

БИОХИМИЯ

УДК 547.582.3+612.1+599.323.4

Академик К. Г. Карагезян¹, Г. А. Овеян², Г. А. Геворкян², А. Г. Овеян³

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов в крови белых крыс в условиях ганглиосимпатэктомии, ваготомии, солярэктомии

(Представлено 8/X 2010)

Ключевые слова: *ганглиосимпатэктомия, ваготомия, солярэктомия, эритроцитарные мембраны, плазма крови, свободнорадикальное окисление, перекисное окисления липидов, α-токоферол*

Общеизвестно, что структурная организация и функциональная активность мембранных субклеточных и клеточных элементов зависят также от интенсивности процессов свободнорадикального окисления (СРО), в частности перекисного окисления липидов (ПОЛ). При различных функциональных и патологических состояниях организма наблюдаются изменения в скорости обмениваемости 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 [1-3]. В этом плане особый интерес приобретает изучение молекулярно-клеточных механизмов адаптационно-трофического действия вегетативной нервной системы (ВНС) 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, но и обязательного фактора поддержки гомеостатических показателей различных органов и систем. Особо важными являются изменения в крови как отражение изменений на клеточно-субклеточном уровне при различных патологических и экстремальных состояниях организма.

Целью настоящего исследования является изучение изменений интенсивности процессов СРО липидов в эритроцитарных мембранах (ЭМ) и плазме крови при односторонней ганглиосимпатэктомии (ГСЭ; удаление правого верхнего шейного симпатического ганглия), двусторонней поддиафрагмальной ваготомии, солярэктомии (удаление солнечного сплетения)

и сочетании двух последних на седьмые сутки после проведенных вмешательств.

Исследования проводились на 100 беспородных крысах-самцах массой 180-200 г. Удаление ганглия (с констатацией синдрома Клода Бернара – Горнера), поддиафрагмальную ваготомию, солярэктомия и их сочетание производили под легким эфирным наркозом. Крыс декапитировали через 7 суток под легким эфирным наркозом. ЭМ выделяли по методу Лимбера [4], интенсивность ПОЛ определяли по методу Владимирова и Арчакова [5], в основе которого лежит реакция взаимодействия МДА с тиобарбитуровой кислотой. Свободный α -токоферол (α -Т) определяли по методу Дугана [6], диеновые конъюгаты (ДК) и МДА-модифицированные белки – по методу Владимирова и Арчакова [5], ацилгидроперекиси (АГП) – по методу Гаврилова и др. [7], МДА – по методу Йошиоки и др. [8], среднемолекулярные пептиды (СМП) – по методу Владыко и др. [9], а их содержание – спектрофотометрически при 254 нм [9], активность супероксиддисмутазы (СОД) – по методу Нишиками и др. [10], суммарную пероксидазную активность (СПА) – по методу Покровского [11], общий холестерин - по методу Сентебовой [12]. Полученные данные были обработаны по методу Стьюдента и программе SPSS 12.0.

Таблица 1

Изменение интенсивности процессов ПОЛ (в нМ малонового диальдегида/мг белка) эритроцитарных мембран белых крыс при односторонней ганглиосимпатэктомии (абсолютные количества $M \pm m$, % разницы от контроля (К), n=8)

Показатели	К	Ганглиосимпатэктомия	% разницы от К
Аскорбат-зависимое перекисление	2.23±0.14	3.15±0.20**	+41.3
NADPH- зависимое перекисление	3.27±0.21	4.32±0.29***	+32.1
МДА-модифицированные белки	0.05±0.01	0.07±0.01*	+40.0
Диеновые конъюгаты	3.93±0.035	5.32±0.40****	+35.4
α -Токоферол	7.51±0.35	5.25±0.33**	-30.1

Показатели достоверности: *-p<0.001, **-p<0.01, ***-p<0.02, ****-p<0.05.

Результаты проведенных исследований, отраженные в табл. 1, демонстрируют значительное повышение интенсивности как неферментативного – аскорбат-зависимого (АЗП, на 41.3%), так и ферментативного – NADPH-зависимого (НЗП, на 32.1%) ПОЛ в ЭМ при односторонней ГСЭ.

