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. экспер. 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'inon J. R., Hissom H.* J. Comp. Psichol. 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-

ного центрифугирования [14]. Активность индуцированного ферментативного НАДФН-зависимого переокисления (НЗП) и неферментативного аскорбатзависимого переокисления (АЗП) определяли по накоплению малонового диальдегида за 30 *мин* инкубации [2]. Содержание липидных перекисей выражали в *нмоль* малонового диальдегида на 1 *мг* белка. Содержание витамина Е определяли флуорометрически, выражали в *мкг* на *мг* белка [10]. Количество белка определяли по методу Lowry [12]. На внутренней мембране митохондрий определяли активность мембраносвязанного фермента СДГ (КФ 1. 3. 99. 1) [11].

Результаты и обсуждение

При иммобилизационном стрессе разной продолжительности как при остром (1 ИМО), так и повторных (от 2 до 7 ИМО) значительно активируется ПОЛ на внутренней мембране митохондрий мозга и печени (таблица). Изменения носят фазовый характер, пики наибольших сдвигов приходятся на 1, 2 и 5-й ИМО, к 7-му ИМО интенсивность ПОЛ несколько падает. Активирование свободнорадикальных реакций в мембране сопровождается расходом антиоксиданта токоферола и существенным понижением его уровня (рис. 1, 2). В мозге этот процесс выражен сильнее.

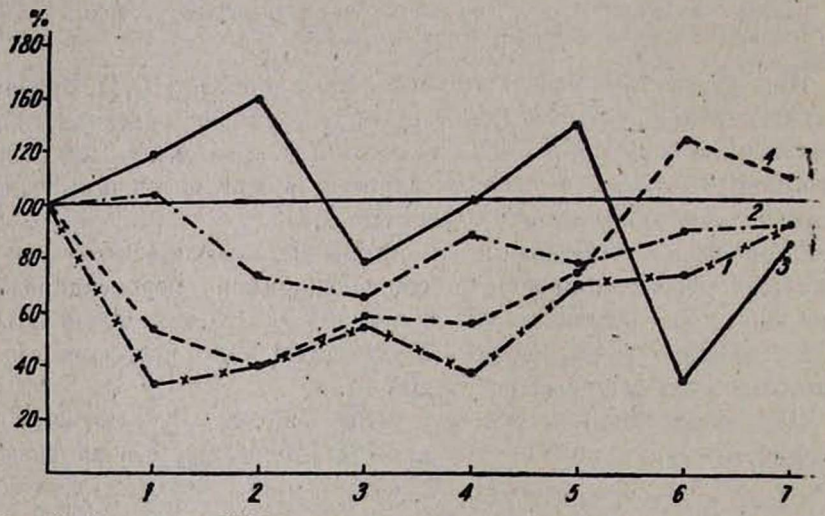

Рис. 1. Активность СДГ, содержание витамина Е (в процентах по отношению к контролю) на внутренней мембране митохондрий мозга при ИМО и при ИМО на фоне введения дибунола. Условные обозначения: на оси абсцисс—сроки ИМО; 1—содержание витамина Е при ИМО; 2—содержание витамина Е при ИМО+дибунол; 3—активность СДГ при ИМО; 4—активность СДГ при ИМО+дибунол.

Токоферол играет важную роль в регуляции структурно-функциональных переходов мембраны не только как тушитель свободных радикалов, но и как ее структурный компонент, обеспечивающий упаковку фосфолипидного слоя. Поэтому интенсификация ПОЛ, снижение содержания витамина Е на внутренней мембране митохондрий при стрессе изменяют состав, структуру ее липидной фазы и являются ключевым звеном выявляемых повреждений тканевого дыхания.

СДГ—фермент цикла лимонной кислоты, фиксированный на внутренней мембране митохондрий, в транспорте электронов принимает участие как его кофермент ФАД, так и негеминовое железо. Данные об изменении активности СДГ при активации свободнорадикальных реакций неоднозначны. При индукции ПОЛ обработкой суспензии митохондрий печени раствором солей двухвалентного железа отмечалось нарушение окислительного фосфорилирования и инактивации СДГ на 23% [13]. При эмоционально-болевом стрессе СДГ, наоборот, активируется, что связано с накоплением фосфатидилэтаноламина в митохондриях сердечной мышцы [9].

