

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1989

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1989

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ 35

БЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989

ВОПРОСЫ
МЕДИЦИНСКОЙ
ХИМИИ



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. В. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

К. Г. Карагезян, Д. М. Геворкян

**ФОСФОЛИПИДЫ-ГЛИЦЕРИДЫ, ПЕРЕКИСНАЯ
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ, УРОВЕНЬ В НИХ
МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА И СОДЕРЖАНИЕ
 α -ТОКОФЕРОЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ЭРИТРОЦИТАХ КРЫС
С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ ДО И ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ
КОМБИНИРОВАННОЙ АНТИОКСИДАНТОТЕРАПИИ**

Институт экспериментальной биологии АН Армянской ССР, Ереван, Ереванский медицинский институт

Изучение нарушений липидного обмена при сахарном диабете представляет несомненный интерес в плане выявления определенных закономерностей в реакциях биосинтеза и деградации мембранных фосфолипидов (ФЛ) как факторов, обуславливающих физико-химические свойства этих образований.

Ранее нами было показано, что применение различных природных и синтетических антиоксидантов при таких патологических состояниях организма, как сахарный диабет [2, 4, 6, 8—10, 13, 14], бронхиальная астма [7], инфаркт миокарда [11], сопровождается заметным ингибированием интенсивности течения реакций свободнорадикального окисления липидов с одновременным упорядочением качественного и количественного состава ФЛ в клеточных мембранах. Эти сдвиги характеризуются также восстановлением уровня эндогенного α -токоферола (α -Т) в изученных биологических системах, что в свою очередь свидетельствует о понижении содержания основного компонента антирадикальной защиты клетки в условиях патологии. В связи с этим нами было высказано предположение о том, что действие α -Т обусловлено не только его антиоксидантными свойствами. В исследованиях *in vitro* [15] было продемонстрировано стимулирующее действие α -Т на реакции фосфатидогенеза *de novo*. Кроме того, в повышении антиоксидантных свойств α -Т важное место отводится аскорбиновой кислоте (АК) как синергисту, обеспечивающему надежное поддержание запасов гидроксиформы α -Т — единственной разновидности этого соединения, обладающей антиоксидантными свойствами. Следовательно, поиск новых путей коррекции отмеченных нарушений с по-

мощью различных антиоксидантов и их комбинаций представляет не только существенный теоретический интерес, но имеет также важное прикладное значение при изученной патологии.

В работе была поставлена задача изучить закономерности взаимопревращений между фосфатидилхолипами (ФХ), лизофосфатидилхолипами (ЛФХ), фосфатидилэтаноламинами (ФЭ) и фосфатидилсеридами (ФС) в эритроцитах крыс с аллоксановым диабетом на фоне применения комбинированной антиоксидантотерапии.

Методика

Исследования проводили на 120 беспородных белых крысах-самцах массой 180—200 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животные были разделены на 5 групп: 1-я — интактные (контроль); 2-я — аллоксандиабетические; 3-я — леченные АК; 4-я — леченные α -Т; 5-я — леченные методом сочетанного введения α -Т с АК.

α -Т и АК вводили ежедневно с момента стабилизации картины сахарного диабета (10—12-й день после введения аллоксана) на протяжении 15 дней в виде однократных внутримышечных инъекций. α -Т вводили из расчета 3 мг, АК — 0,4—0,5 мг на всю массу тела животного. Используемая дозировка и сочетание препаратов были основаны на длительных экспериментальных наблюдениях. Аллоксановый диабет вызывали однократным внутримышечным введением крысам водного раствора очищенного аллоксана из расчета 180 мг на 1 кг массы. Показателем развития стойкого диабета служило высокое содержание глюкозы в крови, превосходившее норму более чем в 2—3 раза, и наличие постоянной глюкозурии.

За несколько минут до взятия крови животных фиксировали (крестообразно) на деревянном станке, что широко применяется в экспериментальной практике. Иммунизации подвергались и контрольные, и подопытные животные. Кровь для исследования (2—3 мл) брали утром, между 10 и 11 ч, с помощью шприца, многократно промытого раствором гепарина по разработанной нами методике. Проккол кожи производили без нарушений ее целостности в направлении ключицы по биссектрисе

прямого угла, образованного между торсом и перпендикулярно расположенной к нему передней лапой. При этом конец иглы прокалывал стенку венозного расширения, образованного слиянием подключичной вены с верхней полой веной, отличающегося большим притоком венозной крови.

