

1. Дьюсбери Д. Поведение животных. 476, М., 1981.
2. Лобашев М. Е. Генетика. Изв. ЛГУ, 601—602, 1967.
3. Меннинг О. Поведение животных. 221—225, М., 1982.
4. Морган Т. Г. Экспериментальные основы эволюции. 250, М.—Л., 1936.
5. Наумов Н. П. Журн. общ. биол., 32, 6, 651—666, 1971.
6. Панов Е. Н. Зоол. журн., 61, 7, 988—999, 1982.
7. Семеновский Ф. Н., Семенов С. М. Математическое моделирование экологических процессов. 280, Л., 1982.
8. Boorman J. A., Levitt P. R. Theoret. Pop. Biol., 4, 1, 85—128, 1973.
9. Hamilton W. D. Ann. rev. Ecol. a. Syst. Palo Alto., Ann. rev. Inc., 3, 192—232, 1972.
10. Levins R. Extinction. In: M. Gerstenhaber ed. Some Mathematical Questions in the Life Science. Providence, Rhode Islands, American Mathematical Society, 2, 77—107, 1970.
11. Wilson E. O. 23, 11, 631—636, 1973.
12. Wynne-Edwards V. C. In: Regulation and Control in Living Systems. N. Y., J. Wiley, 347—421, 1966.

«Биолог. ж. Армении», т XXXVIII, № 1, 1985

УДК 616.36+612.396:547.952

# ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ЦЕРЕБРОЗИДОВ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГООБМЕНА И ОБЩУЮ АКТИВНОСТЬ $\beta$ -ГЛИКОЗИДАЗ ПЕЧЕНИ КРЫС

О. П. СОЦКИЙ, Г. М. САРКИСОВА, Г. А. ЧУХАДЖЯН

Показано, что хроническое внутрибрюшинное введение цереброзидов в виде эмульсии в количестве 5 мг/кг массы животного приводит к нарушениям в энергетическом обмене печени без изменения в ней общей активности  $\beta$ -гликозидаз.

*Ключевые слова:* цереброзиды, адениннуклеотиды,  $\beta$ -гликозидазы.

Согласно результатам многочисленных исследований, гликосфинголипиды обладают выраженной биологической активностью [1]. Так в опытах *in vitro* показано, что они подавляют процессы дыхания, снижают эффективность окислительного фосфорилирования изолированных митохондрий мозга и печени [5], оказывают активирующее и ингибирующее действие на активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, в зависимости от их концентрации [4]. Все указанные эффекты гликосфинголипидов, как было установлено нами методом флуоресцентных зондов, обусловлены их способностью легко встраиваться в мембранные структуры, вызывая конформационные перестройки [7].

Интересно, что в опытах *in vivo*, т. е. при хроническом введении в организм животных гликосфинголипидов (цереброзидов), обнаружены сдвиги в холестеринном обмене [14], окислительном фосфорилировании [6], в функциональном состоянии системы кровь—сосудистая стен-

ка [9]. Последнее не может не заинтересовать исследователей, занимающихся проблемами атерогенеза и артериальной гипертензии, ввиду того, что гликофинголипиды входят в состав наиболее функционально-динамического слоя клеточной мембраны — гликокаликса [2], принимающего непосредственное участие в таких важнейших функциях клетки, как процессы ионного транспорта, узнавания, контактного ингибирования, пролиферации [10].

В связи с этим большой теоретический и практический интерес представляют исследования, направленные на изучение влияния гликофинголипидов на обменные процессы экспериментальных животных. В настоящей работе приведены результаты анализа содержания адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ и АМФ), характеризующих энергообеспечение печеночных клеток, и общей активности  $\beta$ -гликозидаз печени в условиях хронического введения цереброзидов белым крысам.

**Материал и методика.** Опыты проведены на белых беспородных крысах-самцах массой 150—180 г, разделенных на две группы. Животным опытной группы ежедневно в течение 4-х месяцев интратрибуциально вводили эмульсию цереброзидов, приготовленную на смеси этанол—физиологический раствор в соотношении 1:20 (в объемах) в количестве 0,5 мл из расчета 5 мг цереброзидов на 1 кг массы; контрольной группе — 0,5 мл аналогичной смеси, не содержащей цереброзидов.

