

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА Е НА ПРОЦЕСС ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

В. Г. МХИТАРЯН, Д. М. ГЕВОРКЯН

Установлено, что у крыс с аллоксановым диабетом, наряду с гипергликемией, резко повышается интенсивность липидной пероксидации в мозге и печени. Стрессовые ситуации на этом фоне усиливают указанные процессы.

Внутрибрюшинное введение α -токоферола в дозе 0,1 мг на 100 г массы животного нормализует содержание глюкозы в крови и липидных перекисей в мозге и печени, в то время как большие дозы его (10 мг на 100 г), наоборот, ухудшают общее состояние диабетических крыс, резко повышая уровень липидных перекисей, глюкозы и ускоряя гибель животных.

Ключевые слова: аллоксановый диабет, α -токоферол, стресс, гипергликемия, глюкоза, липидные перекиси, клеточные мембраны.

Избыточному образованию липидных перекисей придается в настоящее время исключительно важное значение при различных экстремальных состояниях организма. Известно, что при нормальных физиологических условиях они образуются в организме в сравнительно небольших количествах в результате автоокисления моно- и полиненасыщенных жирных кислот, входящих в состав жиров и фосфолипидов, а под влиянием различных факторов внешней среды значительно увеличиваются.

Показано, что при избыточной липидной пероксидации, вследствие подавления функции защитных систем клетки, нарушается проницаемость клеточных мембран, что приводит к хаотическому состоянию метаболизма в клетке и нарушению ее жизнедеятельности.

На основании большого фактического материала избыточная липидная пероксидация рассматривается как неспецифическая реакция организма при различных стрессовых ситуациях.

В настоящее время роль ее хорошо изучена при атеросклерозе, старении, лучевом поражении, инфекционном гепатите [1], отравлении четыреххлористым углеродом, хлоропреном [4] и т. п.

В наших ранних исследованиях было показано, что у крыс с аллоксановым диабетом вследствие повреждения печеночных клеток органоспецифические ферменты печени—урокиназа и гистадаза—мигрируют в кровь, а при внутримышечном введении инсулина значительно подавляется их выход [5, 6]. Несколько позже [7] мы установили, что у крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом, наряду с гипер-

гликемией, наблюдается также избыточная липидная пероксидация, которая и повреждает плазматические мембраны гепатоцитов, тем самым способствуя выходу этих ферментов в кровь, причем чем выше активность урокаиназы и гистидазы в крови, тем больше повреждена целостность мембран гепатоцитов.

Сравнительно недавно было показано, что у больных диабетом содержание липидных перекисей в крови значительно повышено [10], что согласуется с нашими данными.

В настоящей работе приводятся данные о влиянии α -токоферола на содержание липидных перекисей в мозге, печени, а также на уровень глюкозы в крови крыс с аллоксановым диабетом, подвергнутых стрессовому воздействию.

Материал и методика. Исследования проводили на 90 белых крысах обоего пола массой 150—200 г, находившихся на обычном рационе в виварии. Животные были разделены на следующие 6 серий по 15 животных в каждой: 1 контроль; 2 животные, подвергнутые действию аллоксана (т. е. диабетические крысы); 3 животные, подвергнутые действию стресса; 4. животные, подвергнутые действию аллоксана и стресса; 5. животные, подвергнутые на фоне введенного экзогенного α -токоферола действию аллоксана; 6. животные, подвергнутые на фоне экзогенного α -токоферола действию аллоксана и стресса.

