

М. С. ГРИГОРЯН, Г. В. ЗАХАРЯН

ВЛИЯНИЕ МОЛИБДЕНА НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ОБМЕН ФОСФОЛИПИДОВ

Молибден принадлежит к микроэлементам с широким спектром биологического действия. Установлено благотворное влияние биотических количеств молибдена на ряд важнейших функций организма. Однако избыточное поступление молибдена в организм вызывает серьезные нарушения в организме человека и животных.

В наших наблюдениях как в натуральных условиях, так и в модельных опытах показаны значительные нарушения, происходящие в ферментных системах (в особенности в ферментах, в простетическую группу которых входят молибден и медь).

В настоящее время установлено важное значение липидов в механизмах регуляции трансмембранного переноса ионов и различных метаболитов в структуре и функциональной активности мембраносвязанных липидзависимых ферментов клеточных органелл. Изменение количественного состава фосфолипидов приводит к нарушению микроструктуры, физико-химических свойств и основных функций мембран, в частности меняются показатели прочности, проводимости, активности ферментов и др.

В доступной нам литературе мы не нашли сведений, касающихся влияния молибдена на фосфолипидный обмен и на процессы перекисного окисления. В свете приведенного выше нами были предприняты исследования по изучению закономерностей количественного состава фосфолипидов в печени и состояния процесса перекисного окисления липидов в микросомальной фракции печени под влиянием различных доз молибдена.

Материал и методы

Исследование проводили на 90 беспородных белых крысах обоего пола массой 150—200 г, получавших водный раствор молибденокислого натрия (NaMoO_4) в пересчете на элементарный молибден из расчета 50, 100, 300, 500 мг/кг живого веса ежедневно *per os* в течение 30 дней.

Гомогенизирование печеночной ткани проводили в среде, содержащей 0,25М сахарозу и 0,01М трис-HCl буфер, pH 7,4. Микросомальную фракцию выделяли центрифугированием при 105000g из надосадочной жидкости, полученной после осаждения митохондрий при 11000g [1]. Активность перекисного окисления липидов изучали в НАДФН-и аскорбат-зависимых системах окисления по выходу малонового диальдегида, определяемого по реакции с тиобарбитуровой кислотой [2]. Содержание гидроперекисей липидов определяли с помощью цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [8]. Содержание микросомального белка определяли методом Lowry [10]. Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили с помощью одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля с использованием системы растворителей: хлороформ-метанол-аммиак 65:35:5. Фосфолипидные пятна идентифицировали с помощью соответствующих свидетелей. Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде серной и азотной кислот с последующим расчетом количества фосфора в мкг на 1 мг сухой массы [5]. Статистическую значимость результатов исследований оценивали методом Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Нами изучены процессы перекисного окисления липидов в микросомальной фракции печени белых крыс, где, как известно, реакции свободнорадикального окисления полиеновых ацилов мембранных фосфолипидов протекают с помощью АДФ зависимой диоксигеназы (ферментативный путь окисления) и неферментативным путем [2]. Как показали наши исследования, содержание перекисей липидов и гидроперекисей в микросомальной фракции печеночной ткани белых крыс претерпевает определенные изменения, степень которых находится в прямой зависимости как от количества задаваемого молибдена, так и от продолжительности дачи его (табл. 1 и 2). Так, наибольшее накопление липидных перекисей отмечается на 30-й день при даче 300 и 500 мг/кг в период развития молибденового токсикоза: аскорбат-зависимое переокисление — $25,51 \pm 1,12$ и $26,35 \pm 0,92$, НАДФН-зависимое — $23,12 \pm 1,10$ и $25,99 \pm 0,88$ соответственно (табл. 1)

Таблица 1

Содержание перекисей липидов (в нмоль малонового диальдегида на 1 мг белка) в микросомальной фракции печеночной ткани белых крыс при молибденовом токсикозе /n=6/

