

## Связывающая способность сывороточного альбумина в условиях длительной гипокинезии

И.Ж. Лорян

ЕрГМУ им. М.Гераци, кафедра фармакологии

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

**Ключевые слова:** гипокинезия, сывороточный альбумин, связывающая способность альбумина, свободные жирные кислоты

Сывороточный альбумин (СА) – важнейший транспортный белок плазмы крови, обладающий аффинитетом к широкому спектру эндогенных и экзогенных лигандов, включая лекарства [3,14,15].

Установление модулирующего действия ряда эндогенных метаболитов (свободных жирных кислот (СЖК), билирубина, желчных кислот, глюкозы и др.) на связывающую функцию альбумина объяснило одну из причин изменения фармакокинетических параметров лекарств при ряде патологических состояний [10,13,15].

В этом аспекте большой интерес представляет изучение фармакокинетических параметров, в частности связывающей функции альбумина при гипокинезии (ГК), широко распространенном патологическом состоянии, сопровождающемся глубокими нарушениями в обменных процессах [1,5,11]. Немногочисленные данные о сдвигах в чувствительности организма к лекарствам свидетельствуют об изменении фармакокинетики в условиях ГК, однако роль транспортной функции альбумина в данном вопросе не установлена [2,8,9].

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования является определение общей концентрации альбумина, содержания СЖК и влияния этих показателей на связывающую способность альбумина (ССА) в условиях ГК различной продолжительности.

### Материал и методы

Исследования проведены на 55 белых беспородных крысах-самцах массой 180–200 г. ГК достигалась помещением крыс в индивидуальные клетки-пеналы из органического стекла сроком на 15, 30 и 45 суток. Контрольные крысы содержались в обычных условиях вивария. Материалом для исследования служила сыворотка крови, получаемая после декапитации под эфирным наркозом.

Исследование свойств альбумина сыворотки кро-

ви подопытных животных проводилось флюоресцентным методом с использованием зонда К-35 (набор реактивов «Зонд-альбумин», серия ОП-0893, «Серум-альфа», Россия), предложенным Ю.И. Миллером и Г.Е. Добрецовым [4,7]. Интенсивность флюоресценции измеряли на флюоресцентном спектрофотометре «Hitachi MPF-2A» (Япония) в стандартных кварцевых кюветках сечением 1x1 см. Флюориметрия проводилась при длине возбуждающего света 420 нм, флюоресценции – 520 нм. Калибровку флюорометра проводили по нативным сывороткам 10 контрольных крыс с известной концентрацией альбумина. На основе флюоресцентных исследований вычислялись показатели – эффективная концентрация альбумина (ЭКА) и общая концентрация альбумина (ОКА). Связывающая способность альбумина определялась как соотношение ЭКА(з/л) к ОКА(з/л) x 100%.

Массовую концентрацию альбумина (МКА) определяли методом микроанализа с помощью бромкрезолового пурпурного (Delta, Армения) согласно прилагаемой инструкции.

Концентрацию СЖК в сыворотке крови определяли колориметрическим микрометодом при длине волны 492 нм по Н.Г. Schuster [18] и выражали в ммоль/л.

Значения измеряемых величин представлены в виде средних величин (X) из *n* результатов измерений и стандартного отклонения (SD). Достоверность различий между измеряемыми параметрами определяли по *t*-критерию Стьюдента, двухвыборочного для двустороннего распределения. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2000.

### Результаты и обсуждение

Учитывая, что ССА в первую очередь зависит от количества альбумина в плазме крови, нами было изучено его содержание в исследуемые сроки ГК следующими методами: унифицированным методом, с

Таблица

Изменения показателей ОКА и МКА сыворотки крови в контроле и при ГК различной продолжительности ( $X \pm SD$ )

Методы	Контроль	ГК15 суток	ГК30 суток	ГК45 суток
ОКА(г/л)	39,75±5,4	45,6±3,37	46,1±3,96	42,2±7,37
МКА(г/л)	39,75±6,1	44±11,6	41,8±7,67	43±3,7
n	10	15	15	15

использованием бромкрезолового пурпурного (МКА) и флюоресцентного зонда К-35 (ОКА).

Результаты исследования, приведенные в таблице, показывают, что во все исследуемые сроки ГК ОКА сыворотки крови, определенная двумя указанными выше методами, совпадает и остается в пределах нормы (35–50 г/л). По литературным данным, ОКА уменьшается лишь в поздние сроки ГК (49–70 суток), что согласуется с нашими данными [9].

На рис. 1 показана динамика изменений показателей ЭКА и ССА. ЭКА это концентрация свободных, не занятых никакими лигандами центров связывания альбумина в сыворотке крови. ССА – характеризует удельную функциональную активность альбумина по связыванию веществ. Из рис. 1 видно, что показатели ЭКА и ССА снижаются во все сроки ГК. Так ССА наиболее снижена на 15-е (на 26%) и в особенности на 45-е сутки ГК (на 51%). На 30-е сутки ГК ЭКА практически не изменяется (данные являются статистически недостоверными), а ССА снижается лишь на

15%. Снижение ЭКА, в особенности на 15- и 45-е сутки ГК, свидетельствует о появлении определенных факторов в крови, влияющих на третичную структуру СА, приводящих к уменьшению связывания зонда СА, что и приводит к уменьшению интенсивности флюоресценции К-35.

