

## ИЗМЕНЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ АТФ-азы В ОНТОГЕНЕЗЕ

Г.А. БЕГЛЯРЯН, Э.Р. ФРАНГУЛЯН, Ж.С. ГЕВОРКЯН

*Институт биохимии НАН Армении, Университетский центр ИС и СЗ,  
375044, Ереван*

*Онтогенез - перекисное окисление липидов - АТФ-аза*

Ранее нами было показано [2], что в слизистой оболочке желудка и тонкого кишечника белых крыс синтезируются и секретируются в кровь высокоактивные антиоксидантные соединения, которые резко подавляют процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мозговой, печеночной, почечной и сердечной тканях. Они термостабильны, водорастворимы, легко проходят через клеточную мембрану. С другой стороны, было установлено [3], что цитозольные фракции мозговой и печеночной тканей содержат вещество органической природы, которое обладает высокой прооксидантной активностью.

Учитывая вышесказанное и принимая во внимание важную роль мембраносвязанной АТФ-азы в функционировании клетки, мы предприняли исследования по изучению кинетики изменения активности выделенных нами антиоксидантных и прооксидантного факторов АТФ-азы в различных тканях в онтогенезе.

**Материал и методика.** Изменение активности антиоксидантных факторов желудка и тонкого кишечника изучали на срезах печеночной и мозговой тканей белых крыс. После декаптации животных извлекали мозг и печень и в холодных условиях готовили срезы (по 100 мг), которые инкубировали в трис-НСl буфере (2 мл, pH 7,4) в течение одного часа при 37° в атмосфере воздуха. Об интенсивности процессов ПОЛ судили по накоплению малонового диальдегида (МДА), количество которого определяли по Вальмирану и Арчакову [1]. Активность прооксидантного фактора мозговой ткани определяли по влиянию ее цитозольной фракции на интенсивность образования МДА в ядерной, митохондриальной и микросомальной фракциях этой же ткани.

С целью получения ядерной, митохондриальной, микросомальной и цитозольной фракций гомогенат слизистой оболочки желудка и тонкого кишечника подвергали дифференциальному центрифугированию при 800, 15000 и 105000 g. К инкубируемой пробе тканей добавляли фракции, соответствующие 100 мг сырой ткани. АТФ-азную активность определяли по Боптину и сопр. [4].

**Результаты и обсуждение.** Как видно из табл. 1, в ходе онтогенетического развития интенсивность ПОЛ в мозговой, печеночной, почечной и сердечной тканях зародышей крыс низкая. С возрастом эти процессы постепенно усиливаются и в возрасте 3 лет составляют величину, намного превышающую уровень ПОЛ, наблюдаемый у зародышей и новорожденных крыс. Следует отметить, что интенсивность этих процессов больше выражена в печеночной и особенно мозговой тканях, что, вероятно, связано с наличием в них высокоактивного прооксидантного фактора.

**Таблица 1.** Изменение интенсивности ПОЛ в онтогенезе (МДА, нмоль/0,1 г ткани/ч)  $M \pm m$ ;  $n=5$

Возраст животных	Ткани			
	мозговая	сердечная	печеночная	почечная
Зародыш до инкубации	3,5±0,5	2,8±0,3	2,8±0,2	2,8±0,1
после инкубации	6,8±0,7	4,6±0,5	8,0±0,6	4,8±0,5
Новорожденные (1-2 дн.)				
до инкубации	3,6±0,5	3,6±0,4	3,2±0,5	2,8±0,3
после инкубации	8,4±0,8	6,4±0,7	7,6±0,5	7,2±0,7
15-дневные до инкубации	3,0±0,3	3,2±0,4	3,5±0,4	3,2±0,2
после инкубации	26,4±2,5	14,8±1,0	18,4±2,5	11,2±1,1
3-месячные до инкубации	3,6±0,7	3,2±0,4	3,5±0,4	3,2±0,2
после инкубации	34,8±3,5	12,6±2,1	24,4±2,8	16,4±2,3
12-месячные до инкубации	4,4±0,4	3,4±0,1	3,6±0,2	3,6±0,1
после инкубации	34,0±3,5	14,9±1,1	24,3±1,8	16,0±1,2
24-месячные до инкубации	4,8±0,3	3,6±0,2	4,4±0,3	3,6±0,4
после инкубации	39,6±3,5	19,2±2,1	26,8±2,9	16,4±1,8
36-месячные до инкубации	5,4±0,4	3,8±0,3	4,8±0,4	3,8±0,3
после инкубации	40,0±4,1	25,5±2,1	29,2±2,5	19,4±2,3

