

Таблица 3. Уровень ПОЛ в крови больных гипертонической болезнью до и после лечения

Больные	До лечения	После лечения
1	285,0	170,0
2	246,0	158,0
3	326,0	154,0
4	255,0	164,0
5	240,0	160,0
6	290,0	150,0
7	240,0	155,0
8	230,0	162,0
Среднее	264,0	159,0
Доноры	128,0 мкМ/мл крови	

Одной из главных причин активирования ПОЛ при изученной патологии, на наш взгляд, является значительное понижение антиоксидентной активности липидов, обусловленной преимущественно убылью эндогенного α -токоферола [6]. Это ставит под угрозу состоятельность защитных факторов клетки, подвергающихся истощающему действию токсических продуктов ПОЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бенисовиц В. И., Идельсон Л. И. Вопросы мед. химии, 19, 6, 596, 1973.
2. Карагезян К. Т. Лабор. дело, 1, 23—26, 1969.
3. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Т. Биохимия, 26, 6, 1027—1033, 1961.
4. Gravid J. Br. J. Nutr., 27, 19—26, 1972.
5. Gravid J., Hartmann S. Acta Pathol. et Microbiol. Scand., 30, 1, 2—5, 1982.
6. Diplot A. T. Ann. vii. et enzyme., 4, 1, 393—369, 1982.
7. Marinetti A. V., Stotz E. Biochim. Biophys. Acta, 21, 168—170, 1956.

Поступило 18.II 1988 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 12, 1988 г.

УДК 616.379.577.16.1.3 + 577.15

АНТИОКСИДАНТЫ КАК МЕМБРАНОСТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИБЕТЕ

Д. М. ГЕВОРКЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра биохимии

Изучены нормализация уровня общего холестерина и его фракций в мембранах эритроцитов и плазме крови, активности Na^+ , K^+ , Mg-ATPase эритроцитов, а также упорядочение соотношений ЭХ/СХ, ОХ/АТФ-азы в мембранах эритроцитов под влиянием антиоксидантов при аллоксановом диабете.

Сокращения: ПОЛ — перекисное окисление липидов; СРО — свободнорадикальное окисление; ОХ — общий холестерин; СХ — свободный холестерин; ЭХ — эстерифицированный холестерин.

են արվել էրիթրոցիտար թաղանթներում և արյան պլազմայում ընդհանուր խոլեստերինի և նրա ֆրակցիաների մակարդակի, էրիթրոցիտների Na⁺, K⁺, Mg-ԱՏՖ-ազային ակտիվության նորմալացումը, ինչպես և պլազմային շաքարախտի ժամանակ լիզոլզին, ապոալիպոպրոթեինի ազոկետիլային ներքո էրիթրոցիտար թաղանթներում էն/ԱՆ, ԸՆ/ԱՆ-ի ազոկետիլացումը նորմալացումների կարգավորումը:

Normalization of the level of cholesterol and its fractions in the plasma and erythrocyte membranes, the erythrocyte Na⁺, K⁺, Mg-ATP-ase activity, as well as the normalization of esterified and free cholesterol interrelations under the influence of antioxidants at alloxan diabetes has been shown.

Диабет аллоксановый—Na⁺, K⁺, Mg-АТФазы—холестерин—антиоксиданты.

В последние годы получен значительный экспериментальный материал о роли ПОЛ в развитии целого ряда патологических состояний.

Известно, что интактное состояние мембраны обусловлено совокупностью факторов, поддерживающих нормальный функциональный статус мембраносвязанных липидзависимых ферментов. Важную роль при этом играют липид-липидные взаимодействия, микровязкость биомембраны, находящиеся под постоянным регулирующим влиянием процессов СРО липидов. Повышение уровня последних, приводя к образованию агрессивных перекисей, супероксидных анион-радикалов, влияет на резистентность мембраны, вызывает ее деструкцию [2].

Ранее [3, 7, 8] было показано, что развитие диабета сопровождается повышением НАДФН-зависимого и аскорбатзависимого ПОЛ, снижением уровня α-токоферола, изменением активности ферментов антирадикальной защиты клетки (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы), а также фосфолипидного спектра в различных тканях аллоксандиабетических крыс.

Целью настоящего исследования явилось изучение закономерностей развития изменений уровня ОХ, его отдельных фракций—СХ и ЭХ, а также активности мембраносвязанных Na⁺, K⁺-АТФ-азы и Mg-АТФ-азы (КФ 3.6.1.3) у белых крыс спустя 7 дней после развития аллоксанового диабета и на фоне введения α-токоферола, дилудина и хлорида пиника, проявивших свое антиоксидантное действие на уровень ПОЛ, α-токоферола, активность ферментов антирадикальной защиты клетки [3, 7, 8].

