

ВЛИЯНИЕ ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ НА ФОСФОЛИПИДНУЮ СТРУКТУРУ МЕМБРАН И β -АДРЕНОРЕЦЕПТОРЫ ПРИ ИОНИЗИРУЮЩЕМ ОБЛУЧЕНИИ

Н.А.КАЗАРЯН, М.С.ВАРДАНИЯН, Э.А.ШИРИНЯН, К.И.ИСРАЕЛЯН

*Республиканский гематологический центр Минздрава РА, 375014, Ереван
Институт тонкой органической химии НАН Армении, 375014, Ереван*

Установлено, что при введении полинуклеотидов после ионизирующего облучения намечается выраженная тенденция к нормализации метаболизма фосфолипидов кардиомиоцитов с коррекцией процессов перекисного окисления липидов и одновременным повышением чувствительности β -адренорецепторов миокарда.

Հաստատված է, որ աղիմուլդեռտիդների օգտագործումը իոնիզացիոն ճառագայթման ժամանակ ուղեկցվում է կարդիոմիոցիտների փոփոխությունների ֆոսֆոլիպիդների փոխանակության և լիպիդային գերօքսիդացման գործընթացների կանոնավորմամբ և միաժամանակ սրտամկանի β -ադրենոլեքցեպտորների զգալունության բարձրացմամբ:

It has been defined that during ionizing irradiation the use of polynucleotides is accompanied with the regulation of phospholipids metabolism and the processes of lipid peroxidation in cardiomyocytes membranes and by simultaneously increasing of myocardium β -adrenoreceptors sensibility.

Биомембраны - β -адренорецепторы - ионизирующее облучение - полинуклеотиды

Проблема потенциальной опасности малых доз радиации не теряет своей актуальности [1,3]. Доказано, что увеличение частоты возникновения злокачественных новообразований является одним из наиболее серьезных отдаленных последствий лучевого воздействия. Выявлены функциональные изменения важнейших показателей деятельности отдельных органов и систем, в том числе и сердечно-сосудистой системы после облучения [4,5].

Первичные радиационно-химические реакции, в большей или меньшей степени определяющие лучевую патологию клеток и организмов, возникают и развиваются в биомембранах. Результаты исследований [10] позволяли в определенной мере охарактеризовать ряд эффектов облучения на структурную лабильность липидных и

белковых фаз мембраны, но во многом остается неясным значение этих изменений для клетки и органа в целом, а следовательно, и для механизмов поражающего эффекта ионизирующей радиации. В этом плане изучение функционально-структурных особенностей биомембран клеток миокарда, исследование поражающих мембраны процессов, использование мембрано-стабилизирующих препаратов имеет особое значение для практической медицины.

Согласно структурно-метаболической теории, существенными этапами радиационного поражения биомембран является усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и дегградации фосфолипидов (ФЛ) под действием фосфолипаз. В настоящее время можно считать бесспорным, что в результате нарушения метаболизма ФЛ и таких образовавшихся токсических веществ (лизолиты и перекиси ФЛ) сами по себе могут стать патогенным фактором в развитии ряда заболеваний [10].

Общезвестна роль биомембран во взаимодействии клеток с регулирующими их функцию нейротуморальными и гормональными факторами, связанными с синтезом и функционированием мембранных рецепторов. Воздействие внешних факторов, связывающих или деблокирующих рецепторы, или дезорганизирующих липидную структуру мембран, предопределяет продукцию данных белков-рецепторов.

Применение полинуклеотидов в описанных условиях, в частности, двухспиральной РНК (де-РНК) обосновывается стимулирующим влиянием их на восстановительные процессы в органах и тканях [6].

Стимулирующий эффект полинуклеотидов на биосинтез белка в клетках-мишенях связан в основном с реализацией матричной активности экзогенной РНК. Установлены усиление антибактериальной, антивирусной активности и иммунного ответа, а также стимуляция иммуногенеза нуклеином натрия и другими препаратами РНК дрожжей [7-9]. Активным началом в препарате полинуклеотида из дрожжей является содержащаяся в его составе де-РНК [2]. Кальциевая форма де-РНК (Са-де-РНК) оказывает определенный противоопухольевый эффект [8].

В связи с вышесказанным представлялось интересным изучение влияния Са-де-РНК на фосфолипидную структуру мембран в β -адренорецепторы при ионизирующем облучении.

