

УДК 612.17:612.397.8.015

В. Г. МХИТАРЯН, Э. А. АРАРАТЯН, Э. М. МИКАЕЛЯН, М. М. МЕЛКОНЯН

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРОЦЕССА ЛИПИДНОЙ
ПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

Установлено, что исходный уровень липидных перекисей в сердце контрольных крыс на порядок ниже, чем в мозге, что коррелирует с более высокой активностью супероксиддисмутазы (СОД)—примерно в 2 раза в сердце выше, чем в мозге.

При иммобилизационном стрессе в сердце и мозге белых крыс уровень липидных перекисей значительно возрастает, изменения носят фазовый характер в зависимости от дозировки стресса. Активность СОД при иммобилизационном стрессе в основном ингибирована по отношению к контролю, что коррелирует с уровнем липидных перекисей в изученных тканях.

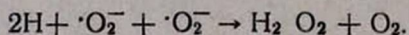
Сдвиги в содержании липидных перекисей и в активности СОД в сердце происходят сравнительно с большей интенсивностью, чем в мозге.

Согласно современным представлениям, основным звеном, повышающим резистентность организма в ответ на стрессорные раздражители, является гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система (ГГАС). Данная концепция не включает в себя фактора перекисного окисления. Однако экспериментально установлено изменение интенсивности процесса липидной перексидации под воздействием различных агентов: хлоропрена, органических перекисей, жирных кислот, ожога, а также при действии стрессирующих агентов [1, 3, 4, 5]. Очевидно, эти изменения носят неспецифический характер и играют, по-видимому, определенную роль в развитии стресса, а также в адаптации организма к стрессирующим факторам.

Можно заметить, что и активация ГГАС, и усиление липидной перексидации, вызванные стрессом, в конечном итоге приводят к интенсификации метаболизма. В то же время эти два процесса, видимо, не только дополняют друг друга, но и взаимозависимы. Катехоламины, основные пусковые трансмиторы стрессорной реакции, проявляют некоторые антиоксидантные свойства в связи с подавлением НАДФН₂—зависимой липопероксидации путем перехвата супероксиданион радикала [6]. С другой стороны, липидные перекиси могут ингибировать и трансформировать моноаминоксидазу (МАО), изменяя при этом направление обмена катехоламинов [2]. В этом аспекте представляет интерес изучение роли липидной перексидации в стрессорных реакциях организма.

В настоящей работе была изучена связь интенсивности процесса липидной перексидации со сдвигами в содержании супероксидного аниона $\cdot\text{O}_2^-$ при иммобилизационном стрессе. О содержании суперок-

сидного аниона $\cdot\text{O}_2^-$ судили косвенно по активности фермента супероксиддисмутазы (СОД). СОД является одним из главных ферментов антирадикальной защиты клетки, она обезвреживает супероксидные анионы путем их дисмутации в перекись водорода и триплетный кислород.



Супероксидный анион возникает при одноэлектронном восстановлении кислорода в ряде биохимических реакций: ксантиноксидазной, триптофанпирролазной, при автоокислении тиолов, а также при окислении оксигемоглобина в метгемоглобин. Супероксидный анион образуется также в реакциях гидроокислирования и при окислении адреналина в адренохром.

При неферментативной дисмутации супероксидный анион переходит в другую форму активного кислорода—синглетную, которая легко реагирует с ненасыщенными жирными кислотами с образованием гидроперекисей, последние инициируют реакции липидной перекисаации.

Таким образом, СОД, предотвращая образование синглетного кислорода, тем самым ингибирует липидную перекисаацию [6].

Материал и методика

Опыт ставили на белых крысах-самцах весом 150—200 г. В качестве модели дозированного стресса была использована иммобилизация (ИМО). Животных иммобилизовали фиксацией головы и конечностей ежедневно в течение 150 минут. Число иммобилизаций—от одной до семи.

Содержание липидных перекисей определяли в гомогенатах сердца и мозга по уровню одного из конечных продуктов перекисного окисления—малонового диальдегида (МДА). МДА при высокой температуре и кислом pH образует с тиобарбитуровой кислотой окрашенный комплекс с максимумом поглощения при 535 нм [7].

Для определения активности СОД навеску ткани гомогенизировали на холоду в 0,1 М растворе Na_2HPO_4 с последующим центрифугированием гомогената в течение 10 мин при 10000 об/мин. Супернатант встряхивали в течение 5 мин с 2,5 мл смеси хлороформ: этанол (2:1), затем центрифугировали 10 мин при 10000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали в качестве раствора СОД.

Активность СОД определяли по ингибированию генерации супероксидных анионов в модели феназинметосульфат—НАДН—нитротетразолий синий. Пробы спектрофотометрировали при 535 нм на спектрофотометре марки Specol Karl Zeiss. За единицу активности СОД принимали такое количество ее раствора, которое при добавлении к модельной системе, генерирующей супероксидный анион $\cdot\text{O}_2^-$, подавляет ее генерацию на 50% [8]. Активность растворов СОД определяли в день выделения и через 24 часа после выделения.

