

Изменение интенсивности процессов свободнорадикального окисления липидов в крови при ваготомии, соларэктомии и их сочетании

Г.А. Овеян, М.М. Мелконян, М.А. Бадалян, А.Л. Манукян, А.А. Минасян

Кафедра общей и биоорганической химии, ЕрГМУ им. М. Герац

375025, Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: кровь, эритроцитарные мембраны, ваготомия, соларэктомия, свободнорадикальное окисление

Результатами исследований, проведенных за последние два-три десятилетия, установлено, что свободнорадикальные процессы играют исключительно важную роль в патогенезе многих заболеваний [1,12,13]. Структурная организация и функциональная активность мембранных, клеточных и субклеточных элементов зависят также и от интенсивности процессов свободнорадикального окисления (СРО), в частности, от перекисного окисления липидов (ПОЛ). Известно, что СРО липидов является неспецифическим, но обязательным процессом, протекающим в строго лимитированных пределах на различных уровнях клеточных образований [10,12] с целью обеспечения систематического контроля над процессом их обновления, имеющего важное физиологическое значение. В нормально функционирующих тканях непрерывно происходит спонтанное СРО с образованием перекисей и других продуктов окисления. Однако интенсивность СРО и содержание эндогенных перекисей липидов удерживаются на сравнительно низком уровне, что зависит от концентрации в тканях ненасыщенных незэстерифицированных жирных кислот, кислорода, катализаторов белковой и небелковой природы, антиокислителей и от состояния эндогенных систем антирадикальной защиты клеток [11,18]. При различных функциональных и патологических состояниях организма наблюдаются изменения в скорости обменности липидов, приводящие к количественным сдвигам и перераспределению отдельных представителей, а также пертурбациям в интенсивности течения процессов СРО липидов на уровне мембран как клеточных, так и субклеточных образований [2]. В этом плане особый интерес приобретает изучение молекулярно-клеточных механизмов адаптационно-трофического действия вегетативной нервной системы и ее периферических отделов, а также их регуляторной роли в процессах СРО различных органов и тканей, в том числе и крови как не только внутренней среды организма, так и обязательного фактора под-

держки гомеостатических показателей различных органов и систем. С этой точки зрения особо важным являются изменения в крови как отражение изменений на клеточно-субклеточном уровне при различных патологических и экстремальных состояниях организма.

В связи с вышеуказанным целью настоящего исследования является изучение изменений интенсивности процессов СРО липидов в плазме крови и мембранах эритроцитов (МЭ) при ваготомии, соларэктомии (удаление солнечного сплетения) и их сочетании.

Материал и методы

Опыты проводились на 70 беспородных крысах-самцах массой 180–200 г. Поддиафрагмальную билатеральную ваготомию, соларэктомия и их сочетание проводили под легким эфирным наркозом. Крыс декапитировали через 7 суток под легким эфирным наркозом. МЭ выделяли по методу Limber [16]. Интенсивность ПОЛ определяли по методу Владимирова Ю.А. и Арчакова А.И. [3], в основе которого лежит реакция взаимодействия малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой, протекающая при высокой температуре и в кислой среде с образованием окрашенного триметилового комплекса в виде розового хромогена [3]. Свободный α -токоферол (α -Т) определяли с помощью флуоресцентного спектрофотометра „Hitachi“, при максимуме возбуждения 295 нм и максимуме флуоресценции 330 нм [15]. Определение диеновых конъюгатов (ДК) и МДА-модифицированных белков проводили по методу Владимиров Ю. А. и др. [3]. Ацилгидроперекиси (АГП) определяли по методу Гаврилова Б.Б. и др. [5], МДА – по методу Yoshioka [19]. Определение среднемолекулярных пептидов (СМП) проводили по методу Владыко А.С. и др. [4], а их содержание – спектрофотометрически при 254 нм [4]. Активность супероксиддисмутазы (СОД)

определяли по методу Nishikimi et al. [17] ингибированием генерации супероксидных анион-радикалов в модельной системе фенозинметосульфат – NADH – нитротетразолий синий [17]. Суммарную пероксидазную активность (СПА) определяли по методу Покровского А.А., в основе которого лежит способность гемопротеинов в присутствии перекиси водорода катализировать окисление бензидина с образованием окрашенных продуктов. Общий холестерин определяли по методу Сентебовой Н. А. [14].

