Биолог. журн. Армении, 1-2 (55), 2003

УДК 577.391:612.014:616:36

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПОВ ФОСФАТИДОГЕНЕЗА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ И ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГИПОТАЛАМИЧЕСКОГО ПОЛИПЕПТИДА PRP_1

А.П. КАЗАРЯН

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятяна НАН РА, 375014, Ереван

After ionizing irradiation under the influence of proline-rich polypeptide PRP_1 takes part a significant regulation of activity of glycerokinase and cytoplasmatic glycerophosphate dehydrogenase in the microsomal membranes of hepatocyes, which is determined by the damage of biosynthesis of glycerophospholipids.

Ионизирующее облучение -ферменты -фосфатидогенез

Имеющиеся литературные данные [1-3] свидетельствуют, что первичные радиационно-химические реакции, определяющие лучевую патологию, возникают и развиваются в мембранных структурах клеток. Механизмы действия ионизирующего облучения на уровне мембранных образований клеток обусловлены его дозозависимым воздействием на метаболизм мембранных белков, функциональная активность которых предопределена изменением количественного и качественного состава липидов мембран, анаболизма и катаболизма фосфолипидов (ФЛ) и их соотношений [9, 10]. Мобилизация мембранных образований сопровождается заметным изменением проницаемости клеточных мембран [2], обусловленным интенсификацией процессов расщепления ФЛ под действием фосфолипаз [6], соответствующими изменениями ферментных систем и рецепторных белков с нарушением реакций липогенеза [6, 8, 17]. Воздействие внешних факторов, дезорганизирующих липидную структуру мембран, предопределяет продукцию белков-рецепторов, но во многом остается неясным значение обнаруженных изменений для клеток, тканей, органов и систем, а следовательно, и для механизмов поражающего эффекта ионизирующего облучения.

Результаты ранее проведенных исследований позволяют предположить, что подобное положительное воздействие на организм может оказать выделенная академиком А.А. Галояном и сотр. новая семья иммуномодуляторов, продуцируемых магноцеллюлярными ядрами гипоталамуса животных [4, 5, 14-16] и названных "Proline rich peptide" (PRP_1).

Установлено, что PRP_1 оказывает влияние на интерлейкин-2 зависимые функции лимфоцитов *in vitro* [13]. Пептид из нейрогипофиза выделяется в общий кровоток и накапливается в мембранах лимфоцитов, в тучных клетках, вероятно, и в мембранах эритроцитов [16]. Показано, что гипоталамический пептид PPR_1 оказывает положительное действие на мозговую ткань, усиливая

величину утилизации глюкозы, снижая ее уровень в крови, и компенсирует снижение уровня инсулина при синдроме длительного раздавливания. PRP_1 активирует уровень окисления глюкозы в миокарде интактных животных и резко усиливает скорость ее утилизации [11].

Задачей настоящего исследования является изучение деятельности ферментных систем биосинтеза и распада ФЛ мембран гепатоцитов при ионизирующем облучении и после применения гипоталамического полипептида PPR_1.

Материал и методика. В опытах использовали 20 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. Животных забивали через 10 дней после облучения.

Исследование активности ферментов биосинтеза ФЛ проводили: глицерокиназы (ГК) и цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы (ГФД) в реакции окисления α-глицерофосфата (α-ГФ) - по методу Кеннеди [18], а в реакции восстановления диоксиацетонофосфата (ДОАФ) - по Бейзенгерцу и др. [12].

Гипоталамический полипептид в виде водного раствора вводили внутрибрюшинно ежедневно (3 дня по одной инъекции в день) из расчета 10 мг/100г массы животного.

Цифровой материал подвергался статистической обработке с использованием критерия достоверности и различий Фишера-Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Установлено, что через 10 дней после облучения наблюдается существенное нарушение деятельности ферментных систем фосфатидогенеза, в частности ГК и цитоплазматической ГФД в гепатоцитах (рис. 1).

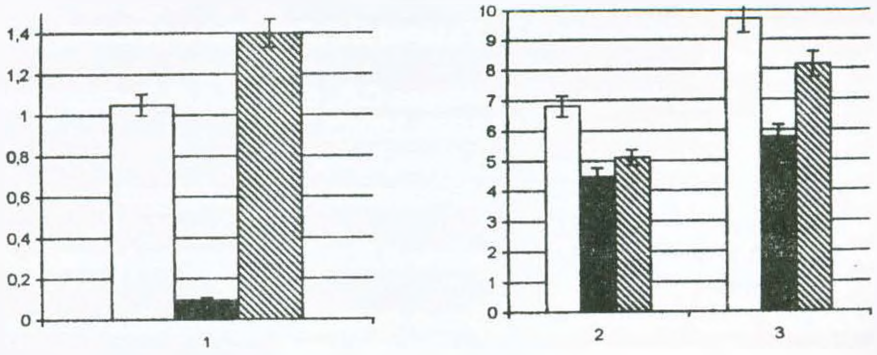

Рис. 1. Активность ферментных систем начальных этапов фосфатидогенеза в микросомальных мембранах гепатоцитов при облучении и после применения гипоталамического полипептида PRP_1.
1 - ГК; 2 - митохондриальная ГФД (субстрат α-ГФ); 3 - цитоплазматическая ГФД (субстрат ДОАФ).
□ - контроль ▨ - опыт ▧ - после применения PRP_1.

