

ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА ПРОЦЕСИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ЛІПІДНИЙ СКЛАД ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ГОСТРІЙ МОРФІННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ

Т. М. ГОРІДЬКО, Н. М. ГУЛА, Н. А. СТОГНІЙ, О. Ф. МЕГЕДЬ,
В. М. КЛІМАШЕВСЬКИЙ, С. А. ШОВКУН, Н. Л. КІНДРУК, А. Г. БЕРДИШЕВ

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua*

Досліджували вплив N-стеароїлетаноламіну на процеси пероксидного окислення ліпідів, активність ферментів антиоксидантного захисту, склад фосфоліпідів та жирних кислот у печінці щурів під час гострої інтоксикації їх морфіном. Показано, що одноразова ін'єкція тваринам цього наркотику (30 мг/кг маси тіла) збільшує в печінці кількість ТБК-активних продуктів, впливає на активність ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази), знижує кількість білка, загальних ліпідів, фосфоліпідів, фосфатидилхоліну, ефірів холестеролу, а також різноспрямовано діє на вміст окремих функціонально важливих жирних кислот. Введення щурам N-стеароїлетаноламіну (50 мг/кг маси тіла) сприяє нормалізації в печінці активності основних ферментів антиоксидантного захисту і запобігає накопиченню ТБК-активних продуктів, уповільнює зниження рівня загальних ліпідів, фосфоліпідів, фосфатидилхоліну та білка, підвищує вміст вільного і загального холестеролу, корегує вміст як загальних, так і індивідуальних жирних кислот. Припускається, що N-стеароїлетаноламін у разі гострої інтоксикації щурів морфіном виявляє антиоксидантні, мембранопротекторні та адаптогенні властивості.

Ключові слова: N-стеароїлетаноламін, пероксидне окислення ліпідів, ферменти антиоксидантного захисту, фосфоліпіди, жирні кислоти, холестерол, морфін.

Останнім часом проводяться широкі дослідження з вивчення функціональної ролі ендогенної канабіноїдної системи (особливо у ссавців), до якої належать канабіноїдні рецептори (CB), ендогенні ліганди (ендоканабіноїди) та білки, що беруть участь у їх біосинтезі, деградації і, можливо, у транспортуванні. На сьогодні ідентифіковано два типи канабіноїдних рецепторів – CB1 та CB2, які містяться в різних органах: CB1 переважно локалізуються в нервовій тканині, а CB2 – у клітинах імунної системи. Показано, що ендогенними лігандами цих рецепторів є поліненасичені N-ацилетаноламіни (NAE) – похідні арахідонової та інших жирних кислот, які збільшують клас низькомолекулярних біорегуляторів ліпідної природи. Ненасичені NAE, як і насичені, характеризуються високою біологічною активністю і вираженою захисною дією в разі розвитку патологічних станів організму. Встановлено значні відмінності у властивостях насичених та ненасичених NAE. Так, насичені NAE, на відміну від ненасичених, не зв'язуються з канабіноїдними рецепторами, а здійснюють свій вплив, переважно, за участю позарецепторних механізмів: зокрема показа-

но, що вони гальмують розпад ненасичених NAE і у такий спосіб посилюють їхню дію.

В організмі ендоканабіноїди виникають “за потреби” – шляхом рецепторстимульованого розщеплення мембранних ліпідних прекурсорів із швидким вивільненням із клітин одразу після утворення [1–3]. Вони відіграють значну роль у регуляції активності ендокринної системи, в розвитку больового синдрому, тонуі судин та м'язів. Крім того, ендоканабіноїди функціонують як сигнальні молекули в ГАМК- та глутаматергічних синапсах, а також як модулятори постсинаптичної нейротрансмісії, взаємодіючи з іншими нейротрансмітерами, в т.ч. і дофаміном.

Нині активно вивчається механізм взаємодії канабіноїдної та опіоїдної систем під час розвитку наркотичної залежності в людини та тварин. Показано, що ендоканабіноїдна система бере участь у формуванні аддикції та толерантності до морфіну [4, 5]. Згідно з нашими даними, тривале введення суміші NAE щурам із морфіною залежністю сприяє нормалізації ліпідного складу тканини головного мозку, створюючи необхідні передумови для нормального функціонування мембранозв'язаних

процесів, та сприяє добровільному зменшенню споживання тваринами морфіну [6].