Дни исследо- ваний	Дозы в мг/кг	Аскорбат- зависимое пере- кисление		НАДФН-зависимое пере- кисление	
		9,53±0,56		7,69±0,88	
Контроль					
10	50	11,17±0,64	P<0,1	10,46±1,10	P<0,05
	100	12,58±0,51	P<0,01	11,42±0,69	P<0,02
	300	14,81±0,61	P<0,001	13,71±0,53	P<0,002
	500	17,77±0,88	P<0,001	17,49±0,32	P<0,001
20	50	16,17±0,12	P<0,01	14,75±0,85	P<0,001
	100	17,51±1,00	P<0,001	15,28±1,08	P<0,001
	300	21,56±0,63	P<0,001	14,04±0,93	P<0,002
	500	24,05±1,35	P<0,001	19,48±0,82	P<0,001
30	50	14,66±0,83	P<0,001	14,80±0,53	P<0,001
	100	18,41±0,77	P<0,001	16,81±0,63	P<0,001
	300	25,51±1,12	P<0,001	23,12±1,10	P<0,001
	500	26,35±0,92	P<0,001	25,99±0,88	P<0,001

Из приведенного следует, что молибденовый токсикоз сопровождается активированием процесса перекисеобразования в микросомальной фракции как в аскорбат-, так и в НАДФН-зависимых системах окисления. Сдвиги в интенсивности течения свободнорадикального окисления более выражены в неферментативной системе окисления. Первичный механизм зарождения свободных радикалов при молибденовом токсикозе остается проблематичным, хотя из литературных данных известно, что развитие патологических процессов в печеночной ткани характеризуется определенным стимулированием реакций радикалообразования [2]. Изменение спектров электронного парамагнитного резонанса в митохондриях печени при даче молибдена позволило выявить повышение концентрации свободных радикалов в цепи переноса электронов [7]. Одним из пусковых механизмов перекисного окисления липидов являются супероксидные радикалы, которые образуются при аэробном окислении ксантиноксидазы, а так-

Те при действии альдегидоксигеназы. Эти два фермента содержат в своей структуре молибден, и активность их повышена при молибденовом токсикозе [4]. По всей видимости, супероксидный анион-радикал, генерируемый ксантин-оксидазой, при аэробном окислении ксантина может быть одним из факторов, индуцирующих перекисаацию липидов микросомальных мембран. В настоящее время считают, что цитотоксичность супероксидного радикала обусловлена тем, что этот радикал является первичным и относительно стабильным продуктом восстановления кислорода, и с его помощью образуются другие формы более сильных окислителей — гидроксильный радикал и синглетновозбужденная молекула кислорода. Образование супероксидного радикала является одной из причин стимулирования реакций радикалообразования при молибденовом токсикозе. Регуляция скорости перекисного окисления осуществляется антиоксидантами, действие которых сводится к ингибированию свободнорадикальных реакций. Антиоксидантами являются сульфгидрильные соединения, изменение концентрации SH групп может определять скорость перекисного окисления. Сульфгидрильные соединения обладают способностью превращать радикальные группы в молекулярные и выводить их из организма. Из литературных данных известны такие биоантиоксиданты, как цистеин и глутатион, разрушающие перекиси в олеиновой кислоте [9]. Нам представляется, что наблюдаемое нами увеличение количества перекисей при молибденовом токсикозе может быть объяснено, с одной стороны, увеличением концентрации свободных радикалов, с другой — уменьшением количества антиоксидантов.

