

9. Прозоровский С. Е., Каф Л. Н., Каган Г. Я. Л-формы бактерий. М., 1981.
10. Finchnan W., Cook F., Lack C. L. Path. Bact., 1969, 99, 283.
11. Ginsburg T. J. Infect. Dis., 1972, 126, 419.
12. Lewker R. L. Clin. Invest., 1975, 55, 975.
13. Jondal M., Holm J., Wigrell H. J. Exp. Med., 1972, 136, 207.
14. Mendes N., Tolnai M., Silverta N. J. Immunol., 1973, 111, 860.
15. Williams R. Clin. Exp. Immunol., 1977, 27, 135.

УДК 612.397.8.015

Л. В. СЕМЕРДЖЯН, Л. В. МХИТАРЯН, М. И. АГАДЖАНОВ

ВЗАИМОСВЯЗЬ  $\alpha$ -ТОКОФЕРОЛА С НАДФН- И  
 АСКОРБАТЗАВИСИМЫМ ПЕРЕКИСНЫМ  
 ОКИСЛЕНИЕМ ЛИПИДОВ, ИНДУЦИРОВАННЫМ  
 ПЕРЕОКИСЛЕННОЙ ЛИНОЛЕВОЙ КИСЛОТОЙ

Путем внутрибрюшинного введения перекисдырованной линолевой кислоты (ПЛК) на крысу создана модель избыточной липидной перекисдыации. При этом в печени и мозге происдыало изменение аскорбат- и НАДФН-зависимого перекисдного окисления липидов. Однако эти изменения неоднотипны в зависимости от органа и срока исследования. Совместное введение ПЛК и  $\alpha$ -токоферола предотвращало указанные изменения.

Перекисдное окисление липидов (ПОЛ) является физиологическим процессом, непрерывно протекающим во всех тканях животных организмов. В обычных условиях этот процесс строго лимитирован. ПОЛ происходит как ферментативным, так и неферментативным путем. Ферментативное НАДФН-зависимое перекисдыение является обязательным этапом на пути синтеза таких биологически активных метаболитов, как стероидные гормоны и простагландины. Велико значение НАДФН-зависимого ПОЛ в метаболизме лекарственных средств и ряда токсических соединений.

Система природных антиоксидантов регулирует ПОЛ по принципу отрицательной обратной связи [3]. Однако нарушение регуляции этого процесса может привести к разрушению клеточных мембран, нарушению их проницаемости, изменению активности целого ряда мембраносвязанных ферментов, вызывая дезинтеграцию внутриклеточных структур, окисление и полимеризацию низкомолекулярных структур внутриклеточных компонентов и макромолекул, что играет важную роль в механизмах клеточного повреждения.

Исследованиями В. Г. Мхитаряна и сотр. [8] показано, что действие различных органических перекисей, ненасыщенных жирных кислот сильно меняет уровень липидных перекисей и  $\alpha$ -токоферола в гомогенатах различных тканей. Нами установлено угнетающее влияние указанных веществ на активность НАДФН-генерирующих ферментов в цитоплазме [11].

Целью настоящей работы явилось изучение аскорбат-зависимого (АЗП) и НАДФН-зависимого перекисдыения (НЗП) в цитоплазме печени и мозга, индуцируемого перекисдыенной линолевой кислотой (ПЛК), а также возможности его коррекции при помощи природного антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола.

## Материал и методы

Опыты ставили на белых крысах-самцах массой 180—220 г, содержащихся на обычном рационе вивариума. Животные были разделены на три группы: I—интактные крысы—служила контролем; II—вводили ежедневно внутривнутрибрюшинно ПЛК (180 мкмоль перекисного кислорода на 1 г линолевой кислоты) в количестве 0,1 мл на 150 г массы животного; III—параллельно с ПЛК ежедневно вводили  $\alpha$ -токоферилацетат в количестве 0,1 мг на 100 г в виде тонкой эмульсии, приготовленной на твин-80.

Через 24 часа, 7 и 14 дней крыс декапитировали. Печень перфузировали охлажденным 0,154 М раствором KCl, на котором готовили 10% гомогенат печени и мозга. Цитоплазматическую фракцию получали путем центрифугирования гомогенатов при 18000 об/мин в течение 30 минут. Все процедуры проводили на холоде.

Об АЗП и НЗП судили по интенсивности цветной реакции малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой [14]. При исследовании АЗП инкубационная среда содержала 40 мМ трис-HCl (рН 7,4), 0,8 мМ аскорбата,  $1,2 \cdot 10^{-5}$  М соли Мора; в случае НЗП— $2 \cdot 10^{-4}$  М пирогосфата натрия,  $1,2 \cdot 10^{-5}$  М соли Мора, 1 мМ НАДФН. Содержание липидных перекисей выражали в мкмоль МДА на 1 мг белка. Для расчета использовали коэффициент молярной экстинкции  $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$  [14]. Содержание белка определяли по методу Lowry [15].