Таблица 2

Изменение интенсивности процессов ПОЛ (в нМ малонового диальдегида/мг белка) эритроцитарных мембран белых крыс при двусторонней ваготомии, солярэктомии и их сочетании (абсолютные количества $M \pm m$, % разницы от контроля (К), $n=8$)

Показатели	Контроль (К)	Ваготомия	% разницы от К	Солярэктомия	% разницы от К	Сочетание	% разницы от К
Аскорбат-зависимое перекисление	2.34±0.26	2.96±0.028*	+26.5	3.22±0.27*	+37.6	3.47±0.042*	+48.2
NADPH-зависимое перекисление	3.50±0.19	4.74±0.09*	+35.4	4.43±0.10**	+36.5	4.86±0.09*	+35.9
МДА-модифицированные белки	0.053±0.004	0.075±0.005**	+41.5	0.07±0.005****	+32.1	0.079±0.005**	+49.2
Диеновые конъюгаты	3.86±0.092	4.45±0.10**	+15.3	4.88±0.09*	+26.4	5.01±0.073*	+29.8
Ацилгидроперекиси	1.55±0.037	2.04±0.04*	+31.6	1.91±0.04*	+23.2	2.14±0.038*	+38.0
α-Токоферол	7.54±0.10	5.22±0.048*	-30.8	5.43±0.05*	-28.9	4.87±0.049*	-35.4

Показатели достоверности: *- $p < 0,001$, **- $p < 0,01$, ***- $p < 0,02$, ****- $p < 0,05$

Вследствие усиления процессов СРО в ЭМ содержание МДА-модифицированных белков возрастает на 40.0%, количество диеновых конъюгатов (ДК) на 35.4%, в то время как содержание α -Т уменьшается на 30.1%.

При ваготомии, солярэктомии и их сочетании (табл. 2) в ЭМ АЗП возрастает на 26.5, 36.5 и 48.2% соответственно по сравнению с контролем, а НЗП – на 35.4, 36.5 и 35.9% соответственно. Эти данные свидетельствуют о повышении интенсивности процессов СРО липидов, сопровождающихся выходом значительных концентраций липидных перекисей, что может привести к ярко проявляющимся конформационным и кооперативным изменениям мембранных протеинов, а следовательно, и мембран в целом [1,13], с вымыванием более гидрофильных ацилгидроперекисей (АГП) из гидрофобного окружения мембранных структур. Концентрация АГП при ваготомии, солярэктомии и их сочетании увеличилась на 31.6, 23.2 и 38.0% соответственно, подтверждая вышеуказанное предположение. В то же время при изучаемых экстремальных состояниях содержание МДА-модифицированных белков возрастает на 41.5, 32.1 и 49.2% соответственно, количество ДК – на 15.3, 26.4 и 29.8% соответственно, в то время как содержание α -Т уменьшается на 30.8, 28.9 и 35.4% соответственно. Возможно, эти изменения могут стать основой повреждения ЭМ, поскольку нарушения во взаимоотношениях ПОЛ – антиоксидантная система способствуют структурной реорганизации ЭМ, свидетельствуя об альтерации компенсаторно-приспособительных возможностей мембранных структур. Это коррелирует с данными исследований особенностей изменений интенсивности течения процессов СРО в плазме крови.

Так, при односторонней ГСЭ (табл. 3) заметное возрастание содержания фоновых липидных перекисей (ФЛП, на 36.5%), МДА-модифицированных белков (на 26.2%) и ДК (на 31.2%) сопровождается одновременно проявляющимся чувствительным уменьшением содержания α -Т (на 26.1%).

Эти данные свидетельствуют о заметной интенсификации процессов ПОЛ. При ваготомии, солярэктомии и их сочетании в плазме крови (табл.4) также заметно возрастает содержание ФЛП (на 24.8, 38.3 и 39.6% соответственно), МДА-модифицированных белков (на 28.1, 21.1 и 43.0% соответственно) и ДК (на 20.6, 26.1 и 37.2% соответственно). Это повышение связано с активацией деструктивных процессов, деградацией мембраносвязанных фосфолипидов и активированием на этом фоне интенсивности течения реакций СРО липидов [14]. Немаловажно также и значительное уменьшение содержания α -Т (на 24.3, 18.7 и 31.9% соответственно при ваготомии, солярэктомии и их сочетании). Уменьшение уровня α -Т в ЭМ и плазме крови чревато серьезными нарушениями физико-

химических свойств мембран клеточных образований и их физиологической активности, нарушениями процессов транспорта O_2 , ионного обмена, а также расстройствами в метаболизме липопротеидов плазмы, процессов адгезии и агрегации эритроцитов, тромбоцитов. С другой стороны, это снижение приводит к увеличению содержания АГП (на 27.6, 19.0 и 33.0% соответственно), благодаря α -Т, вымывающему их из каркаса окисленных продуктов.

