

## Влияние паратиреоидина на процессы перекисного окисления липидов в различных тканях крыс

А.К.Гамбарян<sup>1</sup>, Л.М.Сукиасян<sup>1</sup>, Г.А.Овеян<sup>2</sup>, Д.Н.Худавердян<sup>1</sup>

*ЕрГМУ им. М. Гераци, <sup>1</sup>кафедра нормальной физиологии и  
<sup>2</sup>кафедра общей и биоорганической химии*

**Ключевые слова:** паратиреоидин, ионы кальция, перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты,  $\alpha$ -токоферол

Ранее нами было показано изменение внешнесекреторной деятельности поджелудочной железы, выражающееся в уменьшении содержания панкреатических ферментов в крови в условиях нарушенного кальциевого обмена [4]. Данные литературы свидетельствуют о многогранном участии ионов кальция в процессах панкреатической секреции [20,26,27]. Доказана существенная роль этих ионов как в формировании структуры зимогенных гранул [27], так и в экстрюзии различных компонентов панкреатического сока. Имеются также данные об опосредованном участии  $Ca^{2+}$  во влиянии на поджелудочную железу различных стимуляторов секреции [20].

С другой стороны, общеизвестен факт прямой зависимости функциональной активности клеток, интенсивности и направленности мембранозависимых секреторных процессов от состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) [7,21, 22]. Учитывая это, а также исключительную роль паратормона (ПГ) в специфической регуляции кальциевого гомеостаза, мы задались целью изучить состояние ПОЛ и антиоксидантной системы в митохондриальной фракции поджелудочной железы в условиях введения ПГ. Интерес к изучаемой теме обоснован имеющимися в литературе данными последних лет о взаимосвязи между обменом  $Ca^{2+}$  и процессами ПОЛ [8,11,23,28]. Полученные результаты позволят выявить возможное отношение ПГ к про- или антиоксидантной системе и приблизиться к раскрытию механизмов нарушения деятельности поджелудочной железы, где могут быть задействованы ионы кальция и кальцийрегулирующая система. Для сравнительного анализа результатов исследования мы также изучили показатели ПОЛ в митохондриальной фракции печени, эритроцитарной мембране и плазме крови.

### Материал и методы

Эксперименты проводились на белых крысах-

самцах, массой 150–200 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животные были разделены на 2 группы. Особям опытной группы однократно внутримышечно вводился паратиреоидин (Россия) в дозе 0,5 ед. на 100 г массы животного, а животным контрольной группы – физиологический раствор. Через 0,5 ч после инъекции животных декапитировали под легким эфирным наркозом и выделяли поджелудочную железу и печень. В митохондриальной фракции этих тканей, выделенной методом дифференциального центрифугирования [10], в эритроцитарных мембранах (ЭМ), выделенных методом Lember G.K. [24], и в плазме изучали процессы ПОЛ.

Активность системы ПОЛ во всех изучаемых тканях определяли по накоплению малонового диальдегида (МДА) и выражали в *нмоль* МДА на 1 *мг* белка [2,3,19]. Изучали также процессы аскорбатзависимого ПОЛ (АЗП) и NADPH-зависимого ПОЛ (НЗП). При исследовании АЗП инкубационная среда содержала 0,3 *мл* 10% взвеси эритроцитарных мембран, 40 *мМ* трис-НСI, рН=7,4, 0,8 *мМ* аскорбата,  $12 \times 10^{-6}$  *М* соли Мора; при исследовании НЗП –  $2 \times 10^{-4}$  *М* пиродифосфата натрия,  $12 \times 10^{-6}$  *М* соли Мора, 1 *мМ* NADPH. Содержание МДА-модифицированных белков и диеновых конъюгатов (ДК) определяли по методу Ю.А. Владимирова и А.И. Арчакова [2] и выражали соответственно в *ед/мл* и *нмоль/мл* – для плазмы крови и в *ед/мг* и *нмоль/мг* белка – для мембран. О состоянии антиоксидантной системы судили по содержанию  $\alpha$ -токоферола, определяемого флуориметрическим методом [19] на спектрофлуориметре фирмы "Hitachi" (Япония), и выражали в *нмоль/мг* белка для ЭМ и в *нмоль/мл* для плазмы крови. Белок определялся по методу Lowry O.H. [25].

В плазме определяли и среднемолекулярные пептиды (СМП) по методу Владыко А.С. и др. [3] и выражали в *нмоль/мл* плазмы, а также уровень фоновых липидных перекисей (ФЛП) по методу Yoshioka T. et al. [29] в *нмоль* МДА на 1 *мл* плазмы.