## Результаты и обсуждение

Как видно из табл. 1, сравнительно большую чувствительность к воздействию ПЛК проявляет АЗП в мозге и несколько слабее в печени. НЗП в печени после подавления через 24 часа и 7 дней к концу эксперимента значительно активизируется. В мозге через 24 часа НЗП почти не меняется, а в последующие сроки отмечается его повышение (на 67, 3%). Направленность АЗП в исследуемых тканях одинаковая, но уровень их изменений различный. Таким образом, ПЛК в мозге и печени вызывает неоднотипные сдвиги в системах ПОЛ.

В результате окисления ненасыщенных жирно-кислотных радикалов мембранных фосфолипидов происходит нарушение липид-белковых взаимодействий, вызывающее конформационные изменения белков преимущественно путем воздействия на сульфгидрильные группы белка [5]. Не исключено, что деструктивные изменения мембран, развивающиеся в результате перекисидации липидов, оказывают отрицательное влияние на активность мембраносвязанных ферментов, в том числе глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГД), являющихся основным поставщиком эндогенного НАДФН.

Факторы, ведущие к опустошению фондов НАДФН, способствуют падению ПОЛ в НАДФН-зависимой системе, соответственно и снижению эффективности антирадикальной защиты клетки [12]. Вероятно, защиту липидов мембран в условиях наших экспериментов от перекис-

ного окисления обеспечивают антиоксиданты липидной фазы, в первую очередь,  $\alpha$ -токоферол ( $\alpha$ -ТФ) [9]. Однако расход токоферола в условиях усиленной липидной перекисидации, ограниченная возможность восстановления токоферилхинона в токоферол из-за низкой активности Г-6-ФД могут привести к снижению его стационарного уровня [12].

Таблица 1  
АЗП и НЗП в мозге и печени крыс при введении перекисидированной линолевой кислоты (нмоль МДА/мг белка)

Вид ПОЛ	Ткань	Контроль	Сроки исследований		
			24 часа	7 дней	14 дней
АЗП	печень	5,95±0,34 n=14	5,053±0,48 n=14 P>0,002	17,62±0,6 n=9 P<0,001	8,28±0,23 n=12 P<0,001
НЗП		4,6±0,05 n=12	3,2±0,26 n=12 P<0,001	2,99±0,22 n=12 P<0,001	6,9±0,15 n=12 P<0,001
АЗП	мозг	6,06±0,27 n=12	4,71±0,14 n=12 P<0,001	17,0±0,56 n=12 P<0,001	13,2±0,84 n=12 P<0,001
НЗП		9,68±0,16 n=12	10,10±0,25 n=12 P<0,5	16,2±0,72 n=12 P<0,001	12,88±0,84 n=12 P<0,001

Таблица 2  
АЗП и НЗП в мозге и печени крыс при совместном введении перекисидированной линолевой кислоты и  $\alpha$ -токоферола (нмоль МДА/мг белка)

Вид ПОЛ	Ткань	Контроль	Сроки исследований		
			24 часа	7 дней	14 дней
АЗП	печень	5,95±0,34 n=14	5,57±0,6 n=10 P<0,5	9,01±0,43 n=12 P<0,001	5,11±0,48 n=10 P<0,25
НЗП		4,6±0,05 n=12	4,9±0,27 n=12 P<0,1	4,44±0,4 n=10 P<0,5	5,52±0,2 n=10 P<0,001
АЗП	мозг	6,065±0,27 n=12	5,61±0,28 n=10 P>0,05	8,28±0,2 n=10 P<0,001	7,59±0,3 n=12 P<0,01
НЗП		9,68±0,16 n=12	8,96±0,24 n=8 P<0,05	9,85±0,12 n=10 P<0,5	10,17±0,24 n=12 P<0,1

В литературе имеются данные, свидетельствующие об угнетении системы НЗП в гепатоцитах и изменении функции ферментов преимущественно НАДФН-зависимой редокс-цепи в мембранах эндоплазматического ретикулума при нарушении печеночного кровотока [9]. Известно также, что при ишемии печени наряду с нарушением электрон-транспортной функции начального участка НАДФН-зависимой редокс-цепи и снижением содержания цитохрома Р-450 не изменяется функция НАДФН-редокс-цепи окисления. Предварительное введение  $\alpha$ -ТФ подавляет липидную перекисидацию, повышает каталитическую актив-

ность цитохрома Р-450, однако не нормализует электронтранспортную функцию начального участка НАДФН-зависимой редокс-цепи [6].

Многочисленные данные свидетельствуют о том, что в НЗП важная роль принадлежит фосфолипидам эндоплазматического ретикулула [2, 7]. В связи с этим представляют интерес данные об уменьшении содержания различных фракций фосфолипидов в гепатоцитах при ишемии печени крыс [1].

Полученные нами данные с ПЛК свидетельствуют о преимущественном повышении в печени АЗП и понижении НЗП. Последнее, возможно, обусловлено совокупностью нескольких факторов: количеством субстратов, уменьшением фонда доноров водорода, ингибированием НАДФН-специфической электронтранспортной цепи. Активация АЗП в определенной мере может быть обусловлена сохранением НАДН-зависимой редокс-цепи [2].

