

Ю. В. БАБОК, К. Г. КАРАГЕЗЯН

ОБМЕН ФОСФОЛИПИДОВ И СОСТОЯНИЕ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ ФОСФАТИДОГЕНЕЗА В ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАНКРЕАТИТЕ И НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЙ ТИОСУЛЬФАТА

В различные сроки после начала острого экспериментального панкреатита (ОЭП) в печеночной ткани белых крыс изучали содержание фосфолипидов (Фл), отдельных метаболитов фосфатидогенеза, динамику активности соответствующих ферментных систем и действие тиосульфата натрия на эти показатели. Результаты проведенных исследований позволяют судить о значительной глубине нарушений в обмене Фл при ОЭП и о целесообразности применения тиосульфата натрия в условиях данной патологии.

Несмотря на многочисленные работы, посвященные изучению метаболических нарушений при остром панкреатите, многие стороны патогенеза этого тяжелого заболевания поджелудочной железы до сих пор не выяснены. Отсутствие единого мнения об этиологии и патогенезе заболевания, трудность диагностики, тяжесть клинического течения и недостаточная эффективность лечения, делают проблему острого панкреатита особенно актуальной.

В изучении патогенеза этого заболевания большое значение имеют исследования экспериментального характера, позволяющие в динамике проследить за изменениями в электролитном, белковом, углеводном и липоидном обменах.

В плане биохимических аспектов патогенеза ОЭП, в частности, большой интерес представляют изменения в обмене Фл, роль которых в живом организме весьма многогранна.

Вышеизложенное, а также ведущая роль печени в фосфолипидном обмене послужили основанием для изучения динамики содержания суммарных Фл и их отдельных представителей в печеночной ткани белых крыс в различные сроки возникновения ОЭП: в 1-, 3-, 7-, 14- и 30-й дни. Кроме того, в печени изучались сдвиги в уровнях свободного глицерина, L- α -глицерофосфата (ГФ) (являющегося связующим звеном между углеводным и липидным обменами), активности глицерокиназы—ГК (КФ 2.7.1.30) и L- α -глицерофосфатдегидрогеназы—ГФД (КФ 1.1.1.8). Последняя, как известно, принимает участие в двух противоположно направленных процессах—реакции окисления ГФ в диоксиацетонфосфат—ДОАФ (ГФД-1) и реакции восстановления последнего в ГФ (ГФД-2). В сферу наших исследований входило также параллельное изучение эффектов тиосульфата натрия на изменение количест-

вешного и качественного составов Фл, содержания свободного глицерина, ГФ, активности ГК и ГФД в печеночной ткани белых крыс в те же сроки после начала ОЭП.

Доказаны антисептические, противовоспалительные, болеутоляющие и пр. свойства тиосульфата. В литературе не имеется указаний о применении тиосульфата в терапии острых или хронических панкреатитов, в связи с чем изучение роли этого препарата при ОЭП представляет несомненный научно-практический интерес.

Материал и методика. Исследования проводили на трех группах белых крыс-самцов весом 170—200 г, подразделенных на интактных, сложнопереживанных (лапаротомия) и с ОЭП без введения и с введенным тиосульфата. ОЭП вызывали охлаждением хлорэтилом поджелудочной железы, обнаженной оперативным путем [1].

На фоне заболевания тиосульфат вводили внутривенно из расчета 50 мг (в среднем) на 100 г веса (ежедневно). Крыс декапитировали через 1, 3, 7, 14, 30 дней после начала заболевания, печень извлекали на холоду, из ацетоновых порошков ее готовили хлороформ-метанольные экстракты Фл, которые фракционировали методом бумажной хроматографии [2—4]. В последующих сериях наших исследований использовали митохондриальную фракцию, полученную при 17 000 g.

Свободный глицерин определяли по методу Бейли [5]. Данные выражали в мг на 1 г свежей ткани. Содержание ГФ, активность ГК и ГФД-1 определяли согласно микроспектроскопической методике, описанной Кеннеди [6].

Уровень ГФ определяли в 3 мл инкубационной среды, состоящей из 0,94 мл дистиллированной воды, 1,8 мл $MgCl_2$ -гидразин-глицинового буфера (рН 9,8), 0,05 мл 0,02 М НАД, 0,014 мл ГФД (140 мг кристаллического белка) и 0,2 мл безбелкового нейтрализованного экстракта.

