

С. Л. МКРТЧЯН, К. А. АЛЕКСАНЫАН, Э. А. АРАРАТЯН, В. Г. МХИТАРЯН

АДРЕНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ. I. ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ АГОНИСТОВ И АНТАГОНИСТОВ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ЛИПОПЕРЕОКИСЛЕНИЕ И АКТИВНОСТЬ НАДФН- ЦИТОХРОМ С-РЕДУКТАЗЫ В МИКРОСОМАХ ПЕЧЕНИ КРЫС

Установлено, что усиление процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) в микросомах печени крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу, сменяется его нормализацией при введении крысам на фоне стресса β -адреноблокатора—обзидана. Введение животным некоторых адренергических соединений вызывало интенсификацию ПОЛ, уменьшающуюся в ряду салбутамол>изопротеренол>адреналин>норадреналин. Аналогичный эффект имел глюкагон. Полученные результаты обсуждаются в плане выяснения конкретных адренергических систем, ответственных за запуск ПОЛ.

Вопрос о молекулярных механизмах запуска процессов свободно-радикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) как обязательного компонента стресс-реакции остается пока открытым. В связи с этим привлекают к себе внимание данные, полученные как в нашей лаборатории [1], так и другими исследователями [5], указывающими на связь между повышением уровня катехоламинов при стрессе и ПОЛ. Интересные результаты, подтверждающие эту точку зрения, получены Ф. З. Меерсоном при изучении ПОЛ в миокарде при эмоционально-болевым стрессе [7]. Однако универсальность индукции липоперекисления катехоламинами при стрессе в различных органах и системах организма остается пока недоказанной. В частности, наименее изучен этот вопрос в печени—органе с наибольшей интенсивностью ПОЛ [6, 21]. Кроме того, не выяснен пока вопрос о конкретных адренергических рецепторных системах, через которые реализуется запуск перекисного окисления липидов в клетке.

В связи с этим нами был изучен процесс ПОЛ в микросомах печени крыс как при стрессе, так и у интактных животных при действии различных α - и β -блокаторов и агонистов.

Материал и методы

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 150—200 г. Стресс вызывали иммобилизацией (ИМО) животных в течение 150 мин [16]. За 15 мин до ИМО одной группе животных вводили обзидан (ГДР) в дозе 5 мг/кг массы, другой—физиологический раствор. Адреналин (Sigma), изопротеренол (Sigma), салбутамол (LTP, Канада), адреналин (Sigma), норадреналин (Sigma), глюкагон (Sigma) вводили внутривенно интактным животным за 15 мин до декапитации в дозе 1 мг/кг массы. Контрольным животным вводили физиологический раствор.

Микросомы печени выделяли методом дифференциального центрифугирования в 0,15М KCl [4]. Перекисное окисление липидов в микро-

сомах изучали по накоплению диеновых конъюгатов ненасыщенных жирных кислот [10] и малонового диальдегида—МДА [12] (в НАДФН и аскорбат-зависимых системах)—первичных и конечных продуктов липоперекисления. Кроме того, была изучена активность микросомальной НАДФН-цитохром С-редуктазы [13]. Белок определяли по методу Lowry [20]. Данные обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Иммобилизация крыс (150-минутная), так же как и в наших предыдущих исследованиях [9], вызывала резкое усиление ПОЛ в микросомах печени, наблюдаемое по накоплению МДА и диеновых конъюгатов (таблица). Повышалась также активность НАДФН-цитохром С-редуктазы (рис.) микросомальной цепи окисления, в процессе работы

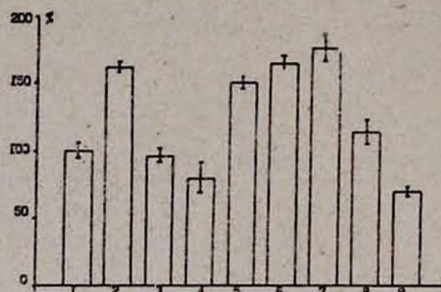


Рис. Активность НАДФН-цитохром С-редуктазы в микросомах печени крыс при иммобилизационном стрессе, действии различных агонистов и блокатора адренергических рецепторов и глюкагона. 1—контроль, 2—ИМО, 3—ИМО+обзидан, 4—обзидан, 5—изопротеренол, 6—салбутамол, 7—глюкагон, 8—адреналин, 9—норадреналин.

