

РЕГУЛИРУЮЩАЯ РОЛЬ ФОСФОЛИПИДОВ В ЗАЩИТНОМ ЭФФЕКТЕ ПОЗДНИХ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЙ

И.В. АВЕТИСЯН, Е.Г. ДЖАНПОЛАДЯН

Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци, 375025

У крыс, подвергшихся однократному облучению летальной дозой радиации, на 30-е сутки выявлены глубокие деструктивные сдвиги в фосфолипидном составе кардиомиоцитов. Исследование радиозащитного действия иммуномодуляторов типа низкомолекулярных РНК (Ca^{2+}_{dc} -РНК и нуклеината натрия) показало наличие такового у них. Установлено, что как Ca^{2+}_{dc} -РНК, так и нуклеинат натрия повышали процент выживаемости животных, а также в определенной степени нормализовали качественные и количественные сдвиги на уровне фосфолипидного бислоя мембран. Анализ полученных данных свидетельствует о достаточно высокой противорадиационной активности Ca^{2+}_{dc} -РНК.

Սահացու դոզայով միանվագ ճառագայթման ենթարկված առնետների մոտ 30-րդ օրը կարդիոմիոցիտների Ֆոսֆոլիպիդային կազմում բացահայտվել են խորը դեստրուկտիվ փոփոխություններ: Ցածրամոլեկուլյար ՌՆԹ-ների (Ca^{2+}_{dc} -ՌՆԹ և նատրիումի նուկլեինատ) տիպի ինունոմոդուլյատորների հետազոտությունը ցույց տվեց նրանց մոտ ռադիոպաշտպանողական ազդեցության առկայություն: Պարզվեց, որ Ca^{2+}_{dc} -ՌՆԹ և նատրիումի նուկլեինատը բարձրացնում են կենդանիների կենսունակության տոկոսը, միաժամանակ զգալիորեն նորմալացնելով Ֆոսֆոլիպիդային երկշերտ թաղանթի մակարդակով քանակական և որակական խախտումները: Ստացված տվյալների վերլուծությունը վկայում է Ca^{2+}_{dc} -ՌՆԹ-ի հակաճառագայթային բավական բարձր ակտիվության մասին:

In rats undergone the single irradiation with critical dosage there were revealed the profound destructive displacements in the phospholipid composition of cardiomyocytes after 30 days. The study of radioprotective action of the low-molecular immunomodulators (Ca^{2+}_{dc} -RNK and sodium nucleinate) showed the presence of such shifts in their organisms. Either Ca^{2+}_{dc} -RNK, or sodium nucleinate increased the percentage of animals' survival, and to a certain extent normalized the quantitative and qualitative displacements on the level of phospholipid bi-layer of membranes. The analysis of the received data gives an evidence of the rather high anti-radiative activity of Ca^{2+}_{dc} -RNK.

Радиация - Ca^{2+}_{dc} -РНК - нуклеинат натрия - фосфолипиды - миокард - стресс

Экспериментальными работами показано, что в медленно обновляющихся тканях, в частности миокарде, даже элементарные повреждения клеток, вызванные ионизирующей радиацией, не элиминируют, а постепенно накапливаются, понижая функциональные потенции органов [2, 3].

Структурные изменения клеточной поверхности, включая модификацию липидных компонентов плазматических мембран, в значительной степени являются первоосновой патологических изменений в организме. Функционирование интегральных мембранных белков, ферментов и переносчиков зависит от динамических свойств их липидного окружения [4]. Поскольку в поддержании гомеостаза клеток миокарда мембраны имеют особое значение, нам представлялось актуальным как с практической, так и с

теоретической точки зрения изучение действия иммуномодуляторов $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$ и нуклеината натрия (НН) на качественные и количественные сдвиги в фосфолипидном составе кардиомиоцитов белых крыс на 30-е сутки после облучения их летальной дозой 6 Гр.

Материал и методика. Исследования были проведены на 130 беспородных белых крысах-самцах массой 200-220 г, разделенных на 4 группы. 1) норма – интактные животные; 2) контроль – облученные крысы (ОК); 3) ОК+ $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$; 4) ОК+НН.

В эксперименте использовали $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$, полученную по описанному ранее методу [1], и коммерческий препарат НН. Исследуемые препараты вводили животным в/б за 6 ч до облучения в следующих дозах: $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$ – 150 мкг/крыса, НН – 50 мкг/крыса. Облучение проводили с помощью аппарата РУС-11 летальной дозой 600 рентген (6 Гр) в течение 15 мин, кожно-фокусное расстояние 50 см. Наблюдение за облученными животными продолжалось 30 дней, после чего животных забивали. Дальнейшие исследования по определению изменений в фосфолипидном составе проводили на миокарде облученных животных. При помощи хлороформ-метаноловой смеси фосфолипиды (ФЛ) извлекали из миокардиальной ткани и фракционировали в тонком слое силикагеля на пластинках фирмы "МЕРК" с использованием в качестве свидетелей ФЛ фирмы "Сигма". Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде с серной и азотной кислотами. Количество ФЛ определяли по содержанию фосфора [8].