Відомо, що морфіну і його метаболітам, як і іншим наркотичним сполукам, притаманні психотропна та токсична дія на організм. Уражуються не тільки нейрони, але й інші клітини. Істотне значення в таких процесах має здатність наркотику впливати на ліпідний склад мембран клітин, змінюючи їхній структурно-функціональний стан.

Доведено, що метаболізм препаратів опіатної групи відбувається, переважно, в печінці, яка відіграє важливу роль у процесах детоксикації організму. Внаслідок окислення морфіну в мітосомах цитохромом P-450, а в цитозолі морфін-6-дегідрогеназою спостерігається потенціювання його токсичної дії. В експериментах *in vitro* доведено, що життєздатність гепатоцитів у присутності 0,5 мМ морфіну становить лише 7% початкового рівня. При цьому ураження печінки є основним чинником ускладнень у хворих з опійною залежністю, що доведено експериментально та у клінічних дослідженнях.

З огляду на актуальність проблеми та протекторні, антитоксичні і адаптивні властивості насичених NAE, метою роботи було вивчення впливу N-стеароїлетаноламіну (NSE) на процеси пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), склад фосфоліпідів та жирних кислот у тканині печінки щурів під час гострої морфінної інтоксикації.

Матеріали та методи

Досліди проводили на білих щурах-самцях із масою тіла 200–280 г, яких утримували по 7 у клітці за вільного доступу до їжі та води. Тварин розділили на 3 групи. До групи 1 належали інтактні щури, яким замість 1%-го розчину гідрохлориду морфіну внутрішньо-очеревинно вводили однаковий за об'ємом фізіологічний розчин. Щурам групи 2 робили ін'єкцію 1%-го розчину гідрохлориду морфіну (30 мг/кг маси тіла), щурам групи 3 за три доби до ін'єкції морфіну парентерально вводили NSE (50 мг/кг маси тіла). Усіх тварин через 1 год декапітували під нембуталовим наркозом (50 мг/кг маси тіла).

Інтенсивність процесів ПОЛ вивчали за накопиченням ТБК-активних продуктів – малонового діальдегіду (МДА) – як описано в роботах [7, 8]. Активність супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) тестували за ступенем зниження відновлення нітросинього тетразолію у присутності NADH та феназинметасульфату методом, описаним у статті [9]. Прийнято, що

одна умовна одиниця активності ферменту відповідає 50%-у інгібуванню реакції. Активність каталази [КФ 1.11.1.6] визначали за швидкістю розщеплення H_2O_2 [10], активність глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] – за накопиченням окисленого глутатіону [11].

Екстракцію ліпідів здійснювали методом E. G. Bligh і W. I. Dyer [12]. Одержані екстракти очищали від неліпідних домішок за методом М. Кейтса [13]. Фосфоліпіди фракціонували як описано V. I. Svetashev і V. E. Vaskovsky, застосовуючи двовимірну мікротонкошарову хроматографію [14]. Фосфоліпіди ідентифікували як подано у статті [15], а їхній вміст виражали за рівнем неорганічного фосфору [16].

Кількісний аналіз метилових ефірів жирних кислот здійснювали з використанням газорідинної хроматографії на хроматографі Carlo Erba (Італія) із полум'яно-іонізаційним детектором на скляній колонці (довжина – 3,5 м, внутрішній діаметр – 3 мм), заповненої 10%-ю фазою SP-2300 (Silar 5CP), на “Chromosorb W/HP” при запрограмованій температурі (140–250 °С) і поступовому підвищенні її на 2 °С/хв. Вміст холестеролу тестували на хроматографі Chrom-5 (Чехія) з дуальною системою на 0,5-метровій колонці з нержавіючої сталі, заповненої Chimalite W (80–100 меш) та просоченої 1,5%-ю рідкою фазою OV-1 («Shimadzu», Japan) при температурі інжектора 250 °С, детектора – 270 °С і запрограмованій температурі – 180–250 °С з поступовим підвищенням її на 10 °С/хв. Вміст білка визначали методом M. M. Bradford [17].

Статистичний аналіз проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента. Вірогідними вважали результати, якщо $P < 0,05$.

Результати та обговорення

Відомо, що морфін як під час гострої, так і хронічної інтоксикації стимулює ПОЛ у тканинах печінки, головного мозку та серця. Це призводить, здебільшого, до виснаження в них системи антиоксидантного захисту, порушення проникності та бар'єрних функцій мембран, що, зрештою, спричинює загибель клітин [18]. Одержані нами дані показують, що під час гострої інтоксикації тварин морфіном рівень ТБК-активних продуктів у печінці вірогідно зростає (рис. 1).