Таблица

Содержание продуктов ПОЛ в микросомах печени крыс при ИМО, действии обзидана на фоне стресса, а также под влиянием катехоламинов и глюкагона

Условия эксперимента	МДА (нм/мг белка)		Диеновые конъюгаты (нм/мг белка)
	НАДФН	аскорбат	
Контроль	15,97±0,23	13,99±0,21	15,51±0,28
ИМО	25,28±2,7	20,2±1,7	27,99±3,72
ИМО+обзидан	16,31±0,39	15,9±2,13	20,95±2,41
	$P_1 > 0,5, P_2 < 0,05$	$P_1 > 0,1, P_2 < 0,05$	$P_1 < 0,05, P_2 > 0,1$
Обзидан	15,20±0,93*	14,32±0,79*	20,60±0,54
Изопротеренол	21,58±1,11	23,7±1,69	27,67±2,95
Салбутамол	25,43±2,19	14,5±1,46	31,31±6,93
Адреналин	15,09±1,23*	14,05±0,4*	11,52±1,01
Норадреналин	15,0±0,1*	16,0±1,0*	15,91±0,99*
Глюкагон	29,9±2,7	22,28±2,27	19,67±2,76*

Примечание. P_1 и P_2 —коэффициент достоверности по отношению к контролю и ИМО соответственно. Количество экспериментов в каждой серии 9. *— $P > 0,1$.

которой генерируются активные формы кислорода, инициирующие свободнорадикальное ПОЛ [3, 14]. Блокада β -адренорецепторов путем предварительного введения обзидана практически полностью ингибировала ПОЛ (таблица) и активность НАДФН-цитохром С-редуктазы (рис.). Снижение ПОЛ при действии β -адреноблокаторов было также обнаружено Ф. З. Меерсоном [8] в миокарде при эмоционально-болевым стрессе. Введение обзидана интактным животным практически не изменяло уровень ПОЛ в микросомах (таблица).

Если блокада β -адренергических рецепторов уменьшает интенсивность ПОЛ на фоне стресса, то активация этих рецепторов различными катехоламинами у интактных животных ведет к усилению процесса липидной перекисидации (таблица). Наибольший эффект в этом плане оказывал салбутамол, который увеличивал НАДФН-зависимое ПОЛ накоплением МДА на 59,2%, количество конъюгированных диенов—на 101,8% и активность НАДФН-цитохром С-редуктазы—на 65%, и лишь по влиянию на аскорбат-зависимое переокисление он несколько уступает изопротеренолу (таблица). Несколько парадоксальную неэффективность адреналина, вероятно, можно объяснить большой его дозой, которая, по данным В. М. Гукасова с сотр. [2], оказывает скорее антиоксидантное действие, тогда как в наших предыдущих сообщениях 2—50 мкг/кг массы адреналина резко усиливало ПОЛ [1, 9]. Таким образом, про-оксидантное действие изученных катехоламинов убывает в ряду салбутамол > изопротеренон > адреналин > норадреналин. Известно, что первые два представителя этого ряда являются агонистами β -адренорецепторов, тогда как норадреналин—это, в основном, α -агонист, а адреналин может активировать как α -, так и β -рецепторы с превалированием в печени последнего эффекта [12]. Основываясь на классификации β -адренорецепторов Lands [18], выделяют два их подтипа— β_1 и β_2 -рецепторы, причем салбутамол является почти полным β_2 -агонистом, а изадрин связывается с обоими подтипами. Таким образом, можно сделать вывод, что активация ПОЛ катехоламинами, очевидно, опосредуется β_2 -адренергической системой, тем более, что в печени β -рецепторы представлены в основном β_2 -подтипом [19]. Имеется ряд данных, указывающих на ответственность β_2 -рецепторов за метаболические эффекты катехоламинов, в частности, цАМФ-зависимое активирование фосфорилазы в печени [17] с последующей индукцией гликогенолиза.