Установлено присутствие следующих ФЛ: лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), фосфатидилинозитов (ФИ), сфингомиелинов (СФМ), фосфатидилхолинов (ФХ), фосфатидилсеринов (ФС), фосфатидилэтаноаминов (ФЭ), кардиолипидов (КЛ).

Результаты и обсуждение. Результаты исследований противолучевой эффективности нуклеиновых кислот при облучении представлены в таблицах 1 и 2.

Как свидетельствуют данные, приведенные в табл. 1, после действия ионизирующей радиации в дозе 6 Гр выживаемость животных составила всего 5%. При предварительном введении подопытным животным НН и $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$ выживаемость значительно повысилась и составила соответственно 20 и 50%. Этот факт свидетельствует о радиопротекторном эффекте исследуемых препаратов, который был особенно выражен у $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$.

Таблица 1. Сравнительная характеристика защитного действия нуклеиновых кислот на выживаемость при облучении

Группа животных	Выживаемость, %
Контроль	5
Облучение+НН	20
Облучение+ $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$	50

Примечание: n=40.

Известно, что $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$ является продуцентом интерферона, который обладает значительным радиопротекторным действием [6]. Однако в наших условиях препараты вводили животным за 6 ч до облучения, этого времени недостаточно для полной выработки интерферона под воздействием $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$. Данные позволяют заключить, что полученный радиопротекторный эффект – результат непосредственного воздействия $\text{Ca}^{2+}_{\text{де}}\text{-РНК}$ на деструктивные процессы в организме животных, вызванные облучением.

Общеизвестно, что ионизирующая радиация в природе - это экологический стресс-агент. Человек и высшие животные не располагают рецепторами для адекватного восприятия энергии ионизирующего излучения [2], но стресс-реакция, тем не менее, в их организме развивается. Эта реакция генетически обусловлена и обеспечивает быструю перестройку живой системы на функционирование в неблагоприятных условиях [7].

Неспецифический компонент радиационной патологии - перекисное окисление липидов (ПОЛ), который рассматривается как проявление общего адаптационного синдрома стресса, включает поражение клеточных мембран и мембранных структур. Следует отметить, что все эти эффекты наблюдаются также при введении в организм радиопротекторов в эффективных дозах [3].

Таким образом, можно заключить, что введение радиопротекторов до облучения индуцирует эту стрессовую реакцию, тем самым повышая устойчивость живой системы к последнему.

Весьма существенным в этом аспекте представляется изучение пост-радиационных изменений в фосфолипидном составе мембран кардиомиоцитов, а также их коррекция с помощью иммуномодуляторов.

Как показали результаты исследований качественного и количественного содержания ФЛ (табл. 2), на 30-е сутки в миокарде контрольных животных наблюдается значительное падение уровня суммарных ФЛ, по сравнению с нормой на 15 %. На фоне достоверного увеличения ЛФХ, ФИ, СФМ происходит снижение уровней ФХ, ФС, ФЭ, КЛ.

Таблица 2. Изменение суммарных и индивидуальных показателей фосфолипидов в ткани миокарда белых крыс на 30-е сутки после облучения дозой 6 Гр на фоне предварительного введения Ca^{2+} -РНК и НН

Показатели	Норма		Контроль (без лечения) облученные		Облучение + РНК		Облучение + НН	
	мкг липидного фосфора/1г влаж. ткани	%						
ЛФХ	32,5±3,48	3,48	54,7±6,2**	6,47	39,8±6,13	4,25	44,66±8,31	5,12
ФИ	137,72±4,8	14,45	158,8±5,7***	18,79	131,32±6,99	14,03	145,25±14,43	16,66
СФМ	117,31±4,12	12,32	171,3±3,37*	20,27	155,22±5,3*	16,58	169,75±19,11**	19,47
ФХ	251,04±15,25	26,26	167,0±13,43**	23,34	224,24±12,14	21,82	213,14±16,91	21,59
ФС	105,2±3,26	10,37	76,3±4,98*	9,06	111,75±4,88	11,94	90,63±4,78***	10,39
ФЭ	128,36±7,42	13,47	88,18±6,97*	10,4	130,27±6,24	13,94	119,53±8,35	13,71
КЛ	187,12±18,31	19,60	98,63±9,31*	11,67	163,28±5,28	17,44	113,7±10,4*	13,00
Суммарные фосфолипиды	959,28	100	814,91	100	935,88	100	896,66	100

Примечание: сравнение данных экспериментов проведены с нормой: *P<0,001, **P<0,01, ***P<0,02

Повышение уровня ЛФХ на фоне снижения уровней ФХ и ФЭ свидетельствует об активации фосфолипазы A_2 , приводящей к интенсификации процессов ПОЛ в миокарде. Эти процессы не могут не отразиться на качественных и количественных характеристиках фосфолипидного состава

миокарда облученных животных. Почти двукратное уменьшение КЛ в миоцитах сердечной мышцы говорит о глубоких нарушениях в электрон-транспортующей функции [10].

