

М. И. АГАДЖАНОВ, Е. А. МЕЛИК-АГАЯН, В. Г. МХИТАРЯН

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ПЕРЕКИСЕЙ НА ДИНАМИКУ СОДЕРЖАНИЯ ЛИПИДНЫХ ПЕРЕКИСЕЙ В ТКАНЯХ

Установлено, что соотношение окислительной активности хлоропрена, гидроперекиси дифенилэтана, перекиси бензоила и гидроперекиси кумола 1:60:300:350. Показано, что при наших условиях эксперимента антиокислительная активность печени выше, чем мозга. Изучено также влияние указанных перекисей и хлоропрена на содержание липидных перекисей в ткани печени и мозга. Показаны фазовые изменения в содержании липидных перекисей в изучаемых тканях в зависимости от вводимого вещества и срока затравки.

Известно, что одной из основных функций липидов является создание различных пространственных структур, оболочек, мембран, клеток. Особенностью липидов клеточных структур является большое количество в них двойных связей, способствующее их легкой перекисидации. Литературные данные [6, 13] показывают, что в ходе цепного окисления липидов первичными молекулярными продуктами окисления являются перекиси.

Оказалось, что липидные перекиси в небольших количествах всегда встречаются в органах и тканях нормальных животных [10], принимают участие в процессах клеточного деления [1] и других физиологических реакциях организма.

В регуляции образования липидных перекисей важная роль принадлежит естественным антиоксидантам организма. Журавлев и др. [9] считают, что этот процесс осуществляется путем блокирования свободных радикалов. В тех же случаях, когда компенсаторные механизмы нарушены, например в облученном организме или при избыточном поступлении перекисных соединений экзогенного происхождения, накопление этих соединений в тканях может превысить нормальный уровень [4].

Было показано, что липидные перекиси принимают участие в образовании 7-гидроперекиси холестерина. Образование перекисей холестерина в тканях подтверждалось обнаружением промежуточных или конечных продуктов распада или восстановления перекисей [8].

Перед нами стояла задача изучить действие некоторых экзогенных органических перекисей на индукцию липидных перекисей в животном организме. В качестве перекисей мы использовали перекись бензоила, гидроперекиси кумола и дифенилэтана и хлоропрен, которые явно различаются по своей структуре. Включение в этот перечень хлоропрена объясняется тем, что токсическое действие его также обусловлено органическими перекисями [7].

Предстояло изучить окислительную способность этих перекисей, их влияние на антиокислительную активность (АОА) печени и мозга, на содержание липидных перекисей в тканях печени и мозга, а также на уровень холестерина.

Методика исследования. Опыты ставили на белых крысах-самцах весом 120—150 г, содержащихся на обычной диете. Перекиси и хлоропрен вводили внутривенно на карбоксиметилцеллюлозе. Доза перекисей составляла 20 мкМ/100 г веса животного, а доза хлоропрена—600 мкМ/100 г. Определение проводили при острой загрузке через 6 и 24 часа после однократного введения, а при хронической—после 7, 15 и 30 инъекций.

Каждая из приводимых величин является результатом статистической обработки 8—10 опытов.

Окислительную активность перекисей определяли по влиянию их на рост перекисного числа в метилолеате при длительном пропускании воздуха через окислительные ячейки при 37°C. Об антиокислительной активности судили по степени торможения окисления метилолеата экстрактом, содержащим антиоксиданты. Природные антиоксиданты извлекали из тканей животных в липидной фракции. Липиды растворяли в метилолеате, который затем окисляли при 37°C в окислительной ячейке при длительном продувании воздуха. О степени окисления судили по изменению перекисного числа. За характеристику АОА вытяжки бралась величина $\Delta\tau/\rho$, где $\Delta\tau$ — разница во времени (в часах) образования 0,02 мМ/г перекисей в метилолеате при окислении последнего с вытяжкой и без вытяжки соответственно, ρ —концентрация липидов в метилолеате [2].

Липидные перекиси определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [16] на спектроколориметре Спекол при 535 нм. Степень абсорбции выражали в количестве ТБК: абсорбция 535 нм $\times$ 100/г сырой ткани.

