

СДВИГИ НЕКОТОРЫХ СТОРОН ОБМЕНА ФОСФОЛИПИДОВ В ПЕЧЕНОЧНОЙ ТКАНИ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ, ОСЛОЖНЕННОМ ОЖГОВОЙ ТРАВМОЙ

К. А. АЛЕКСАНИЯН, К. Г. КАРАГЕЗЯН, В. Г. МХИТАРЯН

Изучение спектра фосфолипидов печеночной ткани крыс показало важное значение их общего содержания и соотношения отдельных представителей в патогенезе комбинированных радиационных поражений, вызванных совместным действием облучения и термического ожога.

Процессам переоxygenления ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов, ведущим к деструкции биомембран и нарушению общего тканевого метаболического статуса липогенеза, противостоят активные синтетические возможности печени восполнять время от времени дефицит фосфолипидов, возникающий в результате липоксидации. Экзогенное введение α -токоферола способствует восстановлению нормальных липид-липидных соотношений в ткани.

В настоящее время существует много мнений относительно важной роли липидов и особенно фосфолипидов (ФЛ) с их ненасыщенными жирнокислотными цепями в структурной организации биологических мембран и обеспечении их функциональных свойств. Современные представления о строении биологических мембран основаны главным образом на существовании специфических белково-липидных комплексов, стабилизированных слабыми связями. Предполагается, что ключевая роль в стабилизации положения мембранных белков принадлежит взаимодействиям между остатками гидрофобных аминокислот и длинными неполярными цепями жирных кислот ФЛ [9]. В связи с этим изменения в структуре мембранных липидов оказывают соответствующее влияние на функциональное состояние мембраны, а процессы переоxygenления мембранных ФЛ полностью расстраивают нормальное течение реакций тканевого метаболизма.

Исследованиями Эмелота и др. [12], проведенными на животных тканях, подтвержден ранее установленный факт асимметрии в расположении ФЛ в биослое [10, 14]; показана атипичная локализация фосфатидилхолинов (ФХ) и сфингомиелинов (СФМ), обнаруживаемых во внешнем слое мембраны, и фосфатидилэтаноламинов (ФЭ) и фосфатидилсеринов (ФС)—во внутреннем. Наряду с этим установлено, что во внешнем слое печеночных мембран наиболее ненасыщенными являются ФХ, содержащие преимущественно диены и тетраены. Во внутреннем слое мембраны, богатом ФЭ, ФС и фосфатидилинозитами (ФИ), наиболее ненасыщенными представляются первые две фракции,

содержащие большей частью диены, тетраены и пентаены. По всей вероятности, усиленное переокисление липидов, вызванное теми или иными факторами, в наибольшей степени затрагивает именно полиеновые ФЛ с вытекающим отсюда комплексом физико-химических нарушений деятельности мембран, в частности функции проницаемости.

В этой связи представляет несомненный интерес изучение особенностей количественных сдвигов суммарных и индивидуальных ФЛ при комбинированных радиационных поражениях (КРП), вызванных совместным действием облучения и термического ожога, с учетом активации процессов липидной пероксидации в печеночной и мозговой тканях, установленной ранее проведенными исследованиями [3]. Как известно, накопление ТБК (тиобарбитовая кислота)—активных соединений в гомогенатах различных тканей, в том числе и печени—является результатом аутоокисления мембранных ФЛ [18] и прежде всего деградации полиненасыщенных жирных кислот, входящих в структуру этих соединений [15].

Ряд работ, посвященных изучению изменений спектра ФЛ печени при облучении и ожоге [1, 2, 4, 11], филогенетически установившегося постоянства количественных соотношений между отдельными ФЛ [5, 7] и роли этого фактора в осуществлении ряда физиологических функций организма, привел нас к изучению количественных изменений ФЛ в печени при КРП, претерпевающей, как известно, глубокие морфофункциональные нарушения. Наряду с этим представилась бы возможность проследить за степенью нарушений в липидном составе биологических мембран, развивающихся под действием усиленной липидной пероксидации. В настоящем исследовании впервые было предпринято также введение α -токоферола как естественного антиоксиданта, участвующего в строении и стабилизации биомембран [3], с целью изучения его эффекта на процесс нормализации содержания ФЛ печеночной ткани.