Результаты и обсуждение

Нами установлено, что исходный уровень липидных перекисей в сердце у контрольных животных на порядок ниже, чем в мозге, что хорошо коррелирует с более высокой активностью СОД; последняя в сердце примерно в 2,5 раз активнее, чем в мозге (1 ед. активности в 84 мкг белка супернатанта сердца и в 162,5 мкг белка супернатанта мозга).

Уровень липидных перекисей в сердце и мозге значительно повышается по сравнению с контролем во все сроки иммобилизации, причем изменения имеют фазовый характер с максимумом после второй фиксации (рис. 1). Интенсивность сдвигов в сердце больше, чем в моз-

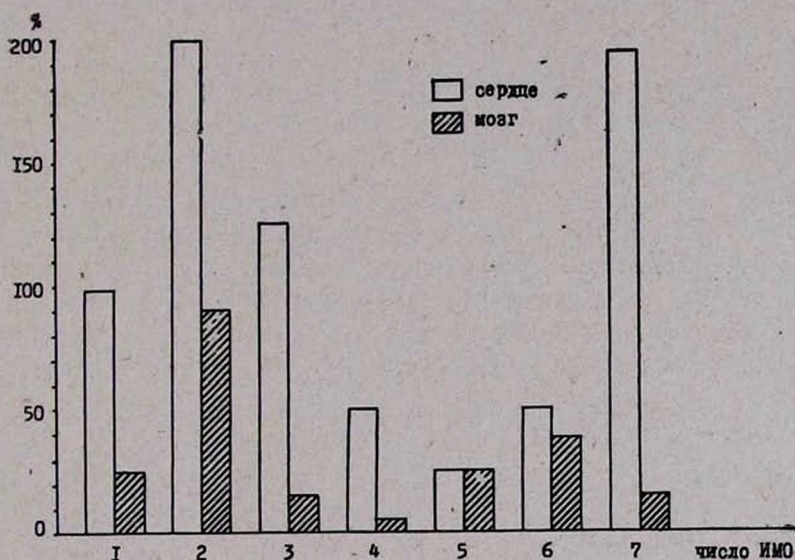


Рис. 1. Изменение активности СОД при иммобилизационном стрессе в % по отношению к контролю.

ге, и в отличие от мозга указанные изменения за исследованный период не сглаживаются.

Активность СОД в тех же условиях опыта в обоих органах в основном ингибируется во все сроки ИМО, кроме 5- и 3-й (рис. 2).

Необходимо отметить, что подобно приросту липидных перекисей активность СОД в сердце при стрессе ингибируется с большей интенсивностью, чем в мозге. Установленный нами факт дает некоторое биохимическое обоснование сравнительно большей ранимости сердца при стрессе.

Сопоставление уровня липидных перекисей в тканях при иммобилизационном стрессе с активностью СОД показывает, что в первые сроки ИМО имеется корреляция между изменениями этих показателей. Этот факт, в частности, может свидетельствовать о повышении активности процессов, приводящих к образованию супероксидных радикалов. Однако это предположение требует экспериментального обоснования.

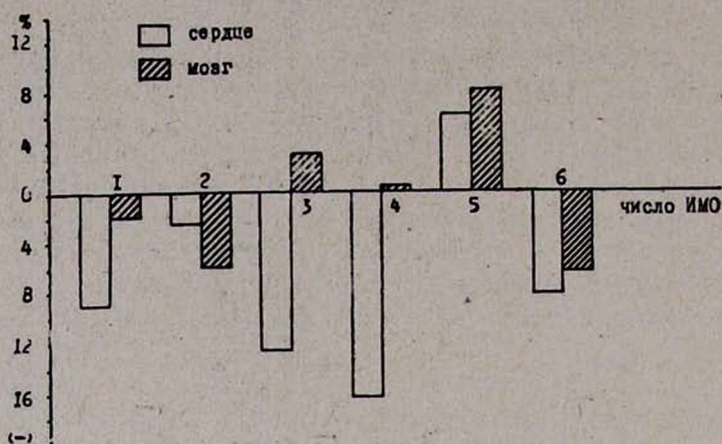


Рис. 2. Уровень липидных перекисей в тканях белых крыс при иммобилизационном стрессе, выраженный в % по отношению к контролю.

На рис. 3 представлены данные об изменении активности СОД после хранения при 4°C через 24 часа после выделения. Обращает на себя внимание некоторая трансформация активности СОД, выделенной из тканей опытных крыс, относительно контрольных. Это проявляется возрастанием активности фермента в опытных образцах относительно контроля при одно-, двух- и трехразовой ИМО и снижением ниже кон-

