

Фосфолипидный состав хроматина гепатоцитов при ваготомии, соларэктомии и их сочетании

Г.А. Овеян, М.М. Мелконян, А.Л. Манукян, Э.С. Геворкян

*ЕрГМУ им. М.Гераци, кафедра общей и биоорганической химии
ЕГУ, кафедра биофизики*

375025 Ереван, ул. Алека Манукяна, 1

Ключевые слова: гепатоциты, хроматин, фосфолипиды, ваготомия, соларэктомия

Изучение молекулярно-клеточных механизмов регуляции адаптационно-приспособительного действия вегетативной нервной системы (ВНС) с целью выяснения функционирования различных тканевых систем и крови как внутренней среды организма имеет важное как фундаментальное, так и прикладное значение в комплексе первостепенных задач современной медико-биологической науки. Особый интерес представляет изучение молекулярных механизмов действия периферических отделов парасимпатической (n.vagus) и симпатической (pl. solaris) нервных систем на нормальное функционирование субклеточных структур и клеток в различных органах пищеварительного тракта, в частности печени [1, 9].

В связи с этим весьма актуальным является изучение регулирующей роли ВНС в структурной организации и функциональной активности хроматина гепатоцитов. С этой целью нами проводились исследования по изучению качественного и количественного состава фосфолипидов (ФЛ) хроматина гепатоцитов при двусторонней поддиафрагмальной ваготомии, удалении солнечного сплетения – соларэктомии, а также при их сочетании.

Материал и методы

Исследования проводились на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г. Двусторонняя поддиафрагмальная ваготомия, соларэктомия, а также их сочетание проводились под легким эфирным наркозом.

Фракцию ядер из клеток печени выделяли по методу Blobel, Potter [12]. Фосфолипиды в пробах экстрагировали по методу Караполова [6]. Количество фосфолипидов определяли по содержанию неорганического фосфора по методу Ames [10] после минерализации проб фосфолипидных экстрактов в присутствии концентрированной хлорной кислоты. Фракционирование ФЛ проводили методом тонкослойной хро-

матографии на пластинках с силикагелем в системе растворителей хлороформ – метанол – вода в соотношении 65 : 25 : 4 [7]. Для разделения использовали систему растворителей хлороформ : метанол : 4N NH₄OH в соотношении 9 : 7 : 2[3].

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований (таблица) свидетельствуют об уменьшении общего содержания ФЛ хроматина гепатоцитов при ваготомии приблизительно на 15%, при соларэктомии – на 23,6% и при их сочетании – на 23,8%, что говорит о возможном снижении матричной активности хроматина путем изменения степени гидрофобных взаимодействий между ДНК и гистонами, а также о влиянии на конформацию белков и белок – белковые взаимодействия с уменьшением доступности РНК – полимераз к промоторной области гена [1,13,17].

В реализации отмеченных сдвигов важное место отводится снижению как относительного, так и абсолютного количества сфингомиелинов (21,6; 39,3 и 52,2% соответственно при ваготомии, соларэктомии и их сочетании), что при всех вышеуказанных экстремальных состояниях характеризуется снижением матричной активности хроматина [8,14], активности РНК – полимераз I и II и изменением количественного соотношения между связанной и свободной формами фермента [1]. Как уже было указано, высокая концентрация сфингомиелинов во внутриядерных структурах, свидетельствует о важной роли этих ФЛ в процессах репликации и транскрипции. Особый интерес представляет снижение содержания фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов в хроматине гепатоцитов при указанных экстремальных состояниях, что носит разнонаправленный характер и более акцентировано при ваготомии и ее сочетании с соларэктомией, свидетельствуя также о нарушениях функционирования деятельности фосфатидилхолинового цикла [11,

Состав фосфолипидов хроматина гепатоцитов при ваготомии, соларэктомии и их сочетании (абсолютное количество $M \pm m$, проц. от общих ФЛ, $n = 8$)