Материал и методика. Опыты проводились на белых беспородных крысах-самцах массой 120–160 г. Общее рентгеновское облучение животных (500 рентген) проводили на установке типа РУМ-11, при мощности дозы 34 расп/мин.

Ожоги II и III^б степени вызывались методом аппликации медной пластинкой на предварительно эпилированную кожу спины, подкожная температура при этом составляла 55–60°. Комбинированное одновременное действие обоих факторов (облучения и ожога) осуществляли в течение часа.

Витамин Е вводили внутривентрально в дозе 1 мг на кг массы животного в виде α -токоферилацетата, распадающегося в организме с выделением α -токоферола, сразу после облучения и нанесения ожога, в 1-й день, на 3, 7 и 12-е сутки.

Исследования суммарных и индивидуальных ФЛ проводили через час после нанесения травмы, затем в 1, 2, 7, 15-й дни. Выделение и фракционирование ФЛ проводили методом одновременной восходящей хроматографии на бумаге (фильтрак-11—ГДР), пропитанной кремниевой кислотой, по Маринетти и Штотус [17] в модификации Смирнова и сотр. [8] и Карагезяна [5]. Количество минерализованного липидного фосфора определяли методом Фiske и Суббороу [13]. Статистическую обработку фактического материала осуществляли на ЭВМ (Наири-2).

Результаты и обсуждение. Исследования выявили ряд интересных закономерностей в количественных сдвигах суммарных и индивидуальных

ных ФЛ печеночной ткани при КРП. Комбинированное применение двух различных стрессоров—облучения и ожога—сопровождалось проявлением довольно разнообразной картины изменений. Установлено увеличение содержания общих и индивидуальных ФЛ под воздействием сублетальных доз облучения [1, 4]. При ожоговой же болезни, наоборот, обнаруживается значительное снижение уровня ФЛ [2]. Однако как в том, так и в другом случаях имело место изменение количественных соотношений между суммами нейтральных ФЛ (НФЛ) и кислых ФЛ (КФЛ): количество последних в общей сумме всех ФЛ относительно возрастало, что, вероятно, свидетельствует об особой функциональной роли КФЛ в тканевом метаболизме в условиях КРП. Подобные изменения отношения суммы НФЛ к сумме КФЛ в настоящем исследовании были особенно наглядными—1-й час—0,496; 3-й день—1,92; 7-й день—2,85. Уменьшение при КРП относительного содержания НФЛ—основного строительного материала биологических мембран—(табл. 1) позволяет предполагать наличие деструктивных морфологических нарушений, развивающихся в условиях изученной патологии. Уменьшение суммы ФЛ в печеночной ткани, исследованное в динамике, согласно нашим наблюдениям, носило фазовый характер: значительное уменьшение в первые часы (—29%) сменялось повышением к 3-му дню (+25%), в последующем вновь она убывала и оказывалась даже ниже нормального уровня, хотя и на небольшую величину.

