

ՀԱԿԱՄԱՐՄԻՆՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԻ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԸ ՄԹՆՈՒՈՐՏԱՅԻՆ ԲԱՐՁՐ ՃՆՇՄԱՆ ՊԱՏՄԱՆՆԵՐՈՒՄ 1. ՀԱԿԱՄԱՐՄԻՆ ՍԻՆԹԵԶՈՂ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԳՈՅԱՑՈՒՄԸ

Ուսումնասիրվել է հակամարմին սինթեզող բջիջների (ՀՍԲ) գոյացման պրոցեսը առնետների փայծաղում կարճատև գերճնշման ազդեցությանից հետո: Հայտնաբերվել է, որ ՀՍԲ գոյացման պրոցեսը ընկճվում է մեկ և երկու ժամյա էքսպոզիցիայից հետո: էքսպոզիցիայի ժամանակի և ՀՍԲ քանակի միջև բացահայտվել է բացասական կոռելյացիոն կապ:

S. A. KHACHATRIAN, KH. S. SAYADIAN, A. A. GHAZARIAN, M. I. GEVORKIAN THE PROCESS OF ANTIBODY GENESIS UNDER THE HYPERBARY I. ACCUMULATION OF ANTIBODY FORMING CELLS.

There is observed the process of accumulation of the antibody-forming cells (ABFC) in rat's spleen under the high pressure (6KGC/C²). It was shown, that the hyperbaria influences during the short time.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Иванов А. И., Чухловин Б. А. Лабор. дело, 1967, 10, с. 610.
2. Огородникова Л. Г., Шубин В. И. В кн.: Организм в условиях длительной гипербарии. Л., 1977, с. 72.
3. Danzinger K. E., Sallee T. Z., Uddin D. E. Aerospace Med., 1971, 42, 12, 1335.
4. Ierne N. K., Nordin A. A. Science, 1963, 140, 405.
5. Ross H. C., Von W. D. Aerospace Med., 1973, 44, 9, 1009.
6. Uddin D. E., Sallee T. L., Danziger R. E. et al. Aerospace Med., 1971, 42, 756.

УДК 616.36 : 576.31:1.347+616.447—072.7

А. С. ТЕР-МАРКОСЯН, Д. Н. ХУДАВЕРДЯН

АКТИВАЦИЯ ФОСФОЛИПАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОФУНКЦИИ ОКОЛОЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ

Исследовано содержание свободных жирных кислот (СЖК) в митохондриях печени крыс после электрокоагуляции околощитовидных желез. Выявлено повышение их содержания в органеллах в ранние сроки после операции. При инкубации митохондрий в среде, содержащей ионы Са, накопление СЖК в митохондриях паратиреопривных крыс превышало контрольный уровень. Полученные результаты указывают на активацию фосфолипазы митохондрий при гипопаратиреозе.

Одной из причин нарушения проницаемости как клеточных, так и субклеточных мембран является активация локализованных в них фосфолипаз. Повышение проницаемости мембран таких субклеточных структур, как митохондрии, обычно сопровождается серьезными сдвигами в их энергонакопительной функции [4, 5].

Ранее нами было показано, что при недостаточности функции околощитовидных желез, сопровождающейся нарушением кальциевого гомеостаза, происходят значительные изменения в дыхательной и фосфорилирующей функциях митохондрий крыс [2] и накопление в них ионов Са [6].

В настоящей работе поставлена цель выяснить, имеет ли место активация фосфолипазы митохондрий печени крыс при гипофункции околощитовидных желез.

Материал и методы

Опыты проводились на белых беспородных крысах-самцах массой 150—180 г. Гипопаратиреоз вызывался электрокоагуляцией околощитовидных желез. Критерием развития гипопаратиреоза являлось понижение содержания Са в сыворотке крови, определяемого спектрофотометрически. Животных декапитировали через 5, 12 и 30 суток после операции. Контролем служили ложнопериоперированные крысы.

