

15. Худавердян Д. Н., Зильфян А. В., Меликян М. А. Труды Ереванского медицинского института, т. 2. Ереван, 1977, с. 98.
16. Худавердян Д. Н., Межлумян Л. М. Труды Ереванского медицинского института, т. 2. Ереван, 1977, с. 91.
17. Худавердян Д. Н., Назарян Л. Р. Ж. экспер. и клин. мед АН Арм ССР, 1979, 19, 4, с.27.

УДК 616.453—068.6—06 : 577.186

М. А. СИМОНЯН, Д. М. ГЕВОРКЯН, В. Г. МХИТАРЯН

ВЛИЯНИЕ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ НА УРОВЕНЬ ЭНДОГЕННОЙ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И ЛИПОПЕРЕКИСЕИ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОГЛИКЕМИИ

При гипогликемии, вызванной двукратным введением intactным крысам инсулина, наблюдалось подавление перекисного окисления липидов (ПОЛ) и увеличение активности эндогенной Cu, Zn-супероксиддисмутазы (Cu, Zn-SOD) в печени животных. На фоне гипогликемии введение Cu, Zn-SOD способствовало еще большему понижению уровня ПОЛ, что приводило к повышению процента гибели животных.

Известно, что при увеличении концентрации глюкозы повышается содержание генерированных при расщеплении перекиси водорода супероксидных анионов O_2^- in vitro [8]. С другой стороны, при гипергликемии в организме повышается уровень O_2^- [19] и липидных перекисей [6], в результате этого падает активность антиоксидантных ферментов—супероксиддисмутазы (СОД), каталазы [2, 5, 15, 16], глутатионпероксидазы [11], Na, K-АТФ-азы [12]. На этом фоне экзогенная СОД проявляет протективный эффект [6, 13].

Задачей данной работы явилось изучение влияния экзогенной Cu, Zn-SOD на уровень ПОЛ, определяемый по содержанию малонового диальдегида (МДА), и активности Cu, Zn-SOD в печени крыс в состоянии гипогликемии.

Материал и методы

Гипогликемию у белых беспородных крыс массой 180—200 г моделировали двукратным внутрибрюшинным введением инсулина в дозе 20 МЕ/кг массы животного.

Экзогенную Cu, Zn-SOD, выделенную из печени быка и очищенную по методу Н. А. Григорян и соавт. [3], вводили крысам внутрибрюшинно в первый день спустя 5 часов после введения инсулина и на второй день через час после введения гормона. Контрольные животные вместо СОД получали 0,9% NaCl аналогичным образом. Крыс декапитировали спустя 3 часа после вторичного введения инсулина. Животные были распределены на три группы (по 20 в каждой): I—получавшие NaCl (контроль), II—инсулин и III—инсулин и СОД (2 мг/кг).

Cu, Zn-SOD из печени крыс выделяли и очищали по методу М. А. Симоняна и соавт. [7], используя при этом свежеперегнаный ацетон, спирт и хлороформ. Белок очищали методом ионообменной хроматографии на ДЭ-42 целлюлозе и гель-фильтрации на сефадексе G-75. Содержание СОД определяли по характерным ее спектрам путем сравне-

ния интегральных интенсивностей спектров известной и неизвестной концентрации фермента. Количество продуктов ПОЛ в аскорбат-зависимой системе определяли по методу Ю. А. Владимирова и А. И. Арчакова и выражали в $\mu\text{моль/мг}$ белка. Белок определяли по Lowry [17]. Активность СОД определяли по методу Nishikimi [18], принимая за единицу активности то количество фермента, которое способно ингибировать процесс образования формазана на 50%. Измерения проводились на спектрометре «Varian E-4» и спектрофотометре «Beckman-26» (США).

