

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 612.8.015.547.953

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИСТЕИНА НА ПРОЦЕСС ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ И ОБМЕНА ФОСФОЛИПИДОВ ПРИ ГИПОКСИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И СЕРДЦА

Л.М. ОВСЕЯН, Е.Г. ДЖАНПОЛАДЯН, С.П. КАЗАРЯН, Г.В. ЗАХАРЯН,
А.В. ЗАХАРЯН, И.В. АВИТИСЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА, 375064, Ереван

Изучалось содержание продуктов перекисного окисления липидов и метаболизм фосфолипидов при гипоксии в мозговой и сердечной тканях, а также при введении производного аминокислоты - цистеина. Обнаружен нормализующий эффект указанного соединения, что проявляется уменьшением количества продуктов свободнорадикального окисления липидов и стабилизацией мембран в мозговой и сердечной тканях. Антигипоксическое действие препарата обусловлено наличием в фармакологической структуре никотиновой кислоты и серы.

Ուսումնասիրվել է լիպիդների գերօքսիդացման արդյունքների բանակը և ֆոսֆոլիպիդների նյութափոխանակությանը գլխուղեղի և սրտի հյուսվածքներում հիպոքսիայի ժամանակ և ցիստեինի ածանցյալների ներմուծման դեպքում: Ակտիվել է կարգավորող էֆեկտ վերը նշված միացության կողմից, որը գլխուղեղի և սրտի հյուսվածքներում բերում է լիպիդների ազատ-ռադիկալային օքսիդացման արդյունքների ջջմանը և քաղանքների կայունացմանը: Արեւաարատի հակահիպոքսային գործունեությունը պայմանավորված է նրա ֆարմակոլոգիական կառուցվածքում նիկոտինաթթվի և ծծմբի առկայությամբ:

The content of lipid peroxidation products and phospholipids metabolism in both brain and heart tissues during the hypoxia and influence of cysteine derivatives was studied. This study revealed, that cysteine derivatives have normalizing effect. It is displayed by decreasing of free radicals oxidation level and stabilization of brain and heart cell membranes. The antioxidant effects are conditioned by presence of nicotinic acid and sulphur in the chemical structure of these substances.

Гипоксия - ишемия - ПОЛ - фосфолипиды

Общей реакцией клеток на гипоксию является интенсификация свободнорадикальных процессов и подавление одной из важнейших реакций клетки - антиоксидантной активности. Возвращение активных форм кислорода в метаболические реакции в условиях недостаточности эндогенной антиокислительной активности оказывает прямое повреждающее действие на клетку, способствуя нарушению энергообразования, а именно АТФ-синтетической функции митохондрий и связанным с этим нарушением кальциевого гомеостаза, активацией фосфолипаз, накоплением неэстерифицированных жирных кислот, изменением фосфолипидного содержания в мембранных структурах клеток [1, 5]. В этой связи проблема поиска фармакологических веществ, проявляющих себя как антигипоксанты,

является весьма актуальной. Задачей настоящей работы явилось изучение влияния препарата, синтезированного в Институте тонкой органической химии и представляющего собой литиевую соль аминокислоты цистеина, содержащую в своей структуре никотиновую кислоту, на процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) и обмена фосфолипидов (ФЛ) при гипоксических состояниях головного мозга и сердца.

Материал и методика. Опыты поставлены на беспородных белых крысах, разделенных на 3 группы: 1 – интактные; 2 - животные с воспроизведенной гипоксией; 3 - животные с гипоксией, получавшие препарат.

Гипоксию головного мозга создавали одномоментной двусторонней перевязкой общих сонных артерий под эфирным наркозом (20 мин). Гипоксию сердца создавали 15-минутной окклюзией левой коронарной артерии.

