

Академик К. Г. Карагезян, Г. А. Овеян, А. А. Казинян, Л. В. Карабашян,
М. К. Карагезян, М. А. Бадалян, Л. М. Овсепян, С. С. Овакимян

Свободнорадикальное окисление липидов митохондриальной и микросомальной фракций гепатоцитов после ваготомии

(Представлено 20/VII 1999)

Ранее проведенными исследованиями [1] были показаны выраженные изменения качественного состава и количественного содержания фосфолипидов (ФЛ) митохондриальной и микросомальной фракций гепатоцитов после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии. При этом особое внимание было обращено на изменение соотношения между суммами нейтральных и кислых ФЛ, а также значительное увеличение в них количества лизофосфатидилхолинов (ЛФХ). Последнее является следствием повышения активности фосфолипазы A_2 , приводящего к деацилированию ненасыщенных жирных кислот и соответствующему активированию интенсивности течения процессов свободнорадикального окисления (СРО) липидов с последующим развитием расстройств функциональной активности этих чрезвычайно важных субклеточных структур [2,3].

Вышеуказанное побудило нас к изучению закономерностей в динамике интенсивности течения процессов СРО липидов гепатоцитов белых крыс в различные периоды после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии.

Эксперименты проводили на 189 беспородных белых крысах-самцах массой 180-200 г, содержащихся на ординарном пищевом рационе. Животных оперировали под легким эфирным наркозом обнажением брюшной полости в области нижнего отдела пищевода, перерезкой и удалением левой и правой ветвей обоих блуждающих нервов на протяжении 2 мм; операционную рану зашивали с соблюдением современных принципов асептики и антисептики.

Животных забивали на 1, 3, 7, 30 и 90 дни после ваготомии под легким эфирным наркозом, гомогенизирование печеночной ткани производили на холоду в среде 5 мл 0,01 М трис- HCl буфера ($37^{\circ}C$, pH 7,4), содержащей в конечной концентрации 0,25 М сахарозы и 0,01 М ЭДТА. Митохондриальную и микросомальную фракции отделяли центрифугированием: первую при 14000 g (в центрифуге К-24), вторую при 105000 g (в центрифуге VAC-601) в течение 20 и 60 мин соответственно [4]. Об активности течения процесса перекисеобразования судили по содержанию малонового диальдегида (МДА), образующего с тиобарбитуровой кислотой цветное окрашивание, типа разового хромогена, интенсивность окраски которого регистрировали спектрофотометрически при длине волны 535 нм [5], и количество перекисей пересчитывали на 1 мг белка данной фракции, определенного по Лоури [6].

Результаты проведенных исследований, отраженные в табл. 1, показывают заметное повышение интенсивности течения процессов ПОЛ в митохондриальной фракции гепатоцитов, наиболее ярко выраженное в ранние сроки ваготомии (1, 3, 7 дни) как в аскорбат-зависимой (86,4, 124,1, 85,8% соответственно), так и NADPH-зависимой (78,5, 88,3, 77,4% соответственно) системах перекисления.

Полученные данные подтверждают наши предположения о повышении интенсивности течения процессов СРО липидов и развитии выраженных расстройств в метаболизме ФЛ, обусловленных повышением активности фосфолипазы A_2 [1]. В более поздние сроки после ваготомии (спустя 30, 90 дней) наблюдается относительное коррелирование величин изучаемых показателей, хотя в неферментативной системе содержание липидных перекисей продолжает оставаться на высоких уровнях по сравнению с таковым в контрольных опытах (53,5, 32,2% соответственно).

