9. *Katz E. and Pugh L.* Appl. Microbiol., 9, 263, 1961.
01. *Wheeler G. P., Bennett L. L.* Biochem., Pharmacol., 11, 353, 1962.

Ереванский государственный университет,
кафедра генетики и цитологии

Поступило 7.II 1985 г.

УДК 547.992:547.913:547.918:547.915

ВЛИЯНИЕ ДИГЛЮКОЗИДА ДИГИДРОКУКУРБИТАЦИНА Д НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ СТРЕССЕ

М. А. ДАДАЯН, А. Г. ПАНОСЯН

Ключевые слова: стресс, кукурбитацины, перекисное окисление липидов, микросомы печени.

Известно, что при стрессе происходит резкая активация перекисного окисления липидов [2] с образованием свободных радикалов, оказывающих токсическое влияние на ткани в результате воздействия на структурную организацию биологических мембран, что, в свою очередь, приводит к функциональным изменениям гормональных и других регулирующих систем организма [5].

Некоторые из продуктов превращения гидроперекисей арахидоновой кислоты (лейкотриен B_4 и 14, 15-дигидроксиэйкозатетраеновая кислота) являются модуляторами образования супероксиданиона O_2 [10, 11], инициирующего дальнейшую цепь перекрестного окисления липидов [6, 8].

Ранее было показано, что 16 α, 20-дигидрокси-2 β, 25-ди-/β-D-глюкопиранозилокси/-кукурбитен-5-трион-3, 11, 22 (диглюкозид дигидрокукурбитацина Д, ДДКД), выделенный из корней *Bryonia alba L.* [3], повышает работоспособность мышей [4]. В настоящей работе нами изучено влияние ДДКД на липидную пероксидацию в микросомах печени крыс, подвергнутых стрессу.

Материал и методика. Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах. Стресс вызывали однократной 2,5-часовой иммобилизацией крыс [7]. Животных делили на пять групп. Крысам двух групп ежедневно вводили по 0,5 мл растворителя (воды); остальным животным внутримышечно вводили по 0,5 мл водного раствора ДДКД в дозах 1; 0,1; 0,01 мг/кг массы в течение 14 дней. Затем крыс четырех групп подвергали иммобилизации, за исключением одной—контрольной. Сразу после иммобилизации их декапитировали, извлекали печень и гомогенизировали в буферном растворе (4 мМ трис-HCl, pH 7.4), содержащем 0.25 М сахарозу. Гомогенат центрифугировали при 10000 *g* в течение 15 мин, супернатант отделяли и центрифугировали при 100000 *g* в течение 1 часа. Осадок отмывали от сахарозы центрифугированием в буферном растворе (4 мМ трис-HCl, pH 7.4) в течение 30—40 мин при 100000 *g*. Полученные микросомы ресуспендировали в среде инкубации (40 мМ трис-HCl, pH 7.4). Белок определяли по методу Лоури [9].

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в микросомах печени крыс определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК)—по выходу малонового диальдегида (МДА) [1].

Для определения интенсивности неферментативного окисления к пробам, содержащим 0,5—1 мг белка микросом и 12 мкМ феррицианида калия, добавляли аскорбиновую кислоту, и смесь, встряхивая, инкубировали в водяной бане при 37°С.

При определении интенсивности ПОЛ в ферментативной, НАДФ-Н специфичной цепи окисления Fe^{+2} вместо аскорбиновой кислоты использовали 1 мМ НАДФ-Н и 20 мМ пирофосфата натрия. В обоих случаях общий объем инкубационной смеси был равен 1 мл. Для остановки реакций белок осаждали добавлением 1 мл 30%-ной трихлоруксусной кислоты, смесь центрифугировали при 8000 g в течение 20 мин, отбирали по 1 мл супернатанта, к которому добавляли 0,2 мл 0,6 М HCl и 0,8 мл 0,12 М ТБК. Растворы кипятили на водяной бане в течение 15 мин, охлаждали и измеряли оптическую плотность полученных образцов при 535 нм (СФ-16а).

В другой серии опытов ДДКД инкубировали с микросомами печени крыс, подвергнутых иммобилизации. Условия инкубации те же, концентрация ДДКД в инкубационной среде составляла 10^{-5}—10^{-7} М. Контролем служила группа крыс, подвергнутых стрессу.

Результаты и обсуждение. Влияние ДДКД на ПОЛ in vivo. Как видно из рисунка (рис. 1а), уровень липидных перекисей в аскорбатзависимой системе окисления при стрессе повышается почти в 2 раза. При введении ДДКД в дозах 0,1 и 0,01 мг/кг массы наблюдается лишь незначительное по сравнению со стрессом уменьшение содержания перекисей липидов, в то время как введение 1 мг/кг массы приводит к уровню, близкому к контрольному.

