

ЛИТЕРАТУРА

1. Gryglewski R. *Acta cardiol.*, 1984, 23, 67.
2. Huang E., Detwiler T. *Blood*, 1981, 57, 685.
3. Kintough-Rathbone R., Pakham M., Mustard J. *Thromb. Res.*, 1977, 11, 567.
4. Richardson P. D. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, 1981, 294, 251.

УДК 616.839—089.5—06:616.45

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

АДРЕНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ.

II. ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАЦИИ АКТИВНОСТИ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ЛИПОПЕРЕОКИСЛЕНИЕ В ИЗОЛИРОВАННЫХ ГЕПАТОЦИТАХ КРЫС

Исследовано влияние различных модификаторов адренорецепции, а также нонов фтора, глюкагона и дибутирил цАМФ на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в изолированных гепатоцитах крыс. Показано усиление ПОЛ при действии всех указанных соединений, кроме адреналина. Обсуждается роль цАМФ в запуске ПОЛ.

В предыдущем сообщении [3] исследованиями *in vivo* было установлено стимулирующее влияние β -адреноагонистов на процессы ПОЛ в микросомах печени крыс при иммобилизационном стрессе (ИМО) и ингибирование их при предварительном введении β -адреноблокатора—обзидана. Однако вопрос об уровне, на котором реализуется подобное действие модификаторов адренорецепции, пока остается открытым. С этой целью нами было предпринято изучение действия этих соединений на ПОЛ в изолированных гепатоцитах крыс, результаты которого представлены в настоящей работе.

Материал и методы

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 150—200 г. Суспензию гепатоцитов получали по методу Ontko [9]. Крыс декапитировали, вскрывали брюшную и грудную полость, после чего последовательно через портальную и нижнюю полую вену в течение 10 минут печень перфузировали холодным бескальциевым раствором Рингера-Локка (рН 7,4), содержащим 0,011 М ЭДТА. Печень извлекали, пропускали через рычажный пресс, суспендировали в 100 мл среды выделения и фильтровали через 4 слоя нейлона. Суспензию центрифугировали при 50g в течение 5 мин с последующим отмыванием в растворе Кребса-Хензелята (рН 7,4) в тех же условиях. Осадок ресуспендировали в том же растворе. Степень интактности гепатоцитов контролировали окрашиванием 0,1% раствором трипанового синего и подсчетом их в камере Горяева. Выживаемость клеток составляла 80—90%.

В различных сериях экспериментов суспензию гепатоцитов (10^7 клеток) инкубировали в водяной бане при 37°C при постоянном встряхивании в течение 15 мин с адреналином (10^{-4} , 10^{-6} М), изопротеренолом

(10^{-5} М), салбутамолом (10^{-5} М), глюкагоном (10^{-6} , 10^{-9} М), дибутирил цАМФ (10^{-5} М), NaF (10^{-2} М).

После инкубации смесь гомогенизировали вручную, центрифугировали при 3000 g и в супернатанте определяли интенсивность ПОЛ. Для этого определяли содержание диеновых конъюгатов ненасыщенных жирных кислот [4], малонового диальдегида (МДА) в НАДФН- и аскорбат-зависимых системах [5]—первичных и конечных продуктов липопероокисления. Определяли также активность НАДФН-цитохром-с-редуктазы [6]. Белок определяли по Lowry [8]. Полученный материал обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Согласно полученным нами в предыдущей серии экспериментов [3] данным, иммобилизационный стресс, как и моделирование его при стимуляции β -адренорецепторов, вызывал усиление ПОЛ. В настоящей работе нас интересовали вопросы: сохраняются ли полученные нами *in vivo* эффекты на клеточном уровне и в чем заключаются механизмы запуска ПОЛ при моделировании стресса.

По литературным данным [7, 10], изолированные гепатоциты, сохраняя целостность мембраны и встроенных в нее рецепторных систем, могут служить хорошей моделью для изучения метаболических ответов на клеточном уровне на различные воздействия, что и послужило причиной их выбора в качестве объекта исследования.

Инкубация гепатоцитов со всеми исследованными соединениями в основном подтвердила полученные нами *in vivo* результаты (рис. 1). Однако усиление процессов ПОЛ было менее выраженным и регистрирова-

