

УДК 612.351.11+616.36

В. Г. МХИТАРЯН, Л. М. МЕЖЛУМЯН

СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИДИРОВАННЫХ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ВИТАМИНА Е НА АКТИВНОСТЬ ТРИПТОФАНПИРРОЛАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС

Изучено влияние пероксидированных олеиновой и линолевой кислот на активность триптофанпирролазы печени крыс. Показано, что олеиновая и линолевая кислоты с одинаковым перекисным числом при ежедневном внутрибрюшинном введении на протяжении 7 и 14 дней вызывают неодинаковые сдвиги в активности фермента. В отличие от олеиновой линолевая кислота в эти сроки угнетает активность фермента на 50,8 и 48% соответственно. При совместном введении их с α -токоферилацетатом активность фермента, наоборот, значительно повышается. Обсуждается предположение о влиянии пероксидированных НЖК и α -токоферилацетата на активность триптофанпирролазы.

За последние годы реакция переокисления липидов придается все большее значение как фактору, играющему важную роль в патогенезе целого ряда заболеваний [4, 5]. Установлено, что избыточная липидная пероксидация повреждает мембраны клоток, вследствие чего нарушается проницаемость и нормальная жизнедеятельность клетки, что и приводит в развитии патологического процесса.

В наших предыдущих исследованиях было показано, что чрезмерная липидная пероксидация наблюдается при ожоговой травме [10], аллоксановом диабете [11], сывороточном и инфекционном гепатите [1], хлоропреновом отравлении [9] и т. п. Наряду с этим было установлено, что избыточная липидная пероксидация, индуцированная экзогенными пероксидированными ненасыщенными жирными кислотами (НЖК) [12], а также хлоропреном [13], вызывает существенные повреждения мембран гепатоцитов, вследствие чего органоспецифические ферменты печени — уроканиназа и гистидаза — мигрируют из печени в кровяное русло, причем чем выше их активность в крови, тем больше степень повреждения печеночной паренхимы.

Настоящее сообщение является продолжением наших исследований и посвящено изучению влияния экзогенных пероксидированных НЖК на активность триптофанпирролазы печени крыс.

Триптофанпирролаза была открыта в 1936 г. и детально описана в 1941 г. Позднее было установлено [30], что окисление триптофана ферментом происходит лишь в присутствии кислорода, в связи с чем она была переименована в триптофаноксигеназу. В дальнейших исследованиях было установлено, что она относится к аллостерическим ферментам, состоит из четырех мономеров и ее активность в значительной сте-

пени зависит от рН среды. Установлено [19], что активность фермента имеет фазовый характер и зависит от времени года и пола животных. Согласно данным литературы [26], активность фермента снижается у крыс при малобелковой диете. Работами ряда авторов [21, 24, 30, 31] установлено, что белковая часть триптофанпирролазы представлена в печени в трех формах: в виде апофермента, не связанного с геминовой протетической группой, ферропорфиринового неактивного фермента и активного ферропорфиринового комплекса.

В литературе имеется большое число исследований, посвященных влиянию гормонов на активность триптофанпирролазы. Так, по данным ряда авторов [15—17, 24, 25], кортикостероиды сильно активируют триптофанпирролазу. Установлено [7, 18], что активность фермента резко угнетается у адреналэктомированных животных.

Ж. И. Акопян [2], изучая влияние тироксина, а также тиреоидэктомии на активность фермента, не обнаружил заметных сдвигов.

В многочисленных исследованиях изучено также влияние различных факторов и веществ на активность фермента. Установлено повышение активности триптофанпирролазы при гипотермии [20, 28] и получены некоторые противоречивые данные при облучении животных [8, 14, 29]. Как известно, при интоксикациях четыреххлористым углеродом резко усиливается процесс липидной перекисидации. В этом аспекте представляют определенный интерес данные Г. А. Великодворской [6], которая показала угнетение активности триптофанпирролазы при отравлении четыреххлористым углеродом и не обнаружила сдвигов в активности ферментов под влиянием хлороформа, что расходится с данными В. Г. Баяндурова [3].

Материал и методика исследования

Опыты выполнены на пяти группах (каждая по 15) белых беспородных крыс-самок весом 120—150 г, содержащихся на обычном рационе в виварии. Животные первой группы служили контролем; второй группе вводили внутривенно 0,1 мл на 100 г веса перексидированной олеиновой кислоты; третьей группе животных совместно с олеиновой кислотой вводился α -токоферилацетат в количестве 1 мг на 100 г веса животного в виде тонкой эмульсии на 10% водном растворе твин-80—0,5 мл; четвертой группе — линолевою кислоту в тех же количествах и пятой группе линолевою кислоту с α -токоферилацетатом. В перексидированных кислотах перекисное число колебалось в пределах 300—320.

Затравку крыс производили ежедневно в течение 7 и 14 дней, после чего их декапитировали, быстро извлекали печень, гомогенизировали и в гомогенатах определяли активность триптофанпирролазы по методу Кнох [22].

Опытные пробы содержали 2 мл гомогената (250 мг печени), 0,3 мл 0,03 М раствора 1-триптофана (Reanal) и 1 мл фосфатного буфера, рН 7,0. Общий объем доводили до 4,0 мл дважды дистиллированной водой.

По истечении срока инкубации добавляли 2 мл 15% раствора метафосфорной кислоты и через 5 минут фильтровали.

Из прозрачного фильтрата брали 3,0 мл, добавляли 1,5 мл 1 N раствора NaOH и количество образовавшегося кинуренина определяли на спектрофотометре MOM-203 (ВНР) при λ — 365 нм.

Активность триптофанпирролазы рассчитывали на калибровочной кривой, построенной по кинуренину (основание, Sigma, США), и выражали в количествах кинуренина в мкмоль/г ткани/час.

Результаты исследования и обсуждение

Результаты наших исследований в обобщенном виде приведены в табл. 1. Как видно из этих данных, у контрольных крыс активность триптофанпирролазы в печени составляет в среднем 5,08 мкмоль/г влажной ткани/час, что совпадает с данными Braidman a. Rose [19], Ж. И. Акопяна [2] и несколько расходится с данными В. К. Рузита [15] при пересчете на сухой вес ткани (17,7 мкмоль, по нашим данным, и 12,7 мкмоль, по данным Рузита), что, видимо, связано с сезонными колебаниями фермента.

Таблица 1

Активность триптофанпирролазы в печени крыс при внутрибрюшинном введении пероксидированных НЖК и α -токоферилацетата (мкмоль кинуренина на г/влажной ткани/час.

Условия опыта	Подопытные крысы			
	через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения
Контрольные крысы (5,08±0,16)	—	—	—	—
Олеиновая кислота	5,34±0,15	+ 5,1	4,45±0,26 p>0,05	-12,5
Олеиновая кислота + α -токоферил-ацетат	8,07±0,24 p<0,001	+58,8	6,98±0,32 p<0,001	+37,3
Линолевая кислота	2,5±0,2 p<0,001	-50,8	2,65±0,38 p<0,001	-46,0
Линолевая кислота + α -токоферил-ацетат	7,3±0,72 p<0,05	+43,7	6,36±0,66 p<0,05	+25,1

Из данных той же таблицы видно, что у подопытных крыс после ежедневного внутрибрюшинного введения олеиновой и линолевой кислот с одинаковым перекисным числом активность фермента подвергается неодинаковым сдвигам. Так, если под влиянием олеиновой кислоты активность триптофанпирролазы почти не меняется на 7-й день опыта и угнетается весьма незначительно (12,5%) на 14-й день затравки, то под влиянием линолевой кислоты она резко угнетается и на 7-, и на 14-й день опыта и находится ниже контроля на 50,8 и 48% соответственно. Такая резкая разница в действиях этих двух ненасыщенных жирных кислот с одинаковым перекисным числом, видимо, обусловлена конформационными особенностями и окислительными свойствами их гидрперекисей.

Резкое снижение активности триптофанпирролазы под влиянием пероксидированной линолевой кислоты, возможно, обусловлено окислением активного ферропорфиринового комплекса триптофанпирролазы в неактивный феррипорфириновый комплекс, а также нарушением биосинтеза гема вследствие дефицита витамина Е [27]. Любопытно, что пероксидированные НЖК вызывают в отличие от гистидазы и уроганиназы несколько иные изменения в активности триптофанпирролазы, что, видимо, обусловлено гемопорфириновой природой триптофанпирролазы.

При совместном введении пероксидированных НЖК с α -токоферилацетатом активность фермента не только не понижается, а наоборот, резко повышается. Так, при введении витамина Е с олеиновой кислотой на 7- и 14-й день опыта активность фермента превышает контрольный уровень на 58,8 и 37,3% соответственно, а при совместном введении с линолевой кислотой — на 43,7 и 25,1%. Высокая активность триптофанпирролазы, наблюдаемая под влиянием α -токоферилацетата, возможно, обусловлена снижением скорости распада белка этого фермента. Не исключается, что действие витамина Е опосредовано через кортикостероиды, которые, как известно, индуцируют образование апофермента триптофанпирролазы.

Регулирующее влияние α -токоферилацетата на активность органоспецифических ферментов печени—уроганиназы, гистидазы и триптофанпирролазы — является новым доказательством положительного влияния витамина Е на функцию печени.

Кафедра биохимии
Ереванского медицинского
института

Поступила 28/VII 1977 г.

Վ. Գ. ՄԻԻՔԱՐՅԱՆ, Լ. Մ. ՄԵԺԼՈՒՄՅԱՆ

ՊԵՐՕՔՍԻԴԱՅՎԱՄ ՉԶԱԳԵՑԱՄ ՃԱՐՊԱԹՔՈՒՆԵՐԻ ԵՎ Ե ՎԻՏԱՄԻՆԻ
ՀԱՄԱՏԵՂ ԱԶԳԵՑՈՒՅՑՈՒՆԸ ԼՅԱՐԴԻ ՏՐԻՊՏՈՑՆԱՆՊԻՐՈԼԱԶԱԅԻ
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է պերօքսիդացված օլեինաթթվի և լինոլաթթվի ազդեցությունը առնետների լյարդի տրիպտոֆանպիրոլազայի ակտիվության վրա:

Յուլյց է տրված, որ վերոհիշյալ ճարպաթթուների ամենօրյա ներդրվածակն ներարկումները (7 և 14 օրվա ընթացքում) ունեն ոչ միատեսակ ազդեցություն ֆերմենտի ակտիվության վրա: Ի տարբերություն օլեինաթթվի, լինոլաթթուն ճնշում է ֆերմենտի ակտիվությունը փորձի 7-րդ և 14-րդ օրը՝ համապատասխանաբար 50,8 և 48%:

Նույն թթուների և α -տոկոֆերիլացետատի համատեղ ներարկման դեպքում ֆերմենտի ակտիվությունը ոչ թե իջնում է, այլ հակառակը՝ բարձրանում:

Քննարկվում են պիրոքսիրացված ճարպաթթուների և α -տոկոֆերիլացե-
տատի ազդեցության մեխանիզմները տրիպտոֆանպիրոլազի ակտիվության
վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абагян И. А., Казазян А. В., Мхитарян В. Г. Ж. exper. и клинич. мед. АН Арм. ССР, 1976, XVI, 1, стр. 73.
2. Акопян Ж. И. Вопросы биохимии мозга, т. II. Ереван, 1966, стр. 50.
3. Баяндуров В. Г. Автореферат канд. дисс. Ереван, 1975.
4. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
5. Владимиров Ю. А. Биофизика, т. 5 (Итоги науки и техн. ВИНТИ АН СССР). М., 1975.
6. Великодворская Г. А. Вопр. мед. химии, 1958, IV, стр. 208.
7. Гологин В. Г., Бердышев Г. Д., Брехман И. И. Тр. биол.-почв. ин-та Дальневост. научн. центра АН СССР. Владивосток, 1973, 13 (116), стр. 37.
8. Кузин А. М., Мельникова С. К. Радиобиология, 1967, т. 7, 1, стр. 37.
9. Мелик-Агаян Е. А. Автореф. канд. дисс. Ереван, 1975.
10. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаян Е. А. Ж. exper. и клинич. мед. АН Арм. ССР, 1975, XV, 1, стр. 3.
11. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаян Е. А. III Всесоюзн. биохимический съезд (рефераты научн. сообщений). Рига, 1974, т. 1, стр. 242.
12. Мхитарян В. Г., Межлумян Л. М. Ж. exper. и клинич. мед. АН Арм. ССР, 1976, XVI, 4, стр. 3.
13. Мхитарян В. Г., Межлумян Л. М. Ж. exper. и клинич. мед. АН Арм. ССР, 1973, XIII, 4, стр. 3.
14. Попов П. Г., Анков В. К. Радиология, 1970, 10, 1, стр. 32.
15. Рузит В. К. Триптофан. М.—Л., 1973.
16. Самсонова М. Л. Вопр. мед. химии, 1973, XIX, стр. 148.
17. Altman K., Greengard O. J. Clin. Invest., 1966, 45, 1527.
18. Benš J. Zicha Physiol. bohemosl., 1970, 19, 1—2, 145.
19. Braidman J. P., Rose D. P. Endocrinology, 1971, 89, 1250.
20. Francesoni R., Mager M. Experientia, 1974, 30, 233.
21. Greengard O., Feigelson P. J. Biol. Chem., 1962, 237, 1933.
22. Knox W. E. Methods in Enzymology. Ed. Colowic. Kaplan. New-York, 1955, 2, 242.
23. Knox W. E., Anerleach V. H. J. Biol. Chem., 1955, 214, 307.
24. Knox W. E., Ogata M. J. Biol. Chem., 1965, 240, 2216.
25. Lee N. D., Baltz B. E. Endocrinology, 1962, 70, 84.
26. Maki Yoshitaka, Tanaka Shozo. РЖХИМ, 1970, 17ф, 1665.
27. Nair P. P. N. Y. Acad. Sci, 1972, 203, 53.
28. Sitaraman V., Ramasarma T. Biochem. a. Biophys. Res. Communs, 1974, 59, 2, 578.
29. Streffer Ch., Langendorf H. Inter. J. Rad. Biol., 1966, 11, 455.
30. Tanaka T., Knox W. E. J. Biol. Chem., 1959, 234, 1162.
31. Tokuyota K., Knox W. E. Biochem. Biophys. Acta, 1964, 81, 201.