Как видно из табл. 2, аналогичная закономерность в течении процессов СРО липидов прослеживается и в микросомальной фракции гепатоцитов. Здесь также выявляется заметное повышение интенсивности их течения в ранние сроки после ваготомии как в аскорбат-зависимой (173,7, 167,5, 143,8% соответственно), так и NADPH-зависимой (76,25, 72,8, 56,6% соответственно) системах, чего нельзя сказать относительно более поздних сроков (30 и 90 дни) наблюдения. Особый интерес представляет тот факт, что выявленные нами ранее изменения качественного и количественного состава ФЛ микросомальной фракции по степени своей выраженности хотя и оказываются в подавляющем большинстве случаев ниже тех, что были установлены в митохондриальной фракции, однако отклонения в интенсивности течения процессов перекисления липидов в неферментативной системе в течение первой недели после ваготомии носят несравненно более выраженный характер.

Таблица 1

Изменение интенсивности течения процессов перекисного окисления липидов в митохондриальной фракции печени белых крыс в контроле (К) и в различные сроки после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии (n=102)

Показатели	К	1 день	% разницы от К	3 день	% разницы от К	7 день	% разницы от К	30 день	% разницы от К	90 день	% разницы от К
Аскорбат-зависимое перекисление	10,81±1,12 n=8	20,15±0,67 ^a n=8	+86,4	24,23±1,19 ^a n=10	+124,1	2,08±0,57 ^d n=10	+85,8	16,59±1,12 ^c n=8	+53,5	14,29±0,36 ^c n=8	+32,2
NADPH-зависимое перекисление	9,08±1,02 n=8	16,21±0,38 ^a n=8	+78,5	17,10±0,37 ^a n=10	+88,3	16,11±0,21 ^a n=8	+77,4	9,06±0,43 ^d n=8	-0,2	10,79±0,98 ^d n=8	+18,8

Примечание: a- $P < 0,001$, b- $P < 0,01$, c- $P < 0,02$, d- $P > 0,5$.

**Изменение интенсивности течения процессов перекисного окисления липидов
в микросомальной фракции печени белых крыс в контроле (К)
и в различные сроки после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии (n=87)**

Показатели	К	1 день	% разницы от К	3 день	% разницы от К	7 день	% разницы от К	30 день	% разницы от К	90 день	% разницы от К
Аскорбат- зависимое переокисление	16,29±1,5 n=7	44,59±3,17 ^a n=8	+173,70	43,58±1,12 ^a n=7	+167,5	39,71±1,88 ^a n=7	+143,8	20,68±1,45 ^a n=8	+27,0	20,21±1,90 ^b n=7	+24,0
NADPH- зависимое переокисление	15,41±2,3 n=7	27,16±0,58 ^a n=7	+76,25	26,63±19,2 ^a n=7	+72,8	24,13±2,60 ^a n=8	+56,6	15,95±1,03 ^d n=7	+3,5	16,25±1,58 ^c n=7	+5,5

Примечание: *a*-*P* < 0,001, *b*-*P* < 0,01, *c*-*P* < 0,02, *d*-*P* > 0.

Выяснение молекулярных механизмов описанных сдвигов станет предметом дальнейших более обстоятельных исследований.

На 30 и 90 дни после ваготомии в микросомальной фракции отмечается относительная нормализация интенсивности течения процессов СРО липидов в неферментативной системе, остающаяся, однако, выше нормальных показателей.

Таким образом, можно заключить, что после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии происходит заметная интенсификация ПОЛ как в митохондриальной, так и особенно в микросомальной фракции гепатоцитов в сочетании с высоким содержанием в них ЛФХ, обладающих, как известно, мембранотоксическими и мембранолитическими свойствами, обнаруживаемыми при различных формах токсических поражений живых систем [7-9], нуждающихся в специальной медикаментозной коррекции, в частности антиоксиданто- и протеинотерапии [10]. Следовательно, не вызывает сомнений очевидность выраженного ингибирующего действия продуктов переокисления липидов на активность мембраносвязанных, липидзависимых ферментных систем, что чревато расстройствами в функциональной активности и структурной организации изученных нами важнейших субклеточных элементов, приводящими к нарушениям адаптационно-приспособительных возможностей гепатоцитов и организма в целом, представляющих общебиологический интерес [10].