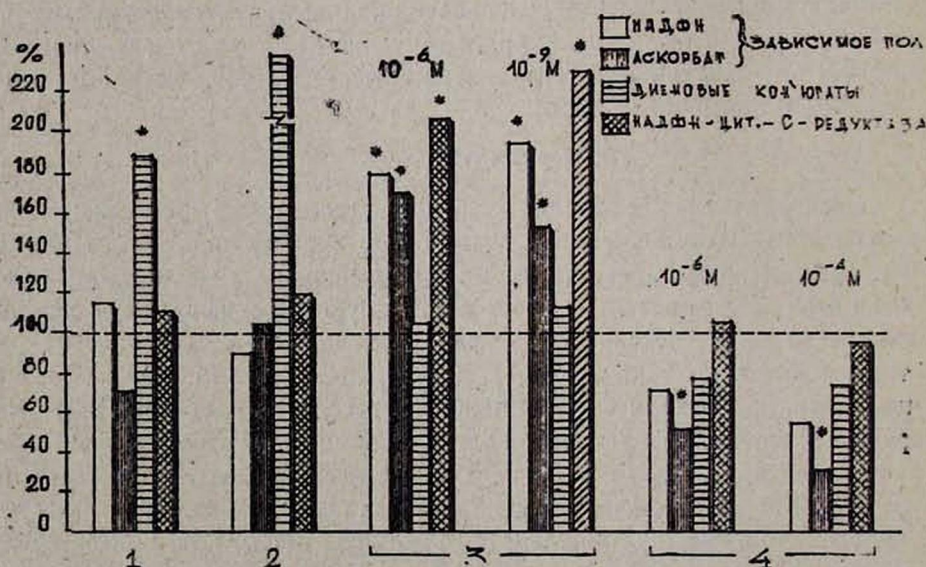


Рис. 1. Влияние модификаторов адренорецепции и глюкагона на уровень продуктов ПОЛ и активность НАДФН-цитохром-с-редуктазы в изолированных гепатоцитах крыс (в % по отношению к контролю). 1—изопротеренол, 2—салбутамол, 3—глюкагон, 4—адреналин. *— $p < 0,05$.

лось в основном по повышению диеновых конъюгатов, в то время как количество МДА и активность НАДФН-цитохром-с-редуктазы практически не изменялись. Это, в первую очередь, относится к изопротеренолу и салбутамолу. Глюкагон так же, как и в опытах *in vivo*, резко усиливал ПОЛ, причем более выраженным этот эффект был при меньшей его концентрации — 10^{-9} М, и, что интересно, регистрировалось это усиление по накоплению конечных продуктов ПОЛ и активации исследованного фермента—картина, противоположная эффектам изопротеренола и салбутамола. Возможно, здесь играет роль временной фактор—разновременное накопление первичных и вторичных продуктов ПОЛ при различных воздействиях. Необходимо отметить, что так же, как и *in vivo*, салбутамол был наиболее выраженным прооксидантом среди изученных адреномиметиков, что еще раз подтверждает наибольшее участие в инициации ПОЛ β_2 -адренорецепторов, агонистом которых является салбутамол. Из общей картины выпадают лишь эффекты адреналина. Аналогично результатам, полученным С. Л. Мкртчяном и соавт. [3], адреналин проявлял ингибирующее действие, усиливающееся с увеличением концентрации. Этот эффект, обнаруженный и другими исследователями [2], как нам кажется, обусловлен его высокими концентрациями и, возможно, относительно длительным временем воздействия.

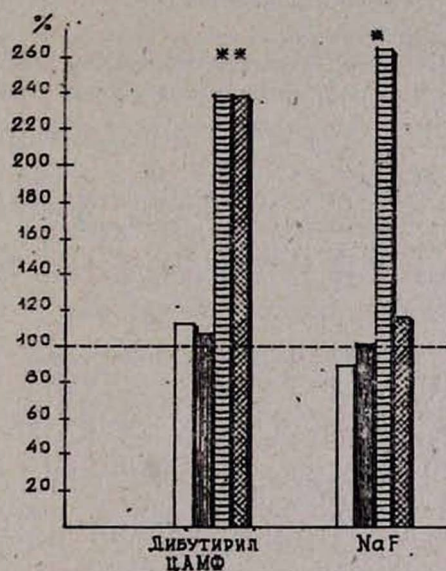


Рис. 2. Влияние дибутрил цАМФ на ПОЛ в изолированных гепатоцитах крыс. Обозначения те же, что и на рис. 1.

Таким образом, полученные результаты в основном свидетельствуют о непосредственном участии рецепторных систем, каталитической частью которых является аденилатциклаза, в запуске ПОЛ. Вторичным посредником, реализующим метаболические эффекты гормонов, активирующих эти рецепторы, как известно, является цАМФ. Весьма вероятно, что это соединение является также ответственным за инициацию

ПОЛ в клетке [1]. Нами были проведены эксперименты по проверке этого предположения: в первой серии было изучено влияние ионов фтора, непосредственно активирующих аденилатциклазу, и во второй—действие самого цАМФ (его дибутирилпроизводного, проникающего через мембранный барьер) на ПОЛ. Опыты выявили усиление ПОЛ (рис. 2), регистрируемое в основном по накоплению первичных продуктов липоперекисления. Кроме того, дибутирил цАМФ заметно увеличивал активность НАДФН-цитохром-с-редуктазы. Таким образом, гипотеза об участии цАМФ в начальных этапах процессов ПОЛ не лишена оснований. Механизмы этого участия уже обсуждались в первом сообщении [3]. Проверка этих предположений является темой наших дальнейших исследований.

Кафедра биоорганической и биологической химии Ереванского медицинского института.

Поступила 22/X 1986 г.

