

УДК 577.34537+598.1

Н.М. АЙВАЗЯН, А.Е. ЗАКАРЯН, Н.А. ЗАКАРЯН

ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У НЕКОТОРЫХ ВЫСШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ

Исследовалась интенсивность перекисного окисления липидов методами хемилюминесценции и спектрофотометрического определения концентрации малонового диальдегида в тканях высших позвоночных. Полученные данные свидетельствуют о том, что в ряду рыбы–амфибии–рептилии–млекопитающие уровень процессов свободнорадикального окисления уменьшается, что, вероятно, связано не только с увеличением степени насыщенности жирных кислот в составе липидов тканей организма в данном эволюционном ряду, но и с усилением роли антиоксидантной системы, контролирующей интенсивность указанных процессов.

Введение. Известно, что основу любых клеточных мембран составляют липиды, определяющие степень ее жидкостности, латеральную и трансбислойную асимметрию. Две важнейшие функции – структурная и регуляторная – характеризуют роль липидов, и прежде всего полярных фосфолипидов в жизнедеятельности клеток и, следовательно, всего организма в целом. На сегодняшний день в эволюционной биохимии накоплен обширный материал по составу фосфолипидов и холестерина в мозговых мембранах позвоночных, и в меньшей степени – липидов других тканей [1–3]. Эти данные позволяют заключить, что липидный состав ткани, являясь наиболее консервативным структурным элементом живых организмов, претерпел незначительные изменения за сотни миллионов лет эволюции от рыб до млекопитающих. По Е.М. Крепсу, основной набор липидов мембран сформировался на раннем этапе эволюции и закрепился генетически [4, 5]. Такое предположение нашло свое последующее подтверждение во многих фундаментальных исследованиях [2, 6]. Однако значение регуляторной роли универсального набора липидов в функционировании биомембран, филогенетически резко отличающихся друг от друга тканей и систем организма, все еще окончательно не выявлено. Разрешение этих вопросов возможно в ходе всестороннего исследования различных изменений, протекающих в липидах и липидосодержащих структурах. В этом аспекте большой интерес представляют реакции свободнорадикального окисления (СРО) липидов, обусловленные как изменениями качественного и количественного содержания фосфолипидов клеточных структур, так и интенсивностью реакций СРО липидов и состоянием биоантиоксидантов. Последние являются важнейшими составляющими системы антирадикальной защиты клеток в ка-

честве мощных регуляторов процессов перекисидации, нарушение которых может приводить к развитию различных патологий.

В представленной работе изучается интенсивность течения процессов СРО липидов в тканях живых организмов с точки зрения эволюционного различия высших позвоночных.

Материалы и методы. Опыты проводили на четырех группах позвоночных: 1) рыбах двух видов – севанском сига (*Coregonus lavaretus*) и обыкновенном карасе (*Carassius carassius*), 2) земноводных двух видов – озерной лягушке (*Rana rudibunda*) и зеленой жабе (*Bufo viridis*), 3) пресмыкающихся двух видов – кавказской агаме (*Agama caucasicus*) и водяном уже (*Natrix tessellata*) и 4) беспородных крысах обоего пола. Животных подвергали декапитации с последующим отделением органов (мозг, сердце, печень, поперечно-полосатая мускулатура), которое проводили на холоде. Навески тканей промывали струей холодной дистиллированной воды и гомогенизировали в буферном растворе (0,175M KCl, 0,025M Трис-HCl, pH=7,4) с конечной концентрацией 20 мг сырого веса ткани на 1 мл буфера в гомогенизаторе Доусона.

Измерение интенсивности хемилюминесценции (ХЛ) проводили с помощью квантометрической установки, работающей на основе фотоумножителя ФЭУ-139 с диапазоном спектральной чувствительности 300–800 нм [7], фотоиндуцированной ХЛ (ФХЛ) проб – после облучения их УФ-лампой (MEDICOR, Q-439, BUDAPEST): экспозиция – 2,5 мин, расстояние до кюветы – 5 см. Для изучения индуцированной ХЛ использовали также разработанную нами модельную систему диметилформамид–олеиновая кислота (ДМФА–ОК, 1 : 0,2 мл). О накоплении продуктов СРО липидов судили по тесту с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), проводимому на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 532 нм [8].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили общепринятым методом по критерию Стьюдента–Фишера.