Уменьшение ССА при неизменности общего содержания альбумина в крови было выявлено при ряде других патологий (острый инфаркт миокарда, печеночная и почечная недостаточность, перитонит, шизофрения и др.) различными методами [3,4,6].

Изучение причин блокирования центров связывания молекулы альбумина при различных физиологических и патологических состояниях выявило ряд факторов, приводящих к снижению ССА. К ним относятся целый ряд низкомолекулярных лигандов: СЖК, билирубин, желчные кислоты, глюкоза. Исследователи считают СЖК наиболее важными регуляторами связывания веществ с альбумином. Модулирующее действие СЖК на молекулу альбумина, осуществляемое по аллостерическому механизму, зависит не только от длины цепей (пальмитиновая, олеиновая, стеариновая и др.), но и от их количества в плазме крови.

Учитывая данные о роли СЖК как модуляторов ССА, мы решили установить взаимосвязь между концентрацией СЖК и направленностью в изменениях показателей, характеризующих ее в указанные сроки ГК. Необходимость изучения СЖК диктуется также тем фактом, что ГК является хроническим стрессом, сопровождающимся активацией симпатоадреналовой системы, приводящей к усилению липолиза и наводнением плазмы крови СЖК. По нашим данным (рис. 2), концентрация СЖК повышается в 2–3 раза во все сроки ГК по сравнению с контролем, но наиболее вы-

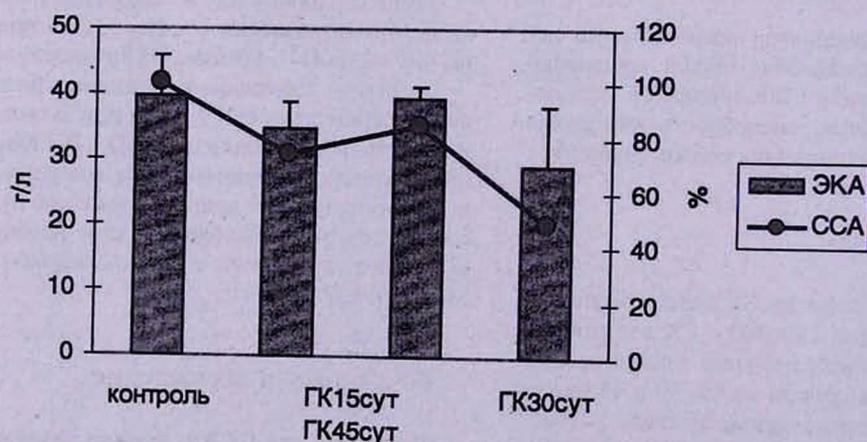


Рис. 1. Динамика изменений эффективности концентрации сывороточного альбумина и его связывающей способности у интактных и гипокинетических крыс

раженное повышение наблюдается на 15- и 45-е сутки ГК.

Учитывая тот факт, что характер модулирующего действия СЖК зависит от молярного соотношения СЖК/альбумин, нами было рассчитано также молярное соотношение СЖК/ОКА в различные сроки ГК (рис. 2). Известно, что при соотношении, равном 2 и менее, происходит аллостерическое увеличение связывающей способности, а при соотношении, равном более 2 – уменьшение [10,13,15]. Расчеты показали,

что на 15- и 45-е сутки ГК, когда выявлена пониженная ССА, соотношение СЖК/ОКА выше 3, а на 30-е сутки ГК, когда ССА незначительно понижена, соотношение СЖК/ОКА равно 2,29. На правомерность такой интерпретации взаимосвязи вышеперечисленных показателей в исследуемые сроки ГК указывает статистически достоверная отрицательная корреляционная связь на 15- и 45-е сутки ( $r=-0,44$  и  $r=-0,67$ , соответственно).

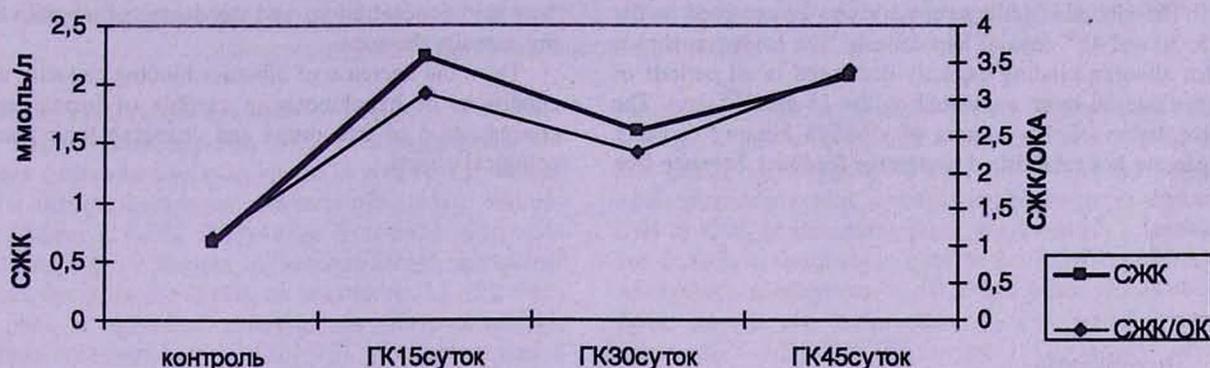


Рис. 2. Динамика изменений содержания СЖК сыворотки крови и молярного соотношения СЖК/ОКА в исследуемых группах. Уровень значимости различий по сравнению с контролем во всех группах составил  $p<0,001$