Известно, что КЛ являются одной из составляющих липидного спектра мембран митохондрий кардиомиоцитов и обуславливают активность ряда ферментов окислительной цепи (цитохром-с-оксидаза, цитохром-с-редуктаза) [9].

Усиление окислительных реакций в мембранах кардиомиоцитов приводит к накоплению в них СФМ и, как следствие, к повышению жесткости липидной компоненты. От состава липидов и их структурной вязкости зависит активность важнейших регуляторных ферментов клетки. Уменьшение в миокарде количества легкоокисляемого ФС косвенно свидетельствует о снижении чувствительности аденилатциклазы кардиомиоцитов к катехоламинам.

На фоне столь глубоких нарушений метаболизма, происходящих в липидном слое мембран кардиомиоцитов в пострadiационный период, довольно значимое повышение ФИ представляет большой интерес. Скорее всего, повышенный уровень ФИ в наших экспериментах связан с изменением функции некоторых метаболических регуляторов, а именно с аденилатциклазой. Известно, что чувствительность аденилатциклазы к действию гормонов находится в прямой зависимости от уровня ФИ [11]. На основании этого можно предположить, что в условиях серьезных повреждений клеточных мембран происходящая модификация состава ФЛ за счет увеличения количественных показателей ФИ позволяет в течение определенного промежутка времени сохранять в кардиомиоцитах на соответствующем уровне функциональную активность аденилатциклазой системы. Повышение уровня ФИ в этом случае, скорее всего, носит временный адаптационный характер. При летальных дозах радиации ответных реакций живой системы недостаточно для обрыва и нейтрализации индуцированных облучением процессов. Глубокие сдвиги, происшедшие в фосфолипидном слое мембран кардиомиоцитов, 5%-ная выживаемость животных свидетельствуют о необратимых деструктивных процессах в миокарде облученных животных.

Предварительное введение облученным животным нуклеиновых кислот заметно изменило картину пострadiационных сдвигов в фосфолипидном составе мембран кардиомиоцитов на 30-е сутки после облучения. В группе животных, получивших $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК, наблюдалось снижение уровней ЛФХ и ФИ. Оно было более значимо, чем в группе животных с предварительным введением НН. Содержание СФМ в обеих группах продолжало оставаться на достаточно высоком уровне. Особого внимания заслуживает повышение уровней КЛ и ФС под воздействием $\text{Ca}^{2+}_{\text{дс}}$ -РНК. Нормализация этих показателей свидетельствует о восстановлении электрон-транспортующей функции митохондрий и повышении чувствительности аденилатциклазы кардиомиоцитов к катехоламинам. Действие НН на эти показатели были менее значимы. Уровень их был ниже нормы, но выше контрольных величин.

Таким образом, на основании полученных нами результатов можно

сделать заключение об эффективности применения иммуномодуляторов Ca^{2+} -РНК для предупреждения пострadiационных повреждений миокарда в отдаленные сроки после облучения летальной дозой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агабальян А.С., Давтян О.Я., Багдасарян А.А. ДАН Армении, 179-183, 1987.
2. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. Киев, Наукова думка, 256, 1991.
3. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.В. Перекисное окисление и стресс. С-Пб: Наука, 148, 1992.
4. Бурлакова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина А.М. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М., Наука, 211, 1975.
5. Бурлакова Е.Б. Сб.: Биохимия липидов в обмене веществ. М., Наука, 23, 1981.
6. Ершова Ф.И., Новахатский А.С. Интерферон и его индукторы. Медицина, 263, 1980.
7. Лобанок Л.М., Антоненко А.Н. Радиационная биология. Радиоэкология. 41, 1, 10-15, 2001.
8. Прохорова И.А. Методы биохимических исследований. Изд-во. Ленинградского Университета. 54-62, 1982.
9. Awasthi I.C., Chung T.F., Keenon T.W. Biochem. Biophys. Res. Commun. 39. 822-830, 1970.
10. Bidlak W.R., Tappel A.L. Lipids. 8, 177-182, 1973.
11. Lewey G.S. J. Biol. Chem. 246, 7405-7410, 1971.

Поступила 27.V.2002