Митохондрии изолировали из печени методом дифференциального центрифугирования [1]. Об активности фосфолипазы судили по концентрации свободных жирных кислот (СЖК), определяемой как сразу после выделения митохондрий, так и после инкубации в течение 30 мин при температуре 37°C в трех идентичных по составу (120 мМ КСl, 1 мМ $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_4$, 5 мМ сукцината, 5 мМ трис-НСl, рН 7,4) средах, лишь с той разницей, что во вторую среду добавляли 100 мкМ CaCl_2 , а в третью — 1 мМ ЭДТА. СЖК экстрагировали из митохондриальной суспензии, содержащей 20—30 мг белка, смесью хлороформ—гептан—метанол (125 : 125 : 6). Количество СЖК измеряли спектрофотометрически [3]. Отбирали 1,8 мл экстракта, добавляли 0,5 мл 1,5-дифенилкарбазида (100 мг 1,5-дифенилкарбазида в 25 мл этанола). Интенсивность образующейся окраски определяли через 15 мин при длине волны 550 нм. Для построения калибровочной кривой использовали палмитиновую кислоту. Количество СЖК выражали в нмолях на 1 мг белка. Количество белка определяли по Itzhaki [7].

Результаты и обсуждение

Результаты исследования, обобщенные в таблице, показали, что количество СЖК в митохондриях паратиреопривных животных повышено на 12-й день после удаления околощитовидных желез, тенденция к увеличению концентрации СЖК сохраняется и на 30-е сутки исследования. Значительное понижение уровня Са в сыворотке крови на 5-й и 12-й дни свидетельствует о развитии гипофункции околощитовидных желез. К 30-му дню после операции концентрация Са в сыворотке крови несколько повышается, однако не достигает нормы. Увеличение концентрации СЖК в митохондриях, по-видимому, связано с активацией фосфолипазы. Это предположение подтверждается результатами исследования количества СЖК в митохондриях печени контрольных и паратиреопривных животных после их 30-минутной инкубации при 37°C в среде, содержащей ионы Са, которые, как известно, являются акти-

ваторами фосфолипазы A_2 , локализованной в митохондриальных мембранах. Как следует из таблицы, при инкубации митохондрий в таких условиях наблюдается нарастание количества СЖК в органеллах как контрольных, так и паратиреопривных крыс, более значительное в последнем случае, что указывает на изменение физического состояния липидов мембран митохондрий при гипопаратиреозе. Если сопоставить содержание СЖК в митохондриях до и после инкубации, то можно заметить, что максимальные сдвиги в концентрации СЖК происходят на 5-й день после операции, хотя к этому сроку наблюдения исходной разницы в количестве СЖК митохондрий между опытом и контролем не имеется.

Таблица
Содержание СЖК в митохондриях печени и Са в сыворотке крови крыс в различные сроки после удаления околощитовидных желез

Параметры	Условия опыта	Контроль (n=11)	Время после операции, дни		
			5 (n=8)	12 (n=10)	30 (n=10)
СЖК, μ моль на 1 мг белка	без инкубации	$2,43 \pm 0,07$	$2,22 \pm 0,29$ $t=0,60$	$3,00 \pm 0,16$ $t=3,32$	$2,78 \pm 0,26$ $t=1,30$
	инкубация с Ca^{2+}	$3,70 \pm 0,28$ $t_1=4,41$	$4,68 \pm 0,18$ $t=2,90$ $t_1=6,90$	$4,41 \pm 0,17$ $t=2,20$ $t_1=6,11$	$3,71 \pm 0,43$ $t=0,02$ $t_1=1,70$
	инкубация	$3,09 \pm 0,17$ $t_1=3,67$	$3,93 \pm 0,13$ $t=4,00$ $t_1=5,25$	$3,63 \pm 0,17$ $t=2,25$ $t_1=2,74$	$3,36 \pm 0,17$ $t=1,13$ $t_1=1,87$
	инкубация с ЭДТА	$2,52 \pm 0,07$ $t_1=0,93$	$2,37 \pm 0,88$ $t_1=0,30$	$3,06 \pm 0,15$ $t_1=0,27$	$2,74 \pm 0,27$ $t_1=0,11$
	Са, μ М	$2,11 \pm 0,07$	$1,34 \pm 0,05$ $t=8,95$	$1,71 \pm 0,08$ $t=3,77$	$1,88 \pm 0,04$ $t=2,74$

Примечание. t —при сравнении с контролем данной серии, t_1 —при сравнении инкубированных проб с неинкубированными соответствующего срока исследования.