Из индивидуальных ФЛ ощутимым изменениям подвергались ФИ, особенно в начальный период травмы. Уровень этих липидов возрастал: в 1-й час на 87, в 1-й день—на 16,3, на 3-й день—на 110,63%. К последнему сроку наблюдения содержание ФИ значительно понижалось (—55,18%). Объяснить описанные колебания в содержании ФИ можно, по всей вероятности, доминированием эффектов стимулирования и ингибирования реакций биосинтеза распада этих соединений. Не исключено, что начальный период заболевания сопровождается активацией реакций синтеза, принимающими в дальнейшем более умеренный характер и, наконец, ингибирующимися. Мы склонны думать, что в развитии последнего немаловажное значение следовало бы придавать срыву компенсаторных механизмов, наступающему в условиях усугубления лучевого поражения ожоговой травмой, приводящему к интенсификации процессов перекисления липидов. При КРП фракция СФМ подвергалась едва заметным изменениям. Лишь на 7-е сутки имело место небольшое увеличение их количества. Относительную стабильность этих соединений при данной патологии можно объяснить практическим отсутствием в составе СФМ ненасыщенных жирных кислот. Отчетливые фазные изменения наблюдались в содержании ФХ и ФЭ, содержащих, как известно, наибольшее количество ненасыщенных жирных кислот и составляющих основную массу ФЛ биомембран. Как показали наши эксперименты, содержание обоих ФЛ заметно убывало уже в первые часы нанесения травмы (на 75,4% ФХ и на 78,9% ФЭ), однако в течение 1-го дня заболевания оно снова возрастало, в результате чего уровень

Таблица 1

Содержание фосфолипидов в печени крыс при КРП

	Статисти- ческие по- казатели	Фракции фосфолипдов							Суммарные ФЛ	НФЛ	КФЛ	$\frac{\text{НФЛ}}{\text{КФЛ}}$	
		ЛФХ	ФИ	СФМ	ФХ	ФС	ФЭ	КЛ					
Контроль	$M \pm m$	61,21 +4,02	108,28 +5,056	100,95 +6,0247	459,4 +11,224	73,79 +2,6337	222,58 +8,27	74,11 +5,695	1095,56 +18,404134	839,96	255,44	3,29	
Сроки после получения КРП через	1 час	$M \pm m$ P %	— — —	202,56 +8,16 +0,001 +87,07	97,3 +6,46 +0,1 -3,62	113,06 +11,72 +0,001 -75,39	216,125 +11,75 +0,001 +192,89	46,99 +6,92 +0,001 -78,89	105,175 +6,75 +0,001 +41,92	776,21 +14,04 +0,01 -29,14	257,35	518,86	0,496
	1 день	$M \pm m$ P %	— — —	125,94 +3,98 +0,05 +16,31	91,87 +4,77 +0,1 -5,06	526,8 +8,197 +0,01 +14,67	45,5 +5,03 +0,01 38,34	219,19 +7,61 +0,1 -1,52	96,25 +7,2 +0,1 +29,87	1105,55 +7,12 +0,1 +0,91	837,86	265,54	3,16
	3 дня	$M \pm m$ P %	89,94 +4,47 +0,01 +46,94	228,07 +13,95 +0,001 +110,63	115,95 +7,00 +0,01 +19,82	472 +9,82 +0,1 +2,7	80,06 +6,75 +0,1 +8,5	239,9 +11,59 +0,1 +7,78	152,64 +9,9 +0,001 +105,96	1378,59 +36,54477 +0,001 +25,83	917,79	477,79	1,92
	7 дней	$M \pm m$ P %	30,31 +1,74 +0,001 -50,48	111,56 +3,57 +0,1 +3,03	143 +10,51 +0,001 +47,77	323,3 +13,59 +0,001 -29,63	46,37 +5,72 +0,01 -37,159	263,77 +10,55 +0,05 +18,33	128,81 +6,497 +0,001 +73,81	1042,8 +24,86 +0,1 -4,82	773,06	271,0	2,85
	15 дней	$M \pm m$ P %	— — —	48,53 +3,41 +0,001 -55,18	121,92 +10,89 +0,1 +25,06	455,64 +27,44 +0,1 -0,82	60,08 +2,45 +0,01 -18,6	204,95 +15,07 +0,1 -7,92	122,7 +7,077 +0,01 +65,56	1021,2 +43,16 +0,1 -6,77	781,61	239,59	3,26

