

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЦЕССА ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ, СОДЕРЖАНИЯ ТИОЛОВЫХ ГРУПП И МЕМБРАННОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ 3,4-ДИХЛОРБУТЕНА-1

Изучено влияние 3,4-дихлорбутена-1 на процесс перекисного окисления липидов, уровень содержания сульфгидрильных групп и функциональное состояние биологических мембран.

Установлено, что под токсическим воздействием 3,4-дихлорбутена-1 повышается интенсивность перекисного окисления липидов, снижается уровень восстановленных тиолов и проявляется мембранотоксический эффект.

В настоящее время вопросам изучения свободнорадикального перекисления липидов придается важное значение, поскольку усиление процессов липпероксидации и накопление липидных перекисей влекут за собой нарушение ряда жизненно важных биохимических процессов и функционирования мембранных структур клеток и субклеточных образований, что, в свою очередь, приводит к развитию той или иной патологии [1, 2, 5, 6, 12, 13]. Важной при этом является зависимость интенсивности процесса перекисного окисления липидов от активности антиокислительной системы, регулирующей уровень образования липидных перекисей и предотвращающей их токсическое воздействие.

В связи с этим нами в условиях эксперимента изучено влияние 3,4-дихлорбутена-1, одного из основных вредных факторов производства синтетического хлоропренового каучука, на процесс перекисного окисления липидов, содержание сульфгидрильных групп, обладающих антиокислительной активностью, и на функциональное состояние биологических мембран.

Материал и методика

Эксперимент проводился на 20 белых крысах-самцах с исходной массой 150 г, которым ежедневно на протяжении 4 месяцев перорально вводилось 200 мг/кг масляного раствора 3,4-дихлорбутена-1. Контрольную группу составили 10 интактных крыс.

По истечении срока затравки животных обезглавливали и для исследования забирали кровь, печень и мозг. Для характеристики процесса перекисного окисления липидов была определена скорость липопероксидации в печени и мозге методом Sharma a. Krishna [11], а в эритроцитах—методом Stocks a. Dormandy [13]. Параллельно были проведены динамические исследования по предложенному Е. А. Нейфахом [3] методу с прослеживанием в инкубационной среде в определенные интервалы времени процесса накопления малонового диальдегида (МДА).

Уровень содержания сульфгидрильных групп был определен по методу Sedlak a. Lindsay [10] с помощью 5,5-дитиобис-2-нитробензойной кислоты. Количество сульфгидрильных групп рассчитывалось по коэффициенту молярной экстинкции, равному 13100.

Показателями функционального состояния клеточных мембран служили перекисная резистентность эритроцитов, изученная методом Stocks а. Dorgandy [13] с последующим определением гемоглобина цианметгемоглобиновым методом, и гистидазная и урокиназная активность сыворотки крови, определенная методом Tabor а. Mehler [14] в модификации С. Р. Мардашева и В. А. Буробина [4]. Инкубация проводилась при 37°C для печени в течение 1,5 часа, а для сыворотки крови, ввиду низкой ферментативной активности, 18 часов.

Результаты и обсуждение

Согласно представленным в табл. 1 данным, скорость образования липидных перекисей в печени, мозге и эритроцитах крыс, подвергшихся хронической затравке 3,4-дихлорбутеном-1, по сравнению с контрольными животными, достоверно повысилась. При этом наибольшее повышение скорости липопероксидации отмечалось в печени—на 33%. В оболочках эритроцитов скорость липопероксидации была наименьшей и превышала контрольный уровень на 10,5%.