Параллельно в сыворотке крови с помощью ионо-

Таблица 1

Показатели ПОЛ и уровень  $\alpha$ -токоферола в митохондриях печени и поджелудочной железы и эритроцитарных мембранах белых крыс под влиянием паратиреоидина

Исследуемый показатель	Поджел. железа		Печень		Эритроцит. мембрана	
	К	О	К	О	К	О
АЗП (нмоль МДА/мг белка)	4,85±0,086	8,29±0,112***	3,14±0,11	4,27±0,08***	2,19±0,068	3,96±0,143***
НЗП (нмоль МДА/мг белка)	5,79±0,146	9,19±0,095***	5,27±0,133	6,99±0,11***	3,23±0,097	5,78±0,115***
Диеновые конъюгаты (нмоль МДА/мг белка)	1,15±0,074	1,58±0,044***	0,9±0,045	1,18±0,05**	3,89±0,126	5,07±0,15***
МДА-модифиц. белки (ед/мг)	0,05±0,003	0,07±0,002***	0,02±0,001	0,03±0,003*	0,05±0,004	0,08±0,004***
$\alpha$ -токоферол (нмоль МДА/мг белка)	1,68±0,05	1,03±0,054***	1,6±0,05	0,92±0,05***	7,43±0,104	6,23±0,105***

Примечание: К – контроль, О – опыт; n = 6.

Достоверно в сравнении с контролем: \* p<0,05, \*\* p<0,01, \*\*\* p<0,001

селективного анализатора фирмы "Коне-Микролит" (Финляндия) определялось содержание ионизированного кальция в ммольях.

Статистическую обработку данных проводили по Стьуденту.

## Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что в условиях введения паратиреоидина в исследуемых тканях происходит значительное повышение интенсивности процессов как неферментативного (АЗП), так и ферментативного (НЗП) ПОЛ. Наиболее выраженными являются сдвиги в ЭМ, где активность АЗП и НЗП возрастает на 80,8 и 78,9% соответственно. Схожие данные выявляются в митохондриальной фракции поджелудочной железы, в которой изменения по ферментативному ПОЛ составляют 58,7% и неферментативному – 70,9%. Наименьший рост активности ПОЛ наблюдается в печени по АЗП и НЗП – 35,9 и 32,6% соответственно (табл.1).

Подтверждением повышенной активности процессов ПОЛ является и выраженное повышение содержания МДА-модифицированных белков и ДК не только в ЭМ, митохондриальной фракции ткани поджелудочной железы и печени, но и в плазме (табл.1,2). В плазме под влиянием паратиреоидина наблюдается также рост общего содержания ФЛП и увеличение уровня СМП, что также указывает на повышенную способность мембранных липидов к перекислению (табл.2).

Необходимо отметить, что во всех исследуемых тканях указанные изменения сопровождаются досто-

Таблица 2

Показатели ПОЛ и уровень  $\alpha$ -токоферола в плазме белых крыс под влиянием паратиреоидина

Исследуемый показатель	Плазма	
	К	О
ФЛП (нмоль МДА/мл)	5,84±0,096	7,82±0,111**
Диенов. конъюг. (нмоль МДА/мл белка)	4,24±0,1	5,73±0,11**
МДА-модифиц. белки (ед/мл)	0,76±0,044	1,03±0,028**
$\alpha$ -токоферол (нмоль МДА/мл белка)	1,55±0,052	1,08±0,069**
СМП (нмоль/мл)	0,16±0,008	0,3±0,041*

Примечание. К – контроль, О – опыт; n = 6.

Достоверно в сравнении с контролем: \* p<0,01, \*\* p<0,001

верным снижением уровня важнейшего эндогенного антиоксиданта –  $\alpha$ -токоферола, наиболее выраженным в митохондриальной фракции печеночной ткани (табл.1, 2).

Проведенное под влиянием паратиреоидина изучение содержания ионизированного кальция в сыворотке крови не выявило по сравнению с контролем достоверно значимых изменений (1,156±0,02 мМ (n=5) против 1,108±0,03 мМ, n=6), что согласуется с имеющимися литературными данными [13].

Обобщая вышеизложенное, можно констатировать, что однократное введение паратиреоидина приводит к выраженной интенсификации процессов сво-

боднорадикального окисления и подавлению активности антиоксидантной системы в митохондриях поджелудочной железы и печени, а также в ЭМ и плазме.

В литературе имеются единичные публикации относительно влияния ПГ на ПОЛ, которые косвенно указывают на возможную активацию гормоном процессов верным снижением уровня важнейшего эндогенного антиоксиданта –  $\alpha$ -токоферола, наиболее выраженным лудочной железы и печени, а также в ЭМ и плазме.

