

**ПРОСНИКОВА К. В., РЕВИНА Э. С., РЕВИН В. В., ГРОМОВА Н. В.,
СЕЙКИНА А. И., СТОЛБОВА Т. А., МАРТЫНОВА М. И.
ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА КРОВИ
ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ МИЕЛИНОВОГО НЕРВА**

Аннотация. Проведено исследование изменения показателей липидного состава крови при деструктивных процессах, происходящих в миелиновых нервах. Обнаружена зависимость количественных показателей липидного состава крови от длительности повреждения седалищного нерва у крыс. Можно утверждать, что повреждение миелинового нерва сопровождается изменениями липидного состава плазмы крови. Наиболее выраженные изменения наблюдаются в содержании холестерина и фосфолипидов плазмы крови.

Ключевые слова: миелиновый нерв, липиды, демиелинизация, холестерин, триглицериды, фосфолипиды, липидный обмен.

**PROSNIKOVA K. V., REVINA E. S., REVIN V. V., GROMOVA N. V.,
SEIKINA A. I., STOLBOVA T. A., MARTYNOVA M. I.
CHANGES IN BLOOD LIPID METABOLISM OF DAMAGED MYELIN NERVE**

Abstract. A study of changes in blood lipid parameters during destructive processes in myelin nerves is carried out. The dependence of quantitative lipid composition of blood on the duration of damage to the sciatic nerve of rats is found. The study shows that damage to the myelin nerve is accompanied by changes in the lipid composition of the blood plasma. The most perceptible changes are observed in the content of cholesterol and phospholipids of the blood plasma.

Keywords: myelin nerve, lipids, demyelination, cholesterol, triglycerides, phospholipids, lipid metabolism.

Введение. Проведение возбуждения является одной из основных функций миелиновых нервов. Данный процесс обусловлен наличием трансмембранного потенциала и в большей степени определяется составом и свойствами компонентов биологических мембран, в том числе и липидов [1].

Демиелизация структуры нерва и снижение содержания миелина приводят к потере возбудимости нерва, а, следовательно, к нарушению скорости проведения сигнала [2].

Наибольший интерес представляет исследование изменений состояния нерва при повреждении, где внимание уделяется липидам миелинового нерва [3]. Эти нарушения приводят к тому, что в кровь выделяются вещества, составляющие основу молекулярной организации миелина: триглицериды (ТГ), холестерин (ХЛ), фосфолипиды (ФЛ) [1].

Липиды играют важную роль в долгосрочном функционировании нерва, а вариации липидного состава проявляются при некоторых патологиях [4]. Демиелинизирующие заболевания являются важной и сложной проблемой клинической неврологии, что обусловлено их значительной распространенностью, трудностями своевременной диагностики и лечения. Особого внимания заслуживает ряд миелинокластических заболеваний, вызванных травматическим повреждением нервов [5].

Повреждения периферической нервной системы составляют значительную часть неврологической заболеваемости взрослого населения. В современном мире ни у кого не может вызывать сомнения факт, что иммунная система играет важную роль в повреждениях периферической нервной системы. Изучение взаимосвязи иммунных процессов, влияния внеклеточного матрикса и процессов регенерации и дегенерации при данных повреждениях открывает новые возможности для разработки перспективных подходов в лечении больных с повреждениями периферических нервов, различных заболеваниях нервной системы, давая возможность по-новому оценить суть и механизм данных процессов [6].

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись беспородные белые крысы (возраст 2,5–3 месяца) массой 200–300 г, полученные из вивария Медицинского института «МГУ им. Н.П. Огарёва». Работу с животными проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996). Животных содержали на стандартном рационе со свободным доступом к пище и воде, по 4 животных в клетке.

Материалом исследования послужила плазма крови крысы. Забор крови для биохимического анализа осуществлялся на вторые сутки после перевязки седалищного нерва из сердца в количестве 3 мл. Кровь, взятая для исследования, стабилизировалась гепарином в соотношении 9:1 и содержала 0,10 мг гепарина в 1 мл. Плазму крови отделяли центрифугированием в течение 3 мин при 3000 об/мин. Полученную плазму отбирали в сухую, химически чистую пробирку.

Наложение лигатуры на седалищный нерв крысы осуществляли путем оперативного вмешательства под хлороформным наркозом. Операционное поле обрабатывали по задней поверхности правого бедра крысы. Основным инструментом при выполнении рассечения тканей является скальпель. Мышцу либо расслаивали вдоль волокон, либо рассекали. При расслаивании вначале рассекали скальпелем перимизий, а затем с помощью двух сложенных пинцетов раздвигали мышцы в стороны. В некоторых случаях приходилось пересекать мышечные волокна и в поперечном направлении.