Материал и методика. Исследования проводили на 100 безлинейных белых крысах-самцах массой 180–200 г, содержащихся на обычном пищевом рационе. Моделирование аллоксанового диабета проводили внутрибрюшинным введением аллоксана (Sigma, США) из расчета 150 мг/кг массы животного после 10-дневного голодания. О развитии диабета судили по уровню глюкозы в крови, превышающему первоначальный в 2–3 раза. Глюкозу определяли орто-толуидиновым методом.

Экспериментальные животные были разделены на 5 групп: 1—контрольные крысы; 2—аллоксандиабетические; 3—аллоксандиабетические, которым ввели α-токоферол в дозе 1 мг/кг массы; 4—аллоксандиабетические, которым ввели дилудин из расчета 10 мг/кг массы; 5—аллоксандиабетические, которым ввели хлорид пиника из расчета 1 мг/кг массы.

Животных декапировали на 7-е сутки. Выделение, очистку и идентификацию эритроцитарных мембран производили по Лимберу [13], содержание ОХ и его фракций в мембранах эритроцитов и в плазме определяли по методу Сентебровой [9] и

выражали в мкг/мг. белка, активность Na⁺-, K-АТФазы и Mg-АТФазы — по методу [10] и выражали в нмоль Р₁мг мембранного белка/мин, содержание белка — по Лоури [14]. Внутривенное введение α -токоферола, аскорбиновой кислоты и хлорида цинка производили за 18 ч до моделирования болезни и продолжали, выводя через день.

Результаты и обсуждение. Как вытекает из полученных результатов, представленных в табл. 1, аллоксановый диабет характеризуется статистически достоверным увеличением в мембранах эритроцитов уровня ОХ (20,6%), обусловленным резким возрастанием количества СХ (64,4%) и заметным уменьшением ЭХ (32,6%). Из той же таблицы следует, что повышение уровня ОХ в плазме крови происходит преимущественно за счет увеличения содержания СХ.

Как известно, в стабилизации структурно-функциональной полноценности биологической мембраны немаловажное значение придает ОХ и его фракциям как соединениям, играющим заметную роль в регуляции липидных компонентов мембраны, в частности, незастерифицированных жирных кислот и фосфолипидов. Существенное место в стабилизации мембраны отводится постоянству соотношения между отдельными фракциями холестерина. Данные, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о резком изменении этих соотношений, выражающихся в отклонениях в величине коэффициента ЭХ/СХ.

В связи со сказанным представляло интерес выяснение наличия изменений в свойствах мембраносвязанных белков. С этой целью нами изучалась активность АТФаз мембран эритроцитов. Как показано в табл. 2, моделирование аллоксанового диабета сопровождается примерно 58%-ным падением активности общей АТФазы, особенно Mg-АТФ-азы, эффект подавления которой составляет 80%.

Согласно данным литературы, Mg²⁺-АТФаза обнаруживает повышенную чувствительность к стрессорным ситуациям, характеризующимся недостаточностью глюкозы-6-фосфатдегидрогеназы [16], что установлено нами также при аллоксановом диабете [8]. В то же время известно, что Na⁺-, K-АТФазы проявляют определенную опосредованную чувствительность к дефициту инсулина [15], обусловленную, возможно, интенсификацией процессов перекисного окисления [12]. По всей вероятности, в механизмах структурно-функциональной дезорганизации мембраны при аллоксановом диабете немаловажное значение имеет также активация процессов СРО липидов, особенно заметно проявляющаяся в НАДФН-зависимой системе перекисного окисления и сопровождающаяся резким понижением уровня α -токоферола, являющегося выраженным мембраностабилизирующим протекторным фактором [7].