Холестерин определяли по методу, основанному на реакции Либермана-Бурхарда в печени после хронической загрузки хлоропреном в течение 30 дней

Результаты исследования и обсуждение. Как видно из рис. 1, окислительная активность различных перекисей далеко не одинакова. Так, если активность хлоропрена принять за 1, то активность гидроперекиси

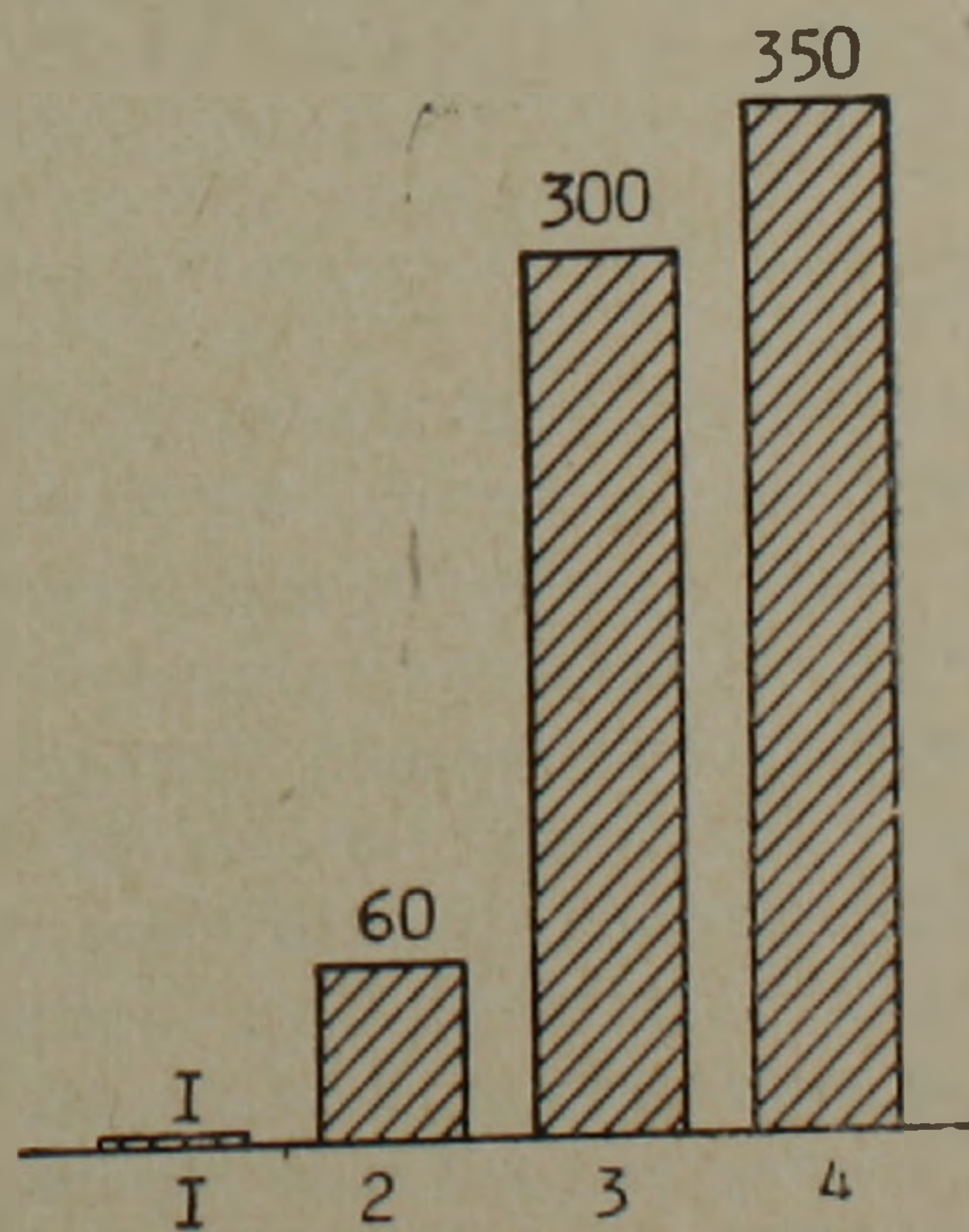


Рис. 1. Относительная окислительная активность различных органических перекисей. 1. Хлоропрен; 2. гидроперекись дифенилэтана; 3. перекись бензоила; 4. гидроперекись кумола.