Сравнительная оценка скорости реакций восстановления ДОАФ в α-ГФ и активации свободного глицерина в печени контрольных животных показывает наличие существенных различий в интенсивности течения этих реакций. Активность ГФД в реакции восстановления ДОАФ в α-ГФ была примерно в 10 раз выше активности ГК, а в обратной реакции - более чем в 7 раз.

На 10-е сутки после облучения активность ГФД (субстрат ДОАФ) значительно ингибировалась ($P<0,01$) на фоне почти полной утраты активности ГК в гепатоцитах (рис. 1).

Подавление скорости глицерокиназного и гликолитического путей образования ГФ - ключевого метаболита биосинтеза глицеролипидов - сопровождается резким понижением его содержания в исследуемой ткани и одновременным заметным подавлением в ней активности митохондриальной ГФД.

Результаты этих исследований являются убедительным доказательством снижения скорости биосинтеза фосфатидов-глицеридов в ткани печени при ионизирующем облучении.

После применения PRP_1 наблюдается почти полная нормализация активности ГК. В этих условиях отмечается явно выраженная тенденция к нормализации активности как цитоплазматической, так и митохондриальной ГФД (рис. 1).

Таким образом, применение гипоталамического PRP_1 после ионизирующего облучения приводит к определенной нормализации количественного и качественного состава липидов микросомальных мембран гепатоцитов облучения крыс [7], что обусловлено его регулирующим влиянием на гликолитический и глицерокиназный пути биосинтеза глицерофосфолипидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Алехина С.М., Дробницкая Л.В., Холявко И.Р.* Радиобиологический съезд, Киев, 12, 1993.
2. *Баджинян С.А., Казарян П.А., Акопов С.Э., Саарян А.В.* Радиационная биология. Радиология, 3, *35*, 364-369, 1995.
3. *Белогурова Л.В.* Радиобиол. съезд, Киев. 95-96, 1993.
4. *Галоян А.А.* Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции. Изд. Айастан, 240 с., 1965.
5. *Геворкян Г.А., Марухян Г.Л., Аракелян Л.Н. и др.* Мед. наука Армении, 40, 1, 44-50, 2000.
6. *Казарян П.А.,* В сб.: "Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины". Ереван, 451-468, 1998.
7. *Казарян А.П., Казарян П.А., Галоян А.А.* В сб.: Материалов I научно-медицинской конференции "Здоровье человека", Ереван, 180 с., 2002.
8. *Казарян П.А., Саарян А.В., Исраелян К.И. и др.* Второй Межд. Радиобиол. съезд, Киев, 427 с., 1993.
9. *Крепс Б.М.* Липиды клеточных мембран. Л., 339 с., 1981.
10. *Ланкин В.З., Гуревич С.М., Бурлакова Е.Б.* В кн.: "Биоантиокислители". М., 7378, 1975.
11. *Марухян Г.Л.* Автореф. канд. дисс.,Ереван, 7-18, 2000.
12. *Beisenherz G., Bucher Th., Garbad K.* Methods in Enzymology, *1*, p. 391, 1955.

13. *Davtyan T.K., Muradyan E.B., Avanessian L.A., Alexsanyan Yu.T., Petrossyan H.H., Galoyan A.A.* Нейрохимия (РАН и НАН РА), *15*, 1, 76, 1998.
14. *Galoyan A.A.* Biochemistry of novel cardioactive hormones and immunomodulators of the functional system neurosecretory hypothalamus-endocrin hearth. "Nauka" Publishers. M., 230-235, 1997.
15. *Galoyan A.A.* Neurochemistry of Brain Neuroendocrin Immune system: Signal molecules Neurochemical Research. *25*, Nos 9/10, 1343-1355, 2000.
16. *Galoyan A.A., Bedian V.* Immunohistochemical Studies. Localization of Hydrothalamic Cytokine - PRP in Lymphatic Node, Thymus and Hearth, Neurochemistry, 2001.
17. *Kazarian P.A., Nazaretian M.K. et al.* 24 Congress of the Intern. Society of Haematology, London, Abstr., p. 334, 1992.
18. *Kennedy E.P.* Methods in Enzymology, 5, 476-481, 1962.

Поступила 10.I.2003