Отмеченные сдвиги свидетельствуют о заметных нарушениях физико-химических свойств мембраны в условиях изученной патологии, выражающихся, в частности, в расстройствах функции проницаемости. Как видно из результатов наших исследований, приведенных в табл. 1, под действием антиоксидантов происходит упорядочение соотношений ЭХ/СХ, а также отдельных фракций холестерина в мембранах эритроцитов. В плазме эритроцитов эффект их менее выражен и наблюдается лишь тенденция к восстановлению ОХ, СХ и ЭХ. Можно допустить, что в основе нормализующего действия антиоксидантов, сопро-

Таблица 1. Динамика изменений ОХ, СХ и ЭХ в эритроцитарных мембранах (мкг/мг белка) и плазме (мг%) при аллоксановом диабете и на фоне введения антиоксидантов

Показатели		1 Контроль n=9	2 Аллоксан n=7	Разница n % 3 к 1	3 Аллоксан + токоферол n=8	Разница n % 3 к 2	4 Аллоксан + алоридиникс n=5	Разница n % 3 к 2	5 Аллоксан + цилудин n=8	Разница n % 5 к 2
Холестерин мембраны эритроцита	Общий	55.73±3.04	67.22±1.41*	+20.6	56.6±1.26**	-15.8	53.18±1.27**	-20.9	58.39±0.73**	-13.2
	Свободный	10.56±0.79	50.25±1.55*	+64.4	28.59±0.61**	-43.2	31.63±0.53**	-37.1	32.7±0.60**	-35
	Эстерифицированный	25.17±0.33	16.97±0.56*	-32.6	28.06±0.41**	+65.3	21.56±0.42**	-27	25.66±0.61**	+51.4
Оксигенное мембрана		0.82	0.33		0.98		0.68		0.78	
Холестерин плазмы крови	Общий	29.81±1.0	35.53±1.5*	+19.2	31.15±1.2**	-12.3	8.75±1.15	-19.1	3.27±1.08	-6.4
	Свободный	5.15±0.31	9.32±0.48*	+80	9.44±1.8	+1.2	6.23±0.26**	-32.5	8.81±0.41	-5.5
	Эстерифицированный	24.66±0.93	26.21±0.72*	+6.3	21.7±0.79**	-17.2	22.52±0.74	-14.1	24.46±0.54	-6.7

Примечание: *—достоверно в сравнении с 1; **—достоверно в сравнении с 2.

Ленинская и Киевская АТФ-холодильники механизированной (в Москве и в Грозном) и в основном пострепанной АТФ-холодильники

Исследуемые АФ-образцы	Содержание К ⁺ Na ⁺ атом на атом	Мг-картеноид	АФ-образцы (X) АТ-4-а	Исследуемые АФ-образцы
1 Контроль n=9 n=7	57,4±1,9	23,98±1,1	-58	61,36±1,0
2 Азоткан n=7	23,9±1,34	17,17±1,03	-27	38,22±2,2
3 Азоткан n=6	23,14±0,58	-31	33,75±2,13	0
4 Азоткан n=6	60,9±1,75	±16	51,2±1,1	-10
5 Азоткан n=6	25,5±0,69	±19	27,7±0,53	-32
6 Азоткан n=6	18,5	14,6	11,1	1,7

ождающегося уменьшением продуктов ПОД; лежит восстановление активности липолитических и липогенных ферментов с упорядочением скорости катаболизма ЛПНП. Это особенно интересно, если учесть появившиеся в последнее время сведения о существовании специальных мембранных локус-рецепторов, специфичных для ЛПНП и призванных транспортировать холестерин внутрь клетки [4]. Антиоксиданты способствуют также оптимизации АТФазной активности (табл. 2). Степень восстановления последней варьирует в зависимости от введенного антиоксиданта, однако тенденция к нормализации характерна для всех трех исследованных препаратов. Так, если активность Na-, K-АТФазы при введении антиоксидантов устанавливается на уровне, несколько превышающем контрольный, то активность Mg-АТФазы несколько отстает от контрольного уровня под влиянием α -токоферола и дибутина. С одной стороны, активирующее действие антиоксидантов, реализуемое, возможно, с внешней стороны мембраны эритроцитов [5], заключается в увеличении ее проницаемости, главным образом в отношении глюкозы, с другой—существенное значение имеет восстановление активности Mg²⁺-зависимой АТФазы, так как Mg-АТФ и Mg-АДФ играют немаловажную роль в защите киназы фосфорилазы от инактивации и от модификации SH-групп, расположенных в области нуклеотидсвязывающих центров [11].