Активность ГК определяли в реакционной среде, состоящей из 0,94 мл дистиллированной воды, 1,8 мл $MgCl_2$ -гидразин-глицинового буфера (рН 9,8), 0,05 мл 0,02 М НАД, 0,014 мл ГФД, 0,05 мл 0,075 М АТФ, 0,05 мл 0,1 М глицерина; общий объем пробы доводили до 3 мл.

Активность ГФД-1 определяли в таком же объеме инкубационной среды, состоящей из 0,94 мл дистиллированной воды, 1,8 мл $MgCl_2$ -гидразин-глицинового буфера, рН 9,8, 0,05 мл, 0,02 М НАД, 0,2 мл, 0,1 М $L-\alpha$ -ГФ.

Активность ГФД-2 определяли по методу Бейзенгерца и соавт. [7] в 3 мл инкубационной среды, состоящей из 2,86 мл 3-этанол-аминового буфера, 0,01 мл 0,02 М НАД- H_2 , 0,1 мл $2,3 \cdot 10^5$ М ДОАФ. В качестве источника ДОАФ использовали смесь фосфотриоз, полученную согласно методике Мейергофа [8]. Данные о содержании ГФ и активности ГК и ГФД выражали в микромолях на 1 г свежей ткани.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты проведенных исследований (рис. 1 и 2), развитие ОЭП у белых крыс сопровождается заметными отклонениями в уровне суммарных и индивидуальных Фл в печеночной ткани.

Количество суммарных Фл после кратковременного незначительного увеличения, наблюдавшегося через одни сутки после начала заболевания, чувствительно убывало и до завершения периода наблюдения не возвращалось к норме. Первоначальное небольшое увеличение содержания суммарных Фл обуславливалось нарастанием концентрации большинства фракций Фл (лецитинов—Л, лизолецитинов—ЛЛ, серинфосфатидов—СФл, этаноламинфосфатидов—ЭФл, сфингомиелинов—СФМ, полиглицерофосфатидов—ПГФ). В дальнейшем отмечались ин-

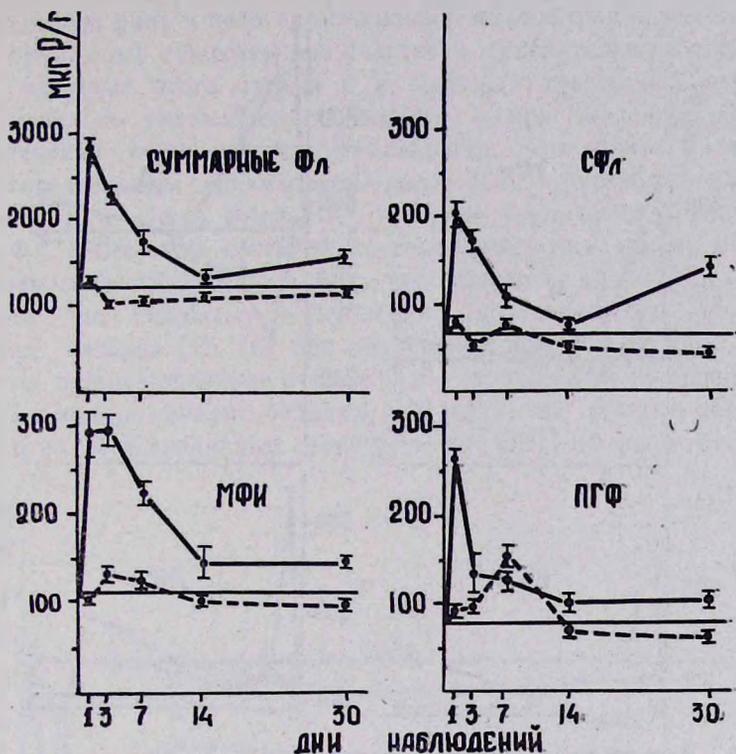


Рис. 1. Динамика содержания суммарных и кислых фосфолипидов (мкг липидного фосфора на 1 г свежей ткани) в печени белых крыс в различные сроки течения ОЭП.

Примечание: здесь и на рисунках 2, 3, 4 параллельная к оси абсцисс линия—контроль (ложная операция), пунктирная линия—панкреатит, сплошная линия—панкреатит с введением тиосульфата.