Ս. Լ. ՄԿՐՏՉՅԱՆ, Կ. Ա. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ, Է. Ա. ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԽԻՏՐԻԱՆ

ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԳԵՐՈՔՍԻԴԱՅՄԱՆ ԱԴՐԵՆԵՐԳԻԿ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄԸ ԻՄՈԲԻԼԻԶԱՅԻՆ ՍՏՐԵՍԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

II. —ԱԴՐԵՆՈՐԵՑԵՊՏՈՐՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՄՈԴԻՖԻԿԱՅԻԱՅԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԱՌՆՆՏՆԵՐԻ ՄԵԿՈՒՍԱՑՎԱԾ ՀԵՊԱՏՈՑԻՏՆԵՐԻ ԼԻՊԻԴԳԵՐՈՔՍԻԴԱՅՄԱՆ ՎՐԱ

Ուսումնասիրված է ադրենոռեցեպտորների տարբեր մոդիֆիկատորների, ինչպես նաև ֆտորիդի, գլյուկագոնի և դիբուտիրիլի cAMP-ի ազդեցությունը լիպիդային գերօքսիդացման վրա առնետների մեկուսացված հեպատոցիտներում:

Ցույց է տրված, որ լիպիդային գերօքսիդացումը ուժեղանում է վերոհիշյալ ազդակներից, բացառությամբ ադրենալինի:

Քննարկվում է cAMP-ի դերը լիպիդային գերօքսիդացման ինդուկցիայում:

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

THE LIPID PEROXIDATION ADRENERGIC REGULATION AT THE IMMOBILIZATION STRESS.

II. THE EFFECT OF THE ADRENORECEPTORS ACTIVITY
MODIFICATION ON THE LIPID PEROXIDATION IN THE RAT
ISOLATED HEPATOCYTES

The adrenoreceptors modification effect, floride ions, glucagon dibutiryl cAMP action on the lipoperoxidation in the rat isolated hepatocytes have been investigated. The lipoperoxidation increase in all cases, except the adrenaline action, have been established. The cAMP role in the lipid peroxidation initiation is discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бурлакова Е. Б., Джалябова М. И., Гвахария В. О. и др. В кн.: Биоантиоксиданты и регуляция метаболизма в норме и патологии. М., 1982, с. 74.
2. Гукасов В. М., Федоров В. К. Труды 2-го Московского мед. ин-та, в. I. М., 1977, с. 72.

3. Мкртчян С. Л., Алексанян К. А., Арапатьян Э. А., Мхитарян В. Г. Ж. экспер. и клин. мед. АН Арм ССР, 1987, XXVII, 3, с. 17.
4. Стальная И. Д. В кн.: Современные методы в биохимии. М., 1977, с. 49.
5. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. В кн.: Современные методы в биохимии. М., [1977, с. 50.
6. Bidlack W. R., Tappel A. L. Lipids, 1973, 8, 177.
7. Garrison J. C., Haymes R. C. J. Biol. Chem., 1973, 248, 15, 5333.
8. Lowry O. H., Resenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 1951 193, 265.
9. Ontko J. A. Biochim. et biophys. Acta, 1967, 137, 18.
10. Sattler C. A., Michalopoulos G., Sattler G. C., Pitot H. C. Cancer Res., 1978, 38, 1539.

УДК 616.36—002.14:616.981.455

В. Н. ЗИЛЬФЯН, М. А. МОВСЕСЯН, А. К. НЕРСЕСЯН, Д. Е. АРУТЮНЯН

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ КРЫС С АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМОЙ ЗАЙДЕЛА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ТУЛЯРЕМИЙНОЙ ВАКЦИНЫ

Изучено влияние иммунизации туляреминой живой вакциной (ТВ) на фагоцитарную активность нейтрофилов и активность фермента лизоцима у крыс с асцитной гепатомой Зайдела.

Установлено, что однократная иммунизация животных ТВ достоверно увеличивает все показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови и содержание лизоцима в сыворотке по сравнению с неиммунизированными опухоленосителями.

Предыдущими нашими исследованиями установлено, что однократная подкожная иммунизация белых крыс туляреминой живой сухой вакциной (ТВ) при введении канцерогенов удлиняет латентный период опухолеобразования, снижает выход опухолей и уменьшает их массу [6]. Отмечено также, что иммунизация ТВ способствует торможению роста пяти перевивных опухолевых штаммов с разной гистоструктурой [4, 5].

Учитывая, что в механизме противоопухолевой резистентности определенную роль играют нейтрофилы [7, 11] и активность фермента лизоцима в сыворотке крови [1, 10], мы провели исследования по изучению влияния ТВ на фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) и на содержание лизоцима в сыворотке крови крыс с перевитой асцитной гепатомой Зайдела (АГЗ).

Материал и методы

Эксперименты поставлены на 56 крысах линии Вистар обоего пола, средней массой 120 г, разделенных на 4 группы: I группа включала 15 интактных крыс (контроль), II—10 крыс, иммунизированных ТВ, III—15 крыс, получивших внутривенно по 0,5 мл 25% суспензии опухолевых клеток АГЗ, IV—16 крыс, которым АГЗ перевивали в вышеуказанном количестве на 15-е сутки после иммунизации. Животных вакцинировали по ранее описанной методике [4]. Кровь для исследования у животных II группы брали на 15-е сутки после иммунизации, а у жи-