дифенилэтана составляет 60, перекиси бензоила 300, а гидроперекиси кумола 350.

В следующей серии экспериментов определяли АОА тканей печени и мозга. На приводимых графиках представлены АОА печени (рис. 2) и мозга (рис. 3) как с чистой липидной вытяжкой данного органа, так и с добавлением соответствующих количеств перекиси бензоила и хлоропрена. Как видно из рис. 2, АОА печени составляет в норме 1600 час. мл/г.

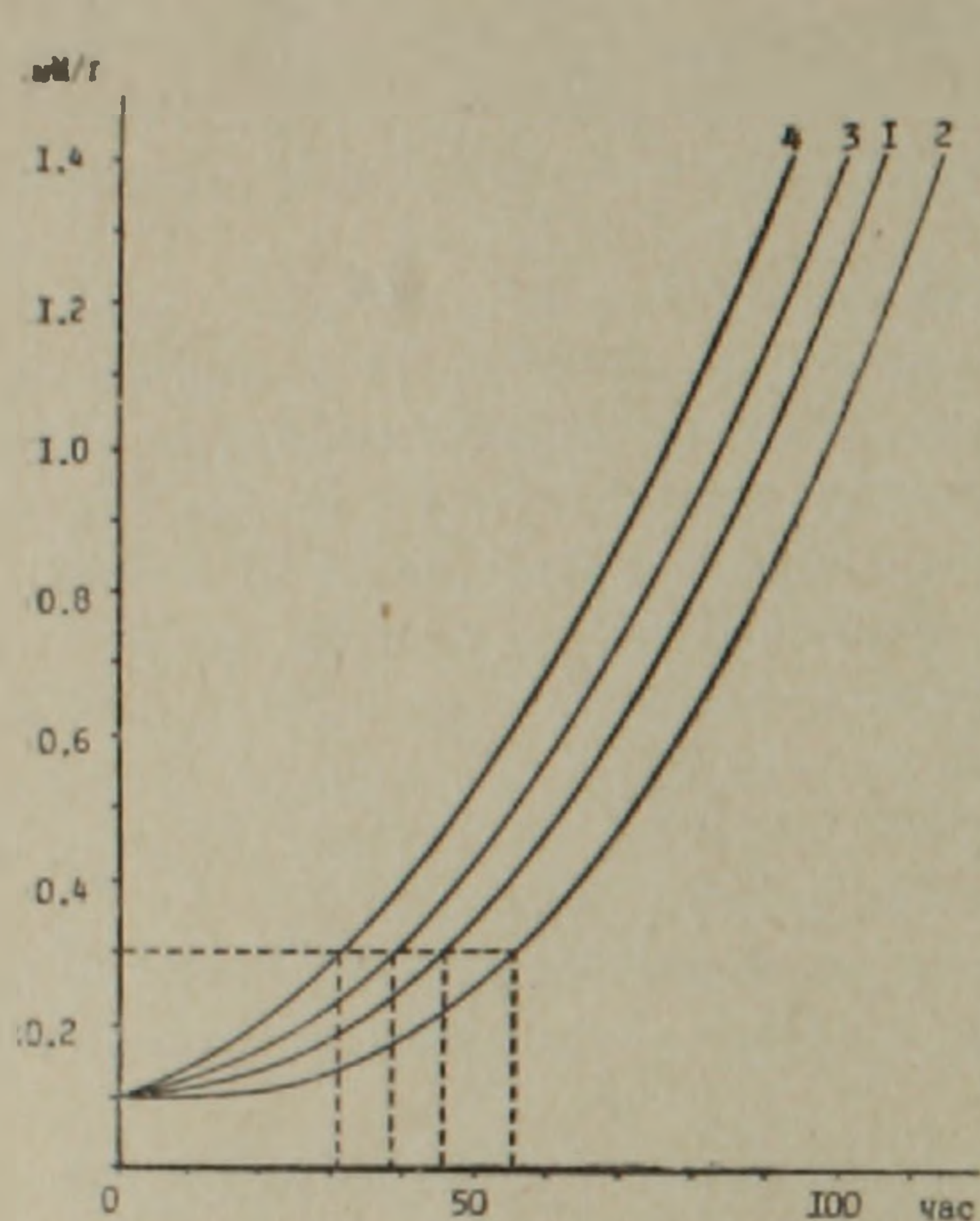


Рис. 2.

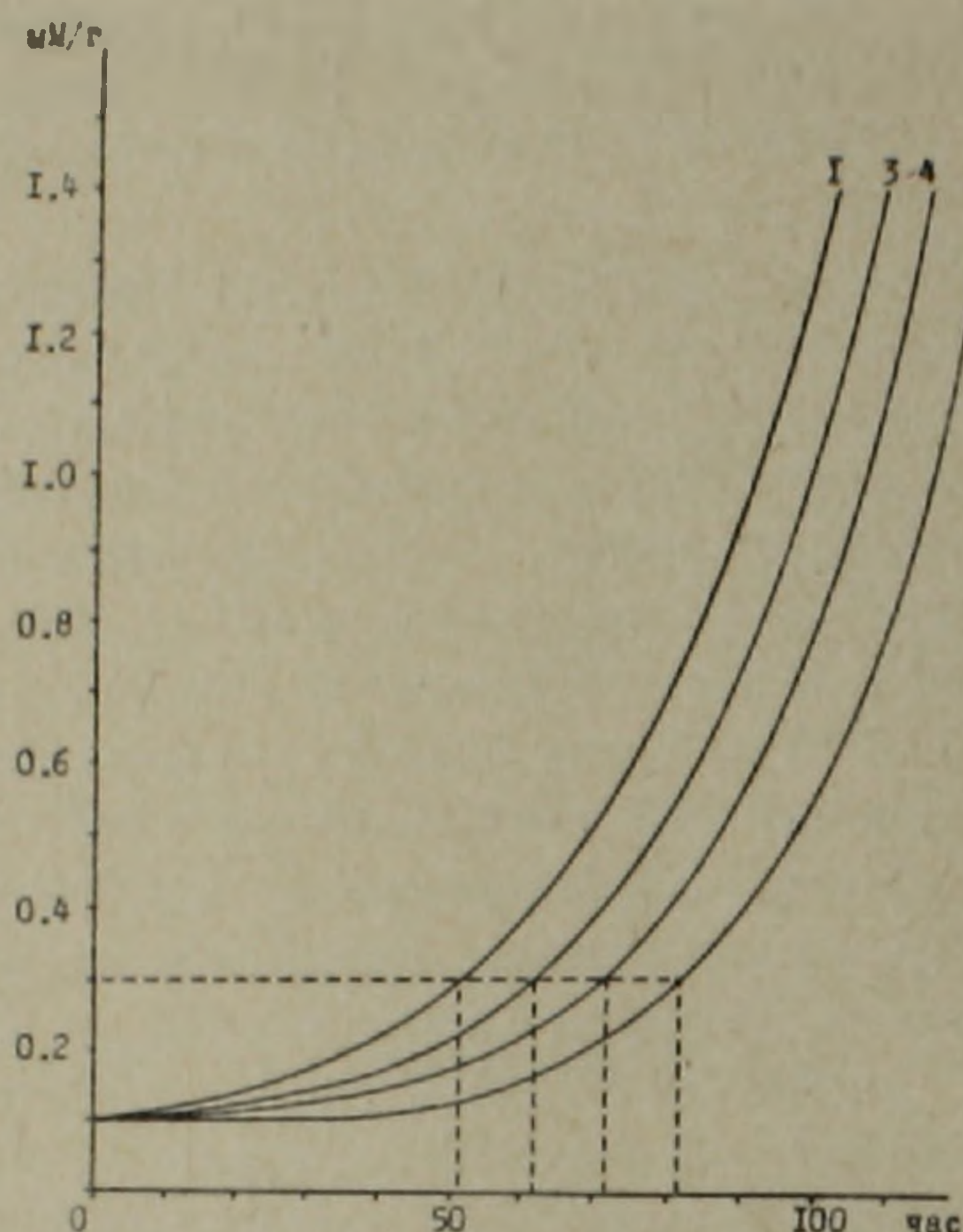


Рис. 3.

