можна припустити, що вікові зміни вмісту ГФЛ є оборотними. Найінтенсивніше зниження маси загальних ГФЛ відмічено в камбалоподібному м'язі, що свідчить про тканиноспецифічну дію препарату. Отримані результати також свідчать про нівелювання вікової різниці маси ГФЛ за допомогою трициклічного антидепресанта і вказують на те, що меліпрамін — ефективний модулятор обміну ГФЛ у різних типах тканин старих щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Mitochondrial phospholipids of rat skeletal muscle are less polyunsaturated than whole tissue phospholipids: implications for protection against oxidative stress* / S. Tsalouhidou, C. Argyrou, G. Theofilidis [et al.] // *Journal of Animal Science*. – 2006. – N 84. – P. 2818–2825.
2. *Corcoran M. P.* Skeletal muscle lipid deposition and insulin resistance:

effect of dietary fatty acids and exercise / M. P. Corcoran, S. Lamon-Fava, R. A. Fielding // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 2007. – N 85. – P. 662–677.

3. *Sawada H.* A toxicogenomic approach to drug-induced phospholipidosis: analysis of its induction mechanism and establishment of a novel in vitro screening system / H. Sawada, K. Takami, S. Asahi // *Toxicological Sciences*. – 2005. – N 83. – P. 282–292.

4. *Reasor M. J.* Drug-induced phospholipidosis: are there functional consequences? / Mark J. Reasor, Sam Kacew // *Experimental Biology and Medicine*. – 2001. – N 226. – P. 825–830.

5. *Bligh E. G.* A rapid method of total lipid extraction and purification / E. G. Bligh, W. J. Dyer // *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. – 1959. – Vol. 37, N 8. – P. 911–917.

6. *March J. B.* Simple charring method for determination of lipids / J. B. March, D. B. Weinstein // *The Journal of Lipid Research*. – 1966. – Vol. 7, N 4. – P. 574–580.

7. *Protein measurement with the Folin phenol reagent* / O. N. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1951. – N 193. – P. 365–375.

8. *Barbieri E.* Reactive oxygen species in skeletal muscle signaling / E. Barbieri, P. Sestili // *Journal of Signal Transduction*. – 2012. – N 2012. – 17 p.

9. *Predicting the mechanism of phospholipidosis* / R. Lowe, H. Y. Mussa, F. Nigsch [et al.] // *Journal of Cheminformatics*. – 2012. – N 4. – 2 p.

10. *Identification of new functional inhibitors of acid sphingomyelinase using a structure-property-activity relation model* / J. Kornhuber, Ph. Tripal, M. Reichel [et al.] // *Journal of Medical Chemistry*. – 2008. – N 51. – P. 219–237.

REFERENCES

1. *Tsalouhidou S., Argyrou C., Theofilidis G., Karaoglanidis D., Orfanidou E., Nikolaidis M.G., Petridou A., Mougios V.* Mitochondrial phospholipids of rat skeletal muscle are less polyunsaturated than whole tissue phospholipids: implications for protection against oxidative stress. *J Anim Sci* 2006; 84: 2818–2825.
2. *Corcoran M.P., Lamon-Fava S., Fielding R.A.* Skeletal muscle lipid deposition and insulin resistance: effect of dietary fatty acids and exercise. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 662–77.
3. *Sawada H., Takami K., Asahi S.* A toxicogenomic approach to drug-in-

duced phospholipidosis: analysis of its induction mechanism and establishment of a novel in vitro screening system. *Toxicol Sci* 2005; 83: 282–292.

4. *Reasor M.J., Kacew S.* Drug-induced phospholipidosis: are there functional consequences? *Exp Biol Med* 2001; 226: 825–830.

5. *Bligh E.G., Dyer W.J.* A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 1959; 37(8): 911–917.

6. *March J.B., Weinstein D.B.* Simple charring method for determination of lipids. *J Lipid Res* 1966; 7(4): 574–580.

7. *Lowry O.N., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 365–375.

8. *Barbieri E., Sestili P.* Reactive oxygen species in skeletal muscle signaling. *J Signal Transduct* 2012; 2012: 17.

9. *Lowe R., Mussa H.Y., Nigsch F., Glen R.C., Mitchell J.B.* Predicting the mechanism of phospholipidosis. *J Cheminform* 2012; 4: 2.

10. *Kornhuber J., Tripal Ph., Reichel M., Terfloth L., Bleich St., Wiltfang J., Gulbins E.* Identification of new functional inhibitors of acid sphingomyelinase using a structure-property-activity relation model. *J Med Chem* 2008; 51: 219–237.

Надійшла 11.07.2012

