

## 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,  
Сидулина 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  $\text{Na}^+$  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 квартиллю скорости  $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта, исходная проницаемость высокая, и при введении вещества  $\text{C}_{14}$  при концентрациях 0,001 и 0,005 мкМ отмечено повышение проницаемости по  $\text{Na}^+$ . У исследуемых, принадлежащих к I квартиллю (низкая исходная проницаемость мембраны), вещество  $\text{C}_{14}$  её не изменяло.

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

**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  $\text{Na}^+$  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  $\mu\text{M}$  concentrations of  $[(\text{PPh})_3\text{P}^+\text{C}_{14}\text{H}_{29}] \text{Br}^-$  membrane permeability to  $\text{Na}^+$  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  $\text{Na}^+$ . **Conclusion.** Triphenyltetradecylphosphonium bromide increases erythrocyte membrane permeability to  $\text{Na}^+$  in subjects belonging to III quartile of  $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -counter transport and dose 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  $\text{Na}^+$ , изучая так называемую облегчённую диффузию  $\text{Na}^+$ , 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  $\text{Li}^+$ ): 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  $\text{Na}^+$ , II КВ – средней, III КВ – умеренно высокой, IV КВ – высокой.

Ранее нами была выработана методика ис-

Адрес для переписки: olqa570821@yandex.ru

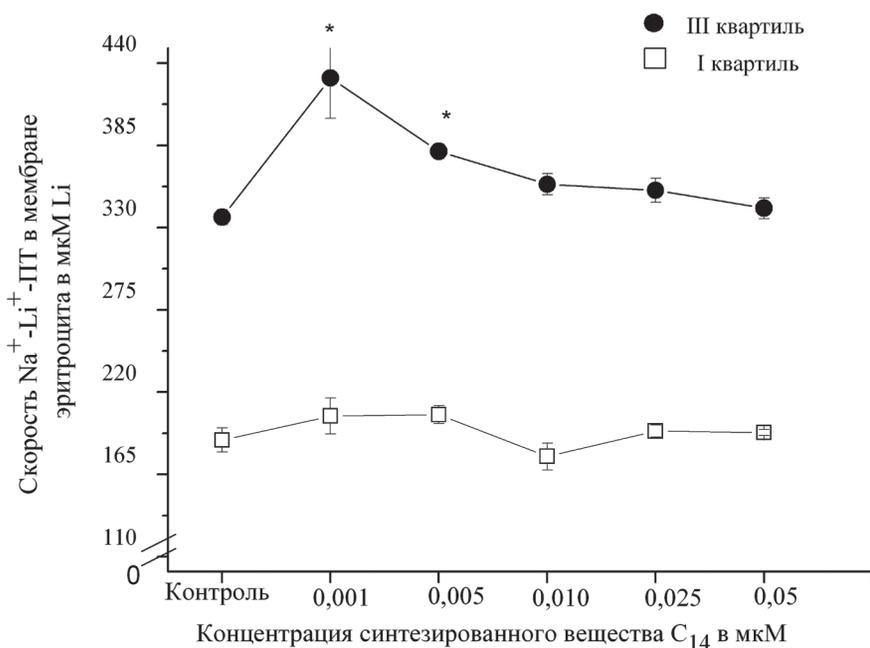


Рис. 1. Влияние вещества [(PPh)<sub>3</sub>P<sub>3</sub>C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>] Br<sup>-</sup> на скорость Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-противотранспорта (Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-ПТ) в мембране эритроцита у людей с I и III кватильями скорости Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-ПТ.

следования влияния испытуемого вещества на проницаемость клеточной мембраны по Na<sup>+</sup> *in vitro* в методе определения скорости Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-ПТ [2]. В работе [3] было показано, что испытуемое вещество C<sub>14</sub> влияет на проницаемость мембран клеток по Na<sup>+</sup> 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)<sub>3</sub>P<sub>3</sub>C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>] Br<sup>-</sup> на проницаемость мембран клеток по Na<sup>+</sup> *in vitro* путём измерения скорости Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-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<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-ПТ. Ранее нами были подобраны параметры определения скорости Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-ПТ в мембране эритроцита и концентрации этого вещества для исследования *in vitro* [3]. Изучали влияние различных концентраций этих веществ на скорость Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-ПТ в мембране эритроцита *in vitro*. Определение скорости Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-ПТ в мембране эритроцита (в микромолях лития на 1 л клеток в час) проводили по методу M. 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 (CA-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<sup>+</sup> при 1-часовой инкубации). Исследования проводили со следующими концентрациями вещества C<sub>14</sub>: 0,001; 0,005; 0,01; 0,025 и 0,05 мкМ. Оценку влияния изучаемого вещества на проницаемость клеточных мембран по Na<sup>+</sup> проводили путём подбора концентрации, которая не вызывала гемолиза эритроцитов, гемолиз определяли визуально.

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

Изменение скорости Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-ПТ в мембране эритроцита под влиянием вещества (рис. 1) зависело от исходной проницаемости мембраны по Na<sup>+</sup>. У исследуемых, принадлежащих к III КВ скорости Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup>-ПТ (высокая проницаемость мембран), при введении вещества [(PPh)<sub>3</sub>P<sub>3</sub>C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>] Br<sup>-</sup> в концентрациях 0,001 и 0,005 мкМ проницаемость по Na<sup>+</sup> увеличивалась (p < 0,05).

У исследуемых, принадлежащих к I KB скорости  $\text{Na}^+\text{-Li}^+\text{-ПТ}$  (низкая проницаемость мембран по  $\text{Na}^+$ ), 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  $\text{Na}^+$  (III квартиль) вещество  $\text{C}_{14}$  (в дозах 0,001 и 0,005 мкМ) увеличивает скорость  $\text{Na}^+\text{-Li}^+\text{-противотранспорта}$ , а у лиц с исходно низкой проницаемостью по  $\text{Na}^+$  (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., Сидуллина С.А. Влияние новых синтезированных веществ  $\text{C}_{10}$ ,  $\text{C}_{12}$ ,  $\text{C}_{14}$ ,  $\text{C}_{16}$ ,  $\text{C}_{18}$  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 ионтранспортных 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 пропafenона 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.