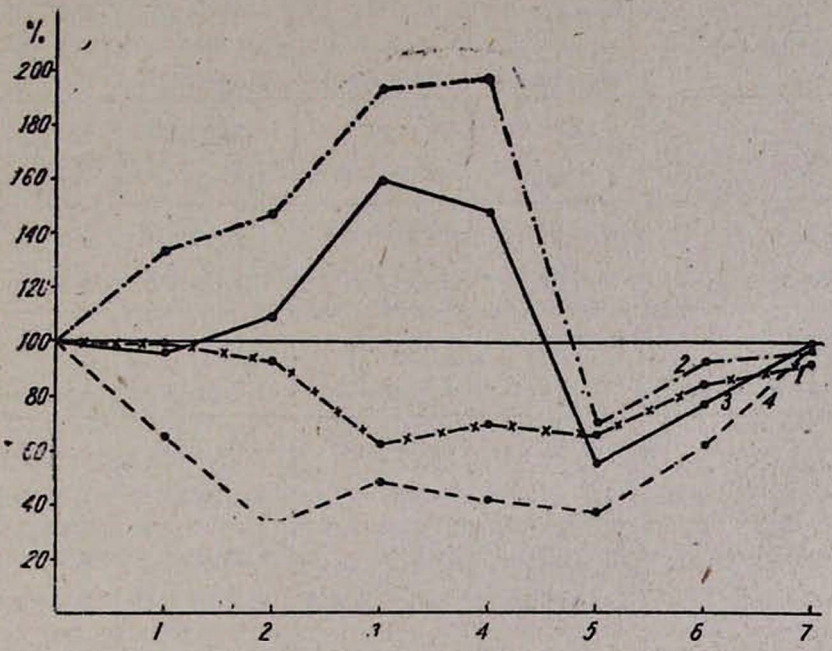

Рис. 2. Активность СДГ, содержание витамина Е (в процентах по отношению к контролю) на внутренней мембране митохондрий печени при ИМО и при ИМО на фоне введения дибунола. Условные обозначения те же, что на рис. 1.

В условиях нашего эксперимента активность СДГ при стрессе изменяется фазно (рис. 1, 2)—активируется при 1, 2, 5-ом ИМО в мозге и 3 и 4-ом ИМО в печени, в остальные сроки либо ингибируется, либо подходит к исходным величинам. Этот эффект является результатом сочетания в мембране митохондрий нескольких переменных: активации ПОЛ, понижения уровня токоферола, изменения фосфолипидного состава и вязкости липидного бислоя.

Мембранотропный антиоксидант дибунол в последнее время широко применяется как антиокислительная добавка к пищевым продуктам, а также в терапии сердечно-сосудистых, кожных, желудочно-кишечных и других заболеваний. Дибунол, введенный в организм экспериментальных животных, проникает в большую часть жизненно важных органов и тканей, во все основные субклеточные фракции [4], в печени накапливается с большей интенсивностью, чем в мозге. Антира-

дикальная активность дибунола на 2 порядка ниже природного антиоксиданта α-токоферола. Однако в условиях in vivo дибунол как пространственно экранированный фенол проявляет большую антиокислительную активность, так как его радикал, возникающий в реакции $ROO^{\cdot}+HJn \rightarrow ROOH+Jn^{\cdot}$, не обладает способностью реагировать с жирнокислотными остатками и разветвлять цепь [8].