Утворення продуктів ПОЛ у тканинах значно залежить від активності ферментів антиоксидантної системи організму, що дозволяє підтримувати на стабільному рівні концентрацію активних форм кисню, необхідних для пероксидного окислення ліпідів та інших про-

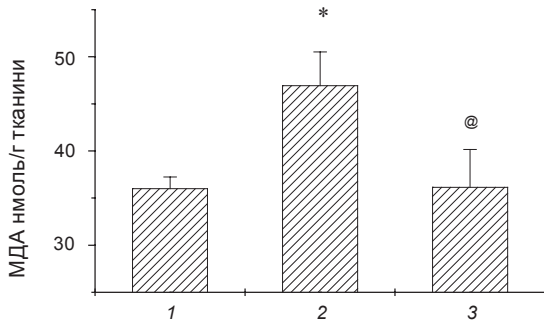


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE (n = 4–6): 1 – інтактні тварини, 2 – гостра інтоксикація їх морфіном, 3 – введення щурам NSE та морфіну. * Дані вірогідні порівняно з інтактними тваринами, $P < 0,05$; @ $0,05 < P < 0,1$ порівняно зі щурами у стані гострої інтоксикації морфіном

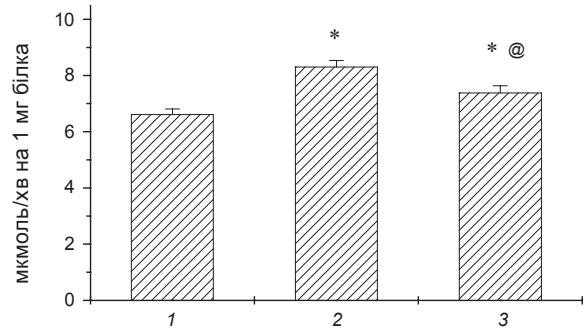


Рис. 3. Активність каталази у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE (n = 4–6): 1 – інтактні тварини, 2 – гостра інтоксикація їх морфіном, 3 – введення щурам NSE та морфіну. * Дані вірогідні порівняно з інтактними тваринами, $P < 0,05$; @ дані вірогідні порівняно зі щурами у стані гострої інтоксикації морфіном, $P < 0,05$

цесів у клітині. Стійкість тварин до несприятливих зовнішніх факторів, а також здатність адаптуватися до них визначається, насамперед, ферментами антиоксидантного захисту – СОД та каталазою. Збільшення активності СОД у тканинах розглядають як чинник, що підвищує захист клітин від дії вільних радикалів і, отже, запобігає розвитку патологічних змін [19]. Згідно з даними наших досліджень, активність СОД у печінці щурів після гострої морфінної інтоксикації має тенденцію до зростання (рис. 2). Активність каталази також підвищується (рис. 3), в той час як глутатіонпероксидази, навпаки, знижується (рис. 4).

Відомо, що токсичність морфіну обумовлено, передусім, його окисленням до морфінону, який реагує з SH-групами білків, що призводить до зниження внутрішньоклітинної концентрації відновленого глутатіону – важливого компонента антиоксидантного захисту клітин [20]. Це, можливо, і спричинює зменшення активності глутатіонпероксидази в печінці щурів після гострого отруєння їх морфіном. Отже, гостра морфінна інтоксикація тварин порушує рівновагу між про- та антиоксидантними системами. Парентеральне введення щурам NSE запобігає змінам в активності антиоксидантних ферментів, гальмуючи тим

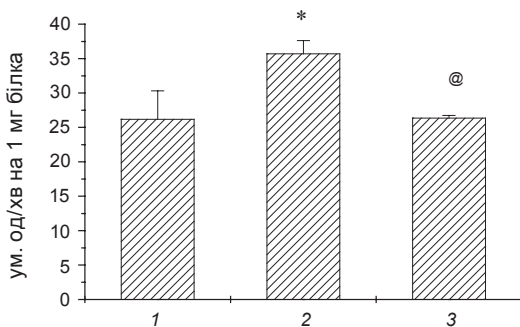


Рис. 2. Активність супероксиддисмутази у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE (n = 4–6): 1 – інтактні тварини, 2 – гостра інтоксикація їх морфіном, 3 – введення щурам NSE та морфіну. * $0,05 < P < 0,1$ порівняно з інтактними тваринами; @ дані вірогідні порівняно зі щурами у стані гострої інтоксикації морфіном, $P < 0,05$