Активация гликогенолиза в печени может resultироваться как в условии гликолитической утилизации глюкозы, так и в интенсификации гексозомонофосфатного шунта (в печени через него может утилизироваться до 30% глюкозы) с последующим накоплением восстановленного НАДФ. Не исключено, что наблюдаемая нами активация НАДФН-цитохром С-редуктазы возможна именно в силу поступления больших количеств НАДФН₂ в микросомальную цепь окисления, где, как уже отмечалось выше, образуются О₂-радикалы, инициирующие ПОЛ. Для проверки предположения о цАМФ-зависимости инициации ПОЛ в микросомах печени нами было исследовано действие глюкагона на этот процесс. Этот гормон, как известно, также выделяется в больших количествах при стрессе, одним из основных органов-мишеней для него

является печень. Действие глюкагона также опосредуется в клетке циклическим АМФ [15]. Из представленных в таблице данных следует, что глюкагон также оказывает выраженное прооксидантное действие и активирует НАДФН-цитохром С-редуктазу (рис.), причем эти эффекты превышали в некоторых случаях влияние катехоламинов. Таким образом, предположение об участии цАМФ в запуске ПОЛ при стрессе, по нашему мнению, не лишено основания. цАМФ-зависимая инициация ПОЛ, кроме вышеописанного механизма через усиление микросомального окисления, может, вероятно, осуществляться путем активирования липолиза как экстрапеченочного, так и интрагепатоцитарного с накоплением основных субстратов ПОЛ—свободных ненасыщенных жирных кислот.

Кафедра биоорганической и биологической химии
Ереванского медицинского института

Поступила 26/XI 1985 г.

Ս. Լ. ՄԿՐՏՉՅԱՆ, Զ. Ա. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ, Է. Ա. ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԽԻՐԱՅԱՆ

ԼԻՊԻԴՍԻՆ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՅԻՆ ԱԴՐԵՆԵՐԳԻԿ ԿԱԴԳԱՎՈՐՈՒՄԸ
ԻՄՈԲԻԼԻԶԱՅԻՆ ՍՏՐԵՍԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ. 1. ԱԴՐԵՆՈՒՅԵՊՏՈՐՆԵՐԻ
ԱԳՈՆԻՍՏՆԵՐԻ ԵՎ ԱՆՏԱԳՈՆԻՍՏՆԵՐԻ ԱԶԻՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ԼԻՊԻԴՍԻՆ
ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՅՄԱՆ ԵՎ ՆԱԴՖ-Ի ՑԻՏՈՒՐՈՒՄ -C-ԲԵՆԻԿԵՍԱԶԻ
ԱԿԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ ԱՌԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ՄԻԿՐՈՍՈՄՆԵՐՈՒՄ

Ցույց է տրված, որ իմոբիլիզացիոն ստրեսի պայմաններում առնետների լյարդի միկրոսոմներում ուժեղացած լիպիդային գերօքսիդացումը β -ադրենալինով օրգանիկ ներարկումից կարգավորվում է:

Ներկայացված որոշ ադրեներգիկ միացությունները՝ սալբուտամոլ, իզոպրոտերենոլ, ադրենալինը, նորադրենալինը ուժեղացնում են լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսի ինտենսիվությունը, համանման ադրեներգիկ ցուցաբերում է նաև գլյուկոգոնը:

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս ադրեներգիկ համակարգի նշանակությունը լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսի նախաձեռնության մեջ:

S. L. MKRTCHIAN, K. A. ALEXANIAN, E. A. ARARATIAN, V. G. MKHITARIAN

THE LIPID PEROXIDATION ADRENERGIC REGULATION IN
IMMOBILIZATION STRESS. 1. IN VIVO INVESTIGATION OF THE
ADRENORECEPTORS AGONISTS AND ANTAGONISTS EFFECTS ON
THE LIPOPEROXIDATION AND NADPH-CYTOCHROME-C-
REDUCTASE ACTIVITY IN THE RAT LIVER MICROSOMES

It is found out that in immobilization stress conditions the increased lipid peroxidation (LP) in the rat's liver microsomes normalizes after the injection of β -adrenergic agent-obisidane:

The injection of the adrenergic agents, such as salbutamol, isoproterenol, epinephrine and norepinephrine increases the LP process.