Гепаринизированную кровь перенесли в толстостенные пробирки и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Отделившуюся эритроцитную массу дважды промывали охлажденным физиологическим раствором с рН 7,4. Последнее центрифугирование производили при 3500 об/мин на протяжении 15 мин, надосадочную жидкость сливали, а достаточно концентрированную взвесь эритроцитов использовали для исследования их резистентности к перекисному гемолизу, которую оценивали в процентах увеличения выхода гемоглобина по цианметгемоглобиновому методу [1], определения количественного содержания в них малонового диальдегида (МДА) [3] и уровня эндогенного α -Т по Duggan [17] с использованием спектрофлуориметра фирмы «Hitachi» (Япония).

Определенную часть эритроцитной массы использовали для получения ацетонового порошка как исходного материала для экстракции ФЛ по методу Folch [19]. Фракционирование ФЛ производили с помощью одномерной восходящей хроматографии на бумаге «Filtack-FN-11» (ГДР), пропитанной кремниевой кислотой по Marinetti и Stolz [20] в модификации А. А. Смирнова и соавт. [16] и К. К. Карагезина [5]. Количество индивидуальных ФЛ выражали в микрограммах липидного фосфора на 1 мл эритроцитной массы, определенного по методу Fiske и Subarow [18].

Результаты и обсуждение

Как видно из таблицы, аллоксановый диабет сопровождается статистически достоверным уменьшением в эритроцитной массе содержания ФХ, ФЭ и ФС, уровня α -Т в плазме крови

и эритроцитах и одновременным резким (более чем в 3 раза) снижением резистентности эритроцитов к перекисному гемолизу на фоне повышения уровня МДА. Взаимобусловленность убыли количества ФХ и параллельного увеличения содержания ЛФХ можно объяснить главным образом повышением активности фосфолипазы А₂. Благодаря катализирующему действию последней на реакции деградации молекул ФЛ-глицеридов имеет место значительный выход как лизопродуктов этих соединений, так и большого количества нестерифицированных жирных кислот. Как известно, и те и другие характеризуются как вещества с мощным детергентным эффектом, оказывающие на биологические мембраны мембранотоксическое и мембранолитическое действие. Отрицательное влияние указанных соединений на жизнедеятельность живой клетки еще более усугубляется при активировании на фоне формирования патологического процесса реакций свободнорадикального окисления липидов, главным образом свободных жирных кислот.

Введение аллоксана диабетическим крысам в качестве терапевтического средства АК не вызывает существенных изменений в изученных показателях липидного метаболизма. При введении животным α -Т отмечены изменения в содержании ЛФХ, ФЭ, ФС, а также количества эндогенного α -Т в эритроцитах в сторону нормализации. На этом фоне выявлено более чем двукратное повышение резистентности

Содержание ФЛ эритроцитов, их резистентности к перекисному гемолизу, количество МДА и уровень эндогенного α -Т в плазме крови и эритроцитах крыс при терапии α -Т и АК

Показатель	Группа животных				
	контрольная	аллоксановый диабет	аллоксановый диабет + АК	аллоксановый диабет + α -Т	аллоксановый диабет + АК + α -Т
Фосфатидилхолины	36,6±0,9	27,7±2,1*	28,0±2,7*	32,3±1,1*	37,1±1,6
Лизофосфатидилхолины	5,1±0,3	10,3±0,7*	8,8±0,7*	6,8±0,9**	5,7±0,7
Фосфатидилэтаноламины	8,2±0,5	6,1±0,3*	7,0±0,3**	7,5±0,3***	7,9±0,6
Фосфатидилсерины	10,9±0,4	6,6±0,5*	9,0±0,6*	9,9±0,5***	11,0±0,4
Резистентность эритроцитов к перекисному гемолизу	100,0±7,0	348,0±15,0*	300,0±18,0*	150,0±11,0*	112,0±12,0
МДА, % от контроля	100,0±10,0	325,0±18,0*	220,0±11,0*	148,0±9,9*	105,0±10,0**
α -Т, % от контроля:					
в плазме крови	100,0±2,9	81,0±2,9*	89,0±1,9*	91,0±1,8*	102,0±2,0
в эритроцитах	100,0±2,1	80,0±2,9*	80,9±2,3*	95,0±2,0**	99,0±2,7

Примечание. Одна звездочка — $p < 0,001$; две — $p < 0,01$; три — $p < 0,05$ относительно контроля.