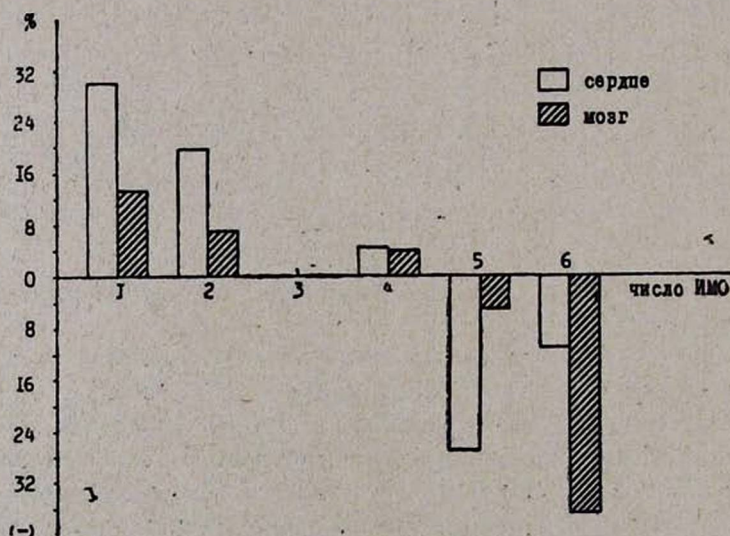


Рис. 3. Изменение активности СОД в процессе хранения при 4°C в течение 24 часов после выделения в % по отношению к контрольным препаратам, хранившимся в тех же условиях.

трольного уровня при пяти- и шестиразовой ИМО (рис. 3). Установленная закономерность представляет, несомненно, определенный интерес, но несколько затруднительна в интерпретации.

Изменение активности фермента после ИМО может быть связано с рядом причин. Наличие трех изоферментов СОД позволяет думать, что ИМО приводит к изменению активности, по крайней мере, одного из них. Таким образом, изменение суммарной активности по существу отражает изменение активности изоферментов СОД. Полученные нами данные в некоторой мере согласуются с недавно установленным фактом изменения активности СОД с возрастом [9]. Изменение суммарной активности СОД при ИМО может быть также связано с частичным изменением структуры митохондрий, что может приводить к некоторой солиubilизации митохондриальной марганецсодержащей СОД. Кроме того, можно допустить появление при ИМО соединений, играющих для СОД роль аллостерических регуляторов. Однако все эти предположения должны быть проверены экспериментально.

Кафедра биохимии

Ереванского медицинского института

Поступила 29/III 1977 г.

Վ. Գ. ՄԵԼԻԿ-ԱՅԱՆ, Է. Ա. ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ, Է. Մ. ՄԻՔԱՅԵԼՅԱՆ, Մ. Մ. ՄԵԼԻՔՆՅԱՆ

ԻՄՄՈՆԱԴԻԶԱՑԻՈՆ ՍՏՐԵՍԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ, ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ
ՊԵՐՕՔՍԻԴԱՅԻՆ ՊՐՈՑԵՍՈՒ ՄԻ ՔԱՆԻ ՀԱՐՑՅԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ օ փ օ ւ մ

Ցույց է տրված, որ կոնտրոլ խմբի առնետների սրտամկանում լիպիդային պերօքսիդացիայի սկզբնական մակարդակը մեկ աստիճան ավելի ցածր է քան ուղեղում, և լավ կոռելացվում է սուպերօքսիդդիսմուտազայի ակտիվության հետ (սրտամկանում նա երկու անգամ բարձր է ուղեղի համեմատությամբ):

Իմմունլիզացիոն ստրեսի դեպքում, լիպիդային պերօքսիդացիայի պրոցեսը ուղեղում ուժեղանում է, ունի ֆազային բնույթ, և նրա ինտենսիվությունը պայմանավորված է ստրեսի դրզայից:

Իմմունլիզացիոն ստրեսի պայմաններում սուպերօքսիդդիսմուտազայի ակտիվությունը ճնշվում է կոնտրոլի համեմատությամբ և լավ կոռելացվում է հետազոտվող հյուսվածքի լիպիդային պերօքսիդացիայի ինտենսիվության հետ:

Լիպիդային պերօքսիդների քանակական և սուպերօքսիդդիսմուտազայի ակտիվության տեղաշարժերը սրտում արտահայտված են ավելի, քան ուղեղում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Брехман И. И., Голотин В. Г., Добрякова А. И., Голенко В. А. В сб.: Лекарственные средства Дальнего Востока. Владивосток, 1972, стр. 31.
2. Исаханян Г. Д., Горкин В. З. Вопросы мед. химии, XXII, 1976, 1, стр. 76.
3. Мхитарян В. Г., Аладжанов М. И., Мелик-Агаева Е. А. Биол. ж. Армении, 1974, XXVII, 6, стр. 3.

4. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаева Е. А. Материалы LIX научной сессии мед. ин-та. Ереван, 1971, стр. 121.
5. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаева Е. А. Материалы IV Закавказской научной конференции патофизиологов. Баку, 1975, стр. 228.
6. Мерзляк М. Н., Соболев А. С. Биофизика, 1975, 5, стр. 118.
7. Blery J. G., Anderson A. Arch. Biochem. Biophys., 90, 105, 1960.
8. Morimitsu Nishikimi, N. Appaji Rao, Kunto Yagi. Biochem. Biophys. Res. Commun., 46, 3, 849, 1972.
9. Relss U., Gershon D. Biochem. Biophys. Res. Commun., 73, 255, 1976.