

УДК 616.36.004

Академик К. Г. Карагезян, Л. А. Симонян, С. С. Овакимян, А. А. Симонян

Специфика нарушений метаболизма фосфолипидов в печеночной ткани белых крыс с моделированным коразолом эпилептиформным припадком и особенности корректирующего эффекта факторов антиоксидантного действия

(Представлено 6/VIII 2004)

В мозговой ткани белых крыс с модифицированным коразолом эпилептиформным припадком наблюдаются глубокие расстройства филогенетически запрограммированного постоянства фосфолипид-фосфолипидных¹ соотношений, имеющих существенное значение в обеспечении нормального уровня физиологически протекающих в ней процессов жизнедеятельности [1,2]. Это постоянство обусловлено в значительной степени тропностью определенных категорий ферментных систем к соответствующим представителям нейтральных и кислых ФЛ (НФЛ и КФЛ соответственно), ответственных за обеспечение бесперебойности течения реакций клеточного метаболизма, которые осуществляются в результате перманентных процессов трансмембранного переноса веществ по обе стороны от поверхности раздела клетки, трансдукции внешнего сигнала во внутриклеточное пространство [3-6] и, что особенно важно, катализа процессов энергогенеза, энерготранспорта и митохондриального окисления в целом [7,8].

Целью настоящей работы явилось исследование специфики нарушений метаболизма ФЛ в печеночной ткани белых крыс на фоне коразоловых припадков как основной "лаборатории" функционирующего организма, наиболее ответственной за нейтрализацию многочисленных составляющих оксидативного стресса и обеспечение максимальной мобилизованности компенсаторно-приспособительных механизмов, столь необходимой при необычных, экстремальных для организма условиях существования.

Исследования проводились на 51 беспородной белой крысе-самце массой 180-200 г. Моделирование коразоловых эпилептиформных припадков осуществляли однократным внутримышечным введением 8-9 мг коразола/весь вес; выработка фиксированного контроля проводилась внутрибрюшинным введением определенной группе экспериментальных животных физиологического раствора. С целью предварительной сенсibilизации факторами эндогенной антиоксидантной активности производили одноразовые внутрибрюшинные инъекции тиосульфата натрия - 1 мг/весь вес и 0.4 мг масляного раствора витамина Е как в отдельности, так и одновременно, в виде так называемых сочетанных введений, согласно принципам комбинированной антиоксидантотерапии. При этом мы придерживались канонических синергизма, характеризующегося проявлением ярко выраженного суммарного эффекта со стороны факторов однонаправленного действия.

Таблица 1

Динамика качественно-количественных изменений различных категорий фосфолипидов в печеночной ткани белых крыс под действием витамина Е, тиосульфата натрия и при развитии коразоловых припадков

Показатели	Контроль	Витамин Е	Тиосульфат натрия	Коразоловый припадок
Монофосфоинозитиды	10.32±0.31	9.24±0.39	11.20±0.39	12.37±0.33 *
Лизофосфатидилхолины	6.60±0.44	6.70±0.43	6.32±0.44	10.20±0.43 *
Сфингомиелины	10.85±0.46	8.80±0.83	10.24±0.63	13.20±0.42 *
Фосфатидилхолины	37.55±0.71	38.32±0.74	37.65±0.72	29.62±0.70 *
Фосфатидилсерины	7.78±0.31	9.36±0.33 *	8.26±0.33	8.38±0.33 **
Фосфатидилэтанолламины	19.67±0.60	18.75±0.69	19.03±0.67	15.20±0.59 *
Кардиолипиды	7.23±0.23	8.83±0.31 *	7.30±0.25	11.03±0.25 *
СНФЛ	74.67±0.81	72.57±0.75	73.24±0.73	68.22±0.73 *
СКФЛ	25.33±0.52	27.43±0.52 **	26.76±0.53 **	31.78±0.53 *
К СНФЛ/СКФЛ	2.95±0.02	2.60±0.02 *	2.75±0.02 *	2.15±0.02 *
СФЛ	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

Примечания. n = 19; * - p < 0.001, ** - p < 0.01; данные без обозначений статистически не достоверны.

Животных по истечении 15 мин после завершения соответствующих манипуляций умерщвляли декапитированием. Изолирование печени, освобождение от капсул, кровеносных сосудов и приготовление печеночного гомогената производили на холоде. Ацетоновые порошки исследуемого материала получали согласно методике К.Г. Карагезяна [9], экстракцию ФЛ из него осуществляли по Фолчу [10]. Фракционирование ФЛ проводили методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля на пластинках "Мерк" (ФРГ) в системе растворителей хлороформ, метанол, концентрированный аммиак в объемных соотношениях 65:35:5.