интересные межфракционные сдвиги в содержании отдельных представителей ФЛ, среди которых особого внимания заслуживают количественные соотношения между Л и ЛЛ.

Известно, что ЛЛ придает важное значение как одному из основных патогенетических факторов в возникновении и развитии ОЭП [9, 10]. Во все исследованные сроки заболевания количество ЛЛ было намного выше нормы, и это в основном соответствовало низкому уровню Л и общего липидного фосфора.

Введение тиосульфата сопровождалось достоверным повышением в печени содержания как суммарных, так и индивидуальных ФЛ. Наиболее выраженное (более чем в 2 раза) увеличение количества суммарных ФЛ наблюдалось в 1-й день заболевания после первой же инъекции тиосульфата. В дальнейшем (14-й день) количество липидного фосфора постепенно приближалось к норме и затем вновь возрастало (30-й день). Примечательно, что параллельно описанным сдвигам под действием тиосульфата происходили аналогичные изменения и в динамике содержания индивидуальных ФЛ.

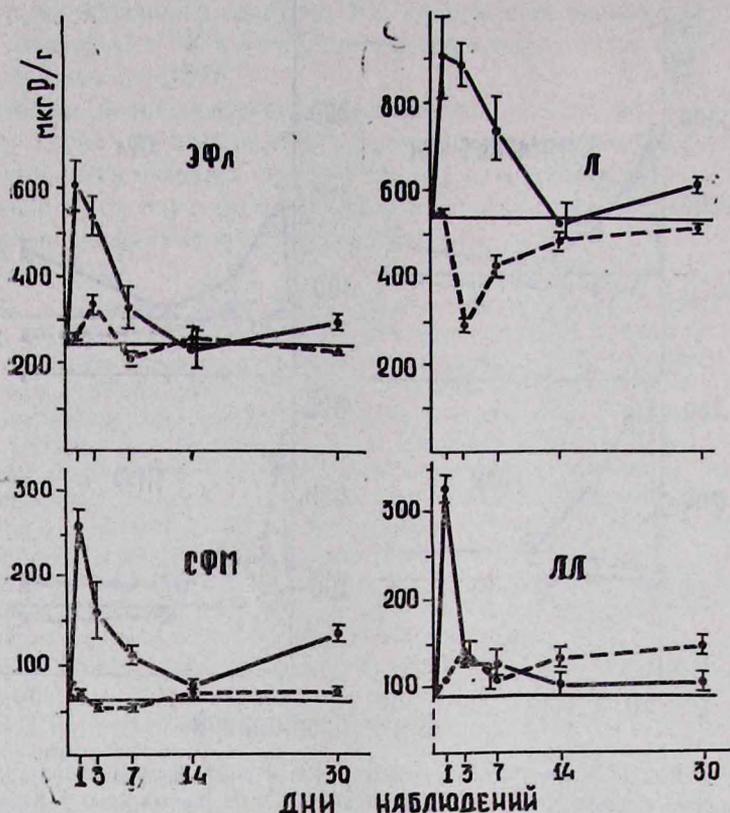


Рис. 2. Динамика содержания нейтральных фосфолипидов (мкг липидного фосфора на 1 г свежей ткани) в печени белых крыс в различные сроки течения ОЭП.

Согласно концепции Крепса (1967) [11] придается исключительно важное значение филогенетически сложившемуся постоянству в качественном и количественном наборе Фл центральной нервной системы. По-видимому, это является одним из необходимых условий в обеспечении нормального формирования определенных физиологических функций головного мозга. Исследованиями Карагезяна и сотр. [12—14] была показана правомерность стмеченной концепции и в отношении других органов и систем. В свете сказанного представляло интерес проследить за изменениями в количественных соотношениях двух функционально различных групп—Фл-кислых (МФИ, СФл, ПГФ) и нейтральных—(Л, ЛЛ, СФМ и ЭФл) в печеночной ткани животных с ОЭП до и после введения тиосульфата.