Цереброзиды выделяли из мозга крупного рогатого скота по методу Кленка с очисткой на колонке с силикагелем марки «Л» («Хемпол», ЧССР) [9].

Крыс забивали декапитацией, с последующим погружением печеночной ткани в жидкий азот. Адениннуклеотиды экстрагировали из пансеков, замороженных в жидком азоте и растертых в тонкий порошок, 6%-ным охлажденным раствором  $\text{HClO}_4$  (из расчета на 1 г пансеки — 2 мл раствора  $\text{HClO}_4$ ). Белки осаждали посредством центрифугирования (16000 об/мин, 2°, 30 мин). Надосадочную жидкость нейтрализовали сухим порошком  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , чтобы не изменить объем. Перхлорат калия удаляли центрифугированием. Надосадочную жидкость наносили микрошприцем в шиле пятен на пластинки фирмы «Мерк» (ФРГ) на расстоянии 15 мм от нижнего края в конечном объеме 10 мкл. В качестве свидетелей использовали чистые АТФ, АДФ и АМФ («Сигма», США). Пластинки помещали в стеклянную хроматографическую камеру, предварительно насыщающую парами растворителей. Из рекомендованных систем растворителей наиболее эффективной оказалась система диоксан— $\text{H}_2\text{O}$ —11Н аммиак, взятых в соотношении 6:4:1 (в объемах), при комнатной температуре.

Прямую денситометрию в отраженном свете осуществляли на сканирующем устройстве флуоресцентного спектрофотометра МРФ-11 при длине волны 260 нм [3]. Апертуру сканирующего устройства настраивали с учетом диаметра пятен определяемых веществ. Площади пиков отдельных компонентов на денситограммах рассчитывали как произведение высоты пика на его ширину на половине его высоты [8].

Общую активность  $\beta$ -галактозидазы и  $\beta$ -глюкозидазы печеночной ткани определяли по методу Гатт с модификации Зигера и соавт. [16]. Активность ферментов выражали в каналолах освобожденного p-нитрофенола на 1 мг белка в течение часа инкубации при 37°. В качестве субстратов использовали p-нитрофенил— $\beta$ -D-галактопиранозид — для  $\beta$ -галактозидазы и  $\beta$ -глюкопиранозид — для  $\beta$ -глюкозидазы («Хемпол», ЧССР). Содержание белка в пробах определяли по методу Лоури и соавт. [15].

Полученные данные обрабатывали общепринятым методом с использованием критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Как видно из данных, представленных в табл. 1, хроническое введение цереброзидов сопровождается заметными сдвигами в энергетическом обмене печени крыс. Они проявляются как в изменении содержания отдельных нуклеотидов, так и показав

телей, характеризующих их обмен. Следует отметить, что большинство количественных показателей аденинуклеотидов у животных контрольной группы соответствует литературным данным [3], за исключением содержания АМФ, которое оказалось выше. В опытной группе животных, по сравнению с контрольной, выявлено заметное снижение содержания АТФ (на 38,8%), сопровождаемое неадекватным увеличением АМФ (на 29%).

Таблица 1

Показатели обмена аденинуклеотидов в печени крыс при хроническом введении цереброзидов, мкмоль на 1 г ткани

| Группы      | АТФ              | АДФ              | АМФ              |
|-------------|------------------|------------------|------------------|
| Контрольная | 2.68±0.07 (n=9)  | 1.53±0.05 (n=9)  | 1.03±0.05 (n=9)  |
| Опытная     | 1.93±0.03 (n=13) | 1.52±0.06 (n=13) | 1.33±0.08 (n=13) |
| Группы      | АТФ/АДФ          | АН               | ЭЗ               |
| Контрольная | 1.75±0.03 (n=9)  | 5.27±0.16 (n=9)  | 0.65±0.03 (n=9)  |
| Опытная     | 1.26±0.05 (n=13) | 4.70±0.25 (n=13) | 0.56±0.02 (n=13) |

Примечание: \*—достоверное отличие от контроля ( $P < 0,05$ ), АН—аденинуклеотиды, ЭЗ—энергетический заряд. (n)—число опытов.

