

գրհրի ամենահարմար կրիչն է հոսուն անալիտիկ համակարգերում կիրառման համար: Որոշված է իմմոբիլիզացիայի պայմանների ազդեցությունը պրեպարատի ակտիվության վրա: Ցույց է տրված, որ 2 ամսվա ընթացքում պահպանվում է սկզբնական ակտիվության 80%-ը

IMMOBILIZATION OF GLUCOSE OXIDASE ON SILICAGELS

A. L. SIMONIAN, S. Sh. TATIKIAN, G. E. KHACHATRIAN,
T. A. GASPARIAN, G. I. AIVAZIAN

The use of a number of new silicagels developed at the Yerevan Department of Inorganic Materials of the All-Union Institute of Reagents for the immobilization of glucose oxidase has been investigated. It has been shown that the silicagel original preparation (№ 7) is the most convenient carrier for the use in flowing analytical systems. The influence of the immobilization conditions on the preparation activity has been determined. The preparation preserves the 80% of its initial activity for two months.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Достижения в клинической ферментативной диагностике, М., 1977.
2. Жагар Р. А., Карсакевич А. С. Успехи биологической химии. М., 1977.
3. Иммуобилизованные ферменты. М., 1976.
4. Dinnel D. Hindustan Antibiotics Bulletin., 20, 3—4, 1978.
5. Muronetz V. J., Zueva V. S., Nagradova N. K. FEBS Letters, 107, 2, 1979.
6. Robinson P. J., Dinnill P., Lilly M. D. Biochem. Biophys. Acta, 242, 659, 1979.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVI, № 7, 1983

УДК 616.45—001.1/3:612.397.2+577.161.3

ПРОЦЕСС ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ И УРОВЕНЬ α -ТОКОФЕРОЛА В ТКАНЯХ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ АКУСТИЧЕСКОГО СТРЕССА

М. М. МЕЛКОНЯН, В. Г. МХИТАРЯН, Е. А. МЕЛИК-АГАЕВА, А. А. РУХҚЯН

В условиях акустического стресса наблюдается изменение интенсивности ферментативного и неферментативного перекисного окисления липидов и содержания α -токоферола в гомогенатах мозга, печени, сердца, а также в эритроцитарных мембранах и плазме крови белых крыс. Интенсивность сдвигов зависит как от вида исследуемой ткани, так и сроков воздействия. Изменения наиболее выражены в сердце. Наблюдается определенная зависимость между уровнем перекисного окисления липидов и содержанием α -токоферола в исследуемых тканях.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, α -токоферол, акустический стресс.

В эпоху научно-технической революции, которую переживает человечество, трудно переоценить влияние шума, сопровождающего человека повсеместно.

Морфологические, физиологические, гистохимические, клинические исследования [1, 7] свидетельствуют о значительном повреждающем действии акустического стресса. В связи с этим большое значение приобретает изучение общепатологических реакций, связанных с воздействием этого фактора. В последнее время процессам свободнорадикального окисления, которые непрерывно протекают в норме во всех тканях живых организмов и при их низкой интенсивности, являются одним из типов нормальных неспецифических метаболических процессов, отводится особая роль [3]. В обычных условиях этот процесс строго лимитирован. Однако избыточное перекисное окисление липидов (ПОЛ) разрушительно действует на клеточные мембраны, вследствие особенностей их химического строения, приводя к изменению проницаемости, меняя активность целого ряда мембраносвязанных ферментов, вызывая дезинтеграцию внутриклеточных структур, окисление и полимеризацию низкомолекулярных внутриклеточных компонентов и макромолекул [3], и поэтому играет важную роль в механизмах клеточного повреждения. Исследованиями ряда авторов показано, что действие различных экстремальных факторов на организм вызывает интенсификацию ПОЛ в тканях [4—6]. В этом аспекте представляет интерес изучение интенсивности ПОЛ и уровня одного из важнейших эндогенных антиоксидантов— α -токоферола в тканях белых крыс в условиях акустического стресса.