Таблица 2

Динамика качественно-количественных изменений различных категорий фосфолипидов в печеночной ткани белых крыс при коразоловых припадках, выработанных на фоне предварительной сенсibilизации интактных белых крыс в отдельности витамином Е и

тиосульфатом натрия

Показатели	Контроль	Коразоловый припадок	Витамин Е+ коразоловый припадок	Тиосульфат натрия+коразоловый припадок
Монофосфоинозитиды	10.32±0.31	12.37±0.33 [*]	11.25±0.37 ^{**}	9.83±0.37
Лизофосфатидилхолины	6.60±0.44	10.20±0.43 [*]	7.08±0.45	6.81±0.44
Сфингомиелины	10.85±0.46	13.20±0.42 [*]	11.08±0.43	11.75±0.44
Фосфатидилхолины	37.55±0.71	29.62±0.70 [*]	34.31±0.75 ^{**}	33.72±0.75 ^{**}
Фосфатидилсерины	7.78±0.31	8.38±0.33 ^{**}	8.00±0.31	7.83±0.32
Фосфатидилэтаноламины	19.67±0.60	15.20±0.59 [*]	18.15±0.69	20.80±0.59
Кардиолипиды	7.23±0.23	11.03±0.25	10.13±0.27 [*]	9.26±0.29
СНФЛ	74.67±0.81	68.22±0.73	70.62±0.71 ^{**}	73.08±0.72
СКФЛ	25.33±0.52	31.78±0.53	29.38±0.52 [*]	26.92±0.53 ^{**}
К СНФЛ/СКФЛ	2.95±0.02	2.15±0.02 [*]	2.40±0.02 [*]	2.71±0.02 [*]
СФЛ	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

Примечания. n = 19; ^{*} - p < 0.001, ^{**} - p < 0.01; данные без обозначений статистически не достоверны.

Идентификацию фракций ФЛ производили в специальных камерах в атмосфере, насыщенной парами йода, с использованием стандартов фирмы "Сигма" (США). Начиная от линии старта отдельные представители ФЛ располагались в следующей очередности: монофосфоинозитиды, лизофосфатидилхолины, сфингомиелины, фосфатидилхолины, фосфатидилсерины, фосфатидилэтаноламины и кардиолипиды. ЛФХ, СФМ, ФХ и ФЭ как представители НФЛ в общей своей сумме значительно доминировали над таковой КФЛ, состоящей из МФИ, ФС и КЛ.

Количество ФЛ определяли в мкг минерализованного липидного фосфора/г сухого остатка печеночной ткани или на мг белка, выделенного по Лоури [11]; сдвиги их содержания выражали в процентах от суммы всех ФЛ, а количественные соотношения между СНФЛ и СКФЛ отражали в виде соответствующего коэффициента - К СНФЛ/СКФЛ.

В первой серии опытов были изучены особенности действия изолированно примененных витЕ, ТСН и коразола на качественно-количественные сдвиги ФЛ печеночной ткани интактных белых крыс (табл. 1). При изолированном действии витамина Е и ТСН сколько-нибудь заметных отклонений в качественном и количественном содержании показателей ФЛ не наблюдается. Иная картина прослеживается в ФЛ-ФЛ соотношении по истечении 15 мин после введения коразола - регистрируется статистически достоверное увеличение количества

МФИ, СФМ, ФС, КЛ и особенно ЛФХ и, наоборот, не менее выраженная убыль содержания ФХ и ФЭ. Учитывая ярко выраженную метаболическую связь между ФС, ФЭ и ФХ, наиболее отчетливо проявляющуюся в условиях патологии, мы проследили за особенностями взаимоперехода между этими весьма активными представителями ФЛ-глицеридов. Возрастание содержания ФС можно объяснить активированием ФС-декарбоксилазы, сопровождающимся заметной убылью содержания ФЭ, что, по всей вероятности, в известной степени обуславливается интенсификацией процесса метилирования ФЭ, трансформирующихся в ФХ. В то же время вопреки ожидаемому увеличению уровня ФХ в печеночной ткани мы сталкиваемся с его значительным уменьшением. Параллельно наблюдающееся при этом возрастание содержания ЛФХ является логическим подтверждением повышения в условиях коразолового ОС активности фосфолипазы A_2 , катализирующей процесс деацилирования ФХ, сопровождающийся выходом значительных концентраций ЛФХ и неэстерифицированных жирных кислот полиенового ряда, интенсивно вовлекающихся в реакции свободнорадикального окисления. Последнее характеризуется образованием значительных количеств продуктов перекисления мембранотоксического мембранолитического действия в виде гидроперекисей, моно-, ди-, триеновых конъюгатов, соединений типа Шиффа и конечного продукта перекисеобразовательного процесса малонового диальдегида. Наблюдаются также убыль СНФЛ и возрастание СКФЛ, вносящие, по существу, нежелательные "патологические" коррективы в картину ФЛ-ФЛ соотношений и значительным образом расстраивающие существующий в норме стереотип клеточной активности.