Седалищный нерв повреждали, осуществляя перевязку нитью. По окончании операции рану послойно зашивали.

Для предотвращения инфицирования раны все инструменты перед оперативным вмешательством обрабатывались медицинским спиртом. После этого крыс рассаживали в клетки отдельно от остальной группы [7].

С помощью автоматического фотометрического анализатора Chem Well 2910 в плазме крови определяли показатели липидного обмена (холестерин, фосфолипиды).

Принцип действия анализатора основан на измерении значений оптической плотности жидкой пробы и последующем пересчете в необходимый параметр (концентрацию) лабораторного теста в соответствии с методикой лабораторного исследования. Результат измерения отображается на дисплее в виде значений оптической плотности и концентрации образца [8].

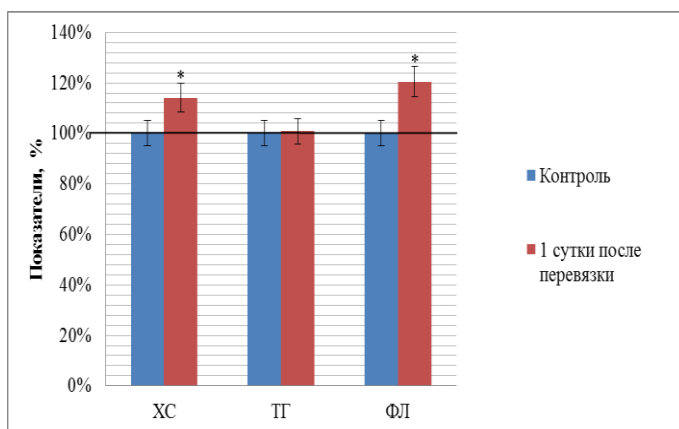
Количественное определение общего холестерина в плазме крови проводили с помощью ферментативно-колориметрического метода (CHOD-PAP).

Принцип метода: холестерин и его эфиры выделяются из липопротеинов под действием детергентов. Холестеринэстераза гидролизует эфиры холестерина, образующийся холестерин под действием холестериноксидазы окисляется. В процессе реакции образуется индикатор кинонимин из перекиси водорода и 4-аминофеназона в присутствии фенола и пероксидазы [9].

Концентрацию триглицеридов в крови проводили также ферментативно-колориметрическим методом, принцип которого заключается в следующем: триглицериды ферментативно гидролизуются на глицерин и свободные жирные кислоты под действием липопротеинлипазы. Концентрация глицерина определяется ферментативным методом, связанным с реакцией Триндера с образованием конечного продукта – кинонимина [10].

Метод определения количества фосфолипидов в плазме крови основан на гидролизе фосфолипидов фосфолипазой D и окислении высвобождающегося холина холиноксидазой (CHO) в бетаин с образованием перекиси водорода. В присутствии пероксидазы (POD) перекись водорода связывается с 4-аминофеназоном (4-AP) и дихлорфенолом с образованием комплекса кинонимина [11].

Результаты исследования и их обсуждение. При исследовании показателей липидного обмена крови крыс после перевязки седалищного нерва нами было выявлено, что уже через одни сутки после наложения лигатуры на седалищный нерв крысы наблюдаются достоверные изменения показателей общего ХЛ и ФЛ плазмы крови животного по отношению к контролю.



$*p \leq 0,05$

Рис. 1. Биохимические показатели ХЛ, ТГ и ФЛ крови крыс в норме и через 1 сутки после перевязки седалищного нерва.

Так, относительное количество общего холестерина плазмы увеличивалось на 14,13%, а относительное количество фосфолипидов – на 20,37%. Содержание триглицеридов в крови практически не изменилось (см. рис. 1).

Максимально выраженные изменения содержания ХЛ и ФЛ в плазме крови отмечались на 3 сутки после перевязки миелинового нерва крыс. Так, концентрация ХЛ и ФЛ после

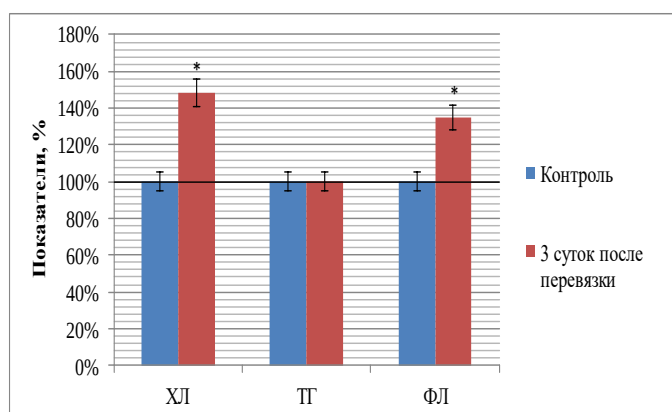
наложения лигатуры на миелиновый нерв увеличивалась на 48,37% и на 35,19% соответственно по отношению к контролю. Содержание ТГ плазмы крови не изменялось (см. рис. 2).