Рис. 2. АОА липидного экстракта печени в час. мл/г. 1. Окисление чистого метилолеата (фон); 2. метилолеат+экстракт печени (1600); 3. метилолеат+экстракт печени+0,001 М перекиси бензоила (550); 4. метилолеат+экстракт печени+0,3 М хлоропрена (1000).

Рис. 3. АОА липидного экстракта мозга в час. мл/г. 1. Окисление чистого метилолеата (фон); 2. метилолеат+экстракт мозга (600); 3. метилолеат+экстракт мозга+0,001 М перекиси бензоила (300 отриц.); 4. метилолеат+экстракт мозга+0,3 М хлоропрена (700 отриц.).

что соответствует данным Бурлаковой и сотр. [2]. При аэрировании 10 мл метилолеата с вытяжкой в присутствии 0,3 М хлоропрена АОА печени снижается до 1000 час. мл/г, а с 0,001 М перекиси бензоила—до 550 час. мл/г, не снимая, однако, АОА действия тканевого экстракта и не достигая исходного фона чистого метилолеата. Несколько иная картина наблюдается с липидным экстрактом мозга (рис. 3). Так, с чистым метилолеатом АОА мозга составляет 600 час. мл/г. При добавлении 0,001 М перекиси бензоила или 0,3 М хлоропрена она полностью исчерпывается, превышает уровень окисления чистого метилолеата и составляет соответственно 300 и 700 час. мл/г (отриц.). Таким образом (табл. 1), АОА мозга оказалась ниже, чем АОА печени, причем исчерпывается она быстрее. Кроме того, печень и мозг неодинаково реагируют на добавку различных перекисей. Так, в печени АОА снижается больше под действием

перекиси бензоила, чем хлоропрена, в то время как в мозге, наоборот, под действием хлоропрена она сильнее подавляется.

Наши данные не совпадают с данными лаборатории Журавлева [12], согласно которым АОА мозга выше, чем АОА печени, и согласуются с данными Бирн и Андерсона [15].

Следующая серия экспериментов проведена с внутрибрюшинным введением животным различных перекисей. В табл. 2 приведены данные по изменению содержания липидных перекисей (ТБК-реагирующих веществ) в мозге и печени белых крыс под влиянием гидроперекиси дифенилэтана. Показано, что при этом содержание липидных перекисей в мозге при остром отравлении снижается на 33,9 и 28,3% соответственно.

Таблица 1
Изменение АОА печени и мозга крыс под влиянием хлоропрена и перекиси бензоила

Липидный экстракт	Метилолеат + липидный экстракт	+0,001 М перекиси бензоила		+0,3 М хлоропрена	
	час. мл/г	час. мл/г	% снижения	час. мл/г	% снижения
Печень	1600	550	65,7	1000	37,5
Мозг	600	—300	150,0	—700	216,6

АОА характеризуется величиной $\Delta\tau/p$ (см. в тексте), которая выражается в час. мл/г.

Однако при хроническом отравлении уровень их после 7 дней повышается на 13,8, после 15 дней—на 7,8%, снижаясь после 30 дней на 15,7%.