Материал и методика. В опытах использовали белых крыс-самцов линии Вистар массой 180-200 г. Облучение проводили на аппарате РУМ-17 в дозе 3 Гр, мощность дозы - 0,26 Гр/мин, кожно-фокусное расстояние - 60 см.

В исследованиях использовали эритроцитарные мембраны и микрозольную фракцию кардиомиоцитов, которые поступали общепринятым

методом дифференциального центрифугирования.

Фракционирование индивидуальных ФЛ осуществляли методом двумерной тонкослойной хроматографии на закрепленном слое сорбента марки ЛС 5-40 мкм [10].

Активность ПОЛ определяли по реакции малонового альдегида (МНА) с пикобарбитуровой кислотой [12], а фосфолипиды Л. + спектрофотометрическим методом [13] в модификации Казарьян [11]. О состоянии β_2 и β_1 -адренорецепторов судили по положительным хроматронным (β_+) и депрессорным (β_-) эффектам пидриина, который вводили внутривенно в дозе 0,5 мкг/кг.

Эксперименты проводили в трех сериях: контрольные животные (9 крыс); животные после рентгеновского облучения в дозе 3Гр (9 крыс), облученные животные (7 крыс) после применения Са-де-РНК. Препарат вводили внутривенно в течение трех дней, ежедневно в дозе 5 мкг/кг.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что ионизирующее облучение существенно влияет на содержание всех фракций фосфолипидов микросомальных мембран миокарда белых крыс (табл. 1).

Таблица 1. Изменения индивидуальных фосфолипидов мембран клеток миокарда при ионизирующем облучении в дозе 3 Гр и после применения полинуклеотидов, % от суммы

Фракции фосфолипидов	Контроль n=9	Опыт n=6	P ₁	После применения полинуклеотидов n=6	P ₂
ЛФХ	не выявлено	14,98±0,24		11,11±0,72	<0,05
ФИ	5,33±0,47	13,28±0,22	<0,01	9,39±0,09	<0,05
СФМ	8,01±0,65	16,25±0,84	<0,01	9,99±0,25	<0,01
ФХ	43,06±2,39	15,79±0,44	<0,002	23,04±3,01	<0,01
ФЭ	29,66±1,19	10,77±0,40	<0,01	12,30±0,53	>0,05
ФС	13,34±0,87	8,61±0,25	<0,02	12,45±0,25	<0,01
ФК	2,74±0,54	8,30±0,30	<0,02	12,08±1,31	<0,05
ДФЛ	3,75±0,55	12,00±0,68	<0,02	9,61±0,61	<0,05
Суммарные ФЛ	100	100		100	
Сумма НФЛ	80,73	57,79		56,44	
Сумма КФЛ	25,19	42,19		43,52	
Отношение НФЛ/КФЛ	3,2	1,4		1,3	

Примечание: P₁ - сравнение данных опыта с контролем;

P₂ - сравнение данных после применения препарата с данными опыта

Резкое уменьшение концентрации фосфатидилхолинов (ФХ) сопровождается одновременным повышением уровня лизофосфатидилхолинов (ЛФХ)-цитотоксичных продуктов липолиза. При этом значительно увеличивается содержание фосфатидных кислот (ФК), фосфатидилинозитов (ФИ), сфингомиелинов (СФМ) и лизофосфатидилглицериннов (ДФЛ) или кардиолипидов, одновременно снижается процентное содержание фосфатидилэтанололаминов (ФЭ) и

фосфатидилсеринов (ФС).

Как известно, ФХ и ФЭ являются основным пластическим материалом биомембран, определяющим текучесть, механическую прочность, и влияют на проницаемость сарколеммы для ионов кальция.

В результате изменения этих и других фракций (ФИ, СФМ и ДФ) фосфолипидов мембран клеток миокарда отношение суммы нейтральных фосфолипидов (НФЛ) к сумме кислых (КФЛ) уменьшается более чем в два раза, что обусловлено снижением уровня НФЛ и повышением КФЛ. Изменение фосфолипид-фосфолипидных соотношений может привести к серьезным нарушениям функции мембран, что в свою очередь связано с изменениями в их структуре.

Полученные нами данные указывают также на существенные сдвиги в содержании индивидуальных фосфолипидов мембран эритроцитов при дозе облучения 3 Гр (табл. 2). Ионизирующее облучение сопровождается значительным уменьшением уровня ФХ, ФЭ и ФС - важнейших фосфатидов-глицеридов биомембран, что, по всей вероятности, обусловлено усилением процессов расщепления этих соединений. Об этом, в частности, свидетельствует трехкратное повышение уровня ДФХ. В этих условиях отношение НФЛ/КФЛ заметно снижается, что может привести к нарушениям функциональной активности эритроцитарных мембран [4].