При повреждении миелинового нерва на 7 день наблюдались достоверные изменения содержания холестерина и фосфолипидов плазмы крови животного. Концентрация ХЛ и ФЛ при моделировании патологии миелинового нерва увеличивалась на 28,26% и на 11,11% соответственно по отношению к контрольной группе животных. При этом содержание триглицеридов в крови не изменялось (см. рис. 3).

Таким образом, можно утверждать, что повреждение миелинового нерва сопровождается изменениями липидного состава плазмы крови. Наиболее выраженные

изменения происходят касаются количества ХЛ и ФЛ плазмы крови.

Концентрация ТГ после травмы нерва не изменяется, так как время полужизни ТГ в плазме крови относительно невелико – они быстро гидролизуются и захватываются различными органами, главным образом, жировой тканью. Возможно, поэтому, мы не наблюдали существенных изменений количества ТГ в плазме крови.



$*p \leq 0,05$

Рис. 2. Биохимические показатели ХЛ, ТГ и ФЛ крови крыс в норме и через 3 суток после перевязки седалищного нерва.

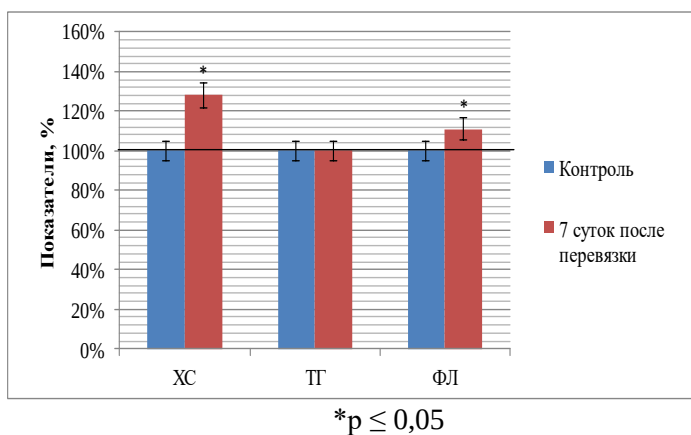


Рис. 3. Биохимические показатели ХЛ, ТГ и ФЛ крови крыс в норме и через 7 суток после перевязки седалищного нерва.

Заключение. При перевязке седалищного нерва крысы через 1, 3 и 7 суток наблюдается достоверное увеличение показателей общего ХЛ и ФЛ плазмы крови животного по отношению к контролю. Содержание ТГ в плазме крови остается практически неизменным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Храпай Е. В. Структурные нарушения при повреждении периферического нерва // Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в медицине и физиологии: Першої міжнар. научн. конф. – СПб., 2010. – С. 190–196.
2. Родионова Н. Н., Браже Н. А., Браже А. Р., Харитоненков И. Г., Максимов Г. В. Влияние белков спирохеты *Borrelia burgdorferi sensu lato* на возбудимость миелинового нерва // Бюллетени експериментальної біології і медицини. – Москва, 2007. – Т. 143, № 1. – С. 36–39.
3. Деринская Е. В., Ревин В. В., Юданов М. А. Регенерация поврежденного седалищного нерва крысы при действии стимулятора роста // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 1. – С. 37.
4. Loers G., Aboul-Enein F., Bartsch U. et al. Comparison of myelin, axon, lipid, and immunopathology in the central nervous system of differentially myelin-compromised mutant mice: a morphological and biochemical study. – 2004. – Vol. 27, No. 2. – P. 175–189.
5. Родионова Н. Н. Исследование демиелинизации нервного волокна при инфекционных процессах // Десятая Всероссийская научная конференция студентов-физиков и молодых ученых. – 2004. – С. 856–857.
6. Геращенко С. Б., Коломійцев А. К., Чайковський Ю. Б. Нейрон-судинно-десмальні взаємовідношення в нормі та патології / Периферійний нерв. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2005. – 342 с.

7. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Э. А. и др. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – Киев: Вища школа, 1983. – 432 с.
8. Руководство по применению анализатора фотометрического автоматического Chem Well / пер. с англ. – 2005. – 131 с.
9. Tiets N. N., Saunders W. B. Textbook of Clinical Chemistry, 1986. – 1917 p.
10. Buccolo G. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes // Clin. Chem. – 1993. – P. 476–482.
11. Takeya M. A new enzymatic method for determination of serum choline-containing phospholipids // Clin. Chem. – 1989. – P. 93–98.