Полученные данные обработаны статистически методом Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований (табл. 1) выявили значительное повышение интенсивности как ферментативного, так и неферментативного ПОЛ в МЭ белых крыс при ваготомии, соларэктомии и их сочетании. В частности, аскорбат-зависимое перекисное окисление (АЗП), по сравнению с контролем, в эритроцитарных мембранах при ваготомии, соларэктомии и их сочетании возрастает на 26,5, 37,6 и 47,6 %, а NADPH-зависимое (НЗП) – на 35,42, 26,57 и 38,85 % соответственно.

Таблица 1

Интенсивность процессов ПОЛ в мембранах эритроцитов ($M \pm m$, $n=8$)

Показатели	Контроль	Ваготомия	Соларэктомия	Соларэктомия+ваготомия
АЗП	2.34 $\pm$ 0.026	2.96 $\pm$ 0.028 $p < 0.001$	3.22 $\pm$ 0.027 $p < 0.001$	3.47 $\pm$ 0.042 $p < 0.001$
НЗП	3.5 $\pm$ 0.19	4.74 $\pm$ 0.09 $p < 0.001$	4.43 $\pm$ 0.1 $p < 0.01$	4.86 $\pm$ 0.09 $p < 0.001$
ДК	3.86 $\pm$ 0.092	4.45 $\pm$ 0.1 $p < 0.01$	4.88 $\pm$ 0.09 $p < 0.001$	5.01 $\pm$ 0.073 $p < 0.001$
АГП	1.55 $\pm$ 0.037	2.04 $\pm$ 0.04 $p < 0.001$	1.91 $\pm$ 0.04 $p < 0.001$	2.14 $\pm$ 0.038 $p < 0.001$
МДА-мод. белки	0.053 $\pm$ 0.004	0.075 $\pm$ 0.005 $p < 0.01$	0.07 $\pm$ 0.005 $p < 0.05$	0.079 $\pm$ 0.0047 $p < 0.01$
α -Т	7.54 $\pm$ 0.1	5.22 $\pm$ 0.048 $p < 0.001$	5.43 $\pm$ 0.05 $p < 0.001$	4.87 $\pm$ 0.049 $p < 0.001$

Эти данные подтверждают повышение интенсивности течения процессов СРО липидов, сопровождающихся выходом значительных концентраций липидных перекисей, приводящих к ярко проявляющимся конформационным и кооперативным изменениям мембранных протеинов и, следовательно, мембран в целом [8] с вымыванием более гидрофильных ацилгидроперекисей из гидрофобного окружения мембранных структур. Концентрация последних при ваготомии, соларэктомии и их сочетании возросла на 31,62, 23,22 и 38% соответственно.

В то же время при вышеуказанных экстремальных состояниях вследствие усиления свободнорадикальных процессов в мембранах эритроцитов содержание МДА-модифицированных белков возрастает на 41,5, 34,6 и 53,8%, а ДК – на 15,28, 26,42 и 29,8% соответственно, в то время как содержание α -токоферола, по сравнению с контролем, уменьшается на 30,76, 27,98 и 35,41% соответственно.

Полученные данные дают возможность предположить, что эти изменения могут лежать в основе повреждения мембран эритроцитов, поскольку установлено [8], что нарушения во взаимоотношениях ПОЛ – антиоксидантная система способствуют структурной реор-

ганизации эритроцитарных мембран.