Таблица 3

Изменение интенсивности процессов ПОЛ (в нМ малонового диальдегида/мг белка), содержания МДА-модифицированных белков, диеновых конъюгатов, α -токоферола, средномолекулярных пептидов, общего холестерина в плазме крови белых крыс при односторонней ганглиосимпатэктомии (абсолютные количества $M \pm m$, % разницы от контроля (К), n=8)

Показатели	Контроль (К)	Ганглиосимпатэктомия	% разницы от К
Фоновые липидные перекиси	5.751 \pm 0.47	7.850 \pm 0.60****	+36.5
МДА-модифицированные белки	0.730 \pm 0.06	0.921 \pm 0.08	+26.2
Диеновые конъюгаты	4.201 \pm 0.27	5.510 \pm 0.32***	+31.2
α -Токоферол	1.420 \pm 0.09	1.050 \pm 0.08***	-26.1
Средномолекулярные пептиды	0.150 \pm 0.01	0.191 \pm 0.01****	+27.3
Общий холестерин	1.43 \pm 0.08	1.750 \pm 0.09****	+22.4

Показатели достоверности: *-p<0.001, **-p<0.01, ***-p<0.02, ****-p<0.05.

В результате снижения антиоксидантной активности имеет место подавление суммарной пероксидазы (на 10.4, 18.3 и 23.4% соответственно) и СОД (на 21.0, 16.5 и 19.2% соответственно). Эти изменения указывают не только на проявление дисгармонии во взаимоотношении ПОЛ – антиоксидантная система, но и на подавление антирадикальной защиты. Такие расстройства в процессах СРО в ЭМ и плазме крови свидетельствуют о выраженных структурно-функциональных нарушениях при ГСЭ, ваготомии, солярэктомии и сочетании двух последних.

Особый интерес представляет увеличение содержания средномолекулярных пептидов при ГСЭ (на 27.3%), ваготомии, солярэктомии и их сочетании (на 49.7, 34.3 и 40.6% соответственно), являющихся субстратами эндогенной

Таблица 4

Изменение интенсивности процессов ПОЛ (в нМ малонового диальдегида/мг белка), содержания МДА-модифицированных белков, диеновых конъюгатов, α -токоферола, среднемолекулярных пептидов, общего холестерина, суммарной пероксидазной активности, активности СОД в плазме крови белых крыс при односторонней ганглиосимпатэктомии (абсолютные количества $M \pm m$, % разницы от контроля (К), $n=8$)

Показатели	Контроль (К)	Ваготомия	% разницы от К	Солярэктомия	% разницы от К	Сочетание	% разницы от К
Фоновые липидные перекиси	5.80 \pm 0.038	7.24 \pm 0.037*	+24.8	7.72 \pm 0.047*	+38.3	8.10 \pm 0.052*	+39.6
МДА-модифицированные белки	0.71 \pm 0.042	0.91 \pm 0.047***	+28.1	0.86 \pm 0.03***	+21.1	1.02 \pm 0.032*	+43.0
Диеновые конъюгаты	4.32 \pm 0.036	5.21 \pm 0.034*	+20.6	5.45 \pm 0.037*	+26.1	5.93 \pm 0.039*	+37.2
Ацилгидроперекиси	2.21 \pm 0.04	2.82 \pm 0.033*	+27.6	2.63 \pm 0.048*	+19.0	2.94 \pm 0.016*	+33.0
Суммарная пероксидазная активность	11.42 \pm 0.076	10.23 \pm 0.054*	-10.4	9.33 \pm 0.06*	-18.3	8.75 \pm 0.064*	-23.4
Супероксиддисмутаза	33.80 \pm 0.06	26.70 \pm 0.084*	-21.0	28.20 \pm 0.078*	-16.5	27.30 \pm 0.100*	-19.2
α -Токоферол	1.44 \pm 0.036	1.09 \pm 0.032*	-24.3	1.17 \pm 0.036*	-18.7	0.98 \pm 0.034*	-31.9
Среднемолекулярные пептиды	0.143 \pm 0.006	0.214 \pm 0.0068*	+49.7	0.192 \pm 0.0044*	+34.3	0.201 \pm 0.0048*	+40.6
Общий холестерин	1.51 \pm 0.063	1.76 \pm 0.055***	+16.6	1.67 \pm 0.053****	+10.6	1.92 \pm 0.053**	+27.2

Примечание: показатели достоверности *- $p < 0,001$, **- $p < 0,01$, ***- $p < 0,02$, ****- $p < 0,05$.

интоксикации при различных патологических состояниях и наделенных антиоксидантными свойствами [15], а также общего холестерина (на 22.4, 16.6, 10.6 и 27.2% соответственно), обладающего тормозящим действием на окисление быстроокисляющихся липидов в реакциях СРО, что свидетельствует о возможных компенсаторных пертурбациях в крови при изучаемых экстремальных состояниях.