Фосфолипиды	Контроль	Ваготомия	Соларэктомия	Сочетание
Сфингомиелины	11.23 $\pm$ 0.282	8.8 $\pm$ 0.272 $p < 0.001$	6.82 $\pm$ 0.26 $p < 0.001$	5.37 $\pm$ 0.272 $p < 0.001$
Фосфоинозитиды	9.38 $\pm$ 0.282	11.45 $\pm$ 0.23 $p < 0.001$	6.7 $\pm$ 0.26 $p < 0.001$	10.51 $\pm$ 0.2 $p < 0.01$
Фосфатидилхолины	24.8 $\pm$ 0.25	20.7 $\pm$ 0.23 $p < 0.001$	21.5 $\pm$ 0.3 $p < 0.001$	17.5 $\pm$ 0.21 $p < 0.001$
Фосфатидилэтаноламины	15.87 $\pm$ 0.26	10.5 $\pm$ 0.26 $p < 0.001$	11.32 $\pm$ 0.23 $p < 0.001$	10.13 $\pm$ 0.2 $p < 0.001$
Кардиолипиды	4.52 $\pm$ 0.24	4.3 $\pm$ 0.23	3.6 $\pm$ 0.23 $p < 0.02$	5.36 $\pm$ 0.4 $p < 0.02$
Фосфатидные кислоты	4.82 $\pm$ 0.21	4.35 $\pm$ 0.24	4.01 $\pm$ 0.21 $p < 0.001$	4.93 $\pm$ 0.24
Сумма нейтральных ФЛ (СНФЛ)	51.91 $\pm$ 0.32	40 $\pm$ 0.65 $p < 0.001$	39.66 $\pm$ 0.63 $p < 0.001$	33 $\pm$ 0.5 $p < 0.001$
Сумма кислых ФЛ (СКФЛ)	18.73 $\pm$ 0.37	20.1 $\pm$ 0.57 $p < 0.1$	14.26 $\pm$ 0.5 $p < 0.001$	20.8 $\pm$ 0.53 $p < 0.01$
Суммарное количество ФЛ	70.65 $\pm$ 0.72	60.1 $\pm$ 1.06 $p < 0.001$	53.9 $\pm$ 1.09 $p < 0.001$	53.8 $\pm$ 0.92 $p < 0.001$
СНФЛ / СКФЛ	2.79 $\pm$ 0.1	1.99 $\pm$ 0.04 $p < 0.001$	2.79 $\pm$ 0.1	1.59 $\pm$ 0.03 $p < 0.001$

16,18,]. С другой стороны, немаловажно также снижение содержания кардиолипидов и фосфатидных кислот, приводящих к изменению соотношения суммы нейтральных ФЛ к кислым ФЛ, что носит выраженный характер при ваготомии (снижение на 28,2%) и ее сочетании с соларэктомией (на 43%). Количественные изменения кардиолипидов также немаловажны, так как эти ФЛ характерны внутренней структуре ядра, что находит свое подтверждение в уменьшении количества нейтральных ФЛ, наделенных, как известно, пластическими свойствами и адекватным изменением содержания суммы кислых ФЛ, обладающих высокой степенью обменяемости [2,4].

Отмеченные изменения в содержании тотальных и индивидуальных ФЛ свидетельствуют о нарушениях структурной организации и функциональной активности хроматина гепатоцитов [5,11], в чем определенную роль могут играть изменения содержания фосфоинозитидов – в частности, уменьшение на 28,6%

при соларэктомии, увеличение при ваготомии (22,07%) и их сочетании (12,05%). Это может быть связано с определенными компенсаторными пертурбациями в хроматине гепатоцитов и требует детального изучения, особенно в отношении количества полифосфоинозитидов. Разнонаправленные изменения в содержании фосфатидилхолина и сфингомиелина можно интерпретировать также и усилением процесса транспорта фосфорилхолиновой группы молекулы фосфатидилхолина на молекулу сфингомиелина.

Таким образом, результаты проведенных исследований подтверждают важную роль ВНС и, в частности, ее периферических отделов в структурной организации и нормальной жизнедеятельности хроматина, субклеточных структур и клеток в целом, что весьма важно для понимания этиологии и патогенеза многих заболеваний и патологических состояний на молекулярном уровне.