The results obtained testify to the significance of the adrenergic system in the process of LP.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арапатьян Э. А. Ж. эксперим. и клин. мед. АН АрмССР 1981, XXI, 5, с. 482.
2. Гукасов В. М., Федоров В. К. Труды 2-го московского мед. ин-та, в. 1. М., 1977, с. 72.
3. Каган В. Е., Сербинова Е. А., Минин А. А. и др. Биохимия, 1985, 50, 6, с. 986.
4. Карузина И. И., Арчаков А. И. В кн.: Современные методы в биохимии. М., 1977, с. 49.
5. Каган А. Х., Кудрин А. И., Николаев С. М. В кн.: Свободно-радикальное окисление в норме и патологии. М., 1978, с. 71.
6. Ланкин В. З., Гуревич С. М., Бурлакова Е. Б. В сб.: Биоантиокислители. М., 1975, с. 73.
7. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика. М., 1981.
8. Меерсон Ф. З., Каган В. Е., Архименко Ю. В. Кардиол., 1981, 12, с. 55.
9. Мхитарян В. Г., Арапатьян Э. А., Микаелян Э. М., Мелконян М. М. Ж. эксперим. и клин. мед. АН АрмССР, 1977, XVII, 5, с. 13.
10. Стальная И. Д. В кн.: Современные методы в биохимии. М., 1977, с. 49.
11. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. В кн.: Современные методы в биохимии. М., 1977, с. 49.
12. Alquist R. P. Trends Pharmacol. Sci., 1979, 1, 16.
13. Bidlack W. R., Tappel A. L. Lipids, 1973, 8, 177.
14. Fong K. L., McCay P. B., Poyer J. L., Koile B. B., Mlsza H. B. J. Biol. Chem., 1973, 248, 7792.
15. Kaklushi Shiro. Asian Medical J., 1979, 22, 7, 426.
16. Kuetsnanski R. K., Miculai L. Endocrinology, 1970, 87, 738.
17. Lacombe M. C., Rone E., Guellaen G., Hanoune J. Nature, 262, 70-72.
18. Lands A. M., Luduena T. P., Buzzo H. J. Nature, 1967, 214, 597.
19. Lefcowitz R. J. Biochem. Pharmacol., 1975, 24, 583.
20. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
21. Oshino N., Jamieson D., Chance B. Biochem. J., 1975, 147, 53.

УДК 577. 161.3+577.6 : 616.45—001/3

М. М. МЕЛКОНЯН

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ДИНАМИКЕ СДВИГОВ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПЛАЗМЫ И ЭРИТРОЦИТОВ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ АКУСТИЧЕСКОГО СТРЕССА

В эксперименте на белых крысах-самках установлены значительные изменения в процессах перекисного окисления липидов в мембранах эритроцитов и плазме крови, сдвиги в уровне фракций холестерина и α -токоферола, а также изменения в активности ряда ферментов в условиях акустического стресса. Интенсивность и направленность сдвигов зависят от длительности воздействия шума и пола экспериментальных животных.

В предыдущих исследованиях нами изучены показатели крови крыс-самок в условиях длительного воздействия широкополосного шума уровнем 91 децибел (дБ) с максимальной энергией в области средних и высоких частот и сопоставлены с аналогичными данными у самцов [3]. Учитывая важную роль процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в механизмах развития сердечно-сосудистой патологии, реализации различного рода стрессовых воздействий, в настоящей ра-