Т а б л и ц а 2

Содержание гидроперекисей (Е480/мг белка) в микросомальной фракции печеночной ткани белых крыс, получавших молибден (n=6)

Дни исследова- ний	Дозы в мг/кг	Аскорбат-зависимое перекисление		НАДФН-зависимое перекисление	
		0,52±0,04		0,40±0,03	
К о н т р о л ь					
10	50	0,63±0,03	P<0,05	0,48±0,02	P<0,05
	100	0,72±0,05	P<0,001	0,62±0,04	P<0,001
	300	0,88±0,06	P<0,002	0,68±0,05	P<0,001
	500	0,92±0,03	P<0,001	0,73±0,06	P<0,001
20	50	0,65±0,02	P<0,01	0,72±0,07	P<0,01
	100	0,75±0,04	P<0,001	0,77±0,05	P<0,001
	300	0,88±0,03	P<0,001	0,83±0,06	P<0,001
	500	0,89±0,04	P<0,001	0,84±0,07	P<0,001
30	50	0,77±0,01	P<0,001	0,82±0,07	P<0,001
	100	0,87±0,06	P<0,001	0,88±0,05	P<0,001
	300	0,92±0,07	P<0,001	0,50±0,04	P<0,001
	500	0,98±0,06	P<0,001	0,92±0,06	P<0,001

Как было отмечено выше, перекисное окисление оказывает влияние и на фосфолипидные компоненты клетки. Исходя из этого мы считали важным проследить за качественным и количественным содержанием фосфолипидов в печени под влиянием молибдена.

Молибден оказывает неодинаковое влияние на содержание фосфолипидов в печени. Так, содержание фосфолипидов, в состав которых входят ацил-ненасыщенные жирные кислоты — фосфатидилхолин, фосфатидил-

этаноламин, фосфатидилсерин, во все сроки и под влиянием различных количеств молибдена уменьшается. Необходимо подчеркнуть факт увеличения количества лизофосфатидилхолина во все сроки наблюдений и особенно при развитии молибденового токсикоза, что связано с усилением процесса пероксидации липидов, с одной стороны, и повышением активности фосфолипазы A_2 — с другой. По нашим данным, количество сфингомиелина не претерпевает каких-либо существенных отклонений, что объясняется его структурой, содержащей в своем составе насыщенные жирные кислоты, которые более устойчивы к окислению.

Большой интерес вызывает изменение содержания монофосфоинозитид-фосфатидов и кардиолипидов. Благодаря наличию диссоциированных фосфатных групп инозитидфосфатиды обладают ярко выраженными анионными и гидрофильными свойствами, что позволяет им в силу своей электроотрицательности при физиологических значениях рН влиять на общий заряд мембран клеток. Результаты наших исследований показали увеличение содержания монофосфоинозитидов и кардиолипидов. Отмеченное увеличение этих фосфолипидов, по всей видимости, связано с компенсаторно-приспособительными механизмами, направленными на нормализацию происходящих нарушений.

Таким образом, отмеченное нами изменение скорости окислительных реакций в печени при молибденовом токсикозе связано с изменением состава фосфолипидов. Все это, по-видимому, вместе с другими нарушениями, происходящими под влиянием молибдена, включается в цепь причинно-следственных взаимоотношений, приводящих к молибденовому токсикозу.

Полученные нами данные показывают, что в патогенезе молибденового токсикоза немаловажное значение имеет нарушение процессов перекисного окисления липидов и обмена фосфолипидов.

Кафедра физиологии, патфизиологии
и радиобиологии Ереванского
Зооветеринарного института

Поступила 12.12.1991 г.

Մ. Ս. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Գ. Վ. ԶԱԽԱՐԻԱՆ

ՄՈԼԻԲԴԵՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՖՈՍՖՈԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՅԻՆ ՕՔՍԻԴԱՑՄԱՆ ՎՐԱ

Սպիտակ առնետների լյարդում ուսումնասիրվել է մոլեբդենի ազդեցությունը ֆոսֆոլիպիդների փոխանակության և լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման արոցների վրա: Ցույց է տրված, որ մոլեբդենի ներարկումը ակտիվացնում է լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացումը, ինչպես նաև ավելացնում լիզոֆոսֆատիլիխոլինների ու կարդիոլիպիդների և նվազեցնում ֆոսֆատիլիխոլինների ու ֆոսֆատիլիլեթանոլամինների քանակը:

M. S. GRIGORIAN, G. V. ZAKHARIAN

Molibden Effect on Phospholipids Metabolism and Lipid Peroxidation

The quantitative and qualitative composition of phospholipids and lipid peroxidation rate as a result of molibden effect were studied in rat's liver tissue. It was revealed that under molibden influence the decrease in phosphatidylcholines, phosphatidylethanolamines, phosphatidylserines and increase in lizophosphatidylcholine and cardiolipids content take place. At the

same time the lipid peroxidation was activated both in ascorbate-dependent NADPH-dependent oxidative systems.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков А. И., Девечинский В. М. Биохимия, 1968, 33, с. 479.
2. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
3. Григорян М. С., Брутян А. С. Труды Ереванского ЗВИ, в. 29. Ереван, 1968.
4. Гусев Э. В. Рациональное питание, 1973, 3, с. 63.
5. Григорян М. С. и соавт. Методы биохимических исследований. Л., 1981, с. 73.
6. Григорян М. С. и др. Определение степени адаптации овец в различных экологических зонах. Ереван, 1989.
7. Машинян А. Х. Автореф. дисс. канд. Ереван, 1982.
8. Романова Л. А., Стальная И. Д. В кн.: Современные методы в биохимии. М., 1977, с. 64.
9. Тарусов Б. Н., Журавлев А. И. Радиобиология. 1962, 2, 2, с. 177.
10. Lowry O. H., Rosenbrough N. T., Farr A. Z., Rande R. T. J. Biol. Chem., 1951, 193, 1, 265.

УДК 616.7—089.843

Л. Г. САПОНДЖЯН, А. В. АЗНАУРЯН, Л. И. КОСТАНДЯН, Т. В. ХАНАМИРЯН

ИЗУЧЕНИЕ ОСТЕОГЕННЫХ СВОЙСТВ СОЧЕТАННОГО БИОТРАНСПЛАНТАТА

В настоящее время в клинике широко используются биотрансплантаты, обладающие остеоиндуктивными свойствами [4,6,7,9,10]. Однако несмотря на положительные результаты, в ряде случаев применение их не приводит к желаемому исходу лечения.

В задачу нашего исследования входило получение трансплантата, обеспечивающего поэтапную стимуляцию остеогенеза в области пересадки в сжатые сроки. Компонентами были выбраны: аллогенный костный матрикс, костная мука и коллагеновый гель, известные как индукторы репаративной регенерации [1,2,8, 11—15].

Материал и методы

Остеоиндуктивные свойства сочетанного биотрансплантата и возможность его применения с целью стимуляции репаративной регенерации костной ткани изучались в эктопическом (30 крыс линии «Вистар») и топическом (28 кроликов новозеландской породы) очагах. Анализ полученных результатов проводился гистологическими, гистохимическими и рентгенологическими методами исследования в сроки 7, 14, 21, 30, 60, 90 и 180 дней. Эктопическая имплантация трансплантатов весом 25—30 мг проводилась под эфирным наркозом в мышцы передней брюшной стенки крыс (средней массой 150 г). Опыты на кроликах (средней массой 2,5 кг) по замещению нерегенерирующего дефекта черепа [3,5] проводились под нембуталовым наркозом (в/в 35—40 мг/кг). После оголения костей свода черепа электротрешпаном создавался дефект теменной кости диаметром 12—13 мм и замещался сочетанным трансплантатом. Рана ушивалась послойно.

Результаты и обсуждение

Сочетанный трансплантат в эктопическом очаге хорошо адаптировался в ложе реципиента на 7—14-е сутки. Отмечалась активная резорбция костного матрикса, на всем протяжении трансплантата наблюдалось прорастание остеобластической ткани с проникновением сосудов. К 21-ым суткам отмечалось формирование обширных полей грубоволокнистой кости с