

ВЛИЯНИЕ ТРИФЕНИЛТЕТРАДЕЦИЛФОСФОНИЯ БРОМИДА НА СКОРОСТЬ $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -ПРОТИВОТРАНСПОРТА В МЕМБРАНЕ ЭРИТРОЦИТА У ПАЦИЕНТОВ С ГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗЛИЧНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТЬЮ МЕМБРАН ПО НАТРИЮ

Ольга Валериановна Орлова*, Владимир Николаевич Ослопов,
Сидуллина Светлана Анатольевна

Казанский государственный медицинский университет

Реферат

Цель. Изучение влияния трифенилтетрадецилфосфония бромида $[(\text{PPh})_3\text{P}^+\text{C}_{14}\text{H}_{29}]\text{Br}^-$ на проницаемость мембран клеток по Na^+ путём определения скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита с позиции различного её исходного состояния.

Методы. Исследована кровь 10 здоровых добровольцев с различным квартильным распределением скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита: I квартиль (5 человек) — низкая проницаемость, III квартиль (5 человек) — умеренно высокая.

Результаты. Изменение скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита под влиянием исследуемой соли фосфония зависит от исходной генетически детерминированной проницаемости мембраны. У исследуемых, принадлежащих к III квартилю скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта, исходная проницаемость высокая, и при введении вещества C_{14} при концентрациях 0,001 и 0,005 мкМ отмечено повышение проницаемости по Na^+ . У исследуемых, принадлежащих к I квартилю (низкая исходная проницаемость мембраны), вещество C_{14} её не изменяло.

Вывод. Трифенилтетрадецилфосфония бромид увеличивает проницаемость мембран эритроцитов по Na^+ у исследуемых, принадлежащих к III квартилю по скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта, и не оказывает влияния у лиц, относящихся к I квартилю.

Ключевые слова: проницаемость мембран эритроцитов, трифенилтетрадецилфосфония бромид, $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорт.

INFLUENCE OF TRIPHENYLTETRADECYLPHOSPHONIUM BROMIDE ON THE $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -COUNTERTRANSPORT RATE IN THE ERYTHROCYTE MEMBRANE IN PATIENTS WITH GENETICALLY DIFFERENT PERMEABILITY OF CELL MEMBRANES TO SODIUM. O.V. Orlova, V.N. Osloпов, S.A. Sidullina, Kazan State Medical University, Kazan, Russia. **Aim.** To study the influence of triphenyltetradecylphosphonium bromide $[(\text{PPh})_3\text{P}^+\text{C}_{14}\text{H}_{29}]\text{Br}^-$ on the cell membranes permeability to Na^+ by determining the rate of $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -counter transport in erythrocyte membrane depending on its variable initial condition. **Methods.** Blood samples of 10 healthy volunteers with different $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -counter transport rate distribution in erythrocyte membrane were analyzed: I quartile (5 subjects) — low permeability, III quartile (5 subjects) — moderately high permeability. **Results.** $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -counter transport rate change in erythrocyte membrane under the influence of triphenyltetradecylphosphonium bromide depends on genetically determined initial membrane permeability. In subjects belonging to III quartile of $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -counter transport the initial membrane permeability is high, and after administration of 0.001 and 0.005 μM concentrations of $[(\text{PPh})_3\text{P}^+\text{C}_{14}\text{H}_{29}]\text{Br}^-$ membrane permeability to Na^+ increased. In subjects belonging to I quartile of $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -counter transport (low initial permeability) $[(\text{PPh})_3\text{P}^+\text{C}_{14}\text{H}_{29}]\text{Br}^-$ did not alter membrane permeability to Na^+ . **Conclusion.** Triphenyltetradecylphosphonium bromide increases erythrocyte membrane permeability to Na^+ in subjects belonging to III quartile of $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -counter transport and does not influence subjects belonging to I quartile of $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -counter transport. **Keywords:** erythrocyte membrane permeability, triphenyltetradecylphosphonium bromide, $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -counter transport.

Биологическое действие лекарственных веществ в значительной степени определяется особенностями их попадания в системный кровоток, а также в те органы и ткани, в которых происходит их специфическое действие, то есть их биодоступностью, на которую в свою очередь влияет проницаемость клеточных мембран.

Влияние на проницаемость мембран можно изучать различными способами. Известно, что в качестве искусственных мембран используют тефлоновые мембраны [11], мембраны из силиконов, полиуретана, 2-полигидроксиэтилен-метакрилата [12], производных целлюлозы. В настоящее время для изучения проницаемости стали использовать мембраны клеток крови. В клинической практике можно оценивать про-

ницаемость клеточной мембраны по Na^+ , изучая так называемую облегчённую диффузию Na^+ , осуществляемую белком-переносчиком, — $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорт ($\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -ПТ) по методике М. Canessa и соавт. (1980) [10]. В последние годы обнаружена различная эффективность лекарственных препаратов в зависимости от скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -ПТ в мембране эритроцита [6, 7, 9].