В литературе имеются единичные публикации относительно влияния ПГ на ПОЛ, которые косвенно указывают на возможную активацию гормоном процессов пероксидации [9,17,18]. Известно, что эффекты ПГ на те или иные процессы могут быть следствием как прямого его воздействия через мембранные и внутриклеточные мессенджерные системы, так и его опосредованного влияния через изменение общего гомеостаза кальция. Хотя в литературе имеются указания на взаимосвязь между обменом кальция и ПОЛ, где этим ионам приписывается роль прооксиданта [8,11,23,28], в настоящем исследовании в связи с отсутствием изменений в уровне  $Ca^{2+}$  в крови полученные эффекты следует расценивать как результат прямого воздействия паратиреоидина на ПОЛ - антиоксидантную систему. С этой точки зрения, представляют интерес следующие предположения относительно механизмов влияния паратиреоидина. Известно, что ПГ реализует свое воздействие через вторичные мессенджеры, в том числе и через cAMP, увеличивая его содержание [14]. Учитывая это, а также принимая во внимание факт активации cAMP процессов ПОЛ [5], можно предположить, что этот механизм является одним из возможных путей действия паратиреоидина.

Кроме того, описано стимулирующее влияние ПГ на высвобождение свободной арахидоновой кислоты [16], которая, являясь полиненасыщенной жирной кислотой и одновременно одним из основных субстратов пероксидации, может вызвать активацию про-

цессов ПОЛ. Возможность такого пути влияния ПГ становится еще более вероятной с учетом повышения под влиянием гормона содержания диацилглицерина [15,16], который через активацию фосфолипазы  $A_2$  увеличивает пул незэстерифицированных жирных кислот, а соответственно и уровень липидных перекисей.

Нельзя не учитывать также и происходящей под влиянием ПГ активации пентозомонофосфатного пути окисления глюкозы с возможным избыточным образованием NADPH [15], что, в свою очередь, стимулирует процесс ферментативного ПОЛ.

Что касается антиоксидантной системы, то, возможно, наблюдаемое под влиянием паратиреоидина подавление ее активности еще больше усугубляет течение ПОЛ, а в тканях в ответ на интенсификацию процессов пероксидации не успевает сработать адаптационный механизм, направленный на усиление антиоксидантной защиты мембран.

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что такой важнейший неспецифический стресс-реализующий адаптивный механизм как процесс переокисления липидов находится под регуляторно-модуляторным контролем другой стресс-реализующей – кальцийрегулирующей системы.

Если исходить из имеющихся данных о ранней активации системы паратгормон-кальций в условиях стресс-реакции [6,12], можно допустить, что приспособление организма к действию чрезвычайных раздражителей осуществляется в том числе и за счет последовательной активации деятельности стресс-реализующей – кальцийрегулирующей системы организма.

Независимо от механизмов активации ПОЛ под влиянием паратиреоидина увеличение содержания продуктов переокисления липидов может явиться причиной серьезных структурных повреждений мембраны клеток, а значит, и неизбежных функциональных нарушений органов и систем.

Поступила 05.12.02

### Պարաթիրեոիդինի ազդեցությունը լիպիդային գերօքսիդացման վրա առնետների հյուսվածքներում

Հ.Կ. Ղամբարյան, Լ.Մ. Սուքիասյան, Գ.Ա. Հովեյան, Դ.Ն. Խուրապիրոյան

Պարաթիրեոիդինի (0,5 միավոր 100 գ զանգվածին) ներարկումից 30 ր անց ուսումնասիրվել են լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսները առնետների ենթաստամոքսային գեղձի, լյարդի, էրիթրոցիտային քաղանթի հյուսվածքներում և

պլազմայում: Բոլոր ուսումնասիրված օբյեկտներում հայտնաբերվել է մալոնային դիալդեհիդի, ՄՂԱ-մոդիֆիկացված սպիտակուցների, դիենային կոնյուգատների քանակի աճ, ինչպես նաև  $\alpha$ -տոկոֆերոլի մակարդակի իջեցում: Նույն պայմաններում

պլազմայում նկատվել է միջին մոլեկուլային զանգվածով պեպտիդների ընդհանուր քանակի ավելացում:

Ստացված տվյալները վկայում են լիպիդային

գերօքսիդացման պրոցեսների ակտիվացման և հակաօքսիդանտային համակարգի ակտիվության ընկճման մասին:

## Influence of parathyreoidine on lipid peroxidation processes in rat different tissues

H.K.Gambaryan, L.M.Sukiasyan, G.A.Hoveyan, D.N.Khudaverdyan

The lipid peroxidation (LPO) product levels in the pancreatic and hepatic tissues as well as erythrocyte membranes and plasma of albino rats have been studied 30 min after parathyreoidine intramuscular single administration in 0,5Un/100g dosage. It has been revealed that the contents of malonic dialdehydes (MDA), MDA –

modified proteins and dienic conjugates increase, as well as  $\alpha$ -tokopherol content decreases in all investigated objects. In the plasma phonal lipid peroxides and the mid-molecular peptides contents increase is also observed. All this testifies to the LPO processes intensification and inhibition of the antioxidant system.