Об активности ПОЛ судили по количеству первичных (диеновые конъюгаты), промежуточных (гидроперекиси) и конечных (малоновый диальдегид МДА) молекулярных продуктов ПОЛ. Содержание диеновых конъюгатов оценивали по характерному для них поглощению при 233 нм [6]. Гидроперекиси определяли по цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [7], МДА - по реакции с тиобарбитуровой кислотой [2].

Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля (фирмы Мерк, Германия) с использованием системы растворителей: хлороформ – метанол – аммиак 65:35:5. Фосфолипидные пятна идентифицировали с помощью соответствующих индикаторов. Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде серной и азотной кислот с последующим расчетом количества неорганического азота в мкг на 1 мг сухой массы [3].

Результаты и обсуждение. В головном мозге и сердце интактных животных нами обнаружен определенный стационарный уровень интенсивности свободнорадикальных реакций (табл. 1). Гипоксия сопровождается активированием процесса ПОЛ, что выражается в увеличении содержания диеновых конъюгатов, гидроперекисей, МДА.

Таблица 1. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в головном мозге и сердце в норме, при гипоксии и при лечении (n=7)

Показатели ПОЛ	МОЗГ			СЕРДЦЕ		
	контроль	гипоксия 1	лечение 2	контроль	гипоксия 1	лечение 2
Диеновые конъюгаты, нмоль/мг белка	1,63 ± 0,2	3,8 ± 0,23*	2,0 ± 0,15*	1,2 ± 0,11	4,0 ± 0,15*	1,5 ± 0,3*
Гидроперекиси, E ₄₈₀ нмоль/мг белка	0,55 ± 0,02	0,91 ± 0,03*	0,65 ± 0,03*	0,43 ± 0,03	0,86 ± 0,05*	0,52 ± 0,02*
МДА, нмоль/мг белка	5,8 ± 1,2	10,3 ± 1,4*	6,5 ± 1,8*	3,2 ± 0,5	7,8 ± 0,7*	4,4 ± 0,6*

1 - приводится достоверность отличий по сравнению с контролем

2 - приводится достоверность отличий от данных, полученных при изучении животных с гипоксией, не получавших препарат. * - P < 0,001.

Первичный механизм зарождения свободных радикалов при ишемии сердца остается проблематичным, однако в литературе имеются данные относительно существования в патологически измененных тканях определенных факторов, оказывающих стимулирующее влияние на течение реакции радикалообразования [2]. Введение производных цистеина приводит

к заметному уменьшению содержания продуктов ПОЛ в головном мозге и сердце животных с экспериментальной гипоксией. Известно, что серосодержащие сульфгидрильные соединения активно разрушают гидроперекиси как в ФЛ, так и в свободных жирных кислотах [1]. Кроме того, цистеин участвует в синтезе глутатиона, одного из основных компонентов ферментов антирадикальной защиты клетки — глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы [4]. Нам представляется, что введение производных цистеина приводит к увеличению эндогенного глутатиона, в результате чего может повышаться содержание указанных ферментов, оказывающих антиоксидантное действие.

Таблица 2. Количественное содержание ФЛ в головном мозге и сердце в норме, при гипоксии и при лечении, % от суммы (n=7)

Фракции	МОЗГ			СЕРДЦЕ		
	контроль	гипоксия 1	лечение 2	контроль	гипоксия 1	лечение 2
ЛФХ	6,87 ± 0,85	15,82 ± 1,3*	8,87 ± 1,2*	4,13 ± 0,63	15,26 ± 0,71*	6,28 ± 0,62*
МФИФ	8,52 ± 0,8	6,79 ± 0,7	9,41 ± 0,8 p < 0,05	4,36 ± 0,52	7,72 ± 0,44*	5,37 ± 0,32*
СФМ	10,45 ± 0,9	16,85 ± 1,0*	11,78 ± 1,2**	6,26 ± 0,64	8,83 ± 0,62	7,36 ± 0,73
ФХ	35,13 ± 1,4	29,54 ± 1,3***	33,88 ± 1,5***	34,4 ± 1,5	28,86 ± 1,4***	33,72 ± 1,2***
ФС	12,53 ± 1,2	11,84 ± 0,9	11,67 ± 1,2	8,66 ± 0,43	7,26 ± 0,55	9,63 ± 0,63
ФЭ	16,35 ± 0,9	12,86 ± 1,1***	14,98 ± 0,9***	26,33 ± 0,9	21,42 ± 0,71*	25,72 ± 0,59*
К	9,83 ± 1,2	6,31 ± 1,3*	10,0 ± 1,2**	15,88 ± 0,82	10,63 ± 0,6*	12,27 ± 0,5***