Результаты и обсуждение. При исследовании температурной зависимости спонтанной ХЛ (СХЛ) тканевых образцов указанных классов позвоночных в диапазоне от 25 до 60°C получены результаты, приведенные на рис. 1. Как видно, наибольшее излучение квантов света во всех четырех случаях наблюдается в гомогенате мозга. При этом интенсивности СХЛ для различных температур достигают своего максимума у рыб и последовательно убывают по мере повышения уровня эволюционной организации. Характерно, что во всех экспериментах в промежутке температур 40–45°C наблюдается некоторый перелом кривой температурной зависимости гомогената мозга, который, по нашему мнению, связан с фазовым переходом липидсодержащих структур в биомембранах. Остальные тканевые гомогенаты при нагревании проявляли не столь высокую интенсивность свечения, сохраняя, однако, те же закономерности, а именно: понижение уровня излучения в ряду рыбы–амфибии–рептилии и некоторое повышение его у млекопитающих. В то же время, по форме температурной кривой, видно, что изменение уровня СХЛ образцов мышечной ткани всех рассматриваемых животных имеет одинаковый характер.

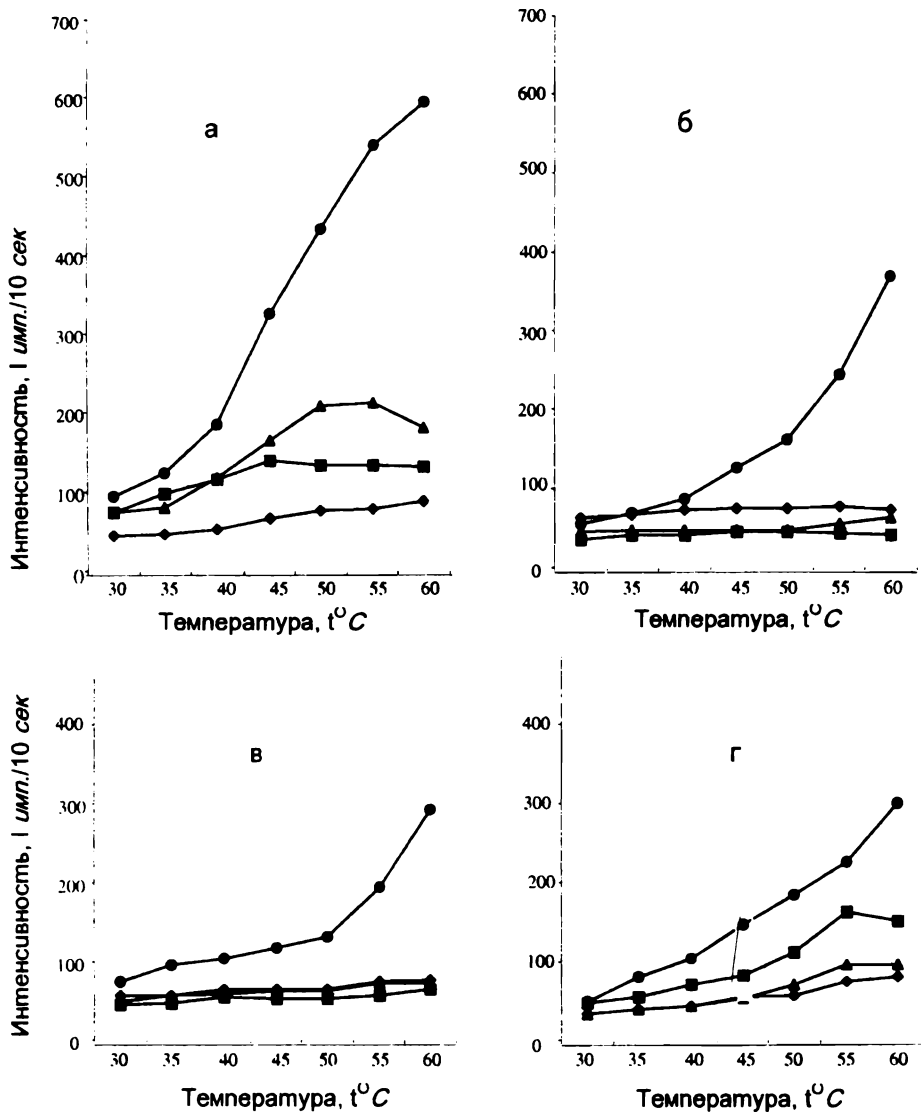


Рис. 1. Зависимость спонтанной ХЛ гомогенатов тканей позвоночных от температуры (●—мозг; ▲—сердце; ■—печень; ◆—мышца; а—рыбы, б—амфибии, в—рептилия, г—крысы).

С результатами СХЛ достаточно хорошо коррелируют экспериментальные данные, полученные при прямом определении накопления малонового диальдегида (МДА) в процессе перекисного окисления липидов (ПОЛ), что по существу отражает те же процессы, что и СХЛ (рис. 2). И в этом случае уровень указанных реакций у рыб оказывается однозначно выше, чем у амфибий и рептилий, однако наименьшее значение по выходу МДА наблюдается у млекопитающих. При сравнении интенсивности процесса СРО липидов для разных органов можно заметить расхождение с данными СХЛ, а именно: как видно из рис. 2, интенсивность течения процесса перекисаации

мозга представляется ниже соответствующих значений для печени и сердца. Последнее наблюдение, вероятно, связано с высоким содержанием холестерина в мозгу высших позвоночных, который, являясь структурным антиоксидантом, может, несмотря на высокий уровень фосфолипидов в мозгу, выступать в роли ингибитора и фактора, лимитирующего интенсивность течения реакций СРО [9].