Таблица 2. Изменения индивидуальных фосфолипидов эритроцитарных мембран при ионизирующем облучении в дозе 3 Гр и после применения полинуклеотидов. % от суммы

Фракция фосфолипидов	Контроль n=6	Опыт n=7	P	После применения полинуклеотидов n=7	P
ДФХ	4,2±0,5	11,9±0,4	<0,001	6,8±0,3	<0,01
ФИ	5,8±1,2	14,0±0,5	<0,001	10,4±0,5	<0,05
СФМ	7,2±1,3	22,7±3,5	<0,001	12,0±1,2	<0,001
ФХ	40,7±2,0	21,3±0,3	<0,001	31,2±2,4	<0,01
ФЭ	16,4±2,1	12,9±0,6	<0,05	19,8±3,0	<0,05
ФС	14,3±1,2	11,6±0,5	<0,05	12,0±0,9	>0,5
ДФГ	6,4±1,6	9,5±0,6	>0,05	7,1±0,5	<0,05
Суммарные ФЛ	100	100		100	
Сумма НФЛ	75	63		79	
Сумма КФЛ	25	32		29	
Отношение НФЛ/КФЛ	3,0	2,1		2,4	

Последующими исследованиями нами выявлено также значительное усиление скорости ПОЛ и активности фосфолипазы А₂ в микросомальных мембранах клеток миокарда подопытных животных

(табл. 3). Следовательно, снижение уровня ФХ, ФЭ и ФС в патологически измененной ткани обусловлено как усилением процессов дегградации этих соединений, так и их активным включением в реакции свободнорадикального окисления. При этом увеличение содержания ФН, СФМ и важнейших для миокарда ДФГ или кардиолипина может рассматриваться как компенсаторная реакция, направленная на поддержание структурно-функциональных свойств мембраны при резком увеличении скорости липидной пероксидации.

Таблица 3. Изменение активности фосфолипазы A_2 и ПОЛ в микросомальных мембранах клеток миокарда при ионизирующем облучении в дозе 3 Гр и после применения полинуклеотидов

Исследуемые параметры	Контроль n=10	Опыт n=15	После применения полинуклеотидов n=10
ПОЛ, мкм МДА/г	1,25±0,065	2,06±0,039 P < 0,001	1,01±0,02 P > 0,5
Фосфолипаза A_2 усл.ед.	0,33±0,04	0,71±0,08 P < 0,002	0,65±0,01 P > 0,02

Как известно, действие медиаторов опосредовано их связью с рецепторами, находящимися на поверхности сарколеммы. Особое значение имеет β -адренорецепторная система, активация которой ведет к усилению работы сердца, учащению пульса, увеличению потребности кардиомиоцитов в кислороде. Высокая функциональная активность β -адренорецепторов при облучении, по-видимому, связана с изменением структуры биомембран под действием ИОЛ, фосфолипаз и цитотоксичных лизофосфолипидов. Изменения мембранного строения ограничивают подвижность рецепторных белков и оказывают модулирующее влияние на симпатно-адреналовую реактивность.

Изменение действия полинуклеотидов на количественный и качественный состав фосфолипидов мембран клеток миокарда и эритроцитов при ионизирующем облучении выявило определенную коррекцию метаболизма мембранных липидов. Имеет место выраженная тенденция к нормализации уровня большинства фракций мембранных фосфатидов миокарда (табл. 1). На фоне увеличения содержания ФХ отмечается заметное снижение ДФХ-токсичных продуктов липолиза, при этом уровень СФМ и ФС почти полностью нормализуется. Аналогичные, но менее выраженные сдвиги отмечаются и со стороны фосфолипидов мембран эритроцитов подопытных животных после применения полинуклеотидов. Примечательно, что в этих условиях

скорость ПОЛ в микросомальных мембранах клеток миокарда снижается в два раза и приближается к норме.

