

В. С. ЯКУШЕВ, В. В. ДАВИДОВ

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ НЕКРОЗЕ МИОКАРДА И ЗНАЧЕНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА В ИХ ВОЗНИКНОВЕНИИ

Формирование ишемического некроза миокарда сопровождается накоплением ТБК-реагирующих веществ в мозге, что свидетельствует об интенсификации в нем процессов перекисного окисления липидов. Механизм инициирования свободно-радикальных реакций зависит от особенностей моделирования экспериментального инфаркта миокарда.

Активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) является важным звеном патогенеза стрессорных и ишемических повреждений различных органов [6, 7, 9]. В связи с этим в настоящее время много внимания уделяется изучению его состояния в сердечной мышце при развитии некроза миокарда. Однако особенности ПОЛ в других органах при данной патологии до сих пор исследованы недостаточно. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение особенностей ПОЛ в коре больших полушарий головного мозга при развитии ишемического некроза миокарда.

Учитывая, что инфаркт миокарда часто развивается на фоне эмоционального перевозбуждения [12], нами одновременно исследовались особенности ПОЛ у крыс с некрозом миокарда, воспроизведенным после перенесенного эмоционального стресса.

Материал и методы

Работа выполнена на 100 крысах-самцах линии Вистар массой 150—200 г. Животные были разделены на 4 группы: I—интактные; II—крысы, у которых проводилась операция торакотомии; III—животные, у которых воспроизводился ишемический некроз миокарда путем лигирования нисходящей ветви левой коронарной артерии [5]; IV—крысы с некрозом миокарда, который воспроизводился через 24 часа после эмоционального стресса [10].

Эффективность воспроизведения некроза миокарда контролировали с помощью электрокардиографического и патоморфологического методов исследования.

Интенсивность перекисного окисления липидов, стимулируемого аскорбатом и НАДФН+ H^+ , определяли в гомогенатах мозга [8], параллельно исследовали поглощение ими кислорода в среде, содержащей 0,1 М ТРИС, 0,001 М динатриевой соли ЭДТА и 0,001 М НАДФН+ H^+ (рН 7,4) в присутствии или отсутствии 0,003 М KCN. Измерение поглощения кислорода проводили полярографически с использованием открытого платинового электрода Кларка.

В отдельных экспериментах из коры полушарий головного мозга выделяли микросомы [9] и исследовали в них активность НАДФН-цитохром-С-редуктазы [4].

Содержание белка определяли по методу Lowry. Полученные данные обрабатывали статистически.

Результаты и обсуждение

Установлено, что у крыс с некрозом миокарда, воспроизведенным после перенесенного эмоционального стресса, на протяжении всего исследованного периода эксперимента (2 и 7-е сутки) содержание в мозге веществ, дающих положительную реакцию с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК+ реагирующие вещества), почти в 3 раза превышает их концентрацию у контрольной группы животных (с торакотомией). У крыс же с некрозом миокарда, воспроизведенным в традиционном варианте, величина этого показателя на 2-е сутки опыта не отличается от исходного уровня, а к 7-ым суткам увеличивается в 1,7 раза по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1

Содержание ТБК+ реагирующих веществ в мозге и интенсивность их образования при совместной инкубации гомогенатов коры больших полушарий с аскорбатом и НАДФН+Н⁺ у крыс с различными вариантами воспроизведения некроза миокарда ($M \pm m$)

Группа животных	Торакотомия	Некроз миокарда		Некроз миокарда после стресса	
Период эксперимента	2-е сутки	2-е сутки	7-е сутки	2-е сутки	7-е сутки
Содержание ТБК+реагирующих веществ (мкмоль МДА/кг белка)	4,4±0,8 (5)	6,4±1,0 (6)	11,5±1,6* (5)	17,9±3,0* (3)	15,6±2,8* (6)
Накопление ТБК+реагирующих веществ при внесении в среду инкубации гомогената	аскорбат 0,16±0,02 (5)	0,23±0,04 (6)	0,23±0,03* (5)	0,18±0,02 (4)	0,18±0,01 (4)
	НАДФН+Н ⁺ 20,7±3,1 (5)	8,6±0,6* (6)	8,7±0,6* (4)	44,6±10,4* (4)	16,7±1,0 (6)

Примечание. В скобках указано количество исследований. *—данные достоверно ($P < 0,05$) отличаются от показателей у крыс с торакотомией. Интенсивность образования ТБК+ реагирующих веществ указана в мкмоль МДА/кг ткани с при добавлении аскорбата и в мкмоль МДА/кг белка с при добавлении НАДФН+Н⁺. МДА—малоновый диальдегид.