Таблица 2

Содержание фосфолипидов в печени крыс при КРП на фоне введенного α -токоферола

	Статисти- ческие по- казатели	Фракции фосфолипидов							Суммарные ФЛ	НФЛ	КФЛ	$\frac{\text{НФЛ}}{\text{КФЛ}}$	
		ЛФХ	ФП	СФМ	ФХ	ФС	ФЭ	КЛ					
Контроль	$M \pm m$	61,21 $\pm 4,02$	108,28 $\pm 5,056$	100,95 $\pm 6,05$	459,4 $\pm 11,224$	73,79 $\pm 2,636$	222,59 $\pm 8,27$	74,11 $\pm 5,695$	1095,56 $\pm 18,404134$	839,96	255,44	3,29	
Сроки после получения КРП через	1 час	$M \pm m$ P %	65,8 $\pm 3,43$ $>0,1$ $\pm 7,5$	111,51 $\pm 3,92$ $>0,1$ $\pm 10,6$	104,56 $\pm 3,46$ $>0,1$ ± 8	387,9 $\pm 18,14$ $<0,05$ $-15,55$	63,425 $\pm 6,395$ $>0,1$ $-14,05$	196,175 $\pm 8,52$ $<0,1$ $-11,86$	74,375 $\pm 2,36$ $<0,1$ —	1003,79 $\pm 26,26$ $<0,05$ $-8,36$	746,575	257,215	2,9
	1 день	$M \pm m$ P %	97,12 $\pm 6,089$ $<0,01$ $\pm 58,7$	120,3 $\pm 3,17$ $<0,001$ $\pm 11,1$	91 $\pm 4,023$ $>0,1$ $-5,93$	476 $\pm 15,92$ $>0,1$ $\pm 3,6$	128,2 $\pm 4,43$ $<0,001$ $\pm 73,7$	256,75 $\pm 15,04$ $<0,1$ $\pm 15,3$	90,69 $\pm 5,87$ $<0,1$ $\pm 22,37$	1259,94 $\pm 25,22$ $<0,001$ $\pm 15,96$	920,79	339,15	2,7
	3 дня	$M \pm m$ P %	52,06 $\pm 2,599$ $<0,1$ $-14,95$	112,7 $\pm 2,59$ $<0,001$ $\pm 4,08$	104,12 $\pm 1,58$ $>0,1$ $\pm 7,59$	508,0 $\pm 14,7$ $<0,05$ $\pm 10,57$	58,61 $\pm 2,71$ $<0,01$ $-20,56$	197,3 $\pm 7,4$ $<0,1$ $-11,36$	53,81 $\pm 2,44$ $<0,02$ $-27,39$	1086,0125 $\pm 16,22$ $>0,1$ $-12,6$	861,48	225,16	3,83
	7 дней	$M \pm m$ P %	53,8 $\pm 1,74$ $>0,1$ $-12,1$	111,8 $\pm 1,88$ $>0,1$ $\pm 3,25$	82,77 $\pm 1,97$ $<0,05$ $-14,47$	525,6 $\pm 10,2$ $<0,01$ $\pm 14,4$	55,56 $\pm 1,92$ $<0,001$ $-24,7$	173,7 $\pm 4,8$ $<0,001$ $-21,96$	73,7 $\pm 5,49$ $>0,1$ —	1065,537 $\pm 19,4$ $>0,1$ $-2,73$	835,87	229,605	3,6
	15 дней	$M \pm m$ P %	66,5 $\pm 3,06$ $>0,1$ $\pm 8,6$	112,13 ± 29 $>0,1$ $\pm 3,55$	90,1 $\pm 3,02$ $>0,1$ $-6,9$	511,13 $\pm 14,6$ $<0,02$ $\pm 14,3$	84,32 $\pm 4,34$ $<0,1$ $\pm 14,3$	220,31 $\pm 4,76$ $>0,1$ -1	71,2 $\pm 4,8$ $>0,1$ $-3,93$	1123,47 $\pm 19,35$ $>0,1$ $\pm 2,56$	888,04	235,43	3,77