В качестве стрессового воздействия использовали иммобилизацию крыс при комнатной температуре в течение 150 мин. Диабет вызывали внутрибрюшинным введением аллоксана (Sigma, США), из расчета 14 мг/100 г после 18-часового голодания. В эксперимент брали животных с диабетом, у которых концентрация глюкозы в крови превышала контрольный уровень в несколько раз. Раствор витамина Е готовили на твин 80 (ФРГ) и вводили внутрибрюшинно в количестве 1 мг/кг массы животного за 18 ч до введения аллоксана или стрессового воздействия. Содержание липидных перекисей в мозге и печени определяли по уровню малонового диальдегида (МДА), который в кислой среде и при высокой температуре образует с тиобарбитуровой кислотой окрашенный комплекс с максимумом поглощения при 535 нм, и выражали в нмолях МДА на г ткани. Уровень глюкозы в крови определяли ортотолуидиновым методом и выражали в мг%. Крыс забивали на 5-й день развития диабета, т. е. в первую фазу экспериментального аллоксанового диабета по Горрей и Квей [9].

Результаты и обсуждение. Как видно из рис. 1, у контрольной группы крыс количество глюкозы в крови составляло в среднем 80 мг%, что хорошо согласуется с литературными данными, а количество липидных перекисей в мозге и печени— 770 ± 23 и 2370 ± 46 нмоль МДА/г (условно принято за 100%).

У крыс с аллоксановым диабетом, наряду со значительным повышением уровня глюкозы в крови (600 ± 48 мг%) (рис. 1), происходят также значительные изменения в содержании липидных перекисей. В мозге и печени оно составляет в среднем 1220 ± 26 и 3460 ± 89 соответственно, что на 58 и 48% выше контрольного уровня (рис. 2 и 3). Таким образом, аллоксановый диабет, наряду с гипергликемией, сопровождается также избыточной липидной пероксидацией, что хорошо согласуется с нашими прежними данными.

Поскольку при иммобилизации у интактных и адреналэктомированных крыс происходит острая постстрессорная диабетическая реакция, выражающаяся в гипергликемии и глюкозурии [11], а также значитель-

ные изменения метаболизма в липидной фазе клетки, сопровождающиеся избыточной пероксидацией в тканях [3], мы сочли интересным проследить за корреляцией между содержанием глюкозы в крови и уров-

Кровь

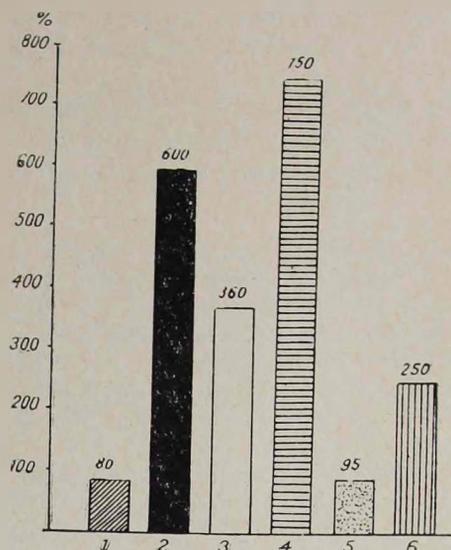
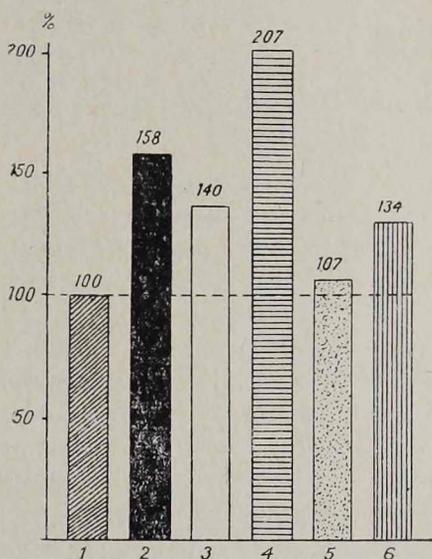


Рис. 1. Влияние витамина Е на содержание глюкозы в крови крыс при аллоксановом диабете и ИМО. 1—контроль, 2—аллоксан, 3—иммобилизация (ИМО), 4—аллоксан+ИМО, 5—аллоксан+вит. Е, 6—аллоксан+ИМО+вит. Е.