Таким образом, проведенные исследования показали, что в условиях продолжительной ГК происходит снижение ССА, наиболее выраженное на 15- и 45-е сутки. Общее количество альбумина в исследуемые сроки ГК не изменяется и сохраняется в пределах контрольных величин. Одной из основных причин снижения ССА в условиях ГК является резкое увеличение концентрации СЖК в крови экспериментальных животных. Наблюдаемое в условиях ГК снижение ССА

способно привести к увеличению концентрации свободной формы лекарств и изменению фармакологического эффекта последних. Кроме того, результаты сопоставления определения общего количества альбумина в сыворотке крови унифицированным методом с флюоресцентным методом (набор реактивов «Зонд-альбумин») дает основание рекомендовать последний для определения концентрации альбумина в клинических исследованиях.

Поступила 27.01.04

## Արբուսի կապող ունակությունը երկարատև սակավաշարժության պայմաններում

Ի.Ճ. Լոռյան

Հետազոտվել է արյան շիճուկի արբուսի կապող ունակությունը սակավաշարժության 15-, 30- և 45-րդ օրերին: Յույց է տրված, որ արբուսի կապող ունակությունը նվազել է սակավաշարժության

հետազոտվող բոլոր ժամանակաշրջաններում, սակայն առավել արտահայտված անկում դիտվել է 15 և 45-րդ օրերին: Սակավաշարժության պայմաններում արբուսի կապող ունակության նվազման

պատճառների պարզաբանումը բացահայտել է ազատ ճարպաթթուների և շիճուկային պլոմինի կապող ունակության իջեցման միջև հակադարձ կոռելյացիոն կապի առկայություն:

Եզրակացվում է, որ սակավաշարժության պայ-

մաններում պլոմինի կապող ունակության նվազումը ունակ է բերել դեղերի ազատ ձևերի կոնցենտրացիայի բարձրացման և վերջիններիս ֆարմակոլոգիական էֆեկտի փոփոխման:

## Albumin binding capacity under conditions of prolonged hypokinesia

I.Zh. Loryan

The albumin binding capacity was investigated on the 15, 30 and 45<sup>th</sup> days of hypokinesia. The study has shown that albumin binding capacity decreased in all periods of hypokinesia, more expressed on the 15 and 45<sup>th</sup> days. The elucidation of the reasons of albumin binding capacity decrease has established a negative feedback between free

fatty acid concentrations and the degree of albumin binding capacity decrease.

Thus, the decrease of albumin binding capacity under conditions of hypokinesia is capable of increasing the concentration of free drugs and changing their pharmacological effects.

## Литература

1. Акопян В.П. Гипокинезия и мозговое кровообращение. М., 1999.
2. Акопян В.П., Мелконян К.В., Самвелян В.М., Ширинян Э.А., Мирзоян Н.Р. Экспер. и клин. фармакология, 1997, 5, с. 31.
3. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине, кн. I. М., 1994.
4. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине, кн. II. М., 1998.
5. Коваленко Е.А. Гипокинезия (тез. докл.). М., 1997, с. 35.
6. Лопухин А.А., Добрецов Г.Е., Грызунов Ю.А. Бюл. экспер. биол. и мед., 2000, 130, 7, с.4.
7. Миллер Ю.И., Добрецов Г.Е. Клин. лаб. диагностика, 1994, 5, с. 20.
8. Носков В.Б. Гипокинезия (тез. докл.). М., 1997, с. 60.
9. Федоров И.В. Обмен веществ при гиподинамии. М., 1982, с. 68.
10. Черкас Л.П., Киричек Л.Т. Изучение фармакологической активности дигоксина и строфантина при гипокинезии различной продолжительности. Харьков, 1983.
11. Bhattacharya A.A., Grune T., Curry S. J. Mol. Biol., 2000, 303:721.
12. Booth F.W., Manu V. Chakravarthy J. Appl. Physiol., 2002, 93:3.
13. Goodman, q Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Copyright, 10/e, 2001.
14. Hamilton J.A. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2002, 67:65.
15. He X.M., Carter D.C. Nature, 1992, 358:209.
16. Vorum H., Honore B. J. Phar. Pharmacol., 1996, 48:870.
17. Petipas I., Ananyo A., Bhattacharya A.A., Sue Twine, JBC, 2001, 25:22804.
18. Schuster H.G., Pilz K.L. Med. labor.-diagn., 1979, 20:212.