Увеличение содержания ТБК+ реагирующих веществ свидетельствует об активации перекисного окисления липидов в коре полушарий головного мозга у крыс с некрозом миокарда [2]. При этом предварительно перенесенный эмоциональный стресс способствует более ранней его стимуляции.

Учитывая, что перекисное окисление липидов инициируется неферментативными (аскорбат-зависимыми) и ферментативными (НАДФН+Н⁺-зависимыми) процессами [1, 2], в последующих экспе-

риментах в мозге животных мы изучили некоторые их особенности.

Из табл. 1 видно, что у крыс с традиционным вариантом воспроизведения некроза миокарда на 2 и 7-е сутки в ответ на внесение Fe^{+2} и аскорбата в среду инкубации гомогенатов коры мозга происходит одинаковая стимуляция ПОЛ, на 44% превышающая ее величину у контрольных животных. У крыс же с некрозом миокарда, воспроизведенным после стресса, этот показатель на протяжении всего эксперимента не изменяется по сравнению с исходным уровнем.

Изучение ферментативных путей ПОЛ показало, что у крыс с некрозом миокарда, воспроизведенным после стресса, на 2-е сутки опыта происходит его стимуляция за счет НАДФН+ H^+ на 115% по сравнению с контрольными животными и на 420%—по сравнению с крысами, у которых некроз миокарда воспроизводился в традиционном варианте. К концу острого периода эксперимента (7-е сутки) величина этого показателя приближается к уровню животных с торакотомией, но при этом все же остается на 92% выше, чем у крыс с традиционно воспроизведенным некрозом миокарда.

Таблица 2

Интенсивность поглощения кислорода гомогенатами мозга при окислении НАДФН+ H^+ у крыс с различными вариантами воспроизведения некроза миокарда (в мкА $\text{O}_2/\text{мг}$ белка. мин; $\text{M} \pm m$)

Группа крыс	Торакотомия	Некроз миокарда	Некроз миокарда после стресса
+KCN	$1,0 \pm 0,1$ (5)	$1,9 \pm 0,4$ (5)	$2,6 \pm 0,3^*$ (5)
без KCN	$3,1 \pm 0,3$ (5)	$3,8 \pm 0,6$ (5)	$4,6 \pm 0,3^*$ (5)

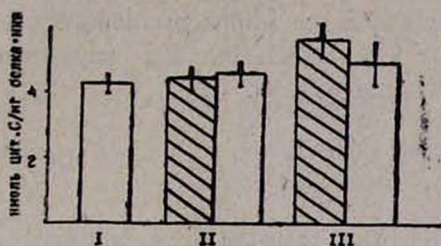
Примечание. В скобках указано количество исследований. *—данные достоверно ($P < 0,05$) отличаются от их величины у крыс с торакотомией. Все исследования проведены на 2-е сутки эксперимента.

Полученные данные указывают на то, что интенсификация ПОЛ в коре больших полушарий головного мозга крыс с исследованными вариантами воспроизведения некроза миокарда обусловлена различными причинами. В частности, у крыс с традиционно воспроизведенным некрозом миокарда стимуляция ПОЛ связана с активацией неферментативных реакций инициирования свободно-радикальных процессов, а у животных с некрозом миокарда, воспроизведенным после стресса,—с активацией ферментативных НАДФН+ H^+ -зависимых процессов.

Так как НАДФН+ H^+ -зависимые реакции ПОЛ реализуются с участием митохондриальной оксигеназной системы [1, 11], представляло интерес изучение особенностей ее функционирования в мозге крыс с некрозом миокарда, воспроизведенным после стресса. При этом интенсивность окислительных процессов в митохондриях оценивали по величине активности НАДФН-цитохром-С-редуктазы, а также по скорости поглощения кислорода митохондриями при окислении НАДФН+ H^+ .