Количество АДФ в этих условиях не изменяется. Как следствие снижения содержания АТФ (основного аккумулятора и переносчика химической энергии в клетке) происходит падение величины молярного отношения АТФ/АДФ—показателя энергетического уровня адениловой системы: с 1,75 до 1,26.

Обнаруженная нами разнонаправленность количественных сдвигов АТФ, АДФ и АМФ, снижение показателя энергетического уровня адениловой системы свидетельствуют об определенных нарушениях в системах фосфорилирования (окислительного и гликолитического), приводящих к энергетическому дефициту клеток. Указанные нарушения усугубляются отсутствием факта повышения АДФ, являющегося мощным стимулятором клеточного дыхания. Однако сравнительно небольшие сдвиги в суммарном содержании аденинуклеотидов и энергетическом заряде [13] свидетельствуют о сохранении компенсаторных механизмов в клетках печени, направленных на поддержание энергетического обмена. Возможно, с этих позиций следует трактовать факт уменьшения количества АТФ без адекватного увеличения АДФ—как результат активации компенсаторно-приспособительных механизмов, ведущих к усилению пирофосфатного расщепления АТФ с образованием АМФ [12]. Не исключается, что обнаруженные нами нарушения в энергетическом обмене связаны с гепатотоксическим действием цереброзидов, содержащих в своей молекуле ряд токсических соединений (галактоза, сфингозин) [11, 17].

Для проверки этого предположения нами была изучена общая активность  $\beta$ -галактозидазы и  $\beta$ -глюкозидазы—ферментов лизосом.

Таблица 2

Общая активность  $\beta$ -гликозидаз печени крыс при хроническом введении цереброзидов, наименьшее освобожденного р-нитрофенола на 1 мг белка за 1 ч инкубации при 37°

| Группы      | $\beta$ -галактозидаза   | $\beta$ -глюкозидаза   |
|-------------|--------------------------|------------------------|
| Контрольная | 278.33 $\pm$ 15.7 (n=9)  | 75.22 $\pm$ 6.06 (n=9) |
| Опытная     | 285.24 $\pm$ 10.24 (n=7) | 75.31 $\pm$ 6.30 (n=7) |

Полученные данные (табл. 2) свидетельствуют о том, что внутрибрюшинное введение животным цереброзидов в течение 4-х месяцев не вызывает изменений активности указанных ферментов.

Таким образом, хроническое введение цереброзидов в виде эмульсии внутрибрюшинно в количестве 5 мг/кг массы животного приводит к выраженным нарушениям в энергетическом обмене, без изменения активности общих гликозидаз печени.

Ереванский медицинский институт,  
кафедра бионеорганической и биофизической химии

Поступило 15.X 1984 г.

ՑԵՐԵԲՐՈԶԻԴՆԵՐԻ ԽՐՈՆԻԱԿԱՆ ՆԵՐՄՈՒԾՄԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ԱՌՆՆՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ԷՆԵՐԳԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ  
ԵՎ  $\beta$ -ԳԼԻԿՈԶԻԴԱԶՆԵՐԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ո. Պ. ՍՈՏՔԻ, Գ. Մ. ՍԱՐԿԻՍՈՎԱ, Գ. Ա. ՉՈՒԽԱԶՅԱՆ

Ցույց է տրված, որ ցերեբրոզիդների էմուլսիայի ներորոլայնային ներարկումը 5մգ/կգ կենդանու մասսային հաշվով հանգեցնում է լյարդի էներգետիկ փոխանակության խանգարման՝ անփոփոխ թողնելով լյարդի  $\beta$ -գլիկոզիդազների ընդհանուր ակտիվությունը:

# EFFECT OF CEREBROSIDES CHRONIC INJECTION ON SOME INDICES OF ENERGOMETABOLISM AND ON THE GENERAL ACTIVITY OF $\beta$ -GLYCOSIDASES IN THE RATS LIVER