Результаты и обсуждение

Как показано на рисунке, различий между ЭПР спектрами Cu , Zn -СОД, выделенной из печени интактных (1), опытных (2) и опытных+СОД (3) крыс не наблюдалось. Следовательно, СОД не претерпевает каких-либо качественных изменений при гипогликемии. С другой стороны, обнаружено, что медь в активном центре фермента при гипогли-

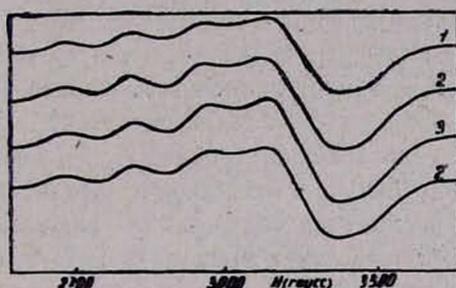


Рис. ЭПР спектры Cu , Zn -СОД, выделенной из печени контрольных крыс, получивших 0,9% NaCl (1), опытных (гипогликемия) (2) и опытных+СОД (3). После аэрации раствора фермента спектр 2 переходит в спектр 1. Условия регистрирования ЭПР спектров: постоянная времени—0,3 сек, амплитуда модуляции—10 Гс, микроволновая частота—9,08 Гц, микроволновая мощность—10 μw , температура—77°К.

Содержание Cu , Zn -СОД (М) и МДА ($\mu\text{моль/мг}$) в печеночной ткани ($P < 0,05$).

Определяемое вещество	Контрольные животные	Гипогликемия	Гипогликемия+СОД
Cu , Zn -СОД	$2,10 \cdot 10^{-5} \pm 0,1$	$2,5 \cdot 10^{-5} \pm 0,15$	$2,7 \cdot 10^{-5} \pm 0,2$
МДА	$4,5 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,12$

кемии была полностью окислена (2), так как при аэрации раствора фермента интегральная интенсивность ЭПР спектров СОД не повысилась. Удельная активность Cu , Zn -СОД составляла 3500 ед/мг белка как у опытных, так и у контрольных крыс.

Из данных, приведенных в таблице, следует, что повышение содержания СОД при гипогликемии составляло 15—20% и при гипогликемии с введением фермента—22%, а содержание МДА понизилось в 1,8 раза при гипогликемии, после же введения фермента—в 3 раза ($P < 0,05$).

Полученные результаты наглядно показывают, что при гипогликемии наблюдается некоторое повышение содержания эндогенной Cu, Zn-СОД, а введение экзогенного фермента резко понижает уровень ПОЛ. Как нами было обнаружено ранее, при гипергликемии содержание эндогенной СОД уменьшалось, так как образующиеся липоперекиси и $O_2^-(H_2O_2)$ обратимо или необратимо инактивировали (в случае H_2O_2) этот фермент [9]. Наоборот, при понижении содержания активных соединений кислорода уменьшаются деградирующие Cu, Zn-СОД агенты, что в действительности имеет место при гипогликемии и является основной причиной прироста содержания фермента и гибели животных. Это свидетельствует о том, что для нормального функционирования организма необходим соответствующий уровень липоперекисей (они необходимы для синтеза простагландинов, прогестерона, для регуляции лизосомальных мембран) [4, 5]. О том, что для нормального функционирования клетки необходим определенный физиологический уровень супероксидных анионов и липоперекисей, говорит и тот факт, что экзогенная СОД в наших опытах приводит к гибели животных при гипогликемии спустя 50—54 часа и имеет протективный эффект при гипергликемии [2]. Известно, что O_2^- , обладая сильной реакционной способностью, может повреждать многие биологические системы [10]. Установлено, что как повышение (при гипергликемии), так и понижение (при гипогликемии) уровня O_2^- (липоперекисей)—в равной степени нежелательные процессы для организма. С другой стороны, известно, что увеличение содержания глюкозы в опытах как *in vitro*, так и *in vivo* способствует расщеплению H_2O_2 с образованием «активного» кислорода, способного путем одноэлектронного восстановления превращаться в супероксидный анион [9], который, в свою очередь, способен реагировать с глюкозой (вероятно, окисляя ее) [8], в результате чего понижается уровень супероксидных анионов.

Таким образом, сравнение некоторых биохимических показателей при гипогликемии (эндогенная Cu, Zn-СОД, МДА, влияние экзогенной СОД) дает основание предположить, что в организме происходит взаимное регулирование уровня супероксидных анионов и глюкозы, с одной стороны, и липоперекисей мембран и СОД—с другой.

Ереванский медицинский институт, Институт биохимии АН АрмССР

Поступила 9/VII 1986 г.