По-видимому, полученные нами сдвиги нельзя полностью объяснять увеличением ПОЛ мембран. В литературе обсуждается также вопрос о возможности деструкции клеточных мембран в результате интенсификации эндогенных фосфолипаз [1, 10]. Вероятность указанного мембраноповреждающего фактора в условиях нашего эксперимента подтверждается большой поражаемостью НАДФН-зависимой редокс-цепи, компоненты которой более чувствительны к воздействию фосфолипаз [10].

Как видно из данных табл. 2, при совместном введении ПЛК и  $\alpha$ -ТФ наблюдается тенденция к предотвращению усиления АЗП и НЗП липидов в обоих органах. Защитное действие  $\alpha$ -ТФ, по-видимому, обусловлено его антиоксидантным свойством и мембраностабилизирующим действием, обусловленным способностью взаимодействия с сульфгидрильными группами белков и полиненасыщенными липидами [4, 13]. В результате этого взаимодействия тормозится окислительное разрушение ненасыщенных жирных кислот, а также предотвращается гидролиз фосфолипидов фосфолипазами.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о фазовых изменениях в системе образования и устранения липидных перекисей в цитоплазме печени и мозга под влиянием ПЛК и  $\alpha$ -ТФ, направленность и интенсивность которых зависит от сроков и тканевой специфичности.

Бьявленные закономерности можно отнести к различным патологическим состояниям, в патогенезе которых определенную роль играют процессы ПОЛ.

Кафедра биохимии  
Ереванского медицинского  
института

Поступила 6/V 1987 г.

ԱՍԿՈՐԲԱՏ ԵՎ ՆԱԴՖՅԻ ԿԱԽՈՒՄ ՈՒՆԵՑՈՂ ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՑՄԱՆ ՓՈԽԱՎԱՐՁ ԿԱՊԸ  $\alpha$ -ՏՈԿՈՖԵՐՈՒԻ ՀԵՏ ԻՆՏՐԱԿՅՎԱԾ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՑՎԱԾ ԼԻՆՈԼԻԱԹԹՎՈՎ

Առնետներին գերօքսիդացված լինողաթթվով ներորոպայնային ներարկման ճանապարհով ստեղծել ենք լիպիդների գերօքսիդացման ավելցուկային մոդել:

Պարզվում է, որ այդ պայմաններում լյարդում և ուղեղում տեղի են ունենում ասկորբատ և ՆԱԴՖՅԻ կախում ունեցող լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման փոփոխություններ: Այդ փոփոխությունները թեպետ մեծ մասամբ ուղղված են ուժեղացման կողմը, սակայն միատիպ չեն և կախված են օրգաններից և հետազոտման ժամկետներից:

Ցույց է տրված, որ գերօքսիդացված լինողաթթվի և  $\alpha$ -տոկոֆերոլի համատեղ ներարկումը կանխում է նշված փոփոխությունները:

L. V. SEMERJIAN, L. V. MKHITARIAN, M. I. AGHADJANOV  
CORRELATION OF  $\alpha$ -TOCOPHEROLE WITH NADPH AND ASCORBATE-DEPENDENT PEROXIDATION OF LIPIDS INDUCED BY PEROXIDATED LINOLIC ACID

A model of superfluous lipid peroxidation was created by the way of intraabdominal injection to rats of peroxidated linolic acid (PLA). There were revealed changes of ascorbate and NADPH-dependent oxidation of lipids in the liver and brain. These changes although are entirely moved to be intensified, but are not of the some type upon the dependence from the organ and the time of research. The coinjection of PLA and  $\alpha$ -tocopherol prevented the indicated changes.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алесенко А. В., Андреева Л. Б. В кн.: Структура, биосинтез и превращение липидов в организме животного и человека. Л., 1978, с. 19.
2. Арчаков А. И. Микросомальное окисление. М., 1975.
3. Бурлакова Е. Е., Кухтина Е. Н., Храпова Н. Г., Аристархова С. А. Биохимия, 1982, 47, 5, с. 822.
4. Бурлакова Е. Б., Аристархова С. А., Хромова Н. Г. Витамины, т. 2. Киев, 1975.
5. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
6. Воронов Г. Г., Лукиенко П. И. Вопр. мед. химии, 1983, 29, 6, 2, с. 90.
7. Ляхович В. В., Ильров И. Б. Структурные аспекты биохимии монооксигеназ. Новосибирск, 1978.
8. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаян Е. А. Биол. ж. Армении, 1974, 27, 6, с. 3.
9. Островгерхов Г. Е., Малюгин Э. Ф. В кн.: Экспериментальные основы лечения печеночной недостаточности. М., 1975, с. 7.
10. Сейфулли Р. Д., Онищенко Н. А. Фармакол. и токсикол., 1979, 2, с. 157.
11. Семерджян Л. В., Мхитарян В. Г. Ж. экспер. и клин. мед. АН АрмССР, 1976, 5, с. 16.
12. Сторожок С. А. Вопросы мед. химии, 1983, 29, 6, с. 31.
13. Diplock A. T., Lucy J. A. FEBS Letters, 1973, 29, 205.
14. Hochstein P., Eruster L. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1963, 12, 338.
15. Lowry O. H., Rosebrough N. S., Faur A. L., Randall R. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.