Материал и методика. Эксперименты проводились на беспородных белых крысах-самцах массой 180—220 г, содержащихся в обычных условиях вивариума. Подопытные животные подвергались воздействию широкополосного шума с уровнем 97 дБА со сплошным спектром частот 63—12000 гц и максимальной энергией в области средних и высоких частот. Средки воздействия—15 мин, 2 ч, 7, 28, 56 дней ежедневно по 2 часа. Животных забивали декапитацией. Ткани перфузировали ледяным 0,154 М КСl. Все операции проводили на холоду. Эритроцитарные мембраны выделяли по Лимберу [13]. Белок в исследуемом материале определяли по Лоурн [14].

Активность систем ПОЛ определяли по накоплению малонового диальдегида (МДА) за 30 мин инкубации, о количестве которого судили по реакции с тиобарбитуровой кислотой. При исследовании неферментативного аскорбатзависимого ПОЛ (АЗП) инкубационная среда объемом 1,2 мл содержала по 0,3 мл 40 мМ трис-HCl, рН 7,4; 0,8 мМ аскорбата, $12 \cdot 10^{-6}$ М соли Мора. В случае с НАДФ-Н зависимым ПОЛ (НЗП)— $2 \cdot 10^{-4}$ М пирогосфата натрия, $12 \cdot 10^{-6}$ М соли Мора, 1 мМ НАДФ-Н. В обоих случаях 10%-ные гомогенаты тканей и мембраны эритроцитов добавлялись из расчета 1,5—2,0 мг белка на 1 мл инкубационной среды. Содержание липидных перекисей выражали в нМоль МДА на 1 мг белка. Для расчета использовали коэффициент молярной экстинкции $1,56 \cdot 10^5$ М см⁻¹ [3].

Содержание α -токоферола в исследуемом материале определяли флуорометрически по методу Дуггана с максимумом возбуждения при 295 нм и флуоресценции при 330 нм [10]. Данные приведены в мкг/мг белка.

Уровень ПОЛ и содержание α -токоферола определяли в гомогенатах мозга, печени, сердца, мембранах эритроцитов, плазме крови.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований свидетельствуют о том, что уже через 15 мин от начала воздействия и по истечении 2-х ч наблюдается стойкое снижение содержания α -токоферола в сердце. В мозге кратковременное снижение через 15 мин после воздействия сменяется почти полным возвратом к исходному уровню через 2 ч, тогда как плазма, эритроцитарные мембраны и печень значительно

обогащаются им (рис. 1). АЗП и НЗП при этом подавляются в мозге и эритроцитарных мембранах; в печени, после подавления через 15 мин после воздействия, активируется к 2 часам; в сердце незначительно подавляется АЗП и усиливается НЗП (рис. 2, 3). Наблюдаемые сдви-