Результаты проведенных исследований еще раз подтверждают биологическую концепцию Л.А.Орбели об адаптационно-трофическом действии ВНС и ее периферических отделов на структурные единицы живой материи.

Выражаем благодарность М.А. Бадалян за активное участие в проведенных исследованиях.

¹Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА

²Институт биохимии им. Г. Х. Бунятыана НАН РА

³Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци

Академик К. Г. Карагезян, Г. А. Овеян, Г. А. Геворкян, А. Г. Овеян

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов в крови белых крыс в условиях ганглиосимпатэктомии, ваготомии, солярэктомии

Показаны выраженные изменения интенсивности процессов СРО липидов в эритроцитарных мембранах и в плазме крови белых крыс в условиях ганглиосимпатэктомии, ваготомии, солярэктомии и при их сочетании, свидетельствующие о серьезных расстройствах во взаимоотношении перекисного окисления липидов – антиоксидантной системы и состоянии антирадикальной защиты изучаемых биологических структур.

**Ակադեմիկոս Կ. Գ. Ղարազյոզյան, Գ. Ա. Հովեյան, Գ. Ա. Գեւորգյան,
Ա. Գ. Հովեյան**

**Սպիտակ առնետների արյան լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսների
ինտենսիվությունը գանգլիոսիմպաթեկտոմիայի, վագոտոմիայի,
սոլարեկտոմիայի պայմաններում**

Ցույց են տրված սպիտակ առնետների էրիթրոցիտային թաղանթների եւ արյան պլազմայի լիպիդների ազատռադիկալային օքսիդացման պրոցեսների ինտենսիվության արտահայտված փոփոխությունները գանգլիոսիմպաթեկտո-

միայի, վազոտոմիայի, սոլարէկտոմիայի եւ դրանց զուգակցման պայմաններում՝ վկայելով նշված կենսաբանական կառույցներում լիպիդային գերօքսիդացում – հակաօքսիդանտային համակարգի հարաբերակցության եւ հակառադիկալային պաշտպանության վիճակի լուրջ խաթարումների մասին:

Academician K. G. Karageuzyan, G. A. Hoveyan, G. A. Kevorkian, A. G. Hoveyan

Intensity of Lipid Peroxidation Processes in Blood of White Rats under Conditions of Gangliosympathectomy, Vagotomy, Solarectomy

The considerable changes in intensity of lipids free radical oxidation processes in white rats erythrocyte membranes and blood plasma are shown under the conditions of gangliosympathectomy, vagotomy, solarectomy and their combination, testifying serious disturbances in interrelations of lipid peroxidation – antioxidant system and antiradical defense status of investigated biological structures.

Литература

1. *Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г.* – Успехи химии. 1985. Т. 4. №9. С. 1540-1558.
2. *Владимиров Ю.А. Азизова О.А., Деев А.И., Козлов А.В.* –Итоги науки и техники. М. ВИНТИ. 1991. Т. 29. С. 126-130.
3. *Амирян Л.А., Овоян Г.А., Бороян Р.Г.* –Сборник научных трудов ЕрГМУ. 2000. С. 390-392.
4. *Limber G.R., Davie R.F., Baker A.M.S.* –Blood. 1970. V.36. N2. P. 111-118.
5. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* В кн.: Перекисное окисление липидов биологических мембран. М. Наука. 1972. 252 с.
6. *Duggan D.E.* –Arch. Biochem. Biophys. 1959. V.184. P. 116-120.
7. *Гаврилов Б.Б., Мишкорудная М.И.* –Лабораторное дело. 1983. N3. С. 33-35.
8. *Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., Mori M.* –Amer. J. Obstet. and Gynecol. 1979. V.135. N3. P. 372-376.
9. *Владыко А.С., Левицкий Э.П., Поддубная Л.П., Габриелян Н.И.* –Анестезиол. и реаниматол. 1987. N2. С. 37-40.
10. *Nishikimi M., Rao N.A., Jagi K.* –Biochem. Biophys. Res. Commun. 1972. V.64. P. 949-956.

11. *Покровский А.А.* –Биохим. методы исследования в клинике. М. Медицина. 1969. С. 349-355.
12. *Сентебова Н.А.* –Лабораторное дело. 1977. №6. С. 375-380.
13. *Карагезян К.Г., Овеян Г.А., Мартиросян А.Г. и др.* –Ученые записки ЕрГУ. Ереван. 1999. №2. С. 79-83.
14. *Карагезян М.К., Овсепян Л.М., Карагезян К.Г. и др.* –ДАН СССР. 1995.Т.41. №3. С. 408-411.
15. *Галактионов С.Г., Цейтин В.М., Леонова В.И. и др.* –Биоорган. химия. 1984. №1. С. 5-17.