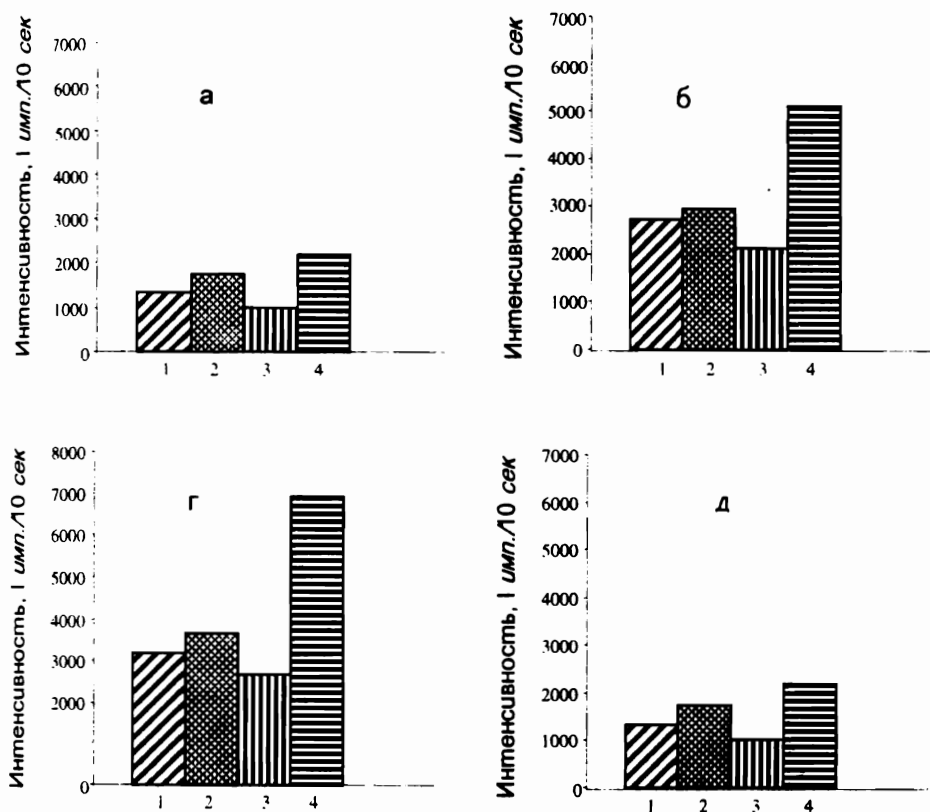


Рис. 2. Интенсивность ФХЛ гомогенатов тканей позвоночных (1 – мозг, 2 – сердце, 3 – печень, 4 – мышца); а – рыбы, б – амфибии, в – рептилии, г – крысы.

ФХЛ гомогенатов, облученных УФ-светом, демонстрирует совершенно иную картину интенсивностей свечения исследуемых образцов: оно у рептилий выше, чем у земноводных и значительно ниже у рыб, а у млекопитающих ниже, чем у рептилий и земноводных (рис. 3). Подобный реверс результата ФХЛ, как мы предполагаем, обусловлен белковыми компонентами мембран, выступающими при УФ-облучении в роли основных участников процесса, приводящего к генерации квантов, и