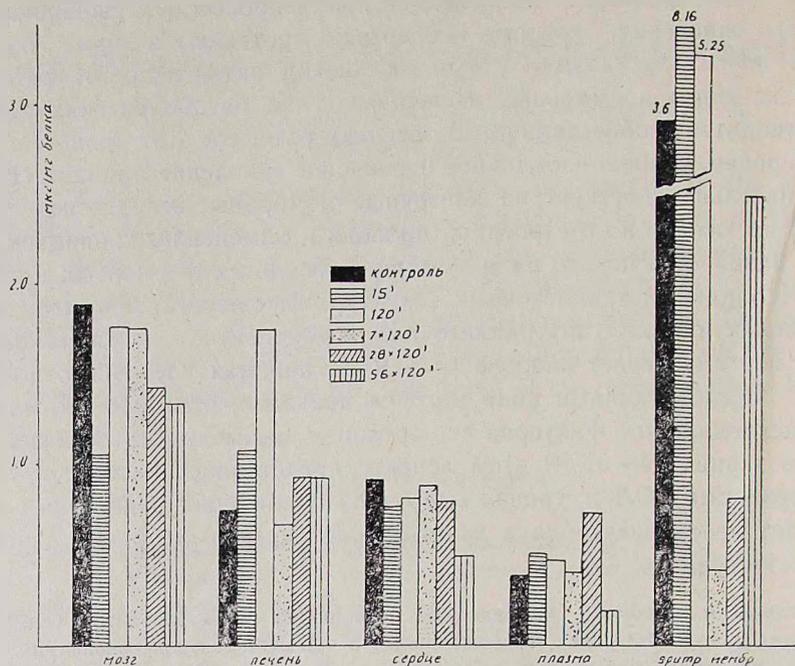


Рис. 1. Уровень α -токоферола в гомогенатах тканей белых крыс в условиях акустического стресса, мкг/мг белка.

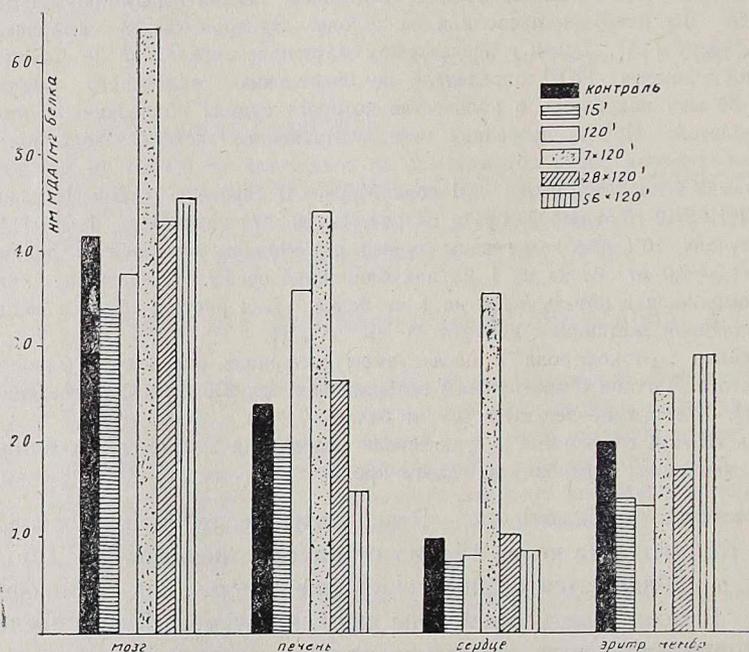


Рис. 2. Уровень неферментативного (аскорбатзависимого ПОИ) в гомогенатах тканей белых крыс в условиях акустического стресса, нм МДА/мг белка.

ти, на наш взгляд, объясняются как активированием антиоксидантной системы, вовлечением ее в процесс детоксикации продуктов ПОЛ, так и транспортом α -токоферола из наиболее богатой им жировой ткани в кровь [9].

Семиразовое ежедневное воздействие шума приводит к резкой интенсификации ПОЛ во всех исследуемых тканях, за исключением НЗП в эритроцитарных мембранах. При этом наблюдаются значительные сдвиги в уровне α -токоферола: содержание его резко снижается в эри-