Аналогично изменяется интенсивность процессов СРО в плазме крови. Как видно из табл. 2, при ваготомии, соларэктомии и их сочетании происходит заметное увеличение содержания фоновых липидных перекисей (ФЛП) (на 24,8, 33,4 и 40% соответственно) и МДА – модифицированных белков (на 28,16, 21,12 и 43,66% соответственно). Это повышение связано с активацией деструктивных процессов, деградацией мембраносвязанных фосфолипидов и активированием на этом фоне интенсивности течения реакций СРО липидов [9].

Немаловажно также и значительное снижение содержания α -Т ($\approx$ на 24,3, 18,75 и 31,94% соответственно) при ваготомии, соларэктомии и их сочетании. Это снижение приводит к увеличению содержания ацилгидроперекисей ($\approx$ на 27,6, 19 и 33% соответственно), т. к. α -Т вымывает их из каркаса окисленных продуктов.

Повышается также и уровень ДК (на 20,6, 26,15 и 37,26% соответственно при ваготомии, соларэктомии и их сочетании), что ассоциируется с интенсификацией перекиснообразовательного процесса.

Таблица 2

Интенсивность процессов ПОЛ в плазме крови ($M \pm m$, $n=8$)

Показатели	Контроль	Ваготомия	Соларэктомия	Соларэктомия+ваготомия
ФЛП	5.8 ± 0.038	7.24 ± 0.037 $p < 0.001$	7.72 ± 0.047 $p < 0.001$	8.1 ± 0.052 $p < 0.001$
ДК	4.32 ± 0.036	5.21 ± 0.034 $p < 0.001$	5.45 ± 0.037 $p < 0.001$	5.93 ± 0.039 $p < 0.001$
АГП	2.21 ± 0.04	2.82 ± 0.033 $p < 0.001$	2.63 ± 0.048 $p < 0.001$	2.94 ± 0.016 $p < 0.001$
МДА-мод. белки	0.71 ± 0.042	0.91 ± 0.047 $p < 0.02$	0.86 ± 0.03 $p < 0.02$	1.02 ± 0.032 $p < 0.001$
СПА	11.42 ± 0.076	10.23 ± 0.054 $p < 0.001$	9.33 ± 0.06 $p < 0.001$	8.75 ± 0.064 $p < 0.001$
СОД	33.8 ± 0.06	26.7 ± 0.084 $p < 0.001$	28.2 ± 0.078 $p < 0.001$	27.3 ± 0.1 $p < 0.001$
СМП	0.143 ± 0.006	0.214 ± 0.0068 $p < 0.001$	0.192 ± 0.0044 $p < 0.001$	0.201 ± 0.0048 $p < 0.001$
α -Т	0.1 ± 0.036	1.09 ± 0.032 $p < 0.001$	1.17 ± 0.036 $p < 0.001$	0.98 ± 0.034 $p < 0.001$
Общий холестерин	1.51 ± 0.063	1.76 ± 0.055 $p < 0.02$	1.67 ± 0.053 $p < 0.05$	1.92 ± 0.053 $p < 0.01$

Особый интерес представляет увеличение содержания СМП соответственно на 49,6, 34,2 и 40,5%, являющихся субстратами эндогенной интоксикации при различных патологических состояниях [6] и наделенных антиоксидантными свойствами. Повышается также и концентрация общего холестерина (на 16,55, 10,59 и 27,1% соответственно), обладающего тормозящим влиянием на окисление быстроокисляющихся липидов, что, по всей вероятности, свидетельствует о

компенсаторных пертурбациях в крови.

Так как снижается активность антиоксидантной системы, снижаются также и уровни СПА (на 10,42, 18,3 и 23,4%) и СОД (на 21, 16,56 и 19,2% соответственно).

Изменения процессов СРО в ЭМ и плазме крови свидетельствуют о выраженных структурно-функциональных нарушениях при ваготомии, соларэктомии и их сочетании.