Индуцированное ПОЛ (НЗП и АЗП) на внутренней мембране митохондрий мозга и печени в *нмоль/мг* белка при ИМО и при ИМО на фоне введения дибунола

Условия эксперимента		Исследуемые показатели			
		мозг		печень	
		АЗП	НЗП	АЗП	НЗП
Контроль		4,53±0,074	3,2±0,04	3,8±0,1	2,45±0,14
1 ИМО	стресс	9,74±0,09*	33,46±0,87*	3,72±0,12	8,51±0,12*
	стресс+дибунол	3, 8±0,76**	2, 5±0,07**	1,66±0,02**	1,47±0,027**
2 ИМО	стресс	19,45±0,19*	26,5±0,29*	8,87±0,07*	9,09±0,17*
	стресс+дибунол	3, 1±0,06**	2,36±0,07**	2,11±0,36**	1,54±0,026**
3 ИМО	стресс	6,59±0,09*	7,62±0,09*	4,78±0,09*	4,17±0,08*
	стресс+дибунол	2,04±0,06**	1,32±0,028**	1,58±0,06**	1, 3±0,047**
4 ИМО	стресс	4,99±0,08*	6,67±0.09*	6,18±0,069*	7,19±0,08*
	стресс+дибунол	3,31±0,059**	2,24±0,03**	3, 7±0,08**	1,34±0,029**
5 ИМО	стресс	22,14±0,19*	26,36±0,1*	34,35±0,9*	41,14±1,15*
	стресс+дибунол	2,29±00,5**	2,15±0,043**	2,31±0,05**	1,56±0,06**
6 ИМО	стресс	21,07±0,19*	10,36±0,12*	16,58±0,11*	3,85±0,9*
	стресс+дибунол	4, 1±0,05**	3,25±0,03**	3,09±0,48**	1,07±0,09**
7 ИМО	стресс	3,86±0,06*	4,086±0,05*	6,33±0,1*	7,26±0,01*
	стресс+дибунол	4,58±0,03**	3,17±0,04**	4,03±0,05**	2, 8±0,04**

Примечание. *—достоверно по сравнению с контролем
**—достоверно по сравнению с соответствующим сроком ИМО.

Используемую нами дозу (120 *мг/кг*) мы заимствовали из исследований Ф. З. Меерсона [6], так как дибунол в указанной дозе не только оказывает антирадикальный эффект, но и существенным образом ограничивает реализацию стресс-реакции, изменяя уровень кортикостерона и катехоламинов. Дибунол, введенный перед иммобилизационным стрессом, существенно ингибирует ПОЛ ниже контрольного уровня (таблица). Затраты витамина Е ограничиваются, в результате содержание его в мембранах повышается, а в печени становится даже зна-

чительно выше исходных величин (рис. 1, 2). Однако активность СДГ ингибируется и только к 7-му ИМО подходит к контрольному уровню. Возможно, это связано с содержанием липоперекисей в мембране, либо дибунол непосредственно действует на фермент. В пользу последнего предположения говорит однотипность наблюдаемых сдвигов в мозге и печени.

Дибунол в дозе 50 *мг/кг* у интактных крыс активирует окисление НАДН митохондрий печени по внешнему пути, понижает концентрацию цитохромов a, $c+c_1$, понижает мембранный потенциал при использовании в качестве субстрата сукцината [5].

Таким образом, активация ПОЛ в митохондриальной мембране при стрессе отражается на ее структуре и функциях, активности мембраносвязанного фермента СДГ. Введение дибунола предупреждает развитие некоторых альтернативных изменений.

Кафедра биохимии
Ереванского медицинского института

Поступила 28/1 1986

Է. Մ., ՄԻՔԱՅԵԼՅԱՆ, Ս. Լ. ՄԿՐՏՉՅԱՆ

ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՑՈՒՄԸ ԵՎ ՍՈՒԿՑԻՆԱՏԴԵՀԻԴՐՈԳԵՆԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍՏՐԵՍԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Իմոբիլիզացիոն ստրեսի պայմաններում առնետների ուղեղի և լյարդի միթոքոնդրիումների ներքին թաղանթում ակտիվանում է լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսը և իջնում վիտամին E-ի քանակը։

Թաղանթների հետ կապված սուկցինատդեհիդրոգենազի ակտիվությունը ենթարկվում է ֆազային փոփոխությունների, որը ուղեղում 1, 2, 5-րդ իմոբիլիզացիայից, իսկ լյարդում՝ 3 և 4-ից ակտիվանում է։

Մնացած պայմաններում ֆերմենտի ակտիվությունը կամ ճնշվում է, կամ մոտենում կոնտրոլին։

