

5. Норимов А. Ш., Хаитов Р. М., Гамбаров С. С. Бюлл. exper. биол. и мед., 12, 1475, 1976.
6. Сидорова Е. В. Биохимия, 31, 789, 1966.
7. Сидорова Е. В., Фенталин Л. Н., Исавикова Т. К., Певницкий Л. А. Бюлл. exper. биол. и мед., 2, 190, 1977.
8. Хаитов Р. М., Арипова Т. У. Бюлл. exper. биол. и мед., 10, 464, 1977.
9. Хаитов Р. М., Петров Р. В., Гамбаров С. С., Норимов А. Ш., Блинов В. А. Вести АМН СССР, 2, 9, 1976.
10. Юдин В. М., Федоровская М. И., Уманский Ю. А. Бюлл. exper. биол. и мед., 1, 57, 1975.
11. Якименко Л. В., Семенова-Кобзарь Р. А., Уманский Ю. А. Бюлл. exper. биол. и мед., 4, 91, 1970.
12. Якименко Л. В., Уманский Ю. А. Бюлл. exper. биол. и мед., 5, 86, 1974.
13. Anttila J.—C., Petit Ch., Arrantias S. Immunology, 31, 921, 1976.
14. Blano G., Broxm H. L., Jones F. E., Rosenow V. M. Proc. soc. exp. biol., 1, 507, 1971.
15. Hoover R. G., Hickman S., Siebel H. M., Rebbe N., Lynch R. G. Jour. clin. invest., 67, 308, 1981.
16. Hoover R. G., Lynch R. G. J. Immunology, 12, 1280, 1980.
17. Jerne N. K., Nordin A. A. Science, 140, 105, 1963.
18. Ling N. R., Bishop S., Jefferts R. Jour. Immunol. meth., 5, 279, 1977.
19. Lynch R. G., Rohrer J., Otermatt B. Immun. Rev., 46, 45, 1979.
20. Urbain—Vansanten G. Immunology, 19, 783, 1970.

«Биолог. Армения», т. XXVIII, № 5, 1981

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.115+577.151.01:577.152.31

НЕЙТРАЛЬНЫЕ ЛИПИДЫ МЕМБРАН ЛИЗОСОМ И ВНУТРИЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ ЛИПОЛИЗА ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ ОТРАВЛЕНИИ

Ю. В. ТАДЕВОСЯН, К. Г. КАРАГЕЗЯН, Г. А. ГЕВОРКЯН, Г. Б. БАТЦКЯН

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, мембраны лизосом, ферментные системы, липолиз

Длительное действие алкоголя, как и других основных анестетиков, на живой организм проявляется на клеточном уровне прежде всего через модификацию физических и химических свойств биологических мембран [8—10]. В этом отношении наиболее чувствительной является лизосомальная система, отвечающая на внешние воздействия изменением как активности внутрилизосомальных гидролаз, так и мембранных характеристик, приводящим к лабильзации или лизису мембранных оргanelл. Эти нарушения в основном модулируются изменением липидного компонента мембран [4].

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения качественных и количественных изменений различных классов нейтральных липидов мембран и активности некоторых систем липолиза и растворения

мой фракции лизосом печени белых крыс в норме и при 30-дневной алкогольной интоксикации.

Материал и методика. Опыты проводили на белых крысах-самцах массой 180–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Для животных опытной группы единственным источником питья в течение 30 дней служил 25%-ный раствор этанола. Нагруженные неионным детергентом тритоном WR-1339 лизосомальные фракции печеночной ткани получали методом Труа [11] в модификации Лейтона [6]. Чистоту фракции лизосом проверяли по активности маркерных ферментов—кислотной фосфатазы [3] и моноаминоксидазы [7].

Выделение лизосомальных мембран (ЛМ) производили 10-кратным замораживанием—оттаиванием лизосом с последующим центрифугированием при 100000 g в течение 30 мин. Нейтральные липиды (НЛ) фракционировали методом одномерной ТСХ на пластинках, импрегнированных борной кислотой, в системе растворителей петролейный эфир—диэтиловый эфир—муравьиная кислота (60:40:2 объем/объем). Количественное определение фракции НЛ проводили по методике Аменты [1].

Активность лизофосфолипазы и диэтилофосфолипазы С определяли в инкубационной среде Na-ацетатного буфера (0,05 M, pH 4,5), содержащего 4,5 наномолей 1-[¹⁴C]-глицерола лизофосфатидилхолина (спец. активность 57 микрокюри/миллимоляр, Amersham, Англия), около 20 мкг белка в конечном объеме 0,5 мл. По завершении инкубации при температуре 37°C в течение 10 мин проводили экстракцию [2] и продукты гидролиза фракционировали в вышеуказанной системе растворителей. Пятна проявляли в парах йода, степень их радиоактивности определяли в жидкости Брег в сцинтилляционном спектрофлуориметре Roche-Bioelectronique, France. SL-4221 модификация. Достоверность полученных результатов проверяли на системе Стюденга-Рихтера.