Таблица 3

Динамика качественно-количественных изменений различных категорий фосфолипидов в печеночной ткани белых крыс при коразоловых припадках, выработанных на фоне предварительной сенсibilизации факторами антиоксидантной активности интактных животных одновременно введенными витамином Е и тиосульфатом натрия

Показатели	Контроль	Коразоловый припадок	Коразоловый припадок на фоне действия витамина Е и ТСН
Монофосфоинозитиды	10.32±0.31	12.37±0.33*	9.06±0.32
Лизофосфатидилхолины	6.60±0.44	10.20±0.43*	10.81±0.40
Сфингомиелины	10.85±0.46	13.20±0.42*	10.41±0.45
Фосфатидилхолины	37.55±0.71	29.62±0.70*	35.99±0.69
Фосфатидилсерины	7.78±0.31	8.38±0.33**	7.19±0.33
Фосфатидилэтаноламины	19.67±0.60	16.20±0.59*	18.89±0.61
Кардиолипины	7.23±0.23	11.03±0.25*	7.65±0.27

СНФЛ	74.67±0.81	68.22±0.73*	76.10±0.75
СКФЛ	25.33±0.52	31.78±0.53*	23.90±0.53
К СНФЛ/СКФЛ	2.95±0.02	2.15±0.02*	3.18±0.02*
СФЛ	100.0%	100.0%	100.0%

Примечания. n = 19; * - p < 0.001, ** - p < 0.01; данные без обозначений статистически не достоверны.

Во второй серии опытов изучались особенности изменений метаболизма ФЛ в печеночной ткани при введении коразола на фоне предварительно введенных в отдельности витЕ и ТСН. Как видно из табл. 2, предварительная сенсibilизация организма отмеченными препаратами антиоксидантного действия способствует проявлению ярко выраженной тенденции к упорядочению констатированных расстройств в картине ФЛ-ФЛ соотношений по сравнению с исходными показателями. Отмечающееся тем не менее отсутствие полнейшего восстановления исходных показателей обмена ФЛ в наибольшей степени проявляется в обоих случаях в отношении содержания КЛ, продолжающего доминировать в контроле. Это можно рассматривать как частное проявление компенсаторно-приспособительной функции организма, направленной на максимальное поддержание дыхательной функции гепатоцитов в условиях изучаемой патологии через активирование КЛ-зависимых ферментных систем митохондрий, ответственных за гомеостаз энергогенерирующих, энерготранспортирующих систем этих образований [12]. Следует заметить, что в случае предварительного введения ТСН, в отличие от инъекции витЕ, тенденция к упорядочению филогенетически стабилизированного постоянства в статусе ФЛ-ФЛ соотношений проявляется в сравнительно большей степени, что отчетливо сказывается и на расхождениях СНФЛ и СКФЛ по сравнению с их исходными величинами.

Как явствует из результатов третьей серии опытов (табл. 3), предварительная сенсibilизация интактного животного одновременно введенными витЕ и ТСН имеет решающее значение в максимально выраженном нивелировании вредоносного действия факторов ОС, формирующегося при коразоловых припадках спустя 15 мин после введения отмеченных активных начал антиоксидантного действия. В подавляющем большинстве случаев не регистрируется статистически достоверных отклонений в количественном содержании показателей ФЛ ряда от их исходных уровней за исключением содержания ЛФХ, продолжающего превосходить таковое в контроле. Последнее и служит причиной доминирования СНФЛ, а следовательно и К СНФЛ/СКФЛ, над исходными уровнями этих показателей. Феномен стойко сохраняющегося превосходства количественного содержания ЛФХ в различных биологических системах организма неоднократно констатирован при многих болезненных состояниях организма, в том числе и при сахарном диабете [13].