Таблица 1

Изменение скорости липопероксидации в тканях белых крыс при хронической интоксикации 3,4-дихлорбутеном-1

Органы и ткани Группы	Статист. показатель	Печень	Мозг	Эритроциты
		н.моль МДА	г/час	н.моль МДА мл/час
Контроль	$M \pm m$ п	3320 ± 147 10	$1147 \pm 42,3$ 10	$340 \pm 8,9$ 10
Затравка	$M \pm m$ р п	4416 ± 179 0,001 10	$1404 \pm 58,9$ 0,01 10	$376 \pm 8,9$ 0,01 10

Однако для характеристики антиокислительной активности тканей, помимо установления факта повышения скорости образования липидных перекисей, важное значение имеет также изучение динамики скорости образования липидных перекисей и длительности периода индукции. Динамические исследования показали, что кривые нарастания содержания МДА в печени интактных и подвергшихся затравке крыс в целом однотипны, хотя у последних кривая находится на более высоком уровне. Помимо этого, токсическое воздействие 3,4-дихлорбутена-1 приводит к значительному повышению пика скорости липопероксидации и укорочению периода индукции (рис.).

Аналогичная картина наблюдалась и в мозге, хотя в целом, по сравнению с печенью, изменения были менее выраженными.

Наблюдаемое под токсическим воздействием дихлорбутена повышение скорости липидной пероксидации от 10% (эритроциты) до 33% (печень), а также сдвиг в динамике скорости перекисного окисления указывает на ослабление ингибирующей активности антиоксидантной системы, ответственной за регуляцию уровня липидной пероксидации.

Исследования, проведенные по изучению содержания сульфгидрильных групп, одного из важнейших компонентов антиоксидантной системы, показали, что длительное токсическое воздействие 3,4-дихлорбутена-1 приводит к резкому (в среднем на 20%) снижению их содержания в изученных тканях (табл. 2). Наиболее выраженным было

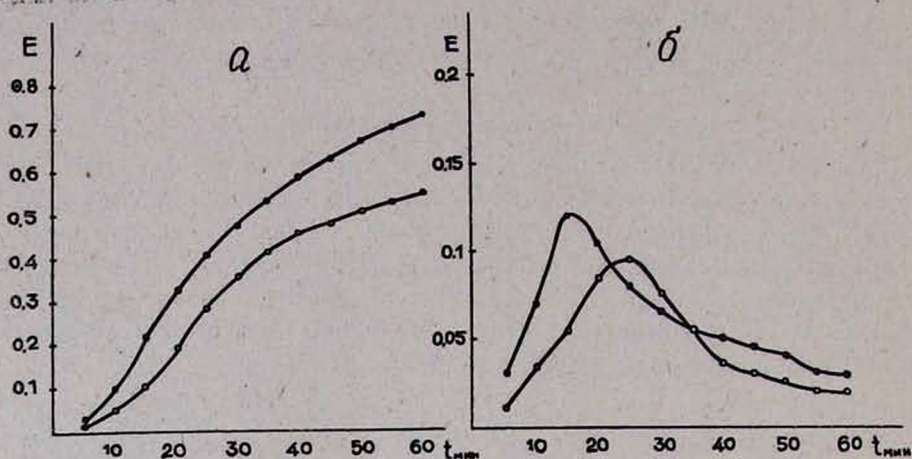


Рис. 1. Динамика накопления МДА (а) и скорости липопероксидации (б) в печени крыс при токсическом воздействии 3,4-дихлорбутена-1 (○—○—контроль; ●—●—затравка).

снижение уровня тиоловых групп в сыворотке крови, составившее 24%, затем в мозге—20,7 и печени—19,4%, и наименьшим в эритроцитах—17,7%. Характерно, что наблюдаемое снижение содержания тиоловых групп происходило как за счет общих, так и свободных восстановленных тиолов, а они, как известно, играют важную роль в детоксикации гидроперекисей и тем самым в регуляции процессов липопероксидации. Не исключено, что в результате повышения интенсивности процесса липопероксидации под токсическим воздействием 3,4-дихлорбутена-1 увеличивается расход восстановленных тиолов, что при недостаточной компенсации приводит к ослаблению одного из важных звеньев антиоксидантной системы.

Как и следовало ожидать, повышение интенсивности процесса перекисного окисления липидов, сопровождающееся снижением содержания сульфгидрильных групп, повлекло за собой нарушение устойчивости мембранных структур, что проявилось как в снижении перекисной резистентности эритроцитов, так и появлении в сыворотке крови органоспецифических ферментов печени—гистидазы и урокинаказы.