эритроцитов к перекисному гемолизу по сравнению с таковой в группе аллоксандиабетических животных, не получивших α -Т. Аналогичные изменения прослеживаются и в содержании МДА.

При использовании метода комбинированной антиоксидантографии [12], т. е. при сочетании введения α -Т с АК, обнаружена нормализация всех изученных показателей липидного обмена и антирадикальной защиты клетки.

Установленные нами закономерности в нарушениях изученных сторон липидного метаболизма проливают свет на понимание роли ФЛ и продуктов их превращений в патогенезе сахарного диабета. Свидетельством наличия деструктивных процессов, разыгрывающихся на уровне мембран эритроцитов, является один из широко используемых показателей — перекисная резистентность эритроцитов, обусловленная четко проявляющимися расстройством физико-химических свойств мембраны указанных элементов крови и главным образом функции проницаемости ее в отношении различных веществ, в частности гемоглобина. Степень выхода последнего, измеряемая в процентах, является показателем деструктивных изменений ФЛ как одних из основных компонентов клеточной мембраны, принимающих важное участие в формировании ее морфологического и функционального статуса. О расщеплении мембранных ФЛ свидетельствует установленный нами факт количественного возрастания лизопродизольных этих соединений и главным образом ЛФХ. Образование последних в условиях патологии наиболее вероятно в результате доминирования процессов деградации над биосинтетическими реакциями, когда имеет место активирование ферментных систем, катализирующих процессы распада, например фосфолипазы A_2 , действующей в направлении расщепления фосфолипидной молекулы. Катализ реакций деградации мембранных ФЛ, сопровождающийся одновременным образованием ЛФХ и освобождением значительного количества моно- и полиеновых жирных кислот, завершается в конечном счете вовлечением последних в реакции свободнорадикального окисления в качестве основных субстратов с образованием высокого пула сильно токсичных продуктов перекисления жир-

ных кислот — липидных перекисей. Взаимосвязь и взаимообусловленность описанных превращений в сочетании с понижением перекисной резистентности эритроцитов на фоне падения уровня эндогенного α -Т являются подтверждением высказанных нами соображений относительно имеющего место при диабете нарушения в «динамическом равновесии» между многочисленными факторами, обуславливающими функциональное состояние про- и антиоксидантной системы в пользу первой.

Таким образом, не вызывает сомнений значимость изученных сторон липидного метаболизма в формировании общего патогенетического комплекса при сахарном диабете. В этом аспекте полученные результаты при использовании предложенного нами метода комбинированного использования α -Т и АК предполагают целесообразность его внедрения в клинику лечения сахарного диабета наряду с традиционно используемыми в ней комплексами терапевтических мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бенисович В. И., Идельсон Л. И. // *Вопр. мед. химии.* — 1973. — № 6. — С. 596—599.
2. Варганян П. А., Бадалян М. Г., Карагезян К. Г. // *Всероссийский съезд эндокринологов, 2-й: Тезисы докладов.* — Л., 1980. — С. 46—47.
3. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.* — М., 1972.
4. Геворкян Д. М., Мелик-Агаева Е. А. // *Биоантиоксидант.* — Черноголовка, 1986. — Т. 1. — С. 64—65.
5. Карагезян К. Г. // *Лаб. дело.* — 1969. — № 1. — С. 23—26.
6. Карагезян К. Г., Варганян Г. С., Паносян А. Г. // *Бюл. экспер. биол.* — 1981. — № 8. — С. 35—37.
7. Карагезян К. Г., Сафарян М. Д., Амагунни В. Г. // *Журн. экспер. и клин. мед.* — 1980. — № 1. — С. 61—68.
8. Карагезян К. Г., Овсепян Л. М., Лдонц К. Г. и др. // *Вопр. мед. химии.* — 1982. — № 5. — С. 56—59.
9. Карагезян К. Г., Хачатрян Э. Т., Варганян П. А. // *Актуальные вопросы патологии.* — Баку, 1982. — С. 207—210.
10. Карагезян К. Г., Овсепян Л. М., Лдонц К. Г. // *Вопр. мед. химии.* — 1985. — № 2. — С. 62—64.
11. Карагезян К. Г., Бадалян Г. О., Данилова Л. Л., Ордян В. В. // *Кровообращение.* — 1985. — № 3. — С. 24.
12. Карагезян К. Г., Овакимян С. С., Геворкян Э. М. и др. // *Биоантиоксидант.* — Черноголовка, 1986. — Т. 2. — С. 57—58.
13. Мартикян А. Р., Варганян Г. С., Карагез-