Результаты проведенных наблюдений показали, что при ОЭП в печеночной ткани белых крыс коэффициент (К) отношения суммы нейтральных Фл (НФл) к сумме кислых (КФл) постепенно понижается к 7-му дню заболевания, в основном за счет убыли НФл, особенно Л. В последующем отмечалось значительное увеличение К за счет относительного уменьшения КФл в общей сумме Фл. Эти нарушения могут

играть огромную роль в патогенезе жировой инфильтрации печени, так как Фл принимают существенное участие в окислительно-восстановительных процессах этого органа и в реакциях транспорта жира из него. Отмечалось уменьшение изученного К при введении тиосульфата в течение всего периода наблюдения, что может быть объяснено относительным увеличением доли КФл (метаболически более активных) в общей сумме Фл, на фоне увеличения уровня всех фракций Фл. Инъекции тиосульфата сопровождалась одновременным увеличением содержания также ЛЛ, что, казалось, должно было способствовать еще большему усугублению патологического процесса. Однако ряд авторов [15, 16] при объяснении патогенетической роли ЛЛ придает важное значение относительно стабильному их балансированию с Л и сывороточными белками. По нашим же данным, величина К Л/ЛЛ (рис. 3) в различные сроки течения ОЭП на фоне введения

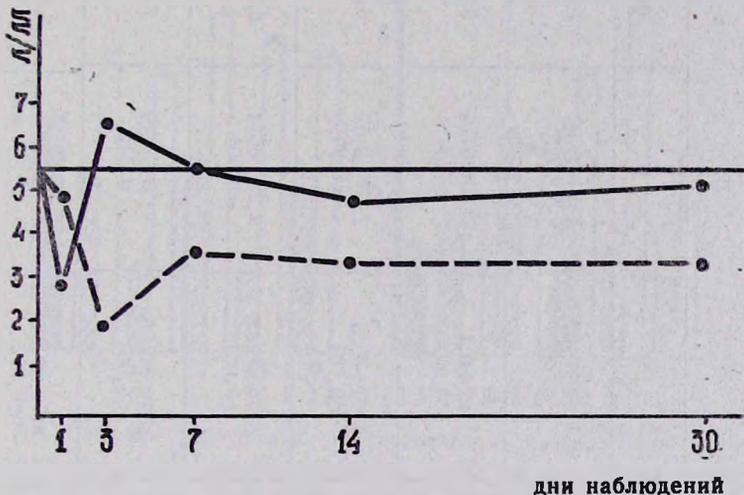


Рис. 3. Динамика отношения содержания лецитинов к количеству лизолецитинов в печеночной ткани белых крыс в различные сроки течения ОЭП.

тиосульфата колеблется в пределах, близких к норме, чего нельзя сказать в отношении случаев ОЭП без дачи тиосульфата.

Изучение динамики активности ферментных систем, участвующих в обмене ГФ (важнейшего компонента в биосинтезе глицеролипидов), при ОЭП (табл.), позволило выявить интересные, на наш взгляд, закономерности. При этом в острой фазе заболевания (1- и 3-й дни) бросалось в глаза достоверное повышение активности ГК и ГФД-1 с последующим спадом. Следовательно, в острой фазе развития ОЭП, помимо активации глицерокиназного пути образования ГФ, происходит также усиление процесса окисления последнего в ДООФ. Что касается ГФД-2, то кроме незначительного повышения ее активности на 3-й день заболевания во все остальные сроки исследования она была ниже нормы, что свидетельствует о второстепенности гликолитического пути образования ГФ при ОЭП.

Таблица

Динамика активности глицеркиназы (ГК), глицерофосфатдегидрогеназы в реакциях окисления L-α-глицерофосфата (ГФД-1) и восстановления диоксиацетонфосфата (ГФД-2) в печени белых крыс в различные сроки течения ОЭП (мкМ на 1 г сысжей ткани)