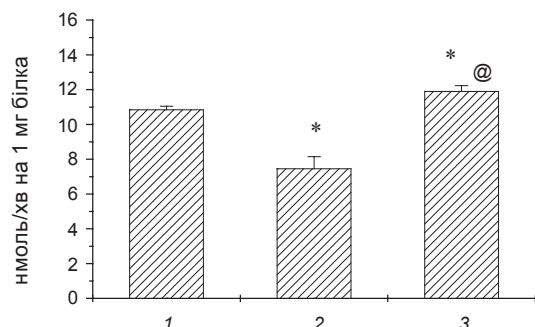


Рис. 4. Активність глутатіонпероксидази у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE (n = 4–6): 1 – інтактні тварини, 2 – гостра інтоксикація їх морфіном, 3 – введення щурам NSE та морфіну. * Дані вірогідні порівняно з інтактними тваринами, $P < 0,05$; @ дані вірогідні порівняно зі щурами у стані гострої інтоксикації морфіном, $P < 0,05$

самим накопичення ТБК-активних продуктів (рис. 1–4). Дослідження біологічних ефектів NAE, які було проведено раніше, показують, що цій групі біоактивних сполук притаманна здатність знижувати активність процесів пероксидації шляхом модулювання ліпідного складу мембран [21, 22].

Слід зазначити, що морфін, проникаючи крізь мембрани клітин та органел, істотно змінює їхні властивості – рідинно-кристалічну структуру, в'язкість, міцність і проникність, що призводить до порушення їхнього функціонування. Зміни фосфоліпідного складу мембран під впливом морфіну супроводжуються активацією ПОЛ. При цьому особливо сильно уражуються клітини мозку, печінки та інших паренхіматозних органів, у той час як NAE запобігає їхньому ушкодженню.

Згідно з нашими даними (табл. 1), гостра інтоксикація щурів морфіном зумовлює порівняно з інтактними тваринами зниження в печінці вмісту загальних ліпідів та фосфоліпідів (на 20%). Введення їм NSE до розвитку гострої морфінної інтоксикації запобігає несприятливій дії наркотику, нормалізуючи вміст цих ліпідів та білка, що свідчить про виражену протекторну його дію (табл. 1). Такий ефект NSE зумовлено, вірогідно, пригніченням мор-

фіном розпаду ліпідів та стимуляцією процесів їхнього ремодулювання.

Установлено, що після ін'єкції тваринам морфіну в печінці спостерігається зміна рівня деяких індивідуальних фосфоліпідів порівняно з інтактними щурами: вірогідне зменшення фосфатидилхоліну та тенденція до зниження фосфатидилінозиту (табл. 1). Дані літератури свідчать про особливу регуляторну роль фосфатидилхоліну в пероксидації клітинних мембран. Цей фосфоліпід діє як активатор антиокислювальної активності природних антиоксидантів, зокрема α -токоферолу [23, 24]. Тому виявлене нами зниження в печінці вмісту сумарних фосфоліпідів (переважно фосфатидилхоліну та фосфатидилінозиту) можна вважати однією із причин інтенсифікації ПОЛ унаслідок послаблення процесів антиоксидантного захисту. Крім того, метаболізм цих фосфоліпідів у плазматичних мембранах тісно пов'язаний з активністю гормонів, які беруть участь у механізмах адаптації організму до дії несприятливих чинників [25, 26]. У цьому аспекті важливо відзначити, що вплив гормонів опосередковується G-білком через активацію ним фосфоліпаз A₂, C та D. Це, у свою чергу, істотно впливає на метаболізм. Так, зокрема, активація G-білків стимулює каскад реакцій

Таблиця 1. Вміст загальних ліпідів і білка (мг/г тканини), загальних та індивідуальних фосфоліпідів (мкг P_i/мг ліпідів) у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE (M ± m, n = 5–6)