Обнаружено, что на 2-е сутки после воспроизведения некроза миокарда после стресса активность НАДФН-цитохром-С-редуктазы превышает на 28% ее величину у контрольных крыс и на 25%—у животных

с традиционно воспроизведенным некрозом миокарда (рисунок). На 7-е сутки опыта этот показатель нормализуется. В то же время у крыс с традиционным вариантом воспроизведения некроза миокарда активность данного фермента не изменяется по сравнению с контрольными животными на протяжении всего исследованного периода эксперимента. Одновременно с этим установлено, что у крыс с некрозом миокарда, воспроизведенным после стресса, на 2-е сутки опыта увеличивается на 35% скорость поглощения кислорода гомогенатами мозга при окислении НАДФН+Н⁺ по сравнению с исходным уровнем. Величина же этого показателя у крыс с традиционно воспроизведенным некрозом миокарда не изменяется.



Активность НАДФН-цитохром-С-редуктазы микросом полушарий головного мозга интактных крыс (I) и животных с некрозом миокарда, воспроизведенным в традиционном варианте (II) и после стресса (III). Активность в нмоль цитохрома С/мг белка · мин. Заштрихованные столбики—величина активности на 2-е, незаштрихованные—на 7-е сутки опыта.

Учитывая, что окисление НАДФН+Н⁺ происходит преимущественно в микросомах, можно полагать, что обнаруженная стимуляция дыхания гомогенатов свидетельствует об интенсификации микросомального окисления у крыс исследованной группы. Для уточнения этого вопроса нами было изучено состояние цианидрезистентного дыхания гомогенатов мозга при внесении в среду инкубации НАДФН+Н⁺.

Из табл. 2 видно, что у крыс с некрозом миокарда, воспроизведенным после стресса, интенсивность поглощения кислорода гомогенатами мозга в присутствии KCN на 136% выше, чем у крыс с торакотомией, и на 25%—чем у крыс с некрозом миокарда, который воспроизводился в традиционном варианте.

Полученные данные об активации НАДФН-цитохром-С-редуктазы и увеличении поглощения кислорода гомогенатами мозга в присутствии KCN и без него свидетельствуют о стимуляции микросомального окисления в мозге крыс с некрозом миокарда, воспроизведенным после стресса.

Анализ полученных данных приводит к заключению о том, что развитие некроза миокарда независимо от варианта его воспроизведения сопровождается активацией перекисного окисления липидов в мозге, что указывает на генерализованную реакцию стимуляции ПОЛ в организме при инфаркте миокарда. Можно думать, что обнаруженная интенсификация свободно-радикального окисления липидов является важным фактором, способствующим нарушению функционирования

нейронов коры больших полушарий, а значит, и формированию функциональных расстройств со стороны центральной нервной системы [3].

Предшествующий эмоциональный стресс вносит существенные особенности в механизм инициации реакции перекисного окисления липидов в мозге при последующем развитии некроза миокарда. Они заключаются в том, что если при традиционном варианте воспроизведения некроза миокарда важная роль в этом принадлежит прежде всего неферментативной (аскорбат-зависимой) системе, то при некрозе миокарда, воспроизведенном после стресса, иницирование ПОЛ осуществляется в основном за счет ферментативной системы окисления НАДФН + H^+ . В основе обнаруженного эффекта стресса может лежать обусловленная им же стимуляция микросомального окисления в мозге. Однако причины этого сдвига неясны. Их изучению будут посвящены наши дальнейшие исследования.

Запорожский медицинский
институт

Поступила 14/II 1986 г.

Վ. Ս. ՅԱԿՈՒՇԵՎ, Վ. Վ. ԴԱՎԻԴՈՎ

ՍՐՏԱՄԻԱՆԻ ՆԵԿՐՈԶԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ԳԼԵՈՒԴԵՂԻ ԿԵՂԵՎԻ ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ
ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՅԻՆ ՕՔՍԻԴԱՅՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ ԱՌԱՋՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ԵՎ ԷՄՈՑԻՈՆԱԼ ՍՏՐԵՍԻ ՆՇԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՆՐԱՆՅ ԱՌԱՋԱՅՄԱՆ ՀԱՄԱՐ