Поступила 24.03.04

Արյան մեջ լիպիդների ազատ ռադիկալային օքսիդացման պրոցեսների ինֆենսիվության փոփոխությունները վագոտոմիայի, սոլարէկտոմիայի եւ նրանց զուգակցման ժամանակ

Գ.Ա. Հովեյան, Մ.Մ. Մելքոնյան, Մ.Ա. Բադալյան, Ա.Լ. Մանուկյան, Ա.Ա. Մինասյան

Հետազոտված են սպիտակ առնետների արյան պլազմայում և էրիթրոցիտար թաղանթներում ազատ ռադիկալային օքսիդացման պրոցեսների ինտանսիվության փոփոխությունները երկկողմանի ենթաստոման լիպիդային վագոտոմիայի, սոլարէկտոմիայի և նրանց զուգակցման ժամանակ (հետազոտված են 10, 15 և 20 օրվա ընթացքում) և նրանց զուգակցման ժամանակ:

Հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել արտահայտված տեղաշարժեր ինչպես արյան պլազմայում, այնպես էլ էրիթրոցիտար թաղանթներում: Մեր հետազոտությունները մեկ անգամ ևս ապացուցում են վեգետատիվ նյարդային համակարգի և նրա ծայրամասային բաժինների նշանակալի դերը արյան լիպիդների ազատ ռադիկալային պրոցեսների կարգավորման մեջ:

The changes of lipid free radical oxidation processes intensity in blood at vagotomy, solarectomy and their combination

G.A. Hoveyan, M.M. Melkonyan, M.A. Badalyan, A.L. Manukyan, A.A. Minasyan

The changes of free radical oxidation processes in blood plasma and membranes of erythrocytes have been studied at subdiaphragmal bilateral vagotomy, solarectomy (removal of pl. solaris) and their combination. The results obtained have shown significant displacements

both in plasma and in erythrocyte membrane. Our investigations once more confirm the adaptational-trophic role of vegetative nervous system and its peripheral parts in the regulation of free radical oxidation processes of blood lipids.

Литература

1. Амирян Л.А., Овоян Г.А., Боролян Р.Г., Манукян А.Л. Сб. научных трудов. Ереван, 2000.
2. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксидант. Тез. докл. V Международной конф. М., 1998.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Наука, М., 1972.
4. Владыко А.С., Левицкий Э.П., Поддубная Л.П., Габриелян Н.И. Анестезиол. и реаниматол, 1987, 2, с. 37.
5. Гаврилов Б. Б., Мишкорудная М. И. Лаб. дело, 1983, 3, с. 33.
6. Галактинов С.Б., Цейтин В.М., Леонова В.И. и др. Биоорг. химия, 1984, 1, с. 5.
7. Журавлев А.И. В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М., 1982.
8. Карагезян К.Г., Мелконян М.М., Овоян Г.А. и др. Ученые записки. Ереван, 1999, 2, с. 79.
9. Карагезян К.Г. ДАН СССР, 1995, т. 41, 3, с. 408.
10. Козлов Ю.П. В кн.: Липиды: структура, биосинтез превращения и функции. М., 1977, с. 80.
11. Ланкин В.З. В кн.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. Биоантиоксидант. Тез. Всесоюз. совещ., Черногоровка, 1983, с. 16.
12. Овоян Г.А. Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии. СПб, 1998, т. 2, с. 484.
13. Оганесян Т.Р. Роль прооксидантных и антиоксидантных металлопротеинов в патогенезе язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Дисс. на соискание уч. степени к.м.н. Ереван, 1998.
14. Сентебова Н. А. Лабораторное дело, 1977, 6, с. 375.
15. Duggan D.E. Arch. Biochem. Biophys., 1959, 184, p. 116.
16. Limber C.S. et al. Blood., 1970, 36, p. 111.
17. Nishikimi M., Rao N.A., Jagi K. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 64, p. 949.
18. Skrzydlewska E. Roczn. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in rats after methanol intoxication. Akad. Med. Bialimst., 1996, 41, p. 397.
19. Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., Mori M. Amer. J. Obstet. and Gynecol., 1979, 135, 3, p. 372.