Опыты, проведенные на срезах мозговой и печеночной тканей, показали (табл. 2), что у зародышей наблюдается подавление ПОЛ, что свидетельствует об антиоксидантной активности как желудочного, так и

**Таблица 2.** Изменение активности антиоксидантных факторов желудочно-кишечного тракта в онтогенезе (МДА, нмоль/0,1 г ткани/ч)  $n=5$

Возраст животных	Мозговая ткань	% подавления	Печеночная ткань	% подавления
Ткань (контроль)	38,4±3,5		23,6±1,2	
+ гомогенат желуд. ткани зародыша	16,8±1,6	56,2	12,2±0,6	48,3
+ гомогенат кишеч. ткани зародыша	15,7±1,4	59,1	13,7±0,7	42,0
+ гомогенат желуд. ткани новорожд.	12,0±1,4	68,7	8,7±0,7	63,1
+ гомогенат кишеч. ткани новорожд.	10,5±0,9	72,7	8,9±0,7	62,3
+ гомогенат желуд. ткани 15-днев.	8,1±0,9	78,9	7,0±0,8	70,3
+ гомогенат кишеч. ткани 15-днев.	7,4±0,7	80,7	7,8±0,6	67,0
+ гомогенат желуд. ткани 3-месяч.	5,2±0,4	86,5	4,2±0,4	82,2
+ гомогенат кишеч. ткани 3-месяч.	4,5±0,5	88,3	4,4±0,3	81,4
+ гомогенат желуд. ткани 12-месяч.	6,2±0,4	83,9	4,8±0,3	79,7
+ гомогенат кишеч. ткани 12-месяч.	6,0±0,7	84,4	4,2±0,4	82,2
+ гомогенат желуд. ткани 18-месяч.	6,4±0,5	83,3	4,9±0,4	79,2
+ гомогенат кишеч. ткани 18-месяч.	6,0±0,8	84,4	4,1±0,6	82,6
+ гомогенат желуд. ткани 24-месяч.	10,4±0,7	72,9	5,1±0,5	78,4
+ гомогенат кишеч. ткани 24-месяч.	11,2±1,0	70,8	4,8±0,7	79,7
+ гомогенат желуд. ткани 36-месяч.	17,5±1,6	54,4	11,1±0,5	53,0
+ гомогенат кишеч. ткани 36-месяч.	16,0±2,1	58,3	10,5±1,0	55,5

кишечного факторов. Активность этих факторов достигает максимума в 3-месячном возрасте и сохраняется на этом уровне до 18-месячного возраста, затем постепенно снижается и к трем годам составляет примерно 65% от аналогичного показателя у 3-месячных крыс.

Активность прооксидантного фактора (табл. 3) в мозговой ткани претерпевает значительные изменения. У зародышей и новорожденных крыс она низкая. Начиная с 3-месячного возраста существенно возрастает и достигает максимума в возрасте 3 лет, что проявляется в усилении процессов ПОЛ. Установлено, что в ядерной, митохондриальной и микросомальной фракциях мозговой ткани процессы ПОЛ протекают с низкой интенсивностью. Между тем при добавлении к ним цитозольной фракции этой же ткани процессы ПОЛ усиливаются, что связано с наличием в этой фракции прооксидантного фактора.

Таблица 3. Изменение прооксидантного фактора мозговой ткани в онтогенезе (МДА, нмоль/0,1г ткани/ч)  $M \pm m$ ;  $n=5$