Մ. Ա. ՄԻՄՈՆՅԱՆ, Գ. Մ. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԻԹԱՐՅԱՆ

ԱՌՆՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴՈՒՄ ՍՈՒՊԵՐՕՔՍԻԴԻԻՄՍՈՒՏԱԶԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ԷՆՂՈԳԵՆ ՍՈՒՊԵՐՕՔՍԻԴԻԻՄՍՈՒՏԱԶԻ ԵՎ ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԳԵՐՕՔՍԻԴԵՐԻ ՄԱԿԱՐԿԱԿԻ ՎՐԱ ՀԻՊՈԳԼԻԿԵՄԻԱՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ինսուլինի կրկնակի ներարկումից հիպոգլիկեմիայի ժամանակ դիտվում է մալոնային դիալդեհիդի քանակի նվազում և էնդոգեն Cu, Zn-սուպերօքսիդ-դիամուտազի քանակի բարձրացում:

Հիպոգլիկեմիայի պայմաններում Cu, Zn-սուպերօքսիդ-դիամուտազի ներարկումը բերում է մալոնային դիալդեհիդ քանակի առավել իջեցման: Արդյունքը լինում է այն, որ մեծանում է կենդանիների կորուստը:

Այսպիսով, գլյուկոզի բանակի իջեցումը բերում է թաղանթների լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսի մակարդակի իջեցման և էնդոգեն Cu, Zn-սուպերօքսիդիդիսմուտազի բանակի բարձրացման:

M. A. SIMONIAN, D. M. GEVORKIAN, V. G. MKHITARIAN

THE INFLUENCE OF SUPEROXIDDISMUTASE ON THE ENDOGENOUS SUPEROXIDDISMUTASE AND LIPID PEROXIDATION LEVEL IN THE RAT LIVER IN HYPOGLYCEMIC CONDITIONS

The increase in the content of endogenous Cu, Zn-superoxiddismutase and decrease in the quantity of malondialdehyde were revealed in animals' liver in hypoglycemia, induced by double injection of insulin. At the hypoglycemic background Cu, Zn-superoxiddismutase caused greater decrease of malondialdehyde level.

Thus glucose contents decrease results in the membranes lipid peroxidation processes supression and endogenous Cu, Zn-superoxiddismutase content's rise.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. В кн.: Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
2. Геворкян Д. Н., Мелик-Агаева Е. А. Тезисы докл. II Всесоюз. конф. «Биоантиоксидант». Черногловка, 1968, с. 64.
3. Григорян Н. А., Гюльхандяня Г. В., Симосян М. А., Налбандян Р. М. Биохимия, 1977, 42, 8, с. 1499.
4. Журавлев А. И. В кн.: Биоантиокислители. М., 1975, с. 25.
5. Мерзляк М. И., Соболев А. С. В кн.: Биофизика, т. 6. М., 1975, с. 118.
6. Мхитарян В. Г., Геворкян Д. Н. Биол. ж. Армения, 1981, 8, с. 783.
7. Симосян М. А., Табачникова С. И., Громов Л. А. Нейрохимия, 1984, 3, 2, с. 124.
8. Симосян М. А., Қаримян С. С. Тезисы докл. IV респ. конф. по синт. и природ. физиол. актив. соедин. Ереван, 1982, с. 99.
9. Симосян М. А. Биохимия, 1984, 49, 11, с. 1792.
10. Фридович И. В кн.: Свободные радикалы в биохимии. М., 1979, с. 278.
11. Blum J., Fridovich I. J. Biol. Chem., 1985, 240, 2, 500.
12. Das D. K., Neogi A. Clin. Physiol., 1984, 2, 2, 32.
13. Grankvist K., Marklund S., Täljedal J. B. Biochem. J., 1981, 299, 5837, 158.
14. Grankvist K., Marklund S. L., Täljedal J. B. Biochem. J., 1981, 199, 2, 393.
15. Hägglöf B., Marklund S. L., Holmgren G. Acta Endocrin., 1983, 102, 2, 235.
16. Kono J., Fridovich I. J. Biol. Chem., 1982, 257, 10, 5751.
17. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Farr A. L. et al. J. Blood, 1970, 36, 1, 111.
18. Nishikimi M., Rao N. A., Jagt K. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 46, 2, 849.
19. Shah S. V., Wallin J. D., Eilen S. D. J. Clin. Metabol., 1983, 57, 2, 402.