Սրտամկանի իշեմիկ նեկրոզի ձևավորումը ուղեկցվում է PO_2 + հակադրող նյութերի կուտակմամբ գլյուկոզիում, որը վկայում է նրա լիպիդների գերօքսիդաչին օքսիդացման պրոցեսի ուժեղացման մասին: Ազատ-ռադիկալային ռեակցիաների նախաձեռնողական մեխանիզմը կախված է սրտամկանի փոքրաբարական ինֆարկտի մոդելավորման առանձնահատկություններից:

V. S. YACKUSHEW, V. V. DAVYDOV

PECULIARITIES OF LIPID PEROXIDATION IN THE CEREBRAL CORTEX DURING THE MYOCARDIAL NECROSIS AND THE SIGNIFICANCE OF EMOTIONAL STRESS FOR THEIR DEVELOPMENT

The formation of the ischemic myocardial necrosis is accompanied by the accumulation of the TBA⁺-reacting substances in the brain which testifies to the intensification of the lipid peroxidation processes in it. The mechanism initiating free radicals depends on the peculiarities of modeling of experimental myocardial infarction.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков А. И. Микросомальное окисление. М., 1975.
2. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
3. Давыдов В. В., Железнов Л. М., Красиков С. И., Якушев В. С. Ж. высшей нервной деятельности СССР им. И. П. Павлова, 1984, т. 34, 6, с. 1174.
4. Карузина И. И., Арчаков А. И. В кн.: Современные методы в биохимии. М., 1977, с. 49.
5. Коган А. Х. Пат.физиол. и экспер. тер., 1979, т. 22, 3, с. 79.

6. Козлов Ю. П., Каган В. Е., Меерсон Ф. З. В кн.: Роль нервной системы в адаптации и компенсации функций организма. Иркутск, 1981, с. 20.
7. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М., 1984.
8. Микаелян Э. М., Мкртчян С. Л., Мелик-Агаева Е. А., Мхитарян В. Г. Ж. эксперим. и клин. мед. АН АрмССР, 1983, т. 23, 5, с. 407.
9. Де-Пьер Ж., Дальнер Г. В кн.: Биохимическое исследование мембран. М., 1979.
10. Desiderato O., Mac'innon J. R., Hisson H. J. Comp. Psychol. Physiol., 1974, 87, 1, 208.
11. Мид Дж. В кн.: Свободные радикалы в биологии. М., 1979.
12. Sime W. E., Buel J. C. J. Cardiovasc. Pulm. Techn., 1980, 8, 27.

УДК 616.8:571.1

Э. М. МИКАЕЛЯН, С. Л. МКРТЧЯН

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ СТРЕССЕ

Установлено, что стресс приводит к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в митохондриальной мембране, отражаясь на ее структуре и функциях.

Введение синтетического антиоксиданта дибунола, ингибируя ПОЛ, предупреждает развитие некоторых альтернативных изменений.

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), будучи тесно связанной с структурой и функциями биомембран, определяет степень обновления липидов мембран, их состав и микровязкость, липид-липидные, липид-белковые взаимоотношения, а также активность липид-зависимых, мембраносвязанных ферментов [1].

Транспорт электронов по дыхательной цепи митохондрий и окислительное фосфорилирование сопровождаются пероксидированием мембранных фосфолипидов [3]. С другой стороны, активация ПОЛ при стрессе снижает сопряженность и угнетает процесс фосфорилирования в митохондриях сердца и печени [6, 7].

Цель настоящего исследования—изучение взаимоотношения ПОЛ, активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) при стрессе и на фоне предварительного введения синтетического антиоксиданта дибунола.

Материал и методы

Опыты поставлены на 150 белых крысах-самцах массой 100—150 г. Животные были разделены на 3 группы: 1—интактные крысы—контроль; 2—иммобилизационный стресс (ИМО) в течение 150 минут ежедневно (число иммобилизаций от 1 до 7); 3—ИМО на фоне предварительного введения дибунола в дозе 120 мг/кг в течение 4 дней. Ткани тщательно перфузировали охлажденным 0,15 М KCl. Все операции проводили на холоде. Ткани гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком в среде выделения, содержащей 0,25 М сахарозы, 0,004 М трис-HCl и 0,001 М ЭДТА (pH 7,2). Внутренние мембраны митохондрий мозга и печени выделяли методом дифференциаль-