Показники	Групи щурів		
	Інтактні	Морфінна інтоксикація	NSE + морфінна інтоксикація
	1	2	3
Білок	100,25 ± 0,84	82,58 ± 1,29*	92,00 ± 1,28* [@]
Загальні ліпіди	43,13 ± 2,22	35,13 ± 0,35*	41,93 ± 0,07 [@]
Загальні фосфоліпіди	1,19 ± 0,08	0,950 ± 0,007*	1,25 ± 0,01 [@]
Фосфатидилхолін	1,83 ± 0,08	1,56 ± 0,09*	2,31 ± 0,20* [@]
Фосфатидилетаноламін	1,02 ± 0,09	0,84 ± 0,07	0,96 ± 0,11
Дифосфатидилгліцерол	0,41 ± 0,05	0,36 ± 0,07	0,36 ± 0,01
Сфінгомієлін	0,28 ± 0,04	0,27 ± 0,04	0,30 ± 0,06
Фосфатидилінозитол	0,46 ± 0,05	0,32 ± 0,04**	0,47 ± 0,03 [@]
Фосфатидилсерин	0,17 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,22 ± 0,03 [@]
Лізофосфатидилхолін	0,08 ± 0,04	0,034 ± 0,01	0,092 ± 0,03
Стартова зона	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,008

Примітка: тут і в табл. 2–9 * дані порівняно з інтактними тваринами вірогідні, P < 0,05; [@] дані порівняно зі щурами у стані гострої інтоксикації морфіном вірогідні, P < 0,05; ** 0,05 < P < 0,1 порівняно з інтактними тваринами

Таблиця 2. Розподіл плазмалогенної та діацильної форм фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну в печінці за гострої морфінної інтоксикації щурів (% від загальної кількості діацильної та плазмалогенної форм фосфоліпідів) та під впливом NSE ($M \pm m$, $n = 5-6$)

Фосфоліпіди	Групи щурів		
	Інтактні	Морфінна інтоксикація	NSE + морфінна інтоксикація
	1	2	3
Фосфатидилхолін діацил	87,31 ± 2,20	75,15 ± 1,87*	78,45 ± 4,59
Фосфатидилхолін плазмалоген	14,58 ± 1,58	24,84 ± 1,87*	21,55 ± 4,59
Фосфатидилетаноламін діацил	83,84 ± 2,93	72,69 ± 4,07*	80,9 ± 1,22 ^{@@}
Фосфатидилетаноламін плазмалоген	16,16 ± 2,93	27,31 ± 4,07*	19,19 ± 1,26 ^{@@}

Примітка: тут і в табл. 3–8 ^{@@} 0,05 < P < 0,1 порівняно зі щурами у стані гострої інтоксикації морфіном

сигнальної трансдукції, внаслідок чого підвищується вміст внутрішньоклітинного кальцію та cAMP [27]. Продукти гідролізу фосфатидилхоліну та фосфатидилінозиту модулюють активність протеїнкінази С, яка відіграє ключову роль у регуляції функцій гепатоцитів [28]. Тому зменшення кількості цих фосфоліпідів у тканинах можна вважати наслідком токсичної дії морфіну на печінку.

Введення тваринам NSE (група 3) як протектора інтоксикації організму морфіном підвищує вміст фосфатидилхоліну, фосфатидилінозиту та фосфатидилсерину порівняно зі щурами групи 2 (табл. 1). Оскільки метаболізм обох ліпідів тісно пов'язаний з проведенням трансмембранних сигналів у клітинах та активацією протеїнкінази С, то ймовірно, що підвищення їхнього вмісту за дії NSE сприятиме нормалізації внутрішньоклітинного метаболізму.

Слід зазначити, що морфіну, який належить до ліпофільних сполук, у високих концентраціях притаманний також позарецепторний безпосередній вплив на мембрани, зокрема на їхній ліпідний склад. Відомо, що

плазмалогенні форми фосфоліпідів є структурними компонентами і відіграють істотну роль у підтриманні балансу між ламелярною та неламелярною структурою мембран. Це має надзвичайно важливе значення для нормального функціонування клітин [29, 30]. Окрім того, слід відзначити здатність плазмалогенів істотно впливати на обмін Na⁺ та Ca²⁺ [31, 32]. Дискутується також питання стосовно ролі їх у розвитку адаптаційних реакцій організму в разі дії на нього вільних радикалів [33]. При цьому саме на ці фосфоліпіди передусім діють як вільні радикали, так і плазмалогенспецифічна фосфоліпаза A₂ [34, 35]. Діацильні форми фосфоліпідів порівняно з плазмалогенами стабільніші. Саме вони і сприяють ущільненню мембрани.