Клеточные фракции	Возраст животных						
	зародыш	новорожденные	15-дневные	3-месячные	12-месячные	24-месячные	36-месячные
Ткань (среды)							
до инкубации	4,2±0,4	4,4±0,5	3,8±0,3	4,4±0,3	4,1±0,2	4,0±0,3	4,8±0,2
после инкубации	8,4±0,8	9,0±0,8	12,2±1,0	35,2±3,2	38,2±3,7	41,4±3,9	41,2±3,5
Ткань + Цз фр	11,5±0,9	12,6±1,0	19,5±1,8	47,7±4,6	45,6±5,6	49,1±4,6	51,7±5,7
Я фр	7,5±0,8	6,2±0,9	8,0±1,0	19,0±1,2	8,0±0,9	19,4±1,2	17,4±1,5
Мх фр	6,0±0,9	7,2±0,8	7,2±0,7	6,0±0,5	5,6±0,4	8,4±0,8	10,4±1,0
Мкс фр	5,1±0,6	5,6±0,4	5,2±0,3	4,4±0,1	7,2±0,7	8,0±0,7	8,8±0,8
Цз фр	2,2±0,2	2,4±0,3	2,8±0,2	2,6±0,3	2,1±0,1	4,8±0,5	4,0±0,3
Я фр + Цз фр	16,0±1,7	16,2±1,5	11,5±1,7	36,6±3,7	42,5±4,8	45,4±3,9	49,5±5,1
Мх фр + Цз фр	18,8±2,1	18,5±2,4	15,6±1,6	32,5±3,7	35,7±3,5	41,9±4,7	39,0±3,7
Мкс фр + Цз фр	17,5±1,3	18,5±1,9	14,2±1,3	28,1±2,6	27,2±3,1	32,2±2,9	38,7±3,7
Я фр + Мх фр	8,6±0,7	8,1±0,9	8,8±1,6	11,6±1,4	12,0±1,6	12,0±1,5	14,0±1,2
Мх фр + Мкс фр	4,4±0,4	6,5±0,7	8,0±0,9	8,4±0,7	8,3±0,6	9,5±1,1	9,0±0,8
Я фр + Мкс фр	7,0±0,9	7,1±0,5	13,5±0,9	11,0±1,5	11,2±1,3	13,6±1,6	13,5±1,4
Я фр + Мх фр + Мкс фр	12,6±1,1	11,6±1,6	11,8±1,5	12,4±1,7	14,0±1,5	14,0±1,7	13,5±1,0
Я фр + Мх фр + Мкс фр + Цз фр	18,8±2,1	18,5±2,4	11,6±2,3	33,4±3,5	38,0±3,5	44,8±5,2	41,6±4,5

Примечание: фр - фракция, Я - ядерная, Мх - митохондриальная, Мкс - микросомальная, Цз -

Таблица 4. Изменение активности АТФ-азы в различных тканях в онтогенезе ( $P$  мг/г ткани/20 мин)  $M \pm m$ ;  $n=5$

Возраст животных	Ткань			
	мозговая	сердечная	печеночная	почечная
Зародыш	0,13±0,01	0,1±0,005	0,1±0,02	0,1±0,02
Новорожденные (1-2ли)	0,2±0,03	0,25±0,03	0,15±0,03	0,2±0,03
15-дневные	0,36±0,05	0,4±0,06	0,39±0,05	0,35±0,05
3-месячные	0,53±0,07	0,51±0,07	0,48±0,05	0,41±0,06
12-месячные	0,5±0,07	0,49±0,06	0,42±0,05	0,4±0,06
24-месячные	0,42±0,05	0,4±0,07	0,37±0,06	0,35±0,07
36-месячные	0,37±0,05	0,35±0,06	0,31±0,07	0,31±0,05

Из данных табл. 4 видно, что активность мембраносвязанной АТФ-азы с возрастом также претерпевает значительные изменения. У

зародышей она низкая, затем, повышаясь, достигает максимального уровня в 3-месячном возрасте, после чего постепенно снижается и в возрасте 3 лет составляет примерно 65-70% величины, отмечаемой у 3-месячных крыс.

Анализируя приведенные данные, можно прийти к заключению, что с возрастом усиливается интенсивность процессов ПОЛ, оказывающих подавляющее действие на активность АТФ-азы, которая играет важную роль в метаболизме клетки. Это связано со сниженной активностью антиоксидантной системы организма и интенсивной выработкой прооксидантного фактора мозговой и печеночной тканями. В результате имеет место деградация фосфолипидного состава клеточных мембран, фосфолипидного состава микроокружения АТФ-азы, что приводит к снижению ее активности. Очевидно, что в присутствии антиоксидантов сохраняется интеграция клеточных мембран, фосфолипиды не разрушаются, и активность фермента сохраняется на высоком уровне.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
2. Оганесян А.С., Геворкян Ж.С., Минасян Г.М. Бюлл. эксп. биол. и мед., 109, 4, 348-349, 1990.
3. Оганесян А.С., Геворкян Ж.С., Оганесян Т.А., Минасян Г.М., Понесян Н.Г. Журн. эксп. и клин. мед., 31, 1, 96-97, 1991.
4. Bonting S.L., Stmon K.A., Hawkins N.M., Arch. Biochem. Biophys., 95, 3, 416-423, 1961.

Поступила 5.07.1997