главных факторов, определяющих уровень ФХЛ, в то время как при СХЛ основными эмиттерами свечения являются липидные структуры. Основанием для подобных суждений могут являться известные данные о тенденции к увеличению содержания интегральных белков в тканях в зависимости от степени дифференциации организма позвоночных [10].

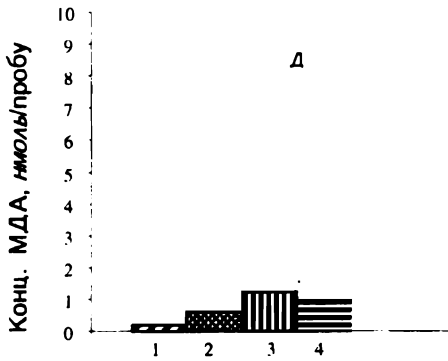
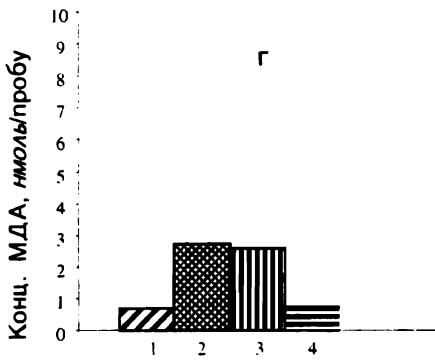
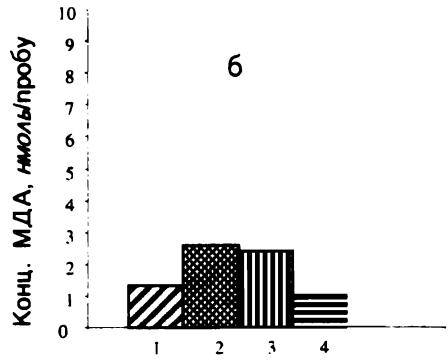
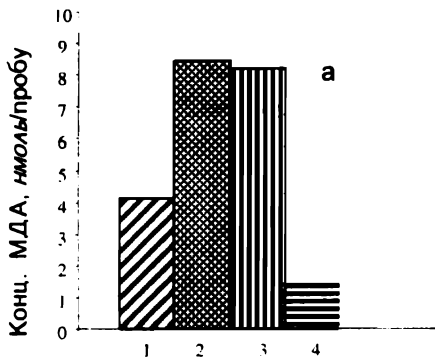


Рис. 3. Уровень ПОЛ в тканях высших позвоночных (1 – мозг, 2 – сердце, 3 – печень, 4 – мышца): а – рыбы, б – амфибии, в – рептилии, г – крысы.