Дані, одержані нами, свідчать, що у тканині печінки після гострого отруєння організму морфіном збільшується порівняно з інтактними тваринами вміст плазмалогенних форм фосфоліпідів та зменшується рівень їхніх діацильних форм. Отже, спостерігається перерозподіл плазмалогенних та діацильних форм фосфатидилетаноламіну і фосфатидилхолі-

Таблиця 3. Вміст холестеролу (мг/г тканини) в печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE ($M \pm m$, $n = 5-6$)

Показники	Групи щурів		
	Інтактні	Морфінна інтоксикація	NSE + морфінна інтоксикація
	1	2	3
Вільний холестерол	1,33 ± 0,14	1,15 ± 0,16	1,68 ± 0,13 [@]
Ефіри холестеролу	0,38 ± 0,09	0,14 ± 0,04*	0,15 ± 0,03*
Загальний холестерол	1,71 ± 0,09	1,29 ± 0,17	1,82 ± 0,13 [@]
Холестерол/фосфоліпіди	1,45 ± 0,10	1,29 ± 0,21	1,42 ± 0,10

Таблиця 4. Рівень насиченості жирних кислот фосфоліпідів (% від загальної кількості жирних кислот) у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE ($M \pm m$, $n = 3-4$)

Жирні кислоти	Групи щурів		
	Інтактні	Морфінна інтоксикація	NSE + морфінна інтоксикація
	1	2	3
Σ насичених	44,73 ± 0,46	51,35 ± 3,47	42,16 ± 0,75* [@]
Σ ненасичених	54,38 ± 0,70	48,24 ± 3,57	56,30 ± 0,98 [@]
Насичені/Ненасичені	0,81 ± 0,02	1,10 ± 0,16	0,73 ± 0,02*
Σ моно'єнових	12,33 ± 0,87	9,10 ± 0,95*	12,43 ± 0,33 [@]
Σ дієнових	15,46 ± 0,56	13,76 ± 1,63	15,90 ± 0,44
Σ полієнових	24,52 ± 1,59	27,24 ± 0,42	28,97 ± 0,68* [@]

ну (табл. 2). Ці зміни, вірогідно, призводять до зменшення щільності мембран і модуляції мембранозв'язаних процесів. Введення інтоксикованим щурам NSE не зумовлює істотних змін цих форм фосфоліпідів, хоча і спостерігається деяка тенденція до нормалізації їхнього рівня (табл. 2).

Відомо, що на розподіл жирних кислот у клітинах істотно впливає холестерол та дія на організм несприятливих чинників зовнішнього середовища. Холестерол підвищує ступінь упорядкованості фосфоліпідного бішару в ріднокристалічній фазі та понижує його у фазі гелю. В цьому аспекті, важливо відзначити, що ферментативна та рецепторна активність інтегральних білків залежить як від ступеня упорядкованості ліпідного бішару, так і специфічного фосфоліпідного мікрооточення, а також від кількості експресованих молекул. Наведені нами дані свідчать, що вміст загального холестеролу в печінці після одноразової ін'єкції щурам морфіну має тенденцію до зниження (табл. 3). При цьому рівень вільного холестеролу не змінюється, але кількість його ефірів зменшується у 2,7 раза порівняно з інтактними тваринами (табл. 3). Введення щурам NSE зумовлює вірогідне підвищення вмісту вільного і загального холестеролу, однак не запобігає змінам вмісту його ефірів (табл. 3). Такі дані, ймовірно, свідчать, що NSE сприяє розвитку компенсаторних реакцій в організмі на підвищення вмісту полієнових жирних кислот, зумовлених ін'єкцією щурам морфіну (табл. 7 та 9).

Жирні кислоти відіграють важливу роль у життєдіяльності організму, забезпечуючи клітини енергетичними ресурсами і регулюючи експресію генів та сигнальну трансдукцію.

Зміна якісного і кількісного складу жирних кислот у клітинах впливає на перебіг біохімічних реакцій, а їхній метаболізм залежить від особливостей хімічної структури та морфологічного типу клітин.