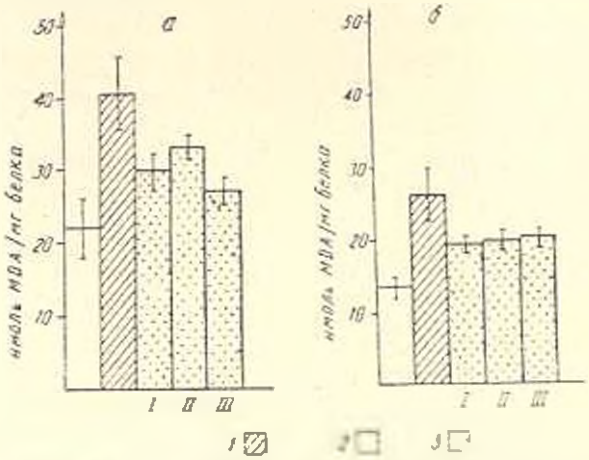

Рис. 1. Перекисное окисление липидов микросом печени крыс при введении ДДКД в дозах: I—0,01; II—0,1; III—1 мг/кг массы; а—аскорбатзависимое окисление, б—НАДФ-Н-зависимое окисление. 1—стресс, 2—контроль, 3—ДДКД.

На рис. 1б показано влияние ДДКД на свободнорадикальное окисление липидов в опытах с НАДФ-Н-зависимой системой окисления. При стрессе уровень липидных перекисей также повышался в два раза, в то время как у крыс, которым вводили ДДКД, он был значительно ниже при всех трех дозах.

Влияние ДДКД на ПОЛ in vitro. Как видно из рис. 2, ДДКД, начиная с концентрации 10^{-6}М, снижает уровень липидных перекисей в НАДФ-Н специфичной цепи окисления. В аскорбатзависимой системе окисления достоверных изменений при действии ДДКД не наблюдается.

На основании полученных данных можно заключить, что введение крысам ДДКД в дозах 10^{-5}—10^{-7}моль/кг при стрессе приводит к то-

му, что в микросомах печени животных липидная пероксидация протекает значительно менее интенсивно.

Антиоксидантное действие ДДКД связано с его ингибирующим влиянием на стадию зарождения процесса свободнорадикального окисления жирных кислот в микросомах печени, а именно на окисление Fe^{2+}

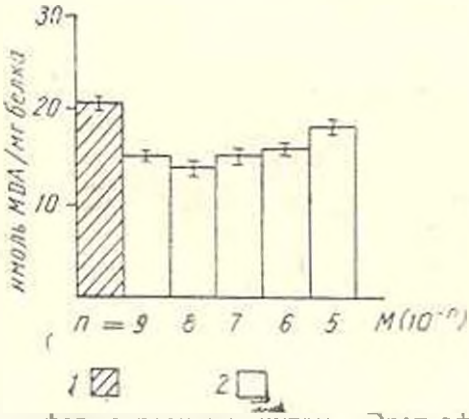

Рис. 2. Влияние ДДКД на перекисное окисление липидов микросом печени крыс в НАДФ-Н зависимой системе окисления in vitro. 1—контроль; 2—ДДКД.

в F^{+} как ферментативным, так и неферментативным путем. Этот эффект при ферментативном пути окисления Fe^{+2} проявляется также в опытах in vitro, где ДДКД добавляли непосредственно к микросомам печени крыс, подвергнутых стрессу. В аскорбатзависимой же, неферментативной системе окисления in vitro ДДКД не действует.

Таким образом, ДДКД ингибирует ПОЛ в микросомах печени крыс при стрессе, действуя на ферментативную систему инициирования цепи окисления.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* В кн.: Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
2. *Меерсон Ф. З.* В кн.: Адаптация, стресс, профилактика. М., 1981.
3. *Паносян А. Г., Никищенко М. Н., Мнацаканян В. А., Садовская В. Л.* Биоорганическая химия, 5, 5, 721, 1979.
4. *Паносян С. А., Паносян А. Г., Гаспарян Г. П., Джалоян Н. Г., Никищенко М. Н., Аветисян Г. М., Мнацаканян В. А.* В сб.: Новые данные об элеутерококке и других адаптогенах. Владивосток, 1981.
5. *Фридович И.* В кн.: Свободные радикалы в биологии. 1, М., 1979.
6. *Hornsby P. J., Crivello J. F.* Mol. and Cell Endocrinol., *30*, 2, 123, 198
7. *Kvetnansky R. K., Gewirtz G. P., Weise V. K., Kopin I. J.* Endocrinol., 5, 7, 1323, 1970.
8. *Logani M. K., Davies R. E.* Lipids, *13*, 6, 485, 1980.
9. *Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall K.* J. Biol. Chem., *193*, 2, 265, 1951.
10. *Radmark O., Serhan C., Hamberg M., Lundberg V., Ennis M. D., Bundy G. L., Oglesby T. D., Aristoff P. A., Harrison A. W.* J. Biol. Chem., 259, 21, 13011, 1984.
11. *Serhan C. N., Radin A., Smaten A., Korchak H. M., Samuelsson B., Weissman G.* Biochem. Biophys. Res. Commun., *107*, 1006, 1982.

НИИ медицинской радиологии
МЗ Армянской ССР

Поступило 8.IV 1985 г.