E. M. MIKAELIAN, S. L. MKRTCHIAN

THE LIPID PEROXIDATION AND SUCCINATE DEHYDROGENASE ACTIVITY AT THE STRESS

The significant lipid peroxidation activation and vitamin E content decrease were observed in the brain and liver mitochondrial inner membranes. The membrane-dependent succinate dehydrogenase activity changed phasically: increased at 1, 2, 5 IMO in brain and 3, 4, IMO in liver, and decreased or maintained at the control level in the last terms. 120 mg/kg of dibunol inhibited lipid peroxidation succinate dehydrogenase activity and enhanced the vitamin E content.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бурлакова Е. Б., Храпова Н. Г.* Успехи химии, 1985, IV, 9, с. 1540.
2. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972, с. 242.
3. *Владимиров Ю. А., Оленев В. И., Суслова Т. Б., Потапенко А. Я.* Биофизика, 1975, 5, с. 56.

4. *Дегтярев И. А., Заиков Г. Е.* Хим. фарм. журнал, 1985, 8, XIX, с. 910.
5. *Дробинская И. Е., Жигачева И. В, Каплан Э. Я.* Биохимия, 1982, 47, 1, с. 81.
6. *Меерсон Ф. З., Малышев В. В., Петрова В. А., Лифантьев В. И.* Кардиология, 1982, 9, с. 85.
7. *Сутковой Д. А., Барабай В. А.* Укр. биохим. ж., 1985, 57, 2, с. 79.
8. *Храпова Н. Г.* Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М., 1982, с. 59.
9. *Якушев В. С., Давыдов В. В.* Укр. биохим. ж., 1982, 54, 4, с. 389.
10. *Dyggan D. E.* Arch. Biochem. Biophys. 1959, 84, 116.
11. *King G. E.* J. Biol. Chem., 1963, 238, 9, 4037.
12. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farra A. L., Randalt R. J.* J. Biol. Chem., 1951, 198, 265.
13. *Mc Knight R. C., Hunter F. E.* J. Biol. Chem., 1966, 241, 2757.
14. *Schnaitman C, Erwin V. G.* a *Greenzwalt J. W.* J Cell. Biol., 1967, 32, 719.

УДК 612.822+616.36] : 599.323

Л. А. ЧИЛИНГАРЯН, В. Г. МХИТАРЯН

ИЗМЕНЕНИЯ В АКТИВНОСТИ β-ГЛЮКУРОНИДАЗЫ В МОЗГЕ И ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА И НЕКОТОРЫХ ИСКУССТВЕННЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

Определялась активность фермента β-глюкуронидазы под влиянием четыреххлористого углерода в различные сроки после однократного введения и через трое суток ежедневного введения. Выявлено повышение активности фермента почти во все сроки. При совместном введении четыреххлористого углерода с антиоксидантами: фенолом-52 и фенозаном-28 активность фермента значительно снижается.

β-глюкуронидаза (КФ. 3. 2. 1. 31)—фермент с широким функциональным назначением, представленный в различных субклеточных образованиях. Он выполняет важную роль в гидролизе глюкуронидов, являющихся продуктом как расщепления углеводных биополимеров, так и конъюгации ксенобиотиков, желчных пигментов и различных чужеродных соединений, образующихся при двухферментном цикле сопряжения и десопряжения.

На сегодняшний день интерес к этому ферменту возрос, т. к. при ряде патологических процессов активность его резко возрастает, что используется в качестве вспомогательного диагностического теста [2—4, 9, 15, 16]. Необходимо указать также на различное распределение активности фермента в разных субклеточных образованиях клетки.

Известно, что β-глюкуронидаза используется нередко как маркер лизосом, хотя ее активность представлена в клетке на 40% нелизосомально. По мнению Fishman [8], β-глюкуронидаза может служить структурным белком эндоплазматического ретикулума. Значительная часть нелизосомальной активности фермента представлена в микросомальной фракции.

Что касается самого фермента, то это либо ферментная система, либо фермент с двумя независимыми центрами связывания в активном центре. В наших предыдущих работах изучалась активность β-глюкуронидазы в мозге и печени белых крыс в условиях повышенной липид-