## Литература

1. *Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г.* Успехи химии, 1985, т.54, 9, с.1540.
2. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биол. мембранах. М., 1972.
3. *Владыко А.С., Левитский Э.Р., Поддубная А.П., Габриелян Н.И.* Анестезиол. и реаниматол., 1987, 2, с.37.
4. *Гамбарян А.К., Канаян А.С., Геворкян А.Г., Худавердьян Д.Н.* Бюлл. эскпер. биол. и мед., 1997, т. 123, 4, с.460.
5. *Дорофеев Г.И., Кожемякин Л.А., Ивашкин В.Т.* В кн.: Циклические нуклеотиды и адаптация организма. Л., 1978, с. 130.
6. *Дружесвецкая И.А., Лиманский Н.Н.* Физиол. журн. СССР им. Сеченова, 1978, т. 64, 9, с. 1498.
7. *Карагезян К.Г., Овсепян Л.Н., Оваксиян С.С. и др.* ДАН СССР, 1995, т. 41, 3, с. 408.
8. *Карагезян К.Г., Тадевосян Ю.В., Батикян Т.Б.* ДАН СССР, 1986, т.286, 2, с. 465.
9. *Николаев В.И., Денисенко Н.П., Николаева Н.В.* Вопросы мед. химии, 1995, т. 41, 6, с. 33.
10. *Прохорова М.И.* В кн.: Методы биохимических исследований, липиды и энергетический обмен. Учебное пособие. Л., 1982, с.29.
11. *Серкова В.К., Жебель В.Н., Филенко Л.В.* Ж. эксп. и клин. фармакологии, 1998, т. 61, 2, с. 75.
12. *Слепушкин В.Д., Лишманов Ю.Б., Золотов Г.К., Прум И.А.* Успехи физиологических наук, 1985, т. 16, с.106.
13. *Тер-Маркосян А.С., Худавердьян Д.Н.* Нейрохимия, 1996, т.13, 1, с. 33.
14. *Тер-Маркосян А.С., Худавердьян Д.Н.* Нейрохимия, 1992, т.11, 2, с.218.
15. *Тер-Маркосян А.С.* Биол. ж. Армении, 1989, т. 42, 1, с. 63.
16. *Худавердьян Д.Н., Тер-Маркосян А.С., Тадевосян Ю.В.* Биохимия, 1997, т.62, 10, с.1095.
17. *Amatuni V.G., Malayan K.L.* Sov. med., 1990, 10, p. 18.
18. *Chen S.M., Young T.K.* Nephron, 1996, 73, 2, p. 235.
19. *Duggan D.E.* Arch. Biochem. Biophys., 1959, 184, p.116.
20. *Gardner D.G., Brown E.N., Windeck R., Aurbach G.D.* Endocrinology, 1979, 104, 3, p.1.
21. *Hill H.A.O.* Phil. Trans. Roy. Soc. London, 1985, 311, 1152, p. 605.
22. *Igarashi T., Satoh T., Ueno K.* Pharmacobiodyn., 1983, 6, 12, p. 941.
23. *Iwase H., Takatori T., Sakurada K. et. al.* Free Radic. Biol. Med., 1998, 25, 8, p. 943.
24. *Lember G.K., Davie R.F., Baker A.M.S.* Blood, 1970, 36, 2, p.111.
25. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al.* J. Biol. Chem., 193, 1, 1951, p. 265.
26. *Petersen O.H., Ueda N.* Proc. of the Int. Symp. on Calcium Transport and Secretion. Bressanone, Italy, 12-16 May, 1975, Amsterdam, 1975, p. 147.
27. *Stolze H., Schulz J.* Amer. J. Physiol., 1980, 238, 4, p. 338.
28. *Wells K.E., Alexander J.J., Miguel R.* Surgery, 1996, 120, 2, p. 337.
29. *Yoshioka T., Kawada K., Shimada T. et. al.* Amer. J. Obstet. Gynec., 1979, 135, p. 372.