- зян К. Г. // *Вопр. мед. химии.* — 1985. — № 3. — С. 86—87.
14. Мхитарян В. Г., Геворкян Д. М. // *Биол. журн. Армении.* — 1980. — Т. 33. — № 6. — С. 611—620.
15. Ордян В. В. Эффективность комбинированной антиоксидантотерапии в регуляции метаболизма фосфолипидов и активности лактатдегидрогеназы, креатинкиназы и их изоферментов при остром инфаркте миокарда: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Ереван, 1986.
16. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. // *Биохимия.* — 1961. — Т. 26. — С. 1027—1033.
17. Duggan D. D. // *Arch. Biochem.* — 1959. — Vol. 84. — P. 116—120.
18. Fiske C. H., Subbarow G. // *J. biol. Chem.* — 1925. — Vol. 66. — P. 365.
19. Folch J. // *Ibid.* — 1942. — Vol. 146. — P. 35.
20. Marinetti G. V., Stoltz E. // *Biochim. biophys. Acta.* — 1956. — Vol. 21. — P. 168—173.

Поступила 09.09.88

PHOSPHOLIPIDS-GLYCERIDES, LIPID PEROXIDATION IN ERYTHROCYTES, CONTENT OF L-TOCOPHEROL IN BLOOD PLASMA AND ERYTHROCYTES OF RATS WITH ALLOXANE DIABETES BEFORE AND AFTER COMPLEX ANTIOXIDANT THERAPY

K. G. Karaguezryan, D. M. Gevorkyan

Institute of Experimental Biology, Academy of Sciences of the Armenian SSR, Medical School, Yerevan

Quantitative and qualitative alterations in content of phospholipids were studied in erythrocytes of rats with alloxane diabetes; rate of lipid peroxidation and content of L-tocopherol were estimated in blood plasma before and after the antioxidant therapy. Patterns of lipid metabolism were normalized after the course of treatment involving simultaneous administration of L-tocopherol and ascorbic acid within 10-15 days. The antioxidants used decreased the rate of lipid peroxidation in erythrocyte membranes and stimulated biosynthesis of phospholipids de novo. Role of antioxidants in phospholipid metabolism is discussed.

УДК 616-006.04-033.2-02:615.277.3]-092.9-07

С. Г. Чубинская, Н. А. Севастьянова, И. Г. Векслер, Л. И. Слуцкий

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ КОМПОНЕНТОВ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ И ЛЕГКИХ У МЫШЕЙ ПРИ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ И ПРИМЕНЕНИИ ХИМИОПРЕПАРАТОВ

Институт проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого АН УССР, Киев, НИИ травматологии и ортопедии Минздрава Латвийской ССР, Рига

Метастазирование злокачественных опухолей является сложным биологическим процессом, зависящим как от свойств опухолевых клеток, так и от состояния защитно-компенсаторных систем организма. Одной из таковых является система соединительной ткани, в тесное взаимодействие с которой вступает опухоль в процессе своего развития и роста [1, 4]. На пути миграции опухолевых клеток естественными барьерами служат структуры базальных мембран и соединительнотканной стромы, наиболее важными составляющими которых, как известно, являются коллаген, эластин, протеогликаны и гликопротеины. По мнению ряда авторов [15, 17], инвазивный рост и метастазирование являются следствием патологического взаимодействия между опухолевыми клетками и стромой хозяина.

Детально исследованы морфофункциональные изменения соединительной

ткани в процессе канцерогенеза и роста опухолей, а также под влиянием различных стимулирующих и угнетающих ее функциональное состояние воздействий. Однако в биохимическом аспекте соединительнотканная строма злокачественных новообразований и реакция соединительной ткани органов-мишеней на стадии метастазирования изучены недостаточно. Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение содержания указанных соединительнотканнных компонентов в различных экспериментальных опухолях и легких при метастазировании и под влиянием лекарственных воздействий, направленных на подавление этого процесса.

Методика

В опытах использовано 300 мышей-самок линии С57BL/6 массой 20—23 г из вивария Института проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого АН УССР. Метастазирующие в легкие