В.Н. Ослоповым [4, 5] были определены границы квартилей (КВ) популяционного (суммарно у мужчин и женщин) распределения величин скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -ПТ в мембране эритроцита (в мкМ Li^+): I КВ — 38–203, II КВ — 204–271, III КВ — 272–345, IV КВ — 346–730. Условно можно считать, что величины скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -ПТ I КВ соответствуют низкой проницаемости по Na^+ , II КВ — средней, III КВ — умеренно высокой, IV КВ — высокой.

Ранее нами была выработана методика ис-

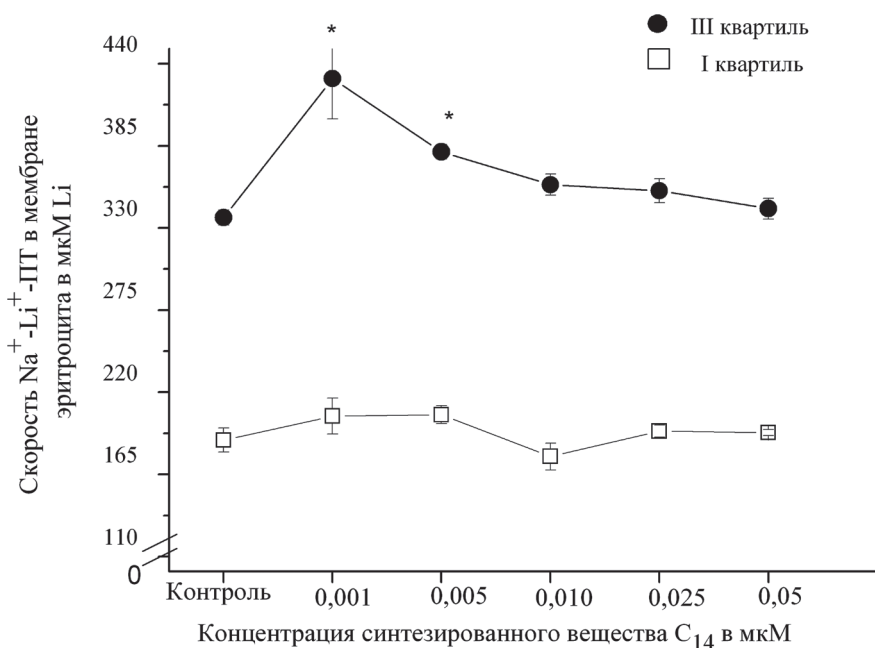


Рис. 1. Влияние вещества $[(PPh)_3P^+C_{14}H_{29}] Br^-$ на скорость Na^+Li^+ -противотранспорта (Na^+Li^+ -ПТ) в мембране эритроцита у людей с I и III квантилями скорости Na^+Li^+ -ПТ.

следования влияния испытуемого вещества на проницаемость клеточной мембраны по Na^+ *in vitro* в методе определения скорости Na^+Li^+ -ПТ [2]. В работе [3] было показано, что испытуемое вещество C_{14} влияет на проницаемость мембран клеток по Na^+ в определённых концентрациях. В то же время мы предположили, что это влияние может также зависеть от исходного генетически детерминированного состояния мембраны клетки.

Цель данного исследования — определить влияние трифенилтетрадецилфосфония бромида $[(PPh)_3P^+C_{14}H_{29}] Br^-$ на проницаемость мембран клеток по Na^+ *in vitro* путём измерения скорости Na^+Li^+ -ПТ в мембране эритроцита с позиции различного её исходного состояния.

Исследования проводили на 10 здоровых добровольцах, соответствующих I КВ (5 человек) и III КВ (5 человек) скорости Na^+Li^+ -ПТ. Ранее нами были подобраны параметры определения скорости Na^+Li^+ -ПТ в мембране эритроцита и концентрации этого вещества для исследования *in vitro* [3]. Изучали влияние различных концентраций этих веществ на скорость Na^+Li^+ -ПТ в мембране эритроцита *in vitro*. Определение скорости Na^+Li^+ -ПТ в мембране эритроцита (в микромолях лития на 1 л клеток в час) проводили по методу М. Canessa и соавт. [10], при котором изучают (путём определения концентрации ионов) обмен внутриклеточного лития в загруженных этим ионом клетках на внеклеточный натрий и магний из среды инкубации. Концентрацию лития регистрировали методом атомной абсорб-

ционной спектрофотометрии в эмиссионном режиме (СА-455).

Кровь в количестве 3 мл забирали из вены самотёком в пластиковые пробирки, смоченные гепарином (20 ЕД на 1 мл крови), содержимое перемешивали, пробирки помещали в контейнер с тающим льдом. Исследование состояло из следующих этапов: отделение эритроцитов, промывание эритроцитов, прединкубация (3 ч), промывание эритроцитов, инкубация (1 ч), определение концентрации лития, вычисление конечного результата.