Наше уявлення про роль жирних кислот в організмі потребує додаткового вивчення, але не викликає сумніву, що насичені жирні кислоти ущільнюють клітинні мембрани, а ненасичені – підвищують їхню рідинність. Дані наведені в табл. 4, свідчать, що загальний вміст жирних кислот і рівень насичених та ненасичених у фосфоліпідах печінки щурів під впливом морфіну не змінюється, тоді як моноєнових, передусім пальмітолеїнової, вірогідно знижується (табл. 4–5). Слід також відзначити варіабельність вмісту індивідуальних жирних кислот, зокрема підвищення пальмітинової (на 12%) та стрімке зниження ліноленої (на 70%). Введення щурам NSE нормалізує вміст моноєнових жирних кислот фосфоліпідів і пальмітинової кислоти на тлі підвищення вмісту докозаєнових (табл. 4–5). Це може сприяти підвищенню рідинності мембран і забезпечити перебіг мембранозв'язаних процесів на належному рівні.

Дослідження вмісту вільних жирних кислот у печінці показує, що одноразова ін'єкція щурам морфіну не впливає на загальну кількість насичених та ненасичених жирних кислот, але збільшує на 37% вміст поліненасичених, переважно докозапентаєнової. Введення тваринам NSE корегує рівень поліненасичених жирних кислот через зменшення кількості арахідонової (табл. 6 та 7). Як відомо, ця кислота є попередником синтезу простагландинів, які беруть участь у підтриманні тканинного та клітинного гомеостазу, що, ймовірно, має

Таблиця 5. Вміст жирних кислот фосфоліпідів (% від загальної кількості) у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE ($M \pm m$, $n = 3-4$)

Жирні кислоти	Групи щурів		
	Інтактні	Морфінна інтоксикація	NSE + морфінна інтоксикація
	1	2	3
C _{16:0}	18,56 ± 0,05	20,83 ± 0,48*	17,55 ± 0,43* [@]
C _{16:1 ω9}	0,92 ± 0,07	0,76 ± 0,05**	0,81 ± 0,02
C _{18:0}	19,47 ± 0,30	22,33 ± 1,28**	18,59 ± 0,52 [@]
C _{18:1 ω9}	10,06 ± 1,00	7,39 ± 1,23	11,03 ± 0,26 [@]
C _{18:2 ω6}	15,21 ± 0,53	14,89 ± 1,43	14,61 ± 0,1
C _{18:3 ω6}	0,29 ± 0,05	0,09 ± 0,02*	—
C _{20:4 ω6}	18,17 ± 1,12	20,21 ± 1,73	19,22 ± 0,41
C _{22:4 ω6}	0,67 ± 0,10	0,49 ± 0,17	1,04 ± 0,10* [@]
C _{22:5 ω6}	2,15 ± 0,25	1,93 ± 0,37	3,56 ± 0,44 * [@]
C _{22:6 ω3}	2,33 ± 0,44	1,74 ± 0,62	3,80 ± 0,72 ^{@@}

Примітка: C_{16:0} – пальмітинова кислота, C_{16:1 ω9} – пальмітолеїнова, C_{18:1 ω9} – олеїнова, C_{18:2 ω6} – лінолева, C_{18:3 ω6} – ліноленова, C_{20:4 ω6} – арахідонова, C_{22:4 ω6} – докозатетраєнова, C_{22:5 ω6} – докозапентаєнова, C_{22:6 ω3} – докозагексаєнова

Таблиця 6. Рівень насиченості вільних жирних кислот (% від загальної кількості) у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE ($M \pm m$, $n = 3-4$)

Жирні кислоти	Групи щурів		
	Інтактні	Морфінна інтоксикація	NSE + морфінна інтоксикація
	1	2	3
Σ насичених	40,96 ± 0,79	39,76 ± 2,21	41,89 ± 1,50
Σ ненасичених	58,73 ± 0,77	59,40 ± 2,68	57,96 ± 1,43
Насичені/Ненасичені	0,70 ± 0,02	0,67 ± 0,07	0,72 ± 0,04
Σ моно'єнових	21,68 ± 1,22	22,36 ± 0,59	22,23 ± 0,99
Σ дієнових	28,47 ± 0,65	28,75 ± 0,34	26,61 ± 2,02
Σ полієнових	8,58 ± 0,69	11,77 ± 1,21*	7,58 ± 1,16 [@]

регульовальний вплив на запальні процеси в печінці [36].

Не встановлено також варіабельності в загальній кількості насичених та ненасичених жирних кислот ефірів холестеролу у печінці тварин при морфінній інтоксикації (табл. 8). Водночас виявлено деякі зміни у рівні індивідуальних жирних кислот: збільшення вмісту арахідонової (на 45%) та зменшення (на 65%) докозапентаєнової (табл. 9). Введення тваринам NSE підвищує вміст докозапентаєнової

кислоти, але не впливає на кількість арахідонової (табл. 8–9).