Мозг



Печень

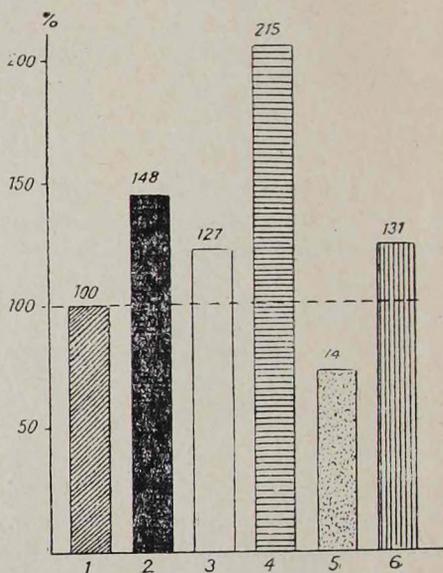


Рис. 2.

Рис. 3.

Рис. 2. Влияние витамина Е на липидную пероксидацию в мозге крыс при аллоксановом диабете и ИМО. Обозначения те же, что и на рис. 1.

Рис. 3. Влияние витамина Е на липидную пероксидацию в печени крыс при аллоксановом диабете и ИМО. Обозначения те же, что и на рис. 1.

нем липидной пероксидации в мозге и печени при стрессовых ситуациях.

Как показали результаты III серии опытов (рис. 1), при иммобилизационном стрессе, наряду с гипергликемией (360 мг%), наблюдается также значительное повышение уровня липидных перекисей, содержание которых в печени составляет в среднем 2760 ± 50 , а в мозге— 1090 ± 26 нмоль МДА/г, что превышает контроль на 27 и 40% соответственно (рис. 2, 3). Любопытно, что если интактные крысы выдерживали семикратную иммобилизацию при ежедневной 150-минутной экспозиции и не погибали, то диабетические выдерживали лишь одну иммобилизацию и, как правило, погибали после второй иммобилизации.

В связи с тем, что у больных диабетом людей при стрессовых ситуациях значительно осложняется течение заболевания, было небезынтересно изучить содержание глюкозы в крови и уровень липидных перекисей в эксперименте при сочетании аллоксанового диабета с иммобилизационным стрессом.

Как видно из приведенных рисунков, у этих крыс (IV серия) содержание глюкозы в крови достигает 750 мг% и превышает уровень ее у диабетических крыс, не подвергнутых стрессу, на 25%. При этом уровень липидных перекисей в мозге и печени также значительно повышается и составляет в среднем в мозге 1600 ± 75 , а в печени— 4800 ± 180 нмоль МДА/г ткани, что на 107 и 115% соответственно выше контрольного уровня.

Таким образом, у крыс с аллоксановым диабетом стрессовые ситуации значительно повышают содержание как глюкозы в крови, так и уровень липидных перекисей в мозге и печени.

Поскольку избыточная липидная пероксидация у животных при различных стрессовых ситуациях сопровождается низким уровнем антиоксидантов, и в частности, α -токоферола, в наших предварительных опытах было обращено внимание на содержание витамина E в крови, печени и мозге у крыс с аллоксановым диабетом и обнаружен значительный дефицит его.

Высокий уровень липидных перекисей и низкое содержание витамина E у диабетических крыс способствует усиленному переоксислению жирнокислотных хвостов фосфолипидов биомембран, активирует процесс расщепления фосфолипидов соответствующими фосфолипазами и нарушает процесс биосинтеза фосфолипидов. Все это приводит к расстройствам определенных физико-химических взаимоотношений между жирнокислотными хвостами фосфолипидов и боковой цепью витамина E, нарушению липид-липидных взаимодействий и изменению структуры липидного бислоя в целом, что в конечном счете интегрируется в виде серьезных дефектов биомембран и нарушения проницаемости.