Исследуемое вещество в различных концентрациях вносили в среду В (среда с Na^+ при 1-часовой инкубации). Исследования проводили со следующими концентрациями вещества C_{14} : 0,001; 0,005; 0,01; 0,025 и 0,05 мкМ. Оценку влияния изучаемого вещества на проницаемость клеточных мембран по Na^+ проводили путём подбора концентрации, которая не вызывала гемолиза эритроцитов, гемолиз определяли визуально.

Средняя величина скорости Na^+Li^+ -ПТ у людей с I КВ скорости Na^+Li^+ -ПТ составила 188 ± 8 мкМ Li, у людей с III КВ — 337 ± 5 мкМ Li ($p < 0,05$).

Изменение скорости Na^+Li^+ -ПТ в мембране эритроцита под влиянием вещества (рис. 1) зависело от исходной проницаемости мембраны по Na^+ . У исследуемых, принадлежащих к III КВ скорости Na^+Li^+ -ПТ (высокая проницаемость мембран), при введении вещества $[(PPh)_3P^+C_{14}H_{29}] Br^-$ в концентрациях 0,001 и 0,005 мкМ проницаемость по Na^+ увеличивалась ($p < 0,05$).

У исследуемых, принадлежащих к I KB скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+\text{-ПТ}$ (низкая проницаемость мембран по Na^+), под влиянием разных концентраций $[(\text{PPh})_3\text{P}^+\text{C}_{14}\text{H}_{29}] \text{Br}^-$ изменения скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+\text{-ПТ}$ не произошло ($p > 0,05$).

ВЫВОДЫ

1. Изменение проницаемости клеточной мембраны по натрию под влиянием вещества $[(\text{PPh})_3\text{P}^+\text{C}_{14}\text{H}_{29}] \text{Br}^-$ зависит от исходного генетически детерминированного состояния клеточной мембраны.

2. Исследуемое вещество по-разному влияет на скорость $\text{Na}^+\text{-Li}^+\text{-противотранспорта}$ в мембране эритроцита у исследуемых, принадлежащих к I и III квартилям по скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+\text{-противотранспорта}$. У людей с исходно высокой проницаемостью по Na^+ (III квартиль) вещество C_{14} (в дозах 0,001 и 0,005 мкМ) увеличивает скорость $\text{Na}^+\text{-Li}^+\text{-противотранспорта}$, а у лиц с исходно низкой проницаемостью по Na^+ (I квартиль) — не изменяет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галкина И.В., Мельникова Н.Б., Тудрий Е.В. и др. Взаимодействие солей фосфония с липидными компонентами мембран // Фармация. — 2009. — №4. — С. 35–38.
2. Орлова О.В., Егорова С.Н., Ослопов В.Н. Исследование влияния диметилсульфоксида на проницаемость клеточных мембран // Казан. мед. ж. — 2011. — Т. ХСII, №6. — С. 901–904.
3. Орлова О.В., Ослопов В.Н., Сидулина С.А. Влияние новых синтезированных веществ C_{10} , C_{12} , C_{14} , C_{16} , C_{18} на

проницаемость клеточных мембран для ионов натрия в модели *in vitro* // Казан. мед. ж. — 2012. — Т. ХСIII, №3. — С. 505–507.

4. Ослопов В.Н., Заббарова А.Т., Богданов Э.И. Клиническое значение определения ионотранспортных функций клеточных мембран при гипертонической болезни и её церебральных осложнениях // Казан. мед. ж. — 2000. — Т. XXXI, №3. — С. 211–215.

5. Ослопов В.Н., Пикуза О.И., Вахитов Х.М., Корablёва А.А. Скорость натриево-литиевого противотранспорта в мембране эритроцита у часто болеющих детей // Педиатрия. — 2006. — №3. — С. 21–24.

6. Ослопова Ю.В. Эффективность пропафенона в лечении экстрасистолии // Казан. мед. ж. — 2010. — №2. — С. 152–158.

7. Ослопова Ю.В., Ослопов В.Н., Арлеевский И.П. Лечение экстрасистолии // Практ. мед. — 2010. — №5. — С. 16–26.

8. Постнов Ю.В., Орлов С.Н. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран. — М.: Медицина, 1987. — 192 с.

9. Хасанов Н.Р., Ослопов В.Н. Эффективность монотерапии эналаприлом, нифедипином и метопрололом у больных эссенциальной гипертензией с различной скоростью облегчённой ионной диффузии // Казан. мед. ж. — 2010. — №6. — С. 755–758.

10. Canessa M., Adragna N., Solomon H. et al. Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension // New Engl. J. Med. — 1980. — Vol. 302. — P. 772–776.

11. Juhasz J., Mahashabde S., Sequeira J. Comparison of *in vitro* release rates of nitroglycerin by diffusion through a Teflon membrane to the USP method // Drug Dev. and Ind. Pharm. — 1996. — Vol. 22. — P. 1139–1144.

12. Pulat M., Abbasoglu U. Water and antimicrobial agent permeation of PU and PHEMA membranes in relation to their surface and bulk properties // J. Biomater. Appl. — 1995. — Vol. 9. — P. 363–371.