1 - приводится достоверность отличий по сравнению с контролем

2 - приводится достоверность отличий от данных, полученных при изучении животных с гипоксией, не получавших эти препараты. * - P < 0,001; ** - P < 0,01; *** - P < 0,05.

ПОЛ неразрывно связано с изменением состава липидов мембран-ФЛ. Изучение спектра ФЛ в мозговой и сердечной тканях при гипоксических состояниях позволило обнаружить определенные закономерности, а именно и в мозговой, и в сердечной наблюдается увеличение содержания лизофосфатидилхолинов (ЛФХ). Существует несколько путей метаболизма ЛФХ, нарушение которых может привести к накоплению этих ФЛ. Первой ферментативной реакцией является гидролиз фосфатидилхолинов (ФХ) при участии фосфолипаз А₁ и А₂, увеличение активности которых может привести к накоплению ЛФХ. При гипоксических состояниях в условиях недостаточности АТФ нарушается активность Na, K- АТФ-аз, в результате чего в клетках накапливаются ионы Ca²⁺, которые являются активаторами фосфолипаз. Второй причиной накопления ЛФХ в тканях при гипоксии является ингибирование активности лизофосфолипазы, участвующей в превращении ЛФХ в глицерофосфохолин и жирную кислоту. Активность этого фермента в сердечной мышце в несколько раз выше таковой фосфолипазы [8].

Заслуживает внимания уменьшение содержания кардиолипидов (КЛ) при гипоксии в мозговой и сердечной тканях. Известно, что АТФ-АДФ-синтетаза находится в окружении КЛ. Было установлено, что каждая

молекула АТФ-АДФ-синтетазы образует комплекс с шестью молекулами КЛ [9], нарушение липидного окружения фермента может привести к изменению его активности.

Выявлено уменьшение содержания ФХ, ФЭ. Существует взаимосвязь между указанными ФЛ и Са-насосом. Установлено, что активность Са-насоса может регулироваться процессом метилирования ФЭ, приводящим к образованию ФХ [9]. Введение животным с гипоксией производных цистеина приводит к частичной нормализации изученных процессов. Необходимо подчеркнуть, что наличие в фармакологической формуле препарата никотиновой кислоты и лития способствует проявлению более выраженных антигипоксикантных и противоишемических свойств, что выражается в стабилизации фосфолипидного спектра. Исследование препарата, обладающего низкой токсичностью, может представлять определенный научно-практический интерес.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И.* Свободные радикалы в живых системах, М., ВИНТИ, 1991.
2. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов и биологических мембранах, М., Наука, 1972.
3. *Зубер В.Л.* В кн: Методы биохимических исследований Л., изд-во ЛГУ, 1982.
4. *Кулинский В.И., Колесниченко А.С.* Успехи современ.биологии, 113, вып. 1, 107-122, 1990.
5. *Осипов А.П., Азизова О.А.* Успехи биол.химии, 31, 180-208, 1990.
6. *Романова Л.А., Стальная И.Д.* В кн: Современные методы и биохимии, М., Наука, 1977.
7. *Стальная И.Д.* там же.
8. *Gross R.W., Sobel B.E.* J.Biol. Chem. 257, 6702-6708.
9. *Strittmatter W.J., Hirata F.* Biochem. biophys. Res. Commun, 88, 147-153, 1973.

Поступила 03.1V.2006