Данные о влиянии изадрина на частоту сердечбиений и артериальное давление крыс после ионизирующего облучения и применения полинуклеотидов во всех 3 сериях приведены в табл. 4. Видно, что у контрольных животных изадрин вызывает увеличение частоты сердечбиения до 80 уд/мин, а у облученных и получивших полинуклеотиды облученных животных - соответственно до 120 и 138 уд/мин. Депрессорный же эффект изадрина во всех трех сериях опытов

Таблица 4. Действие ионизирующего облучения в дозе 3 Гр и полинуклеотидов на реакции, опосредуемые β_1 - и β_2 -адренорецепторами

Условия эксперимента	Количество опытов	Положительный хромотрипный эффект изадрина, уд/мин (P)	Депрессорный эффект изадрина, мм Руг (P)
Контроль	4	80(61,5 - 96,2)	39(29,5 - 48,5)
Опыт	9	120(94,2 - 145,8)*	40(30,3 - 49,7)
После применения полинуклеотидов	*	138(113 - 163)*	36(24,9 - 47,1)

Примечание: * - статистически достоверные связи ($P < 0,05$) по отношению к данным контрольной группы.

оставался неизменным.

Приведенные цифры свидетельствуют о том, что у облученных животных изадрин на 40 уд/мин повышает частоту сердечбиений, что составляет 50% по сравнению с контрольными животными, а у облученных и затем получивших препарат крыс, на 58 уд/мин (72,50%).

Таким образом, при введении полинуклеотидов после ионизирующего облучения намечается явная тенденция к нормализации метаболизма фосфолипидов мембран кардиомиоцитов с коррекцией процессов ПОЛ и одновременным повышением чувствительности β -адренорецепторов миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абакумов Г.З., Калицкий Э.А., Селсвич М.И. Радиобиол. съезд, Киев, 20-25 сентября 1993г., 3, 1993.
2. Асбалаян А.С., Давтян О.Я., Багдасарян А.А., Манукян Э.В. и др. ДАН Арм ССР, 88, 1, 31-34, 1989.
3. Алексина С.М., Дробницкая Л.В., Холжавко И.Г. Радиобиол. съезд, Киев, 20-25 сентября 1993г., 12, 1993.
4. Белогурова Л.В. Радиобиол. съезд, Киев, 20-25 сентября 1993г., 95-96, 1993.

5. Данияров С.Б. Лучевая болезнь и сердечно-сосудистая система. Фрунзе, 1974.
6. Захарян Р.А. Биохимия, 56, 11, 1960-1967, 1991.
7. Захарян Р.А., Акопян Ж.И., Агабалян А.С., Чарчоглян А.А. ДАН Арм ССР, 4, 185-187, 1985.
8. Захарян Р.А., Месроbian Н.И., Мовсесян А.В. и др. Экспер. онкология, 7, 54-56, 1985.
9. Захарян Р.А., Рухкян Л.А. Биохимия, ДАН СССР, 302, 6, 1498-1500, 1988.
10. Казарян П.А., Элоян Д.В. Нарушение фосфолипидного обмена. 28-30, М., 1985.
11. Казарян П.А., Элоян Д.В. Хроматографические методы (распределительная и адсорбционная хроматография) 40, М., 1982.
12. Лонкин В.З., Гуревич С.М., Бурлакова Е.Б. В кн.: Биоантиокислители, 73-78, М.
13. Grassl M., Maellering H. Anal. Chem., 243, 416-423, 1969.

Поступила 15 VII.1996

Биолог. журн. Армении, 1-2 (50), 1997

УДК 576.3:576.311.616.37

ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ТИОСУЛЬФАТА НАТРИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ У КРЫС

Е.М.КАРАЛОВА, Л.А.АКОПЯН, Н.А.ГАБРИЭЛЯН, А.С.КАПАЯН,
Ю.А.МАГАКЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375044, Ереван

Методами цитоморфологии, морфометрии, автордиографии и инфлюометрии изучали влияние тиосульфата натрия (ТСН) на поведение гепатоцитов при экспериментальном остром панкреатите (ЭОП) у крыс. Показано, что ТСН повышает их устойчивость к действию панкреатогенных токсинов, стимулирует синтез ДНК, митотическую активность, восстановление их численности и, в результате преодоления повторной атаки панкреатита, в популяции энокриновых панкреатитов на втором этапе ЭОП, снижает напряженность выполняемых гепатоцитами депоксикационной функции.

Բջջամորֆոլոգիայի, մորֆոմետրիայի, ավտորադիոգրաֆիայի և
ընթացափոփոխության մեթոդներով առնետների մուսուումնասիրվել է նատրիումի
թիոսուլֆատի (ՆԹՆ) ազդեցությունը լյարդի բջջերի վարքագծի վրա