В этом аспекте заслуживают внимания данные Соколоверовой и Онеговой [8], которые показали, что у крыс с аллоксановым диабетом повышается проницаемость плацентарной мембраны и наблюдается прямая зависимость между степенью выраженности инсулярной недостаточности и проницаемостью плацентарной мембраны. Эти результаты

хорошо согласуются с угнетением липидной пероксидации при введении инсулина.

В V серии опытов изучалось влияние экзогенного витамина E на содержание глюкозы и липидных перекисей у крыс с аллоксановым диабетом. Полученные результаты оказались весьма разительными. Как видно из рис. 1, у крыс V серии на фоне аллоксанового диабета α -токоферилацетат, введенный внутривнутрибрюшинно, снижает содержание глюкозы в крови этих животных более чем в 6 раз, приближая его к контролю. Подобные изменения обнаружены и в содержании липидных перекисей. Как видно из рис. 2 и 3, содержание липидных перекисей в мозге снижается почти до контрольного уровня, а в печени—даже ниже, на 26%. В VI серии опытов изучали степень выраженности этих изменений при сочетании диабета и стресса в присутствии предварительно введенного экзогенного α -токоферола. Гипергликемия у этих крыс сравнительно слабо выражена—250 мг% (рис. 1), тогда как у крыс IV серии (т. е. без экзогенного витамина E) она выражена резко—750 мг%. Таким образом, витамин E в подобных ситуациях снижает содержание глюкозы в крови в три раза, в то время как на процесс липидной пероксидации влияет несколько слабее. Как видно из рис. 2 и 3, уровень липидных перекисей в мозге и печени снижается лишь на 73 и 84% соответственно.

Большой фактический материал, накопленный в наших исследованиях, дает нам право заключить, что введение витамина E в дозе 0,1 мг на 100 г массы животного в целом поддерживает процесс перекислого окисления липидов в пределах нормы. Эта доза, по нашим данным, является оптимальной для крыс. Заслуживает внимания и тот факт, что большие дозы его оказывают диаметрально противоположное действие на течение экспериментального диабета. Так, в дозе 100 мг/кг массы животного он резко повышает содержание глюкозы в крови, интенсифицирует процесс липидной пероксидации и ускоряет гибель животных, т. е. проявляется прооксидантное действие.

Полученный фактический материал, как и анализ литературных данных, позволяет допустить, что сдвиги в процессе липидной пероксидации и в содержании витамина E при аллоксановом диабете обусловлены изменением окислительных процессов в фосфолипидных биомембранах, вследствие которого нарушается липид-белковое взаимодействие, где особо важную роль играют взаимоотношения липидов и ферментов, причем изменения в составе липидов, или делипидизация, приводят к изменению структуры белковой молекулы, влияя соответственно на ее каталитическую активность. Мы допускаем, что защитный эффект витамина E в условиях стресса и избыточной липидной пероксидации опосредован через кортикостерониды и направлен на регуляцию углеводного обмена через гексокиназную реакцию.

По данным Бурлаковой, перекиси липидов могут непосредственно влиять на каталитический центр ферментов, изменять ригидность мем-

бран, выступая в роли ингибиторов или активаторов ферментативной активности [2].

Не исключается, что вследствие окисления фосфолипидов биомембран происходят конформационные изменения, приводящие к снижению активности многих ферментов, в том числе и мембраносвязанных. Наконец, избыточная липидная пероксидация приводит к деструкции биомембран, вследствие чего нарушается рецепция инсулина и соответственно весь дальнейший метаболизм углеводов.

Таким образом, установление факта избыточного перекисного окисления липидов при аллоксановом диабете и нормализующего действия на него витамина Е и инсулина открывает новые пути и перспективы для дальнейшей разработки его патогенетической терапии с учетом мембранных механизмов действия витамина Е, инсулина и липидных перекисей.

Ереванский медицинский институт

Поступило 4.IV 1980 г.