Результаты исследования ХЛ гомогенатов в модельной системе ДМФА–ОК свидетельствуют о следующем распределении уровней свечения: ХЛ тканей земноводных выше, чем у рептилий, и ниже (рис. 4), чем у рыб, а у млекопитающих – выше, чем даже у земноводных. Только излучение гомогенатов мышечной ткани у четырех классов животных, как и в случае с СХЛ, является одинаковым. При этом интенсивности ХЛ мозга также весьма схожи с таковыми при СХЛ. Однако для гомогената печени и сердца ХЛ и закономерности их изменения в модельной системе, которая, очевидно, чувствительна не только к липидным компонентам гомогената, но и к изменениям структуры липидпротеиновых комплексов под действием сверхрастворителя, прослеживаются не так четко. Так как печень и сердце по сравнению с остальными органами наделены наибольшей степенью лабильности в аспекте эволюционного развития, не исключено, что в каждом отдельном случае в формировании неадекватных уровней ХЛ в модельной системе играют роль изменения специфичности белок-липидного соотношения.

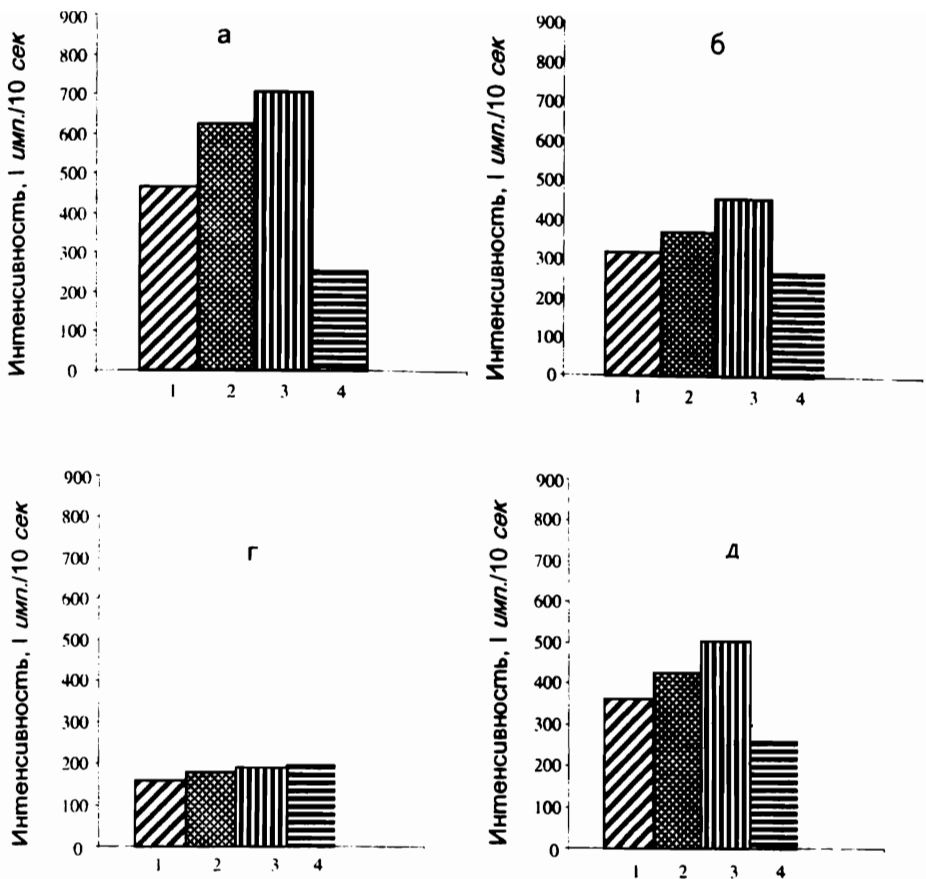


Рис. 4. Интенсивность ХЛ гомогенатов тканей позвоночных в модельной системе ДМФА-ОК (1 – мозг, 2 – сердце, 3 – печень, 4 – мышца); а – рыбы, б – амфибии, в – рептилии, г – крысы.