Ферменты	Группы животных		Дни наблюдений					
	контроль	опыт	1	3	7	14	30	
ГК	0,97±0,02	I	$M \pm m$ P	1,89±0,09 <0,001	1,53±0,07 <0,001	1,17±0,44 <0,01	0,68±0,05 <0,001	0,94±0,06 <0,01
		II	$M \pm m$ P	1,07±0,1 <0,001	1,60±0,16 <0,02	0,75±0,08 <0,002	1,22±0,06 <0,001	1,31±0,05 <0,001
ГФД-1	6,70±0,24	I	$M \pm m$ P	7,94±0,51 <0,001	7,97±0,59 <0,001	6,56±0,14 <0,05	3,05±0,28 <0,001	7,90±0,40 <0,001
		II	$M \pm m$ P	6,70±0,41 <0,001	9,23±0,74 <0,001	6,20±0,35 <0,05	7,27±0,45 <0,001	8,68±0,65 <0,001
ГФД-2	8,90±0,4	I	$M \pm m$ P	7,94±0,25 <0,001	9,50±0,19 <0,001	7,76±0,28 <0,001	6,95±0,15 <0,001	7,36±0,06 <0,001
		II	$M \pm m$ P	8,72±0,3 <0,002	9,10±0,02 <0,01	8,61±0,09 <0,001	10,16±0,35 <0,001	7,16±0,2 <0,01

I—панкреатит без введения тиосульфата, II—панкреатит с введенным тиосульфата. Контроль—нормальные животные. Данные группы I сравнивали с контролем, а группы II—с группой I.

Учитывая специфику изменений в активности указанных ферментных систем, мы сочли необходимым предпринять одновременное изучение количественных изменений содержания свободного глицерина и ГФ в известных условиях эксперимента. Как показали результаты проведенных наблюдений, во все исследованные сроки течения ОЭП (рис. 4) отмечалось понижение содержания свободного глицерина (наиболее четко выраженное на 3- и 14-й дни) с одновременным увеличением количества ГФ. Этот факт согласуется с активацией глицерокиназного пути образования ГФ и с описанным выше понижением содержания Фл.

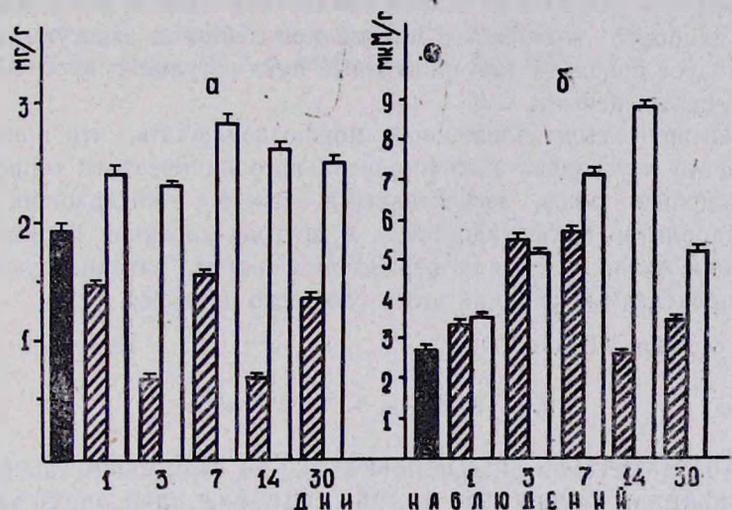


Рис. 4. Динамика содержаний а) свободного глицерина (мг на 1 г свежей ткани) и б) L-α-глицерофосфата (мкМ на 1 г свежей ткани) в печени белых крыс в различные сроки течения ОЭП. ■ Контроль, ▨ панкреатит без введения тиосульфата, □ панкреатит с введенным тиосульфатом.

Введение тиосульфата сопровождалось уменьшением активности ГФ в острой фазе заболевания (кроме 3-го дня) и увеличением при переходе его в хроническую фазу. Подобная закономерность наблюдалась и в отношении динамики активности ГФД-1, в то время как активность фермента в обратной направленной реакции изменялась в сторону нормализации.

Таким образом, введения тиосульфата сопровождалось развитием сдвигов, явно противоположных картине ОЭП без введения тиосульфата. Примечательно, что в присутствии последнего наблюдалось заметное возрастание количества свободного глицерина. При этом интересная закономерность была отмечена в отношении динамики содержания ГФ. На фоне введения тиосульфата в течение всего периода наблюдений имело место увеличение его. Обращает на себя внимание факт четкой корреляции динамики содержания последнего с количественными колебаниями как суммарных, так и индивидуальных Фл.