В наших предыдущих исследованиях [6] было выявлено повышение уровня Ca^{++} в митохондриях печени крыс с гипопаратиреозом с максимумом изменения его на 5-й день после операции. По данным литературы [9, 11], активатором митохондриальной фосфолипазы является внемитохондриальный Са, поскольку этот фермент локализован на внешней стороне внутренней митохондриальной мембраны и на внешней мембране, и поэтому в период накопления Са в органеллах активации фосфолипазы не происходит. Через 12 дней после операции уровень Са в митохондриях несколько понижается, что связано, по-видимому, с выходом Ca^{++} из митохондрий в цитоплазму. Это может привести к повышению концентрации ионов в цитозоле и явиться причиной наблюдаемой нами активации фосфолипазы.

При инкубации митохондрий с Ca^{++} , вероятно, происходит постепенный выход ранее накопленного кальция и нарастание активности фосфолипазы A_2 . Уровень кальция в митохондриях и степень увеличения количества СЖК при инкубации вполне коррелируют. В пользу этого свидетельствуют данные о неодинаковом содержании СЖК в митохондриях при инкубации с ЭДТА и в его отсутствие. В последнем случае наблюдается нарастание количества СЖК, но в меньшей мере, чем при

инкубации с ионами Са. Присутствие ЭДТА явно препятствует активации фосфолипазы, что объясняется его связыванием с ионами Са, вымывающимися из митохондрий в инкубационную среду.

Таким образом, при гипофункции околощитовидных желез у крыс наблюдается активация фосфолипазы митохондрий печени, о чем свидетельствует как наличие исходной разницы в количестве СЖК в митохондриях между опытом и контролем, так и данные о неравномерном нарастании содержания продуктов гидролиза липидов мембран при инкубации.

ЦНИЛ Ереванского
медицинского института

Поступила 8/1 1985 г.

Ա. Ս. ՏԵՐ-ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ, Դ. Ն. ԽՈՒԴԱՎԵՐԴԻԱՆ

ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ՄԻՏՈՔՈՆԴՐԻՈՒՄՆԵՐՈՒՄ ՖՈՍՖՈԼԻՊԱԶԻ
ԱԿՏԻՎԱՑՈՒՄԸ ՀԱՐՎԱՀԱՆԱԶԵՎ ԴԵՂՁԵՐԻ ԹԵՐՅՈՒՆԿՑԻԱՅԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Առնետների լյարդի միտոքոնդրիումներում ուսումնասիրված է ազատ ճարպաթթուների պարունակությունը հարվահանաձև դեղձերի մասնակի հեռացումից հետո: Ցույց է տրված նրանց քանակի ավելացում վիրահատման վաղ շրջաններում: Միտոքոնդրիումները Ca^{2+} -ի միջավայրում ինկուբացիայի ենթարկելիս նկատվում է ազատ ճարպաթթուների կուտակում ինչպես ստուգիչ, այնպես էլ հարվահանազերծված կենդանիների միտոքոնդրիումներում, սակայն երկրորդ դեպքում՝ ավելի զգալի չափով: Ստացված արդյունքները վկայում են միտոքոնդրիումներում ֆոսֆոլիպազի ակտիվացման մասին թերհարվահանազերծության ժամանակ:

A. S. TER-MARKOSSIAN, D. N. KHUVERDIAN

ACTIVATION OF PHOSPHOLIPASE IN LIVER MITOCHONDRIA IN
RATS IN HYPOFUNCTION OF PARATHYROID GLANDS

The content of free fatty acids (FFA) in the liver mitochondria in rats was studied after parathyroid glands' removal. It was shown the increase of the content of FFA in the early terms of parathyroidectomy. The incubation of mitochondria with Ca^{2+} resulted in enhance of the amount of FFA in mitochondria of the control and parathyroidectomized rats, but more considerably in the second case.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мосолова И. М., Горская И. А., Шольц К. Ф., Котельникова А. В. Методы современной биохимии. М., 1975, с. 45.
2. Овсепян Р. С., Тер-Маркосян А. С., Худавердян Д. Н. Пробл. эндокринол., 1981, 27, 5, с. 75.
3. Прохоров М. Ю., Тиунов М. П., Шакалис Д. А. Лабор. дело, 1977, 9, с. 536.
4. Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах. М., 1972.
5. Сороковой В. И., Владимиров Ю. А. В сб.: Биофизика, т. 5. М., 1975, с. 12.
6. Худавердян Д. Н., Арцруни Г. Г., Тер-Маркосян А. С., Овсепян Р. С. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1984, 97, 3, с. 301.

7. Itzhaki R., Gill D. *Analit. Biochem.*, 1964, 9, 4, 401.
8. Lindmark D. C., Muller M. J. *Biol. Chem.*, 1974, 249, 4634.
9. Nachbaur J., Colbeau A., Vignais P. *Biochem. et Biophys. Acta*, 1972, 274, 2, 426.
10. Waite M. *Biochem.*, 1969, 8, 6, 2536.
11. Waite M., Van Deenen L. L., Ruigrok T. J., Elbers P. E. J. *Lipid Res.*, 1969, 10, 4, 559.

УДК 616.831—089.87] : 547.466.64+574.466.63

Л. Н. ЕРИЦЯН, Р. С. БАБЛОЯН

СОДЕРЖАНИЕ ГАМК, ГЛУТАМИНОВОЙ И АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Установлено, что при недостаточности функции околощитовидных желез в головном мозге крыс содержание ГАМК, глутаминовой и аспарагиновой кислот понижается, меняется соотношение их связанной и свободной форм. Обсуждается значение количественного сдвига исследованных нейроактивных аминокислот в развитии судорожного синдрома при гипопаратиреозе.

При недостаточности функции околощитовидных желез (ОЩЖ) повышается судорожная готовность организма, а в клинической симптоматике проявляются двигательные расстройства по типу паратиреоприивной тетании [5]. Выявлено существенное нарушение процессов возбуждения и проведения в афферентном, внутриопинальном и эфферентном звеньях спинальной рефлекторной дуги [6], изменение содержания моноаминов и активности моноаминоксидазы в различных отделах ЦНС при экспериментальном гипопаратиреозе [7].

Нарушения катехоламинергической системы, наряду со сдвигами в ГАМК-ергической системе и обмене других нейроактивных аминокислот в головном мозге, лежат в основе этиопатогенеза ряда патологических состояний, в частности эпилепсии, паркинсонизма, хореи Гентингтона и других заболеваний, клиника которых также сопровождается двигательными расстройствами [2, 4]. Основной фонд синапсов в ЦНС составляют аминокислоергические синапсы, в которых аминокислоты, за исключением глутаминовой (ГК) и аспарагиновой кислот (АК), проявляют свойства тормозных медиаторов [3]. ГАМК является основным тормозным медиатором в нервной системе позвоночных [10]. ГАМК и ГК, действуя на нейроны всех отделов мозга, изменяют их фоновую активность и, по мнению некоторых исследователей, являются регуляторами общей возбудимости мозга [13].

Изучение обмена нейроактивных аминокислот в отделах ЦНС паратиреоприивных животных может раскрыть их значение в патогенезе двигательных расстройств при недостаточности функции ОЩЖ.

Настоящее исследование посвящено определению содержания свободной и связанной форм ГАМК, ГК и АК в головном мозге паратиреоприивных крыс.