ФХ превышал норму приблизительно на 14%, а ФЭ колебался в пределах нормы. Затем отмеченные закономерности чередовались, чем и определялась фазность количественных изменений изученных ФЛ. Иначе говоря, на второй неделе заболевания опять констатируется чувствительное понижение количества липидного фосфора ФХ и ФЭ соответственно на 29,6 и 7,9%. Опираясь на известные положения, свидетельствующие о более интенсивном темпе синтеза ФЛ в печени, нежели в других тканях [9], можно допустить, что именно этим и объясняется быстрая смена описанных выше количественных колебаний изученных ФЛ. Однако волнообразность процесса при КРП очевидна и никак не завершается стабилизацией первоначального уровня ФЛ в печеночной ткани благодаря интенсивно происходящим здесь многообразным метаболическим срывам и главным образом цепным реакциям свободнорадикального окисления липидов.

Ощутимые изменения обнаруживались и в динамике уровня ФС, уступающих по степени ненасыщенности жирных кислот, входящих в их молекулу, лишь ФХ и ФЭ. По нашим данным, содержание ФС, повышающееся в 1-й час после нанесения травмы, чувствительно снижается в последующем и держится на низком уровне на протяжении всего срока исследования. Согласно некоторым литературным данным [16] и результатам наших предварительных наблюдений [6], комбинированная ожогово-лучевая травма сопровождается одновременным значительным увеличением уровня полиглицерофосфатидов или кардиолипидов (КЛ). По всей вероятности, такой сдвиг было бы правильнее объяснить активацией процесса «турновера» фосфатидилглицерина в КЛ и уменьшением катаболизма последнего.

Выявленные нами закономерности в сдвигах динамики изученных ФЛ указывают на определенную роль аутоокисления этих соединений в формировании ответной реакции организма на действие стрессора (облучения и термического ожога).

Экзогенное введение α -токоферола как антиоксиданта, предотвращающего или ограничивающего переокисление ненасыщенных жирных кислот и резко уменьшающегося количественно при КРП [3], дало свои положительные результаты. Как явствует из табл. 2, введение витамина Е играет существенную роль в упорядочении количественного состава ФЛ печени у крыс, подвергшихся комбинированной ожогово-лучевой травме. Особенный интерес на наш взгляд, представляет нормализующее действие α -токоферола на К НФЛ/КФЛ. Этому придается большое значение ввиду значимости относительного содержания тех или иных ФЛ, наделенных различными функциональными свойствами в живых системах, в частности в биомембранах.

Полученные данные указывают на важное значение ФЛ в целом и отдельных их представителей в патогенезе КРП. Усиливающиеся при этом свободнорадикальные процессы инициируют в первую очередь окисление ненасыщенных жирнокислотных хвостов ФЛ, внося тем самым глубокие расстройства не только в качественный набор спектра сое-

линий, но и в совокупность количественных соотношений между отдельными представителями изученных важнейших компонентов клеточных мембран. Этим процессам, вносящим неразбериху в общий тканевой метаболический статус липогенеза, противостоят достаточно активные синтетические возможности печени восполнять наступающий время от времени в результате липоксидации дефицит ФЛ. В качестве чувствительного подспорья, препятствующего фазности в динамике ФЛ при изученной патологии, выступают и антиоксиданты. Введение α -токоферола восполняет дефицит этого соединения при КРП и способствует восстановлению содержания суммарных ФЛ в печеночной ткани и липид-липидных соотношений между их отдельными фракциями. Изучение кинетических биохимических реакций на уровне молекулярно-биологических превращений, лежащих в основе описанных сдвигов, представляет самостоятельный интерес и нуждается в тщательном изучении.

Ереванский государственный медицинский институт,
кафедра биохимии

Поступило 8.X 1979 г.