Исходя из приведенных экспериментальных данных, можно высказать гипотезу, что изменения интенсивности СРО в ходе эволюции имеют тенденцию к затуханию в ряду пойкилотермных позвоночных, что видимо, связано с уменьшением степени насыщенности жирнокислотного состава при переходе к наземному образу жизни. Однако приобретение позвоночными такого адаптивного фактора, как теплокровность, потребовало интенсификации ПОЛ для регуляции процессов жизнедеятельности на качественно новом уровне.

Кафедра биофизики

Поступила 12.06. 2001

ЛИТЕРАТУРА

1. Крепс Е.М. Сравнительная биохимия позвоночных. Л.: Наука, 1970, 65 с.
2. Забелинский С.А., Помазанская Л.Ф., Чирковская Е.В. – Журн. эвол. биохимии и физиологии, 1984, т. 20, №3, с. 239–244.
3. Шульдин А.А. – Усп. совр. биол., 1983, т. 95, вып. 1, с. 13–31.
4. Крепс Е.М. Фосфолипиды клеточных мембран. Л.: Наука, 1981, 340 с.

5. Крепс Е.М. Баховские чтения XXII. Л.: Наука, 1967, 73 с.
6. Лизенко Е.И., Сидоров Е.С., Белгова О.М. – Журн. эвол. биохимии и физиологии, 1981, т. 17, №3, с. 254–258.
7. Закарян А.Е., Цагикян А.Р., Погосян Г.А. – Биол. журн. Армении, 1990, №1, с. 51–54.
8. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. – В кн.: Биохимические методы исследований. М., 1985, с. 66–68.
9. Медведева Т.Н. Сравнительная биохимия обмена веществ у животных. Куйбышев, 1986, с. 16–23.
10. Медведева Т.Н., Серых М.М. Сравнительная биохимия обмена веществ у животных. Куйбышев, 1986, с. 104–114.

Ն.Մ. ԱՅՎԱԶՅԱՆ, Ա.Ե. ԶԱԶԱՐՅԱՆ, Ն.Ա. ԶԱԶԱՐՅԱՆ

ՈՐՈՇ ԲԱՐՁՐԱՎԱՐԳ ՈՂՆԱՇԱՐԱՎՈՐՆԵՐԻ ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԱԶԱՏ-ՌԱԴԻԿԱԼԱՅԻՆ ՕՔՍԻԴԱՅՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ԻՆՏԵՆՍԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ամփոփում

Ուսումնասիրվել է լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացումը քիմլյումինեսցենցիայի և մալոնային դիալդեհիդի կոնցենտրացիայի սպեկտրալուսաչափական որոշման մեթոդներով բարձրակարգ ողնաշարավորների հյուսվածքներում: Ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ ձկներ-երկկենցաղներ-սողուններ-կաթնասուններ շարքում ազատ ռադիկալային օքսիդացման գործընթացի մակարդակը նվազում է, ինչը, հավանաբար, պայմանավորված է ոչ միայն տվյալ էվոլյուցիոն շարքի օրգանիզմների հյուսվածքների լիպիդային կազմի ճարպաթթուների հագեցվածության աստիճանի մեծացումով, այլ նաև նշված պրոցեսների ինտենսիվությունը կարգավորող հակաօքսիդիչ համակարգի դերի ուժեղացումով:

N.M. AYVAZIAN, A.E. ZAKARIAN, N.A. ZAKARIAN

INTENSITY OF LIPID'S FREE-RADICAL OXIDATION PROCESSES OF SOME HIGH VERTEBRATES

Summary

The intensity of lipid peroxidation in tissues of high vertebrates with chemiluminescence and spectrophotometer definition of the MDA-concentration (malonic dialdehyd) was examined. The received facts demonstrate, that level of free-radical oxidation processes in the row fishes–amphibians–reptiles–mammalians decrease, and, probably, it is connected not only with increasing of nourishing degree of fat acids in lipids of tissues of organisms in this evolutionary row, but also with amplification of role of antioxidant system, controlling the intensity of these processes.