Как видно из данных табл. 3, у интактных животных гемолиз эритроцитов, инкубированных в специальных условиях с перекисью водорода, составляет 3,8%, что соответствует литературным данным. У животных же, подвергшихся затравке 3,4-дихлорбутиеном-1, процент гемолиза повысился более чем вдвое, что свидетельствует о снижении перекисной резистентности эритроцитов.

Эти данные согласуются с результатами исследования гистидазной и урокинаказной активности сыворотки крови (табл. 3). У животных,

Таблица 2

Изменение содержания SH-групп в тканях крыс при хронической интоксикации 3,4-дихлорбутеном-1

SH-группы \ Органы и ткани	СП	Печень		Мозг		Сыворотка крови		Эритроциты	
		мкмоль/г сырой ткани		мкмоль/г сырой ткани		мкмоль/100 мл крови		мкмоль/мл эр. массы	
		контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Общие	$M \pm m$ р п	$21,2 \pm 8,9$ 11	$17,1 \pm 1,22$ $<0,02$ 10	$14,5 \pm 0,75$ 11	$11,5 \pm 0,92$ $=0,02$ 10	$27,5 \pm 1,62$ 11	$21,9 \pm 1,1$ $<0,02$ 10	$55,5 \pm 2,18$ 9	$45,7 \pm 2,42$ $<0,01$ 9
Небелковые	$M \pm m$ р п	$3,19 \pm 0,21$ 11	$2,46 \pm 0,16$ $<0,02$ 10	$2,36 \pm 0,20$ 11	$1,71 \pm 0,14$ $<0,02$ 10	$3,15 \pm 0,22$ 11	$2,37 \pm 0,25$ $<0,05$ 10	$2,3 \pm 0,13$ 9	$1,65 \pm 0,13$ $<0,01$ 9

подвергшихся затравке, гистидазная и уроканиназная активность достигла соответственно 1,05 и 0,97 усл. ед., указывая на повреждение цитоплазматической мембраны гепатоцитов с повышением их проницаемости и миграцией ферментов из печени в кровь.

Таблица 3

Изменение гистидазной и уроканиназной активности сыворотки крови и печени и перекисной резистентности эритроцитов крыс при хронической интоксикации 3,4-дихлорбутеном-1

Показатели	СП	Гистидаза		Уроканиназа		П Р Э % гемолиза
		кровь, усл. ед.	печень, мк-моль г/час	кровь, усл. ед.	печень, мк-моль г/час	
Группы						
Контроль	$M \pm m$ п	$0,68 \pm 0,48$ 13	$41,0 \pm 2,33$ 9	$0,42 \pm 0,067$ 13	$29,4 \pm 1,76$ 11	$3,84 \pm 0,53$ 10
Затравка	$M \pm m$ р п	$1,05 \pm 0,86$ <0,001 11	$29,2 \pm 1,91$ <0,001 11	$0,97 \pm 0,11$ <0,001 12	$21,4 \pm 2,55$ <0,01 10	$8,27 \pm 1,01$ <0,001 10

Характерно, что в печени (табл. 3) при этом отмечалось снижение гистидазной и уроканиназной активности на 29 и 28% соответственно. Столь значительное снижение ферментативной активности в печени, по-видимому, не может являться только следствием утечки ферментов ввиду нарушения проницаемости цитоплазматической мембраны. Представляется более вероятным допущение, что снижение активности ферментов в печени наступает вследствие ингибирующего действия на них накопившихся липидных перекисей, о чем свидетельствуют исследования В. Г. Мхитаряна и др. [7—9].

Обобщая все изложенное, можно прийти к заключению, что под токсическим воздействием 3,4-дихлорбутена-1 повышается интенсивность свободнорадикального перекисления липидов, которая на фоне ослабления антиоксидантной системы приводит к появлению мембранотоксического эффекта.

Кафедра гигиены санитарно-гигиенического
факультета ЕРМФ

Поступила 25/XII 1983 г.