Таблица 2
Изменения в содержании липидных перекисей в мозге и печени белых крыс под влиянием гидроперекиси дифенилэтана

	Контроль	Опыт				
		острое отравление		хроническое отравление		
		6 час.	24 час.	7 дней	15 дней	30 дней
Мозг	2809,5±38,9 n=30	1860,0±57,2 p<0,001	2015,0±97,6 p<0,001	3200,0±89,5 p<0,001	3028,5±101,8 p<0,05	2370,0±130,8 p<0,001
Печень	6228,4±314,7 n=30	5866,7±365,1 p<0,001	4052,5±41,0 p<0,001	4733,3±116,4 p<0,001	3142,8±251,3 p<0,001	4388,9±198,0 p<0,001

Перекись вводили внутрибрюшинно в дозе 20 мкМ/100 г веса. Содержание липидных перекисей выражали в количестве ТБК—реагирующих веществ: экстинкция при 535 нм×100/г сырого веса ткани.

При этом в печени при остром отравлении содержание их вначале почти не изменяется, снижаясь затем на 35%. При хронической за-

затравке имеет место стойкое снижение перекисей на 24, 49,6 и 29,6 % соответственно.

В мозге животных, подвергнутых воздействию перекиси бензоила (табл. 3), при остром отравлении липидные перекиси возрастают соответственно на 36,1 и 43,7 %, при длительной же затравке содержание их вначале возрастает на 46,6 %, затем нормализуется и к 30-му дню снижается на 24,4 % ниже нормы. В печени через 6 и 24 часа содержание их увеличивается на 43,3 и 57,3 %, после 7-дневной затравки — на 47,3 %, а после 15 и 30 дней снижается на 42,1 и 25,0 % соответственно.

Таблица 3

Изменения в содержании липидных перекисей в мозге и печени белых крыс под влиянием перекиси бензоила

	Контроль	О п ы т				
		острое отравление		хроническое отравление		
		6 час.	24 час.	7 дней	15 дней	30 дней
Мозг	$2233,1 \pm 137,7$ n=30	$3040,0 \pm 58,0$ p<0,001	$3210,0 \pm 51,6$ p<0,001	$3275,0 \pm 110,0$ p<0,001	$2260,0 \pm 102,0$ p>0,05	$1688,9 \pm 25,5$ p<0,001
Печень	$6000,7 \pm 168,2$ n=30	$8600,0 \pm 119,2$ p<0,001	$9440,0 \pm 327,7$ p<0,001	$8840,0 \pm 432,7$ p<0,001	$3475,0 \pm 185,3$ p<0,001	$4450,0 \pm 143,9$ p<0,001

Условия введения и способ выражения перекисей см. табл. 2.

Что касается гидроперекиси кумола (табл. 4), то в мозге после острого отравления уровень перекисных соединений возрастает вначале на 28,7 %, затем — на 41,9 %, после хронической затравки оказывается выше нормы на 113,1 %, однако после 15 и 30 дней затравки нормализуется. В то же время в печени содержание их вначале уменьшается на 29,9 % (через 6 час.), затем увеличивается на 77,5 % (через 24 час.).

Таблица 4

Изменения в содержании липидных перекисей в мозге и печени белых крыс под влиянием гидроперекиси кумола

	Контроль	О п ы т				
		острое отравление		хроническое отравление		
		6 час.	24 час.	7 дней	15 дней	30 дней
Мозг	$2369,6 \pm 85,6$ n=30	$3050,0 \pm 56,8$ p<0,001	$3362,5 \pm 82,4$ p<0,001	$5050,0 \pm 46,3$ p<0,001	$2450,0 \pm 78,0$ p>0,05	$2237,5 \pm 100,0$ p>0,05
Печень	$5211,0 \pm 95,2$ n=30	$3657,1 \pm 94,9$ p<0,001	$9250,0 \pm 135,0$ p<0,001	$6600,0 \pm 125,3$ p<0,001	$9000,0 \pm 146,6$ p<0,001	$5900,0 \pm 32,8$ p<0,001

Условия введения и способ выражения, см. табл. 2.

После хронического отравления уровень их остается соответственно на 26,6, 72,7 и 13,2% выше нормы. При отравлении большими дозами хлоропрена (табл. 5) содержание липидных перекисей в мозге через 6 час. снижается на 8,9%, оставаясь ниже нормы на 24,5% через 24 часа. При хроническом отравлении после 7-дневной затравки содержание перекисей снижается на 38,2, после 15-дневной—на 17,5%, а после одномесячной несколько возрастает (на 8,5%).