ՎԻՏԱՄԻՆ Ե-Ի ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ՊԵՐՕՔՍԻԴԱՅԻՆԱՅԻՆ ՎՐԱ ԱՆՈՔՍԱՆԱՅԻՆ ԴԻԱԲԵՏԻ ԴԵՊՐՔՈՒՄ

Վ. Գ. ՄԽԻՏԱՐՅԱՆ, Գ. Մ. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ

Ալոքսանային դիաբետով հիվանդ առնետների մոտ հիպերգլիկեմիայի հետ միաժամանակ ուղեղում և լյարդում լիպիդային պերօքսիդացման ինտենսիվությունը ուժեղանում է:

Ալոքսանային դիաբետի պայմաններում ստրեսային իրավիճակներն էլ աճելի են բարձրացնում առնետների արյան մեջ գլյուկոզայի քանակը և լիպիդային պերօքսիդների քանակը ուղեղում և լյարդում:

Դիաբետիկ առնետներին α -տոկոֆերոլի ներորոպային ներարկումը (0,1 մգ/100 գ քաշին) կարգավորում է գլյուկոզայի քանակը արյան մեջ և լիպիդային պերօքսիդացման ինտենսիվությունը գլյուկոզում ու լյարդում:

Վիտամին Ե-ի մեծ քանակի ներարկման ղեպքում (10 մգ/100 գ քաշին) էլ աճելի է բարձրանում գլյուկոզայի և լիպիդային պերօքսիդների քանակը օրգանիզմում:

EFFECT OF VITAMIN E ON THE PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION UNDER ALLOXAN DIABETES

V. G. MKHITARIAN, D. N. GEVORKIAN

It has been established that in rats with alloxan diabetes besides the hyperglycaemy a sharp increase of lipid peroxidation in brain and liver is observed. Stress situations associated with the alloxan diabetes provoke more intensive increase of blood glucose content and level of lipid peroxides in brain and liver. Intraperitoneal injection of α -tocopherol in dose 0,1 mg for 100 g of body weight normalizes the level of glucose in

blood and lipid peroxides in brain and liver. Greater doses of α -tocopherol (10 mg for 100 g of body weight) on the contrary make worse the health-state of diabetic animals and sharply increase the level of lipid peroxides and glucose.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абагян И. А., Казарян А. В., Мхитарян В. Г. Ж. exper. и клинич. мед. АН АрмССР. 16, 1, 73, 1976.
2. Бурлакова Е. Б., Джаляева М. М., Гвахария В. О., Глуценко Н. Н., Молочкина Е. М., Штполько В. Н. Влияние липидов мембран на активность ферментов, Черноголовка, 1978.
3. Микаелян Э. М., Мелконян М. М., Мелик-Агаева Е. А., Мхитарян В. Г. Ж. exper. и клинич. мед. АН АрмССР. 19, 5, 11, 1979.
4. Мхитарян В. Г., Агабжанов М. И., Мелик-Агаева Е. А., Мат-лы 49-й научн. сессии Ермединститута, 121, 1971.
5. Мхитарян В. Г., Межлумян Л. М. Ж. exper. и клинич. мед. АН АрмССР. 12, 6, 18, 1972.
6. Мхитарян В. Г., Межлумян Л. М. Ж. exper. и клинич. мед. АН АрмССР. 14, 6, 36, 1974.
7. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаева Е. А. Третий Всесоюзн. биохим. съезд. Реф. научн. сообщ., 1, 242, Рига, 1974.
8. Соколовцова И. М., Онегова Р. Ф. Проблемы эндокринологии, 24, 1, 61, 1978.
9. Gorray K. S., Quay W. B., *Hormone and Metab. Res.*, 10, 5, 389, 1978.
10. Sato J., Hotta N., Sakamoto N., Matsuoka T., Ohishi N., Jugi K. *Biochem. Med.*, 21, 104, 1979.
11. Vargas J., Kawade M. E., *Hormone a. Metab. Res.*, 8, 5, 383, 1976.