Вопрос о реальном механизме нормализующего действия тиосульфата на обмен Фл при ОЭП пока остается проблематичным. Происходит ли это только за счет прямого активирования им отдельных звеньев фосфатидогенеза, выражающегося в картине столь четких и закономерных сдвигов содержания Фл в печени, или благодаря его опосредованному действию на реакции фосфатидогенеза в печеночной ткани, покажут дальнейшие специальные исследования в отмеченном плане. Полученный нами фактический материал свидетельствует о неоспоримой роли тиосульфата как эффективного регулятора фосфолипидного обмена в печени при ОЭП, хотя, по-видимому, утверждать о специфичности этого эффекта было бы не совсем правильно; по всей вероятности, одним из наиболее возможных механизмов действия тиосульфата при ОЭП следует признать альтернативные пути регуляции процессов фосфатидогенеза в печени.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что применение тиосульфата в условиях экспериментального панкреатита сопровождается, с одной стороны, эффективными сдвигами в содержании отдельных метаболитов фосфатидогенеза, с другой — картиной нормализации в динамике активности ряда ферментных систем, катализирующих течение определенных реакций этого сложного процесса.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 4.II 1977 г.

Յ. Վ. ԲԱԲՈԿ, Կ. Գ. ԿԱՐԱԴԵՅԱՆ

ՖՈՍՖՈՐԻՊԻԿՆԵՐԻ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ՖՈՍՖԱՏԻԴՈԳԵՆԵԶԻ ՖԵՐՄԵՆՏԱՑԻՆ ՍԻՍՏԵՄՆԵՐԻ ՎԻՃԱԿԸ ԼՅԱՐԴՈՒՄ ՍՈՒՐ ՓՈՐՁԱՌԱԿԱՆ ՊԱՆԿՐԵԱՏԻԺ ԺԱՄԱՆԱԿ ԵՎ ԹԻՈՍՈՒԼՖԱՏԻ ՆԵՐԱՐԿՈՒՄՆԵՐԻ ՖՈՆԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Սուր փորձառական պանկրեատիտի դինամիկայում ցույց են տրվել ինչպես ֆոսֆոլիպիդների և ֆոսֆատիդգենեզի որոշ մեթարոլիտների պարունակության, այնպես էլ համապատասխան ֆերմենտային սիստեմների ակտիվությունների որոշակի տեղաշարժեր՝ սպիտակ առնետների լյարդում:

Թիոսուլֆատի ներարկումներն այս պայմաններում ուղեկցվում են տատանասիրված մեթարոլիտների քանակական էֆեկտիվ տեղաշարժերով և ֆոսֆատիդգենեզի առանձին էտապները կատալիզող ֆերմենտային սիստեմների ակտիվությունների նորմալացումով:

Վերոհիշյալը հնարավորություն է տալիս եզրակացնելու, որ թիոսուլֆատը կարող է կիրառվել որպես էֆեկտիվ թերապեվտիկ միջոց՝ տվյալ պաթոլոգիայի ժամանակ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Сиваворян П. С. Тр. Ер. ин-та усовершенствования врачей, 5, 66, 1972.
2. Marinetti G. V., Stotz E. Biochem. et Biophys. Acta, 21, 168, 1956.
3. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. Биохимия, 26, 1027, 1961.

4. Карагезян К. Г. Лабораторное дело, 1, 23, 1969.
5. Balley M. J. Lab. Clin. Med., 54, 1, 158, 1959.
6. Kennedy E. P. Methods in Enzymology, 5, 476, 1962.
7. Belsenherz G., Rücher Th., Karl-Helz Garbade. A methods in Enzymology, 1, 391, 1955.
8. Meyerhof O. Bull. Soc. Chim. Biol., 20, 1033, 1938.
9. Schmidt H., Creutzfeldt W. Scand. J. Gastroent, 9, 39, 1969.
10. Алимova Е. К., Астваццрян А. Т., Жаров Л. В. Липиды и жирные кислоты в норме и при ряде патологических состояний, М., 1975.
11. Крeпс Е. М. Баховские чтения, 22, Л., 1967.
12. Карагезян К. Г. Биологический журнал Армении, 21, 4, 28, 1968.
13. Овакимян С. С. Канд. дисс., Ереван, 1970.
14. Амирханян О. М. Канд. дисс., Ереван, 1972.
15. Gyone E. Scand. J. Clin. Lab. Investing., 13, 369, 1961.
16. Davis B. D., Dubos R. Y. J. Exptl. Med., 86, 215, 1947.