Таблица 5
Изменения в содержании липидных перекисей в мозге и печени белых крыс под влиянием хлоропрена

	Контроль	О п ы т				
		острое отравление		хроническое отравление		
		6 час.	24 час.	7 дней	15 дней	30 дней
Мозг	$3109,0 \pm 107,0$ n=30	$2833,3 \pm 72,6$ p<0,05	$2350,0 \pm 177,0$ p<0,001	$1922,2 \pm 46,4$ p<0,001	$2566,7 \pm 57,7$ p<0,001	$3375,0 \pm 110,1$ p>0,05
Печень	$5769,3 \pm 288,3$ n=30	$7162,6 \pm 291,1$ p<0,001	$6400,0 \pm 200,6$ p<0,001	$455,5 \pm 132,0$ p<0,001	$7888,8 \pm 120,6$ p<0,001	$3380,8 \pm 86,7$ p<0,001

Хлоропрен вводили внутрибрюшинно в дозе 600 мкМ/100 г веса. Способ выражения см. табл. 2.

В печени при остром отравлении установлено увеличение содержания перекисей на 24,1 и 10,9% соответственно. При хроническом же уровень их вначале снижается на 21,1, затем возрастает на 36,7 и, наконец, снова снижается на 41,5% по сравнению с нормой.

Интересные данные получены при определении содержания холестерина. Оказалось, что после одномесячной затравки уровень его в печени снижается с 376 мг% (в норме) до 290 мг%, т. е. на 22,9% (p 0,001).

Опыты по изучению окислительной способности различных перекисей дали нам возможность судить об относительной их агрессивности, помогли в вопросе выбора дозы для их внутрибрюшинного введения. Однако некоторое несоответствие между дозой вводимого хлоропрена и дозой перекиси (in vivo) с данными опытов (in vitro) связано с тем, что введение больших доз хлоропрена (больше 600 мкМ/100 г веса) вызывало гибель животных, что, очевидно, связано с его побочным действием.

Известно, что в организме основная часть липидных перекисей приходится на перекиси высших ненасыщенных жирных кислот, находящихся как в свободном состоянии, так и входящих в состав других липидов.

Определенная часть липидных перекисей представлена перекисями стерина [11], которые легко распадаются, давая сложную смесь конечных продуктов. В пользу этого, очевидно, свидетельствуют и наши данные о значительном снижении содержания холестерина в ткани печени при длительной затравке хлоропреном.

Введение в организм различных органических перекисей во всех случаях в неодинаковой степени индуцировало образование липидных перекисей, в различной степени воздействовало на запасы аскорбиновой кислоты в тканях.

Как следует из наших данных, АОА в печени выше, чем в мозге, причем добавление одинаковых доз перекисей усиливает окисление метилолеата с липидной вытяжкой мозга по сравнению с контролем, в то время как экстракт печени при тех же условиях все еще оказывает значительный АОА эффект.

Несоответствие наших данных с результатами, полученными в лаборатории А. И. Журавлева, связано, возможно, с различными методами экстракции липидов. В литературе имеются указания на то, что АОА печени выше, чем мозга. Так, в работах Бирн и Андерсона [14], Шарма и Кришна Мурти [15] показано, что образование липидных перекисей в мозговой ткани происходит значительно легче, чем в печеночной.

Как известно, уровень перекисных соединений определяется содержанием естественных антиоксидантов, а также факторами, инициирующими процесс липидной пероксидации.

Партешко [9] наблюдала, что в условиях систематического поступления липидных перекисей с пищей в организм животных антиокислительные возможности печени оказываются недостаточными, и липидные перекисные соединения проходят через печень, не будучи инактивированными, происходит накопление их в тканевом жире и в других тканях. Этот факт согласуется с имеющимися в литературе данными о том, что природные антиоксиданты с самими перекисями либо не реагируют, либо реагируют в малой степени. Действие же тканевых антиоксидантов основано на взаимодействии их не с перекисями, а со свободными радикалами, с образованием малоактивных радикалов антиоксидантов, неспособных продолжать окислительную цепь [3].