Таким образом, одновременное сочетанное использование препаратов однонаправленного, в данном случае, антиоксидантного, действия целесообразно при различных болезненных и экстремальных состояниях организма, в том числе и при эпилептиформных припадках. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о мощном стимулирующем действии

примененных нами физиологически активных соединений на активность эндогенных систем антирадикальной защиты клетки.

Институт молекулярной биологии НАН РА
Институт биохимии им. Г. Х. Бунятына НАН РА

Литература

1. *Крепс Е.М.* Фосфолипиды клеточных мембран нервной системы в развитии животного мира. XXII Баховские чтения. Л. Наука. 1967. 74 с.
2. *Крепс Е.М.* Липиды клеточных мембран. Л. Наука. 1981. 330 с.
3. *Бурлакова Е.Б.* В кн.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. М. Наука. 1981. С. 23-25.
4. *Бурлакова Е.Б., Архипова Г.В., Голощапов А.Н., Молочкина Е.М., Штолько В.Н.* - В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М. Наука. 1982. С. 113-140.
5. *Тадевосян Ю.В.* Кооперативные процессы модификации липидного компонента мембран в регуляции клеточной активности. Автореф. докт. дис. Ереван. 1996. 41 с.
6. *Тадевосян Ю.В., Карагезян К.Г., Батикян Т.Б.* - ДАН СССР. 1987. Т. 295. N5. С. 1254-1257.
7. *Божков А.И., Краснопольский Ю.М., Асадова М.К., Могиланская С.М., Дубовская В.Л., Мензеляев Р.Ф.* - Вопр. мед. химии. 1995. Т. 39. Вып. 1. С. 41-43.
8. *Гаришвили Т.Г.* Нарушение дезаминирования биогенных аминов и других азотистых соединений при стимуляции перекисного окисления эндогенных липидов митохондриальных мембран. Автореф. канд. дис. Тбилиси. 1979. 21 с.
9. *Карагезян К.Г.* Роль фосфолипидов в жизнедеятельности организма. Ереван. Айастан. 1972. 267 с.
10. *Folch J., Lees M., Sloane-Stane G.* - J. Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497-509.
11. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al.* - J. Biol. Chem. 1951. V. 193. N 1. P. 265-275.
12. *Бурлакова Е.Б., Архипова Г.В., Голощапов А.Н., Молочкина Е.М., Штолько В. Н.* - В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М. Наука. 1982. С. 74-83.
13. *Едоян А.Р.* Специфика корректирующего действия сверхнизких доз факторов химической и физической природы при нарушениях метаболизма фосфолипидов у белых крыс с моделированным аллоксаном сахарным диабетом. Автореф. канд. дис. Ереван. 2004. 21 с.

Ակադեմիկոս Կ. Գ. Ղարազյոզյան, Լ. Ա. Սիմոնյան, Ս. Ս. Հովակիմյան, Ա. Ա. Սիմոնյան

Ֆոսֆոլիպիդների նյութափոխանակության խանգարումների յուրահատկությունը սպիտակ առնետների լյարդի հյուսվածքում կորագոլով հարուցված էպիլեպսանման ցնցումների դեպքում և հակաօքսիդանտային ազդեցությամբ օժտված գործոնների կարգավորման արդյունավետության առանձնահատկությունները

Հետազոտվել են ֆոսֆոլիպիդների նյութափոխանակության խանգարումները սպիտակ առնետների լյարդի հյուսվածքում կորագոլով մակածված էպիլեպսանման ցնցումների դեպքում: Ցույց են տրվել տարբեր ֆոսֆոլիպիդների քանակական և որակական տեղաշարժերը նշված ախտաբանության ժամանակ: Որպես բուժական արդյունավետ միջոց հաստատվել է նատրիումի թիոսուլֆատի ընդգծված արդյունավետությունը էպիլեպսանման ցնցումների դեպքում:

Academician K.G. Karageuzyan, L.A. Simonyan, S.S. Hovakimyan, A.A. Simonyan

The Specificity of Phospholipid Metabolism Breaches in White Rat Liver Tissue During the Epileptic-like Concussions Induced by Corasole and the Regulatory Effect of Antioxidant Agents

Phospholipid metabolism breaches in white rat liver tissue was studied during epileptic-like concussions induced by corasole. It was shown the quantitative and qualitative changes of various phospholipids during the mentioned pathology. It was suggested that sodium thiosulfate appears to be an effective medicinal agent during the epileptic-like concussions.