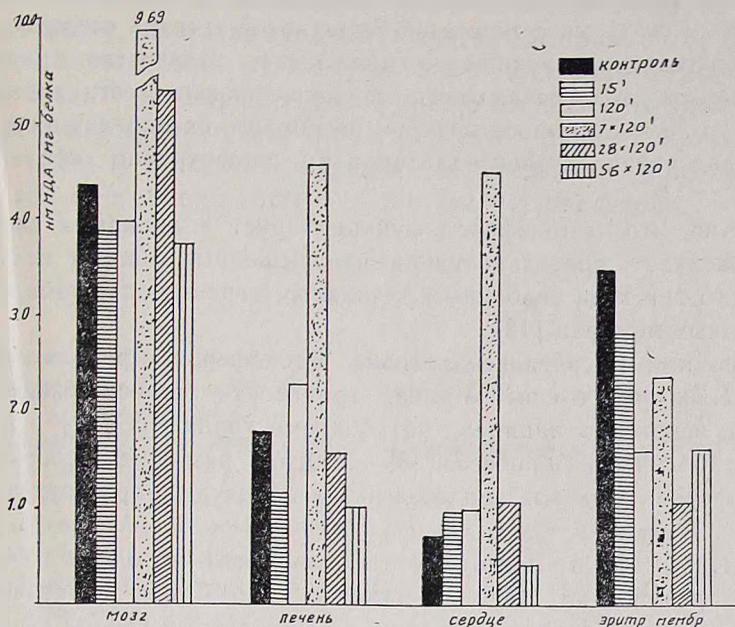


Рис. 3. Уровень ферментативного (НАДФ-Н зависящего) ПОЛ в гомогенатах тканей белых крыс в условиях акустического стресса, нМ МДА/мг белка.

троцитарных мембранах, остается ниже контроля в мозге, печени, сердце, возвращается к контрольному уровню в плазме. При последующем воздействии стрессора (28×2 ч) в сердце, печени и мозге способность к перекислению продолжает оставаться выше контроля, а содержание α -токоферола—ниже. В плазме при этом отмечается максимально высокий уровень α -токоферола, который к 56-разовому воздействию сменяется резким снижением как в плазме, так и во всех исследуемых тканях, за исключением печени. Снижение содержания α -токоферола особенно выражено в сердце. ПОЛ при этом угнетено во всех исследуемых тканях, за исключением печени. На рис. 2 и 3 видна однонаправленность сдвигов НЗП и АЗП в мозге, печени и сердце белых крыс в соответствующие сроки эксперимента, хотя интенсивность их различна.

Весьма интересны сдвиги, наблюдаемые в печени: содержание α -токоферола и интенсивность ПОЛ значительно выше контрольного уровня в отличие от таковых в сердце и мозге, в которых в результате 56-ти (8 недель) ежедневных воздействий шума эти показатели резко снижаются.

Нормально функционирующее сердце по сравнению с печенью и мозгом характеризуется очень низким стационарным уровнем липоперокисления и довольно высоким при этом содержанием α -токоферола. Анализ интенсивности полученных данных свидетельствует о наибольшей метаболической ранимости сердца в условиях акустического стресса.

Значительное снижение уровня ПОЛ в исследуемых тканях через 28 и еще большее через 56 дней воздействия стрессора, по-видимому, обусловлено изменением состава фосфолипидов мембран, их окисляемости; это согласуется с гипотезой Бурлаковой и сотр., согласно которой воздействия, приводящие к уменьшению количества природных антиоксидантов, должны вызывать снижение окисляемости липидов, и наоборот, т. е. состав фосфолипидов мембран, их окисляемость, скорость расходования антиоксидантов и их концентрации сбалансированы [2].

Известно, что α -токоферол функционирует в липидных системах как антиоксидант, предохраняющий ненасыщенные липиды тканей от агрессивного действия свободных радикалов, играет роль стабилизаторов клеточных мембран [12].

Однако, помимо антиоксидантной, α -токоферол играет и важную специфическую роль в синтезе гема, транспорте эссенциальных аминокислот и некоторых липидов, метаболизме коллагена [11] и в ряде других метаболических процессов [8]. Поэтому развитие недостаточности α -токоферола в тканях является неблагоприятным прогностическим фактором.

Полученные данные позволяют предположить, что одним из основных путей реализации патологического воздействия акустического стресса на организм является усиление ПОЛ в острый период стресса с последующим снижением содержания α -токоферола в тканях.

Ереванский медицинский институт, кафедра биохимии

Поступило 21.III 1983 г.

ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԿԵՐՕՔՍԻՐՈՒՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԸ ԵՎ α -ՏՈԿՈՖԵՐՈՒԻ ՄԱԿԱՐԴԱԿԸ ՄՊԻՏԱԿ ԱՌՆՏՆՆԵՐԻ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐՈՒՄ ԱԿՈՒՍՏԻԿ ՍՏՐԵՍԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Մ. Մ. ՄԵԼՔՈՆՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԵԻՔԱՐՅԱՆ, Ե. Ա. ՄԵԼԻՔ-ԱՂԱՅՎԱ, Ա. Ա. ՌՈՒԽՅԱՆ

Ակուստիկ ստրեսի պայմաններում սպիրտակ առնետների մոտ ուսումնասիրվել են լիպիդային գերօքսիդացման ֆերմենտային և ոչ ֆերմենտային պրոցեսի տեղաշարժերը և α -տոկոֆերոլի քանակը լյարդի, սրտամկանի, ուղեղի հմոգենատներում, էրիթրոցիտար թաղանթներում և արյան պլազմայում:

Ցույց է տրվել, որ բացահայտված տեղաշարժերի ինտենսիվությունը կախված է հետազոտվող հյուսվածքի տեսակից և ազդման ժամկետից: Գերօքսիդացման պրոցեսի առավել ուժեղացում դիտվում է փորձի 7-րդ օրը և ավելի արտահայտված է սրտամկանում: Ուսումնասիրված հյուսվածքներում որոշակի կապ գոյություն ունի լիպիդային գերօքսիդացման մակարդակի և α -տոկոֆերոլի քանակի միջև:

THE PROCESS OF LIPID PEROXIDATION AND α -TOCOPHEROL LEVEL IN THE WHITE RATS TISSUES UNDER CONDITIONS OF THE ACOUSTIC STRESS

M. M. MELKONIAN, V. G. MKHITARIAN, E. A. MELIK-AGAEVA,
A. A. RUKHKIAN

The changes of intensity of enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation and α -tocopherol content in the liver, heart, brain homogenates, erythrocyte membranes and blood plasma of white rats have been studied under conditions of acoustic stress. The intensity of the revealed changes depends both on the type of the investigated tissue and the action term. The sharp increase of lipid peroxidation is observed on the 7-th day of the experiment. The changes are more expressed in the heart. There is a definite dependence between the lipid peroxidation level and α -tocopherol content in the investigated tissues.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Артюхин Н. И., Левшина И. П. Бюлл. exper. биол. и мед., 1, 98—100, 1982.
2. Бурлакова Е. Б., Кухтина Е. Н., Хромова Н. Г., Аристархова С. А. Биохимия, 47, 5, 822—829, 1982.
3. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
4. Меерсон Ф. З. Стресс, адаптация и профилактика. М., 1981.
5. Микаелян Э. М., Мелконян М. М., Араратян Э. А., Мхитарян В. Г. Биолог. ж. Армении, 31, 5, 545, 1978.
6. Мхитарян В. Г., Араратян Э. А., Микаелян Э. М., Мелконян М. М. Ж. exper. и клин. мед., 17, 5, 13, 1977.
7. Ничков С., Кривицкая Г. Н. Акустический стресс и церебро-висцеральные нарушения. М., 1969.
8. Шатерников В. А. Витамины. 125—150, М., 1974.
9. Carpenter M. P. Ann. N. Y. Akad. sci., 209, 81, 1972.
10. Duggan D. E. Arch. Biochem. Biophys., 84, 116, 1959.
11. Green J. Ann. N. Y. Acad. sci., 203, 29, 1972.
12. Kitabchi A. E. Ann. N. Y. Acad. sci., 203, 123, 1972.
13. Limber G. K., Roy Davis. Seymour Bakerman, Blood, 36, 111, 1970.
14. Lowry O. H., Rosebrough N. S., Faur A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.