В наших опытах введение перекисных соединений различной природы вызывало фазовые изменения в содержании липидных перекисей.

На основании вышесказанного можно заключить, что систематическое поступление извне различных органических перекисей приводит к частичной их инактивации антиоксидантами печени. Однако значительная их часть проникает через печеночный барьер, попадает в ткани печени и мозга, вызывая в них липидную пероксидацию.

Нашей дальнейшей задачей является изучение при тех же условиях эксперимента динамики содержания в тканях различных природных антиоксидантов- α -токоферола и его производных, аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот, ответственных за процесс инактивации свободных радикалов и липидных перекисей.

Մ. Ի. ԱՂԱՋԱՆՈՎ, Ե. Ա. ՄԵԼԻՔ-ԱՂԱՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԵԼԻՔԱՐՅԱՆ

ՕՐԴԱՆԱԿԱՆ ՊԵՐՕՔՍԻԴՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀՅՈՒՍՎԱՄՔՆԵՐՈՒՄ ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ՊԵՐՕՔՍԻԴՆԵՐԻ ՔԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Քլորոպրենի, դիֆենիլէթանի, կումոլի հիդրոպերօքսիդների և բենզոիլ պերօքսիդի օքսիդացնող ակտիվությունը համապատասխանաբար հարաբերվում են 1:60:300:350: Լյարդի և ուղեղի հյուսվածքների հակաօքսիդանտային հատկության ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ փորձնական պայմաններում Լյարդի հակաօքսիդանտային հատկությունը ավելի բարձր է, քան ուղեղինը: Ուսումնասիրված է նաև վերոհիշյալ պերօքսիդների քլորոպրենի ազդեցությունը լիպիդային պերօքսիդների քանակության վրա Լյարդում և ուղեղում:

Բենզոիլ պերօքսիդի, կումոլի հիդրոպերօքսիդի և քլորոպրենի թունավորման բոլոր ժամկետներում, բացառությամբ 30 օրվա, ուղեղում և Լյարդում պերօքսիդացման պրոցեսը եղել է ուժեղ, իսկ նույն պայմաններում դիֆենիլէթանի հիդրոպերօքսիդից դիտվել է այդ պրոցեսի ինտենսիվության իջեցում:

Ամենամեծ քանակությամբ պերօքսիդներ հյուսվածքներում առաջացել են կումոլի հիդրոպերօքսիդի ազդեցությունից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бурлакова Е. Б. Биофизика, 12, 1, 82, 1967.
2. Бурлакова Е. Б., Дзюба Н. М., Палмина Н. И., Эмануэль Н. М. ДАН СССР, 163, 5, 1278, 1965.
3. Бурлакова Е. Б., Дзюба Н. М. Биофизика, 11, 1, 54, 1966.
4. Жуланова З. И. Радиобиология, 1, 1, 70, 1961.
5. Журавлев А. И., Поливода А. И., Тарусов Б. И. Радиобиология, 1, 3, 321, 1961.
6. Медведев С. С. В сб.: Проблемы кинетики и катализа, 1940.
7. Мхитарян В. Г. Докторск. дисс., Ереван, 1964.
8. Невзвецкий С. А., Панюков А. Н., Шпак Т. А. Биохимия, 18, 315, 1935.
9. Партешко В. Г. Успехи совр. биологии, 68 2(5), 192, 1969.
10. Тарусов Б. И. В сб. Биoluminesценция. М., 206, 1965.
11. Физер Л., Физер М. Стероиды. М., 1964.
12. Филиппов Ю. Н., Коровина И. А., Журавлев А. И. В сб.: Свободнорадикальные процессы в биологических системах, 36, 1966.
13. Эмануэль Н. М. В сб.: Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений. М., 7, 73, 1964.
14. Bieri J. A., Anderson A. A. Arch. Biochem. Biophys. 90, 105, 1960.
15. Jharma T. K., Krishna Murti C. R. Indian Journal of Exper. Biol., 1, 5, 1963.
16. Tappel A. L., Zalkin H. Arch. Biochem. Biophys. 80, 326, 1959.