ԼՅԱՐԴԻ ՖՈՍՖՈԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ՓԻՆԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՏԵՂԱՇԱՐԹԵՐԸ ՍՅՐՎԱԾՔՈՎ ՈՒՂԵԿՅՎՈՂ ՀԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՄԱՆ ԺՍՄԱՆԱԿ

Բ. Ա. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ, Կ. Գ. ԿԱՐԱԳՅՈՋՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԽԻՏՐԻԱՆ

Անհատների լյարդում ֆոսֆոլիպիդների (ՖԼ) ուսումնասիրությունների արդյունքները ցույց են տվել նրանց ընդհանուր քանակի և առանձին ներկայացուցիչների փոփոխության կարևոր նշանակությունը կոմբինացված ռադիացիոն վնասվածքների ժամանակ՝ պայմանավորված հառադայման և աչրվածքի համառեղ ազդեցությամբ:

ՖԼ-ի չհազեցած ճարպաթթուների պերօքսիդացման պրոցեսներին (որոնք հանգեցնում են բիոթաղանթների քայքայմանը և հյուսվածքների ընդհանուր մեթարոլիզի խանգարմանը) հակադրում են լյարդի ակտիվ սինթետիկ հնարավորություններին՝ ժամանակ առ ժամանակ լրացնելով լիպօքսիդացիայի հետևանքով առաջացած ՖԼ-ի պակասը:

ՖԼ-տոկոֆերոլի էկզոգեն ներարկոսները նպաստում են հյուսվածքում լիպիդ-լիպիդային փոխարարեությունների վերականգնմանը:

LIVER TISSUE PHOSPHOLIPID METHABOLISM CHANGES UNDER IRRADIATION COMPLICATED BY THERMAL BURN

K. A. ALEKSANIAN, K. G. KARAGEOSIAN, V. G. MCHITARIAN

As a result of phospholipid spectrum of rat liver tissue study an important role of its total content and the ratio of individual representatives in the pathogenesis of combined radiation injuries induced by joint effect of irradiation and thermal burn has been shown.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агабабова А. А. Канд. дисс., Ереван, 1977.
2. Агаджанов М. И. Автореф. докт. дисс., Ереван, 1979.
3. Алексанян К. А. Журнал эксп. и клин. мед., 1, 1980.
4. Арутюнова С. С., Гойда О. А., Гончаренко Е. И., Кудряшов Ю. Б. Радиобиология, 8, 2, 1968.
5. Карагезян К. Г. Докт. дисс., Ереван, 1968.
6. Карагезян К. Г., Алексанян К. А., Мхитарян В. Г. Журнал эксп. и клин. мед., 2, 1980.
7. Крепс Е. М. В кн.: Биохимия и функция нервной системы, 134, Л., 1956.
8. Смирнов А. А., Чирковская К. Г., Манукян К. Г. Биохимия, 26, 1024, 1961.
9. Хачачка П., Дж. Гомеро. В кн.: Стратегия биохимической адаптации, М., 1977.
10. Bretscher M. S. Nature New Biol., 236, 11, 1972.
11. Eberhagen D., Ranlises H. Strahlen therapie, 132, 3, 441, 1967.
12. Emmelot P., Van Hoeven R. P. Chemistry physics of lipids, 14, 236, 1975.
13. Fiske C., Subbarow V. J. Biol. Chem., 66, 369, 1952.
14. Gordesky S. E., Mariuett G. V. Biochem. Biophys. Res. Commun, 50, 1027, 1973.
15. Hogberg S. Europ. J. Biochem., 37, 51. 1973.
16. Jacobson A. F., Yatvin Milton B. Radiat Res, 66, 2, 247, 1976.
17. Marineffi C. V., Stetz E. Bicchim. Biophys. Acta., 21, 168, 1956.
18. Reckuagel R. O., Choshal A. K. Nature, 210, 1162, 1966.