Учитывая имеющиеся в литературе указания об ингибирующей роли стероидов в отношении Na-, K-, Mg-АТФаз [1, 6], мы нашли возможным проследить за изменениями величины коэффициента ОХ/АТФ аза (табл. 2), дающими возможность судить о зависимости активности мембраносвязанных белков от состояния липидного биослойа мембраны. Полученные результаты выявили резкое увеличение этого коэффициента при изученной патологии. На фоне предпринятого лечения антиоксидантами наблюдается нормализация соотношения ОХ/АТФаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырев А. А. Научн. докл. высш. школы. Биол. науки, 3, 3, 1979.
2. Бурлакова Е. Б., Джалябова М. М., Гвахария В. О., Гизмевло Н. Н., Моложикова Е. М., Штолько В. П. Влияние липидов мембран на активность ферментов. Черноголовка, 1978.
3. Геворкян Д. М., Мелик-Азиева Е. А. Биоантиоксидант. 1, 61. Черноголовка, 1985.
4. Гурин В. Н. Обмен липидов при гипотермии, гипертермии и лихорадке. Минск, 1986.
5. Казенков А. М., Маслова М. Н., Шабабодов А. Д. Биохимия, 51, 224, 1986.
6. Камерницкий А. В., Решетова Н. Г., Марсалихова Н. М. Химия природных соединений, 5, 605, 1983.
7. Карагезян К. Г., Овсепян Л. М., Адобец К. Г., Мамиджян Л. З. Петросян А. М. Вопр. мед. химии, 28, 5, 1982.
8. Мхитарян В. Г., Геворкян Д. М. Биол. ж. Армении, 22, 611, 1980.
9. Сентебова Н. А. Лаб. дело, 6, 375, 1977.
10. Цильмер М. К., Тарве М. С. Укр. биохим. ж., 17, 458, 1973.
11. Шур С. А., Скольниченко Л. К., Вильфсон Н. Т. Биохимия, 18, 1981, 1983.
12. Das D. K., Nege A. Chin. Physiol., 2, 2, 1984.
13. Limber G. K., Davis R. F., Fakerman S. Blood, 34, 111, 1970.

14. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L. et al. J. Biol. Chem., 193, 256, 1951.
15. Nagomatsu Shinya J. Kyorin Med. Soc., 15, 239, 1984.
16. Shalev O., Lavi Y., Heibel R., Eilon D. W. Amer. J. Hematol., 19, 131, 1985.

Поступило 18.IV 1988 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 12, 1988 г.

УДК 612.73:612.468

ХЕМОРЕГУЛЯЦИЯ КАК ФАКТОР, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ ФОРМИРОВАНИЕ МЕДЛЕННОЙ СПОКТАННОЙ АКТИВНОСТИ МОЧЕТОЧНИКА

В. Ц. ВАНЦЯН, К. В. КАЗАРЯН

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН АрмССР, Ереван

Показано, что ацетилхолин и атропин увеличивают амплитуду первого компонента медленноволновой активности гладкомышечных клеток мочеточника и учащают ее ритм.

Модулирующее действие адреналина и норадреналина выражается в увеличении амплитуды второго компонента и также учащении ритма. Одновременное введение катехоламинов и ацетилхолина (либо атропина) формирует структуру волны, сходную с наблюдаемой при нормальном кровотоке.

Ցույց է տրված, որ ազդեցիկություն ու տարալիկ յնձուղներում են միգամարմնի շարժ մկանային բջիջների զանգաղ ախրի ակտիվության առաջին կոմպոնենտի ամպլիտուդան և նախապահանջում նրա սիրմը. Ադրենալինի և Նորադրենալինի մոդուլացիոն ազդեցությունն արտահայտվում է ճյուղ կրկնորդ կոմպոնենտի ամպլիտուդայի և սիրմի նախապահանջում: Կատեխոլամինների և ազդեցիկությունից (կամ ատրոպինի) միաժամանակյա ազդեցությունից նկատվում է ախրի բնականոր կառուցվածքի ձևավորում, որը նման է արյան ճարմալ ճարմալի ընթացիկ անոթներին:

It has been shown that acetylcholine and atropin increase the amplitude of the first component of slow wave activity of smooth muscle cells of ureter and its rhythm frequency. The modulation effect of adrenalin and noradrenalin is expressed in increase of the second component's amplitude and also rhythm frequency. Simultaneous injection of catecholamines and acetylcholine (or atropin) forms the wave structure, which is similar to those, recorded at normal blood flow.

Мочеточник—пейсмейкерная область—медленноволновая активность—хеморегуляция.

Пейсмейкерные медленные флюктуации мембранного потенциала гладкомышечных клеток существенным образом связаны с регуляторной ролью биологически активных соединений [1, 9, 10]. Так, для мочеточника показано, что такие физиологически активные соединения, как ацетилхолин, адреналин, норадреналин и атропин, способны модулировать колебания потенциала до ионных характеристик [1].

Данные литературы указывают на два основных механизма ионной проводимости (натриевый и кальциевый), определяющих двухфазную структуру осцилляций потенциала [3, 11, 12]. При этом ионы натрия принимают участие в формировании первого компонента волны,