Результаты и обсуждение. Проведенные ранее исследования показали значительную степень дестабилизации ЛМ в условиях алкогольной интоксикации, что коррелирует с увеличением активности, обнаруженной нами мембраносвязанной фосфолипазы А₂ и количеством образующихся при этом лизоформ фосфолипидов, обладающих выраженным мембранолитическим свойством [12]. Исходя из результатов этих исследований, можно было бы предположить, что активируются также последующие этапы липолиза в лизосомах печени белых крыс с соответствующими фракционными изменениями в спектре НЛ.

Изучение сдвигов в содержании отдельных фракций НЛ в ЛМ показало увеличение этих соединений (табл.). Примечательно достовер-

Таблица
Количественные изменения нейтральных липидов в лизосомальных мембранах печени крыс в условиях хронической алкогольной интоксикации, мкг. мг белка⁻¹

Фракции нейтральных липидов	Условия эксперимента	
	контроль	алкогольная интоксикация
МГ	20.7±1.0	24.2±0.2
ДГ—Х	72.5±5.9	95.9±9.0*
СЖК	97.6±18.3	176.2±8.9**
ТГ	17.7±1.2	76.5±5.7***
ЭХ	37.9±3.3	93.3±6.0***

Примечание: МГ—моноглицериды, ДГ—диглицериды, Х—холестерин, СЖК—свободные жирные кислоты, ТГ—триглицериды, ЭХ—эфиры холестерина. *—P<0,05; **—P<0,02; ***—P<0,001.

ное повышение уровня свободных жирных кислот, свидетельствующее об активации процессов деацилирования липидов. Увеличение количества эфиров холестерина, по всей вероятности, можно объяснить как следствие возможного ацилирования свободного холестерина, уровень которого, можно полагать, не увеличивается в объединенной фракции диглицеридов с холестерином. Повышение же содержания триглицеридов и ЛМ, вероятно, обусловлено интенсивным захватом липопротеинов этими органеллами [5].

Исследование активности лизофосфолипазы и лизофосфолипазы С в растворимой фракции лизосом выявило (рис.) значительное активирование процессов дальнейшего распада фосфоглицеридов, приводящего к повышению содержания различных фракций НЛ и ЛМ в условиях длительной алкогольной интоксикации.

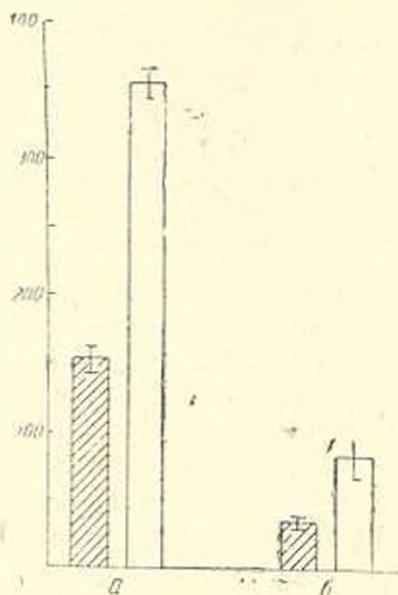


Рис. Действие 30-дневной алкогольной интоксикации на активность: а) лизофосфолипазы и б) лизофосфолипазы С (пикомоль $[^{14}\text{C}]$ продукта $\cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}$ белка $^{-1}$) в растворимой фракции лизосом печени белых крыс.

Примечание:  — контроль;  — алкогольная интоксикация.

Полученные данные свидетельствуют о расщеплении лизофосфоглицеридов, преимущественно под действием лизофосфолипазы. Результаты ранее проведенных исследований и данные, приведенные в настоящем сообщении, выявляют закономерности, выражающиеся в сдвигах липидного метаболизма в мембранной и растворимой фракциях лизосом печени белых крыс под действием длительной интоксикации этанолом. Они также проливают свет на понимание процесса дестабилизации этих органелл в условиях указанной патологии.

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 12.II 1985 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Amenta I. G. J. Lipid Res., 5, 270, 1964.
2. Bligh E., Dyer W. J. Canad. J. Biochem. Physiol., 37, 911, 1959.
3. Bodansky P. J. Biol. Chem., 101, 93, 1933.
4. Chin I. H., Parsons L. M., Goldstein D. H. Biochem. et Biophys. Acta, 513, 358, 1978.