O. P. SOTSKY, G. M. SARKISOVA, G. A. CHUKHADJIAN

Chronic intraperitoneal injection of cerebroside emulsion in the dose of 5 mg/kg of animal body brings to alterations in the energetic metabolism without any alterations in the general activity of  $\beta$ -glycosidases in the rats liver.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аврора Н. Ф., Обухова Е. Л. Успехи совр. биол., 79, 1, 33—47, 1975.
2. Ваганова М. Е. Кардиология, 21, 7, 106—112, 1981.
3. Зарубины И. В., Криворучко Б. И. Укр. биохим. ж., 54, 4, 137—139, 1982.
4. Мирзоян С. А., Мхехян Э. Е., Секоян Э. С., Соцкий О. П., Акопян С. Э. Бюлл. экпер. биол., 2, 682—684, 1978.
5. Мхехян Э. Е., Соцкий О. П. Вопр. биохим. мозга, 10, 6, 219—222, Ереван, 1970.

6. Мхехян Э. Е., Соцкий О. П. Укр. биохим. ж., 44, 5, 644—647, 1972.
7. Мхехян Э. Е., Соцкий О. П., Баджиян С. А., Акопов С. Э. Биофизика, 25, 4, 638—642, 1980.
8. Перри С., Атос Р., Брюер П. В кн.: Практическое руководство по жидкостной хроматографии. 171, М., 1974.
9. Соцкий О. П., Акопов С. Э., Саркисова Г. М., Чухаджян Г. А. Бюлл. экспер. биол., 4, 387—388, 1984.
10. Туманова С. Ю., Прохорова М. И. Нейрохимия, 1, 2, 184—199, 1982.
11. Уэллс В. В., Колинз К. А., Куртц Дж. В. В кн.: Лизосомы и лизосомные болезни накопления. 32—47, М., 1984.
12. Шамова Н. А., Векслер Я. Р., Асланова Н. Р. Вopr. мед. химии, 24, 3, 310—314, 1978.
13. Atkinson D. E., Biochemistry J., 11, 4030—4031, 1968.
14. Carroll K. K. Lipid Res., 1, 2, 171—178, 1960.
15. Lowry E., Rosenbrough N., Farr A. et al. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
16. Singer H., Hunkervis G., Schafer I. Pediatrics, 49, 352—361, 1972.
17. Stoffel W., Grol M. Chem. and phys. Lipids, 13, 4, 372—388, 1974.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVIII, № 1, 1985

УДК 577.352

## УСТОЙЧИВОСТЬ БЛМ В ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ В ПРИСУТСТВИИ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ

Л. Г. МИКАЕЛЯН, А. К. КАРАПЕГЯН, С. А. АДЖЯН

Изучена зависимость  $\tau$  БЛМ от  $\varphi$  в присутствии МА дибукаина и пропранолола. Оба местных анестетика увеличивают  $\tau$  БЛМ относительно контроля в изученном интервале  $\varphi$ .

Зависимость  $\tau$  БЛМ от концентрации дибукаина в пределах  $10^{-7}$ — $10^{-2}$  М имеет форму колокола с максимумом при концентрации  $10^{-5}$  М. При фиксированных значениях концентрации пропранолола  $10^{-4}$  М и  $\varphi$ , равном 400 мВ, увеличение pH водного раствора от 5 до 9 приводит к уменьшению  $\tau$  БЛМ.

Субклинические концентрации МА стабилизируют, а суперклинические — дестабилизируют структуру БЛМ.

Результаты обсуждаются с точки зрения современных представлений о механизме электрического пробоя БЛМ, а также возможной роли эффективной формы молекул во влиянии МА на структуру БЛМ.

*Ключевые слова:* мембраны бислоиные липидные, плоские, диэлектрическая прочность, местные анестетики.

В настоящее время большинство исследователей склоняются к мнению, что местные анестетики (МА) влияют на ключевые белки, например, ионные каналы мембран клеток. Однако до сих пор нет однозначного ответа на вопрос, является ли это влияние непосредственным или опосредовано липидной компонентой мембран. Альтернативные точки зрения на эту проблему детально рассматриваются в недавно опубликованном обзоре [12]. Из сказанного следует, что в рамках про-