Примечательно, что в изученные сроки интенсивность течения процессов перекисеобразования в неферментативной системе в микросомальной фракции значительно превосходит таковую в митохондриальной фракции гепатоцитов. С другой стороны уровень перекисеобразования в ферментативной системе митохондрий оказывается выше, чем в микросомах, что заслуживает особого внимания и нуждается в дальнейшем более обстоятельном изучении на клеточном, субклеточном, мембранном и молекулярном уровнях.

Институт молекулярной биологии НАН РА
Ереванский государственный медицинский университет

Литература

1. Казинян А. А. В кн.: Ежегодник Академии хирургических наук РА. 1998. Т. 2. С. 43-45.
2. Бурлакова Е. Б., Джалябова М. И., Гвахария В. О. и др. В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М.: Наука, 1982. С. 113-141.
3. Бурлакова Е. Б., Архипова Г. А., Голошапов А. Н. и др. В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М.: Наука, 1982. С. 74-83.
4. Прохорова М. М. Методы биохимических исследований. Липиды и энергетический обмен. Учебное пособие. Л. 1982. С. 29-43.
5. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах (под ред. Г. М. Франка). М.: Наука, 1972. 252 с.
6. Lowry D. H., Rosenbrough N.J., Fatt A. L. et al. - J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265-269.
7. Карагезян К. Г. Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван: Айастан, 1972. 267 с.
8. Енгйбарян А. А., Акопян В. П., Карагезян К. Г. Комбинированная антиоксидантотерапия при коронароокклюзионном инфаркте миокарда. Ереван: НПО "Лиганд", 1994. 242 с.
9. Бадалян А. Г. Диагностическая ценность показателей инсулярной, контринсулярной систем, активности органоспецифических ферментов и лечебная эффективность тиосульфата при хронических заболеваниях печени. Канд. дис. Ереван, 1995. 134 с.
10. Карагезян М. К. Изучение молекулярных механизмов токсических эффектов микотоксина зеараленона. Канд. дис. 1997. 120 с.

Ակադեմիկոս Կ. Գ. Ղարազյոզյան, Գ. Ա. Հովեյան,
Ա. Ա. Ղազինյան, Լ. Վ. Կարաբաշյան, Մ. Կ. Ղարազյոզյան,
Մ. Ա. Բադալյան, Լ. Մ. Հովսեփյան, Ս. Ս. Հովակիմյան

**Հեպատոցիտների միտոքոնդրիալ և միկրոսոմալ
ֆրակցիաներում լիպիդների ազատ ռադիկալային
օքսիդացման պրոցեսները վազոտոմիայից հետո**

Ենթաստոծանիական երկկողմանի վազոտոմիայից հետո առնետների հեպատոցիտների միտոքոնդրիալ և միկրոսոմալ ֆրակցիաներում նկատվում է ազատ ռադիկալային ռեակցիաների վառ արտահայտված ինտենսիվացում ինչպես ֆերմենտատիվ, այնպես էլ ոչ ֆերմենտատիվ համակարգում: Այս խանգարումները բնորոշվում են լիպիդային գերօքսիդների քանակի ավելացմամբ՝ մի բան, որ խիստ արտահայտված բացասական ազդեցություն ունի այդ կարևոր ենթաբջջային գոյացությունների բնականոն գործունեության վրա, վկայելով այստեղ կատարվող կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ ակտիվության խանգարումների մասին: Նշված խանգարումները կրում են ավելի արտահայտված բնույթ վազոտոմիայից հետո, վաղ ժամկետներում (1, 3, 7 օր անց) և միայն 90-րդ օրն են ձգտում հարաբերական նորմալացման: Կատարված հետազոտությունները ցույց են տալիս վեգետատիվ նյարդային համակարգի պարասիմպատիկ հատվածի տրոֆիկա-ադապտացիոն ազդեցությունը ենթաբջջային գոյացությունների և ամբողջական բջջի վրա, ինչպես նաև՝ մարսողական համակարգի տարբեր օրգանների գործունեության հսկողության անհրաժեշտությունը ցողունային և ընտրողական վազոտոմիայի պայմաններում: