

УДК 612.397.8:612.821.34

Э. М. МИКАЕЛЯН, М. М. МЕЛҚОНЯН, К. А. АЛЕКСАНЫАН, В. Г. МХИТАРЯН

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ, УРОВНЯ
ВИТАМИНА Е И АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ
ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

При иммобилизационном стрессе (ИМО) повышается содержание липидных перекисей в тканях, активность супероксиддисмутазы при этом усиливается. Установлена сезонная обусловленность сдвигов витамина Е при ИМО. Предварительное введение α -токоферола перед ИМО значительно выравнивает указанные сдвиги.

Перекисное окисление липидов играет важную роль в регуляции направленности метаболизма в клетке. Исходный уровень липидных перекисей в норме в тканях чрезвычайно мал в результате существования чувствительных механизмов его регуляции.

Исследованиями Е. Б. Бурлаковой [5] показано, что пероксидирование ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов мембран облегчает их выход, что, в свою очередь, меняет липидный состав, липид-липидные, липид-белковые взаимодействия и микровязкость липидной компоненты. Мембрана как универсальная регуляторная структура представляет собой кооперативную систему, ее структурные изменения служат триггерным механизмом перехода клетки из одного метаболического состояния в другое [6].

Исследованиями ряда авторов было показано, что интенсификация перекисного окисления липидов является неспецифическим ответом клетки на любое экстремальное воздействие [1, 3, 11, 12]. Несомненно, специфичность характера воздействия откладывает свой отпечаток на интенсивность, направленность и фазовость изменений липидной пероксидации. Однако независимо от рода воздействия все они имеют нечто общее—это требование к клетке о перестройке ее метаболизма для адаптации к возникшей трудности.

В этом аспекте представляет интерес изучение взаимосвязи интенсивности процесса липидной пероксидации и состояния антирадикальной защиты клетки при иммобилизационном стрессе (ИМО).

Материал и методика

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

семи. Опыты проводились в трех сериях: I—контрольная; II—животные с иммобилизацией, III—животные, которые ежедневно перед ИМО получали α -токоферол внутривбрюшинно в дозе 0,1 мг на 100г массы. Содержание липидных перекисей в гомогенатах печени и мозга определяли 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 [14]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по ингибированию генерации супероксидных анионов в модели феназинметасульфат-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, подавляет ее генерацию на 50% [16].

Содержание витамина Е в тканях определяли флуориметрически по методу Duggan с максимумом возбуждения при 295 нм и максимумом флуоресценции при 340 нм на спектрофлуориметре «Hitachi» марки MPF—2A [15].

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что при ИМО в мозге и печени крыс увеличивается содержание липидных перекисей (рис. 1 и 2). Изменения носят фазовый характер, вид ткани откладывает на них некоторый отпечаток специфичности. С увеличением числа ИМО в мозге происходит постепенное потенцирование роста количества липоперекисей с максимумом на 5-й фиксации и выравнивание с контрольным уровнем к 7-й фиксации (рис. 1). В тех же условиях в печени содержание липидных перекисей изменяется волнообразно от одной фиксации к другой, приближаясь также к исходному уровню при 7-кратной ИМО (рис. 2).

В предыдущих исследованиях нами было установлено, что при ИМО наряду с интенсификацией перекисного окисления липидов происходит активирование ферментативной системы глутатионпероксидаза—глутатионредуктаза, детоксицирующей липоперекиси [10]. Высокий уровень перекисей липидов указывает на несбалансированность процессов образования и устранения липоперекисей при ИМО.

Изучение содержания α -токоферола в тканях при ИМО выявило интересную сезонную обусловленность в его сдвигах. Так, в серии опытов, проведенных в осенний период, нами был установлен рост уровня α -токоферола в крови, печени, мозге и сердце во все сроки ИМО [9].

Настоящая работа проводилась в весенний период и, как видно из рис. 3, при ИМО количество витамина Е в крови снижается значительно ниже контрольного уровня за исключением 3-разовой фиксации,

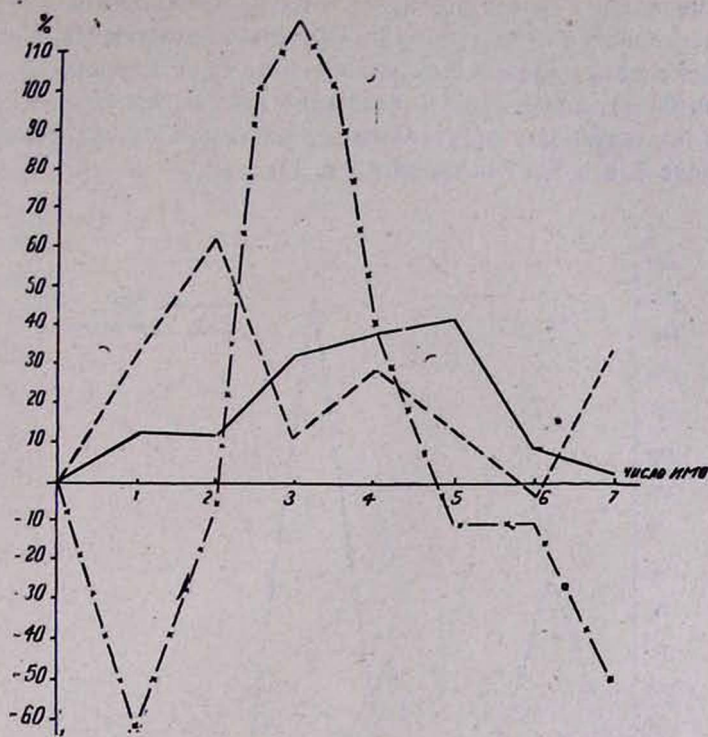


Рис. 1. Динамика сдвигов в содержании липидных перекисей, витамина Е и активности СОД в мозге белых крыс при ИМО (в % по отношению к контролю)

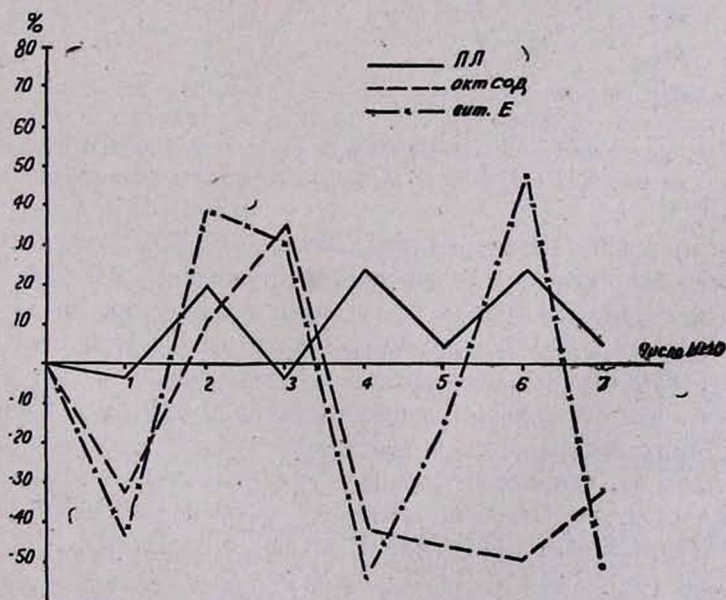


Рис. 2. Динамика сдвигов в содержании липидных перекисей, витамина Е и активности СОД в печени белых крыс при ИМО (в % по отношению к контролю)

когда отмечается прирост его на 80%. Это, по-видимому, объясняется обеднением запасов α -токоферола в тканевых депо в весенний период. В мозге также резко падает содержание витамина Е после первой фиксации (на 60%), после 3 и 4-й фиксаций отмечается резкое повышение уровня с последующим значительным снижением по сравнению с контролем после 5, 6 и 7-й фиксаций (рис. 1).

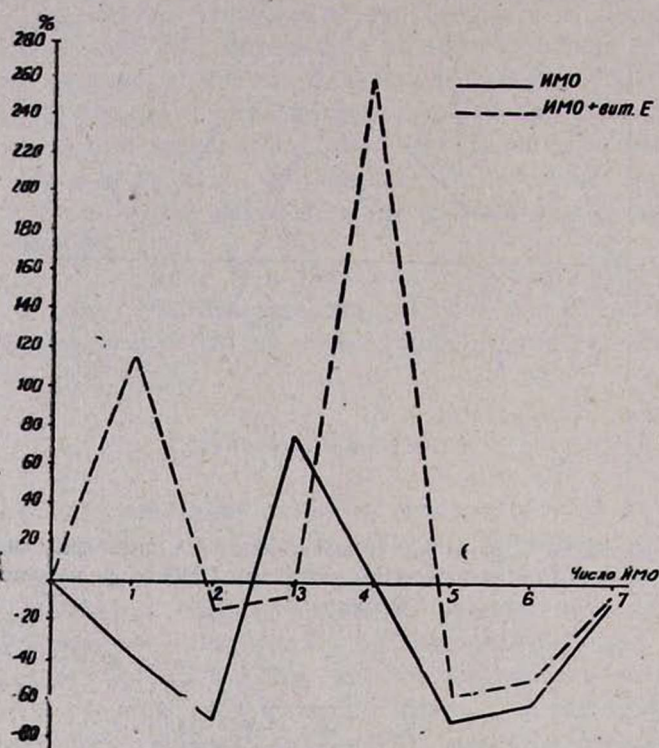


Рис. 3. Содержание витамина Е в крови белых крыс при ИМО и на фоне введения витамина Е (в % по отношению к контролю)

Сдвиги в количестве α -токоферола при ИМО в печени также носят волнообразно-фазовый характер: после 2, 3 и 6-й фиксаций отмечается его повышение по сравнению с контролем на 35—50%, в остальные сроки ИМО—снижение примерно на 25—55% (рис. 2).

Многочисленные экспериментальные исследования [4, 8] свидетельствуют, что антиокислительные свойства токоферола в биологических системах проявляются в целом ряде весьма сложных эффектов на всех уровнях, начиная от мембран и субклеточных образований до организма в целом. Этим, по-видимому, объясняется неоднозначность количественных сдвигов витамина Е в тканях при ИМО.

Фермент СОД вносит существенный вклад в процесс регуляции интенсивности перекисного окисления липидов. СОД ингибирует липид-

ную перекисидацию на стадии активного кислорода, катализируя дисмутацию супероксидных анионов в перекись водорода и триплетный кислород. Активность СОД в мозге при ИМО в основном повышена в пределах от 10 до 60%, кроме 6-кратной иммобилизации, когда она снижается на 5% ниже контрольного уровня (рис. 1). Здесь, по всей вероятности, выступает зависимость активности СОД как адаптивного

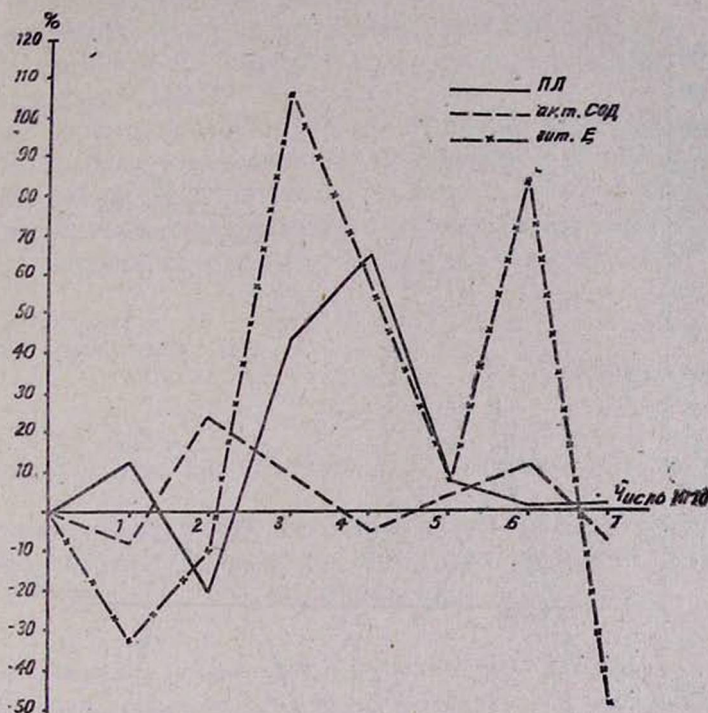


Рис. 4. Динамика сдвигов в содержании липидных перекисей, витамина Е и активности СОД в мозге белых крыс при ИМО на фоне введения витамина Е (в % по отношению к контролю).

фермента от исходного уровня субстрата реакции [7]. При стрессе усиливается биосинтез и распад катехоламинов и кортикостероидов, указанные же ферментативные реакции включают стадию образования супероксидного аниона. Однако в печени при ИМО выявляются иные закономерности изменения активности СОД. Она в основном значительно подавлена, за исключением 3- и 6-кратной фиксации, что может быть объяснено непосредственным ингибирующим действием липидных перекисей.

В опытах *in vitro* показано, что липидные перекиси ингибируют активность СОД путем изменения ее конформации [13]. Четкой корреляционной зависимости между уровнем липидных перекисей, активностью СОД и содержанием витамина Е обнаружить не удалось. В зави-

симости от срока ИМО установленные сдвиги происходят симбатно или антибатно.

Внутрибрюшинное введение α -токоферола на фоне ИМО вызывает в основном повышение его количества в тканях (рис. 3, 4, 5). Изменения носят волнообразный характер: резкие взлеты уровня витамина Е сменяются падением ниже контроля. Кривая содержания липидных пе-

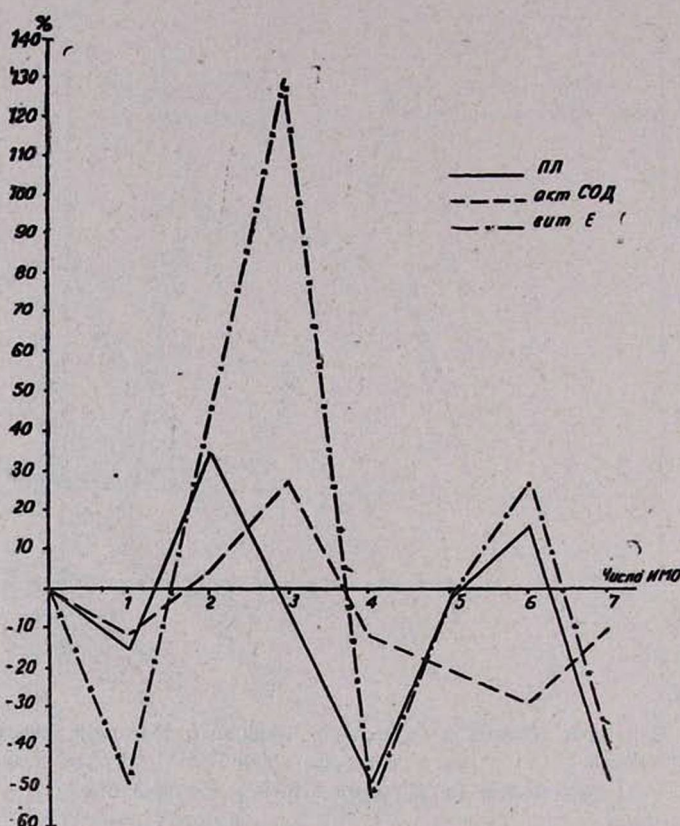


Рис. 5. Динамика сдвигов в содержании липидных перекисей, витамина Е и активности СОД в печени белых крыс при ИМО на фоне введения витамина Е (в % по отношению к контролю)

рекисей при этом меняет свой размах и направленность: уровень липоперекисей значительно снижается по сравнению с ИМО без предварительного введения витамина Е (рис. 4 и 5).

Количественные сдвиги α -токоферола и липидных перекисей в тканях происходят симбатно.

По данным Е. Б. Бурлаковой, влияние витамина Е на интенсивность перекисного окисления липидов зависит от его дозы — ему свойственен как антиоксидантный, так и прооксидантный эффект [5]. При-

чем введение α -токоферола повышает в тканевых липидах содержание других природных антиоксидантов.

Активность СОД в мозге и печени при данной дозе витамина Е не подходит к контрольному уровню: в мозге после 2, 3, 5 и 6-й ИМО она остается незначительно выше контроля—примерно на 10—20% (рис. 4). В печени СОД в основном ингибирована, за исключением 3-кратной иммобилизации (рис. 5).

В дальнейших исследованиях нам предстоит подобрать необходимую дозу витамина Е, выравнивающую сдвиги в перекисном окислении липидов при ИМО.

Таким образом, высокий уровень липидных перекисей при стрессе обусловлен дисбалансом в системе образования и устранения их. Биологические последствия интенсивного перекисного окисления липидов могут быть весьма значительными, поэтому антиоксидантная терапия открывает широкие горизонты патогенетического лечения.

Кафедра биохимии
Ереванского медицинского
института

Поступила 26/III 1981 г.

Է. Մ. ՄԻԿԱԵԼՅԱՆ, Մ. Մ. ՄԵԼԿՈՆՅԱՆ, Բ. Ա. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԽԻՏՐՅԱՆ

ՍՈՒՊԵՐՕՔՍԻԴԱՏԻՎԱՄՈՒՏԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ, ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՆԵՐԻ
ԵՎ Ե ՎԻՏԱՄԻՆԻ ՓՈՆԱՆԱԲԱԶ ԿԱՊԸ ԻՄՈԲԻԼԻԶԱՑԻՈՆ ՍՏՐԵՍԻ
ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ցույց է տրված, որ իմոբիլիզացիոն ստրեսի հետևանքով լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսի ուժեղացումը ուղեկցվում է սուպերօքսիդդիսմուտազ ֆերմենտի ակտիվության բարձրացմամբ: Բացահայտված են ստրեսի պայմաններում Ե-վիտամինի քանակական տեղաշարժերը՝ կապված տարվա հղանակի հետ: Աշնանը α -տոկոֆերոլի քանակը ստրեսի պայմաններում բարձրանում է արյան մեջ, ուղեղում և լյարդում, իսկ գարնանը՝ միայն արյան մեջ: Ուղեղում և լյարդում տեղի ունեցող տեղաշարժերը կրում են ֆազային բնույթ:

α -տոկոֆերոլի նախնական ներարկման ժամանակ ստրեսից առաջացող վերը նշված տեղաշարժերը գրեթե տեղի չեն ունենում:

E. M. MIKHAELIAN, M. M. MELKONIAN, K. A. ALEXANIAN, V. G. MKHITARIAN

THE INTERRELATIONS BETWEEN LIPID PEROXIDATION, VITAMIN E LEVEL AND SUPEROXIDISMUTASE ACTIVITY IN IMMOBILIZATION STRESS

In immobilization stress (IMO) the increase in the tissue lipid peroxidismutase activity was observed.

It was established that there is the vitamin E changes dependence on the season in IMO. At the autumn periods the content of α -tocopherol increases in the blood, liver and brain. In spring the level of α -tocopherol is decreased in the blood, when the phase changes are observed in the brain and liver.

The initial injection of α -tocopherol before IMO significantly brought to the equation of these changes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанов М. И., Мелик-Агаева Е. А., Мхитарян В. Г. Биол. ж. Армении, 1973, 4, стр. 26.
2. Аристархова С. А., Бурлакова Е. Б., Храпова Н. Г. Липиды в организме животных и человека, в. 20. М., 1974.
3. Брехман И. И., Голотин В. Г., Добрякова А. И., Гопенко В. А. Лекарственные средства Дальнего Востока, в. 3, т. I. Владивосток, 1972.
4. Бурлакова Е. Б., Алесенко А. В., Молочкина Е. М. и др. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М., 1975.
5. Бурлакова Е. Б. В кн.: Липиды, структура, биосинтез, превращения и функции. М., 1977, стр. 16.
6. Бурлакова Е. Б. Тезисы докладов IV Всесоюз. биохимич. съезда. Л., 1979, стр. 89.
7. Гусев В. А., Брусов О. С., Панченко Л. Ф. Вопросы мед. химии, 1980, 3, стр. 291.
8. Иванов И. И., Мерзляк М. Н., Тарусов Б. Н. Биоантиоксиданты. Труды Московского об-ва испытателей природы. М., 1975, стр. 30.
9. Микаелян Э. М., Мелконян М. М., Араратян Э. А., Мхитарян В. Г. Биол. ж. Армении, 1978, 31, 5, стр. 543.
10. Микаелян Э. М., Мелконян М. М., Мелик-Агаева Е. А., Мхитарян В. Г. Ж. exper. и клин. мед. АН Армянской ССР, 1979, 5, стр. 11.
11. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаева Е. А. Биол. ж. Армении, 1974, 27, 6, стр. 3.
12. Мхитарян В. Г., Араратян Э. А., Микаелян Э. М., Мелконян М. М. Ж. exper. и клин. мед. АН Армянской ССР, 1977, 5, стр. 13.
13. Симонян М. А., Мхитарян В. Г., Налбандян Р. М. III Всесоюзный симпозиум «Структура, биосинтез и превращение липидов в организме животных и человека». Л., 1978, стр. 75.
14. Blery I. G., Anderson A. Arch. Biochem. Biophys. 1960, 30, 105.
15. Duggan D. E. Arch. Biochem. Biophys., 1959, 84, 116.
16. Morimitsu Nishihimi N., Appaji Rao., Imento Jagl. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 46, 3, 849.