Поступила 15.07.03

Սպիտակ առնետների հեպատոցիտների քրոմատինի ֆոսֆոլիպիդային կազմի փոփոխությունը վագոտոմիայի, սոլարեկտոմիայի և նրանց զուգակցման ժամանակ

Գ.Ա. Հովեյան, Մ.Մ. Մելկոնյան, Ա.Լ. Մանուկյան, Է. Ս. Գեվորկյան

Ուսումնասիրվել է սպիտակ առնետների հեպատոցիտների քրոմատինի ֆոսֆոլիպիդների պարունակության որակական և քանակական փոփոխությունները երկկողմանի ենթաստոծանիական վագոտոմիայի, սոլարեկտոմիայի (արևային հյուսակի հեռացում) և նրանց զուգակցման պայմաններում: Հետազոտութ-

յան արդյունքները կրկին անգամ հաստատել են վեգետատիվ նյարդային համակարգի և մասնավորապես նրա ծայրամասային բաժինների կարևորագույն դերը հեպատոցիտների քրոմատինի ֆոսֆոլիպիդների փոխանակության կարգավորման մեջ:

The changes in phospholipids' content of the white rats hepatocytes' chromatin in case of vagotomy and solarectomy and their combination

G.A. Hoveyan, M.M. Melkonyan, A.L. Manukyan, E.S. Gevorkyan

The qualitative and quantitative changes in the white rats hepatocytes phospholipids composition have been studied at subdiaphragmal bilateral vagotomy, solarectomy (removal of pl. solaris) and their combination. The

data obtained once more confirm the significance of the vegetative nervous system and especially its peripheral parts in regulation of the content of hepatocytes' chromatin phospholipid content.

Литература

1. Алесенко А.В., Полмина Н.П. В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М., 1982, с.84.
2. Антонов В.Ф. В кн.: Липиды и ионная проницаемость мембран. М., 1982, с.81.
3. Бергельсон Л.Д., Дятловицкая Э.В., Молотковский Ю.Г. Препаративная биохимия липидов. М., 1981.
4. Карагезян К.Г. Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван, 1972.
5. Карагезян К.Г., Овоян Г.А., Куинн П.Дж. и др. ДАН России, 1977, т. 353, 6, с. 29.
6. Каргаполов А.В. Биохимия, 1988, т. 46, 4, с. 691.
7. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография, т. 1. М., 1981.
8. Красильников В.А. Участие липидов ядерных структур в процессе синтеза ДНК. Автореф. канд. дис. Черноголовка, 1986.
9. Овоян Г.А. Изменение фосфолипидного состава митохондриальной фракции головного мозга при односторонней ганглиосимпатэктомии. Сборник научных трудов, Ереван, 2000, с. 507.
10. Ames B.N. Meth. Enzimol., 1966, 8, p. 115.
11. Badalyan M.A., Hoveyan G.A., Sukiasyan L.M. et al. Нейрохимия, 2002, 19, 1, с.70.
12. Blobel G., Potter V.R. Science, 1996, 154, p. 1662.
13. Capitani S., Maraldi N.M., Cocco L., Santi P., Manzoli F.A. Mol. and Cell Biochem., 1978, 20, 3, p. 159.
14. Cocco L., Maraldi N.M., Manzoli F.A. et al. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1980, 96, p. 890.
15. Gottesfeld J.M., Bagi G., Booner J. Biochem., 1976, 15, 11, p. 2472.
16. Karageuzyan K.G., Tadevosyan Y.B., Batikyan T.B. Dokl. AN SSSR, 1986, 286, 2, p. 465.
17. Manzoli F.A., Muchmore J.H., Capitani S. et al. Mol. and Cell Biochem., 1976, 10, 3, p. 153.
18. Steven L., Pelesh S.L., Vase D.E. Trends in Biochem. Sciences, 1989, 14, 1 p. 28.