А. А. РАЧУЦАН, О. А. АНТОНОВ, Л. А. ЗОЛТАНОВ

ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՑՄԱՆ, SH ԽՄԲԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ԵՎ
ԲԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԹԱԼԱՆԹՆԵՐԻ ԹԱՓԱՆՑԵԼԻՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
3,4-ԴԻԽԼՈՐԲՈՒԹԵՆ-1-Ի ԱԶԻՅՈՒԹՅԱՆ ՏԱԿ

Ցույց է տրված, որ 3,4-դիքլորբութեն-1-ի տոքսիկ ազդեցության տակ օրգաններում և հյուսվածքներում (լյարդ, ուղեղ, արյուն) մեծանում է լիպիդների գերօքսիդացման արագությունը, որն ուղեկցվում է թիուլային խմբերի պարունակության իջեցմամբ և բիոլոգիական թաղանթների անտահալամամբ: Վերջինս արտահայտվում էր էրիթրոցիտների գերօքսիդային կայունության իջեց-

մամբ, ինչպես նաև արյան շիճուկում լյարդի օրգոնոսպեցիֆիկ ֆերմենտների՝ հիստիդազայի և ուրոկանինազայի երևան գալով:

Ստացված արդյունքները հիմք են տալիս եղրակացնելու, որ 3,4-դիքլորբուտեն-1-ի տոքսիկ ազդեցության տակ մեծանում է լիպիդների ազատ ռադիկալային գերօքսիդացումը, որն հակաօքսիդանտային համակարգի թուլացման ֆոնի վրա բերում է բիոլոգիական թաղանթների ախտահարմանը:

P. A. BAKALIAN, O. A. ANTONIAN, L. G. HOVANESSIAN

CHANGES OF THE LIPID PEROXIDATION PROCESS, CONTENT OF THE THIOL GROUPS AND MEMBRANE PERMEABILITY IN TOXIC EFFECT OF 3,4-DICHLORBUTENE-1

In conditions of the chronic experiment on rats it is established that the toxic effect of 3,4-dichlorbutene-1 causes the increase of the intensity of the lipid peroxidation process, decrease of the content of reduced thiols and the appearance of the membrane-toxic effect.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
2. Владимиров Ю. А., Оленев В. И., Суслова Т. Б., Потапенко А. Я. В кн.: Итоги науки и техники (серия биофизики), т. 5. М., 1975, стр. 56.
3. Нейфак Е. А. Вopr. мед. химии, 1969, 15, 5, стр. 451.
4. Мардашев С. Р., Буробин В. А. Вopr. мед. химии, 1962, 8, 3, стр. 320.
5. Мерзляк М. Н., Соболев А. С. В кн.: Итоги науки и техники (серия биофизики), т. 5. М., 1975, стр. 118.
6. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаян Е. А. В кн.: III Всесоюзный биохимический съезд. Рига, 1974, стр. 242.
7. Мхитарян В. Г., Межлумян Л. М. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1973, 13, 4, стр. 3.
8. Мхитарян В. Г., Межлумян Л. М. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1974, 14, 6, стр. 36.
9. Мхитарян В. Г., Межлумян Л. М. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1976, 16, 4, стр. 3.
10. Sedlak J., Lindsay R. H. Analyt. Biochem., 1968, 25, 192
11. Sharma L. R., Krishna M. C. R. Indian J. of exp. Biol. 1963, 1, 5.
12. Shater J. F. Biochem. J. 1968, 106, 155
13. Stocks J. A., Dormandy J. L. Brit. J. Haemat., 1971, 20, 1, 95
14. Jabor H., Mehler A. H. Methods in Enzymology, New York, 1955, 2, 228

УДК 612.172:615.785.3

Э. С. СЕКОЯН, Р. Г. БОРОЯН, О. П. СОЦКИИ

ВЛИЯНИЕ ГАНГЛИОЗИДОВ НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ЭМБРИОНАЛЬНОГО МИОКАРДА

Исследованиями, проведенными с использованием культуры эмбрионального миокарда, показано, что ганглиозиды, выделенные из головного мозга людей, погибших от несчастных случаев, оказывают выраженное отрицательное инотропное и хронотроп-