Таким чином, результати проведених нами досліджень свідчать, що гостра інтоксикація щурів морфіном активує процеси ПОЛ у тканині печінки, впливає на склад фосфоліпідів та жирних кислот, що порушує структурно-функціональні властивості клітинних мембран. За цих умов NSE виявляє виражені антиоксидантні, мембранопротекторні та адаптивні властивості, знижуючи тим самим вираженість патологічних процесів у печінці щурів.

Таблиця 7. Вміст вільних жирних кислот (% від загальної кількості) у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE ($M \pm m$, $n = 3-4$)

Жирні кислоти	Групи щурів		
	Інтактні	Морфінна інтоксикація	NSE + морфінна інтоксикація
	1	2	3
C _{12:0}	0,72 ± 0,05	0,360 ± 0,002*	0,81 ± 0,02 [@]
C _{16:0}	29,64 ± 0,67	28,98 ± 1,69	28,44 ± 0,77
C _{16:1 ω9}	1,61 ± 0,05	1,69 ± 0,07	1,56 ± 0,09
C _{18:0}	4,56 ± 0,28	6,33 ± 0,53*	6,57 ± 0,29*
C _{18:1 ω9}	19,31 ± 1,14	17,78 ± 1,48	19,83 ± 0,85
C _{18:2 ω6}	27,57 ± 0,75	26,84 ± 1,92	26,98 ± 0,26
C _{18:3 ω6}	0,07 ± 0,03	0,29 ± 0,09**	0,090 ± 0,002 ^{@@}
C _{20:4 ω6}	6,24 ± 0,56	7,21 ± 0,18	5,24 ± 0,33 [@]
C _{22:5 ω6}	0,50 ± 0,09	0,89 ± 0,01*	0,96 ± 0,28
C _{22:6 ω3}	0,190 ± 0,015	0,31 ± 0,19	0,25 ± 0,04

Примітка: C_{16:0} – пальмітинова, C_{16:1 ω9} – пальмітолеїнова, C_{17:0} – маргарінова, C_{18:0} – стеаринова, iC_{18:0} – ізостеаринова, C_{18:1 ω9} – олеїнова, C_{18:2 ω6} – лінолева, C_{18:3 ω6} – ліноленова, C_{20:4 ω6} – арахідонова, C_{22:4 ω6} – докозатетраєнова, C_{22:5 ω6} – докозапентаєнова, C_{22:6 ω3} – докозагексаєнова

Таблиця 8. Рівень насиченості жирних кислот ефірів холестеролу (% від загальної кількості) у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE ($M \pm m$, $n = 3-4$)

Жирні кислоти	Групи щурів		
	Інтактні	Морфінна інтоксикація	NSE + морфінна інтоксикація
	1	2	3
Σ насичених	35,17 ± 10,22	39,93 ± 1,03	36,12 ± 3,41
Σ ненасичених	62,07 ± 10,12	53,06 ± 2,29	57,12 ± 3,86
Насичені/Ненасичені	0,71 ± 0,31	0,76 ± 0,05	0,66 ± 0,11
Σ моно'єнових	15,55 ± 4,79	16,85 ± 1,34	15,93 ± 1,35
Σ дієнових	9,11 ± 2,63	8,18 ± 1,38	8,38 ± 2,06
Σ полієнових	24,30 ± 1,28	31,53 ± 2,94**	32,79 ± 6,70

Таблиця 9. Вміст жирних кислот ефірів холестеролу (% від загальної кількості) у печінці при гострій морфінній інтоксикації щурів та під впливом NSE ($M \pm m$, $n = 3-4$)

Жирні кислоти	Групи щурів		
	Інтактні	Морфінна інтоксикація	NSE + морфінна інтоксикація
	1	2	3
C _{16:0}	9,27 ± 1,32	12,06 ± 3,07	9,73 ± 4,49
C _{16:1 ω9}	5,68 ± 1,60	3,69 ± 1,43	5,63 ± 0,29
iC _{18:0}	4,09 ± 0,93	4,75 ± 0,91	3,15 ± 0,60
C _{18:0}	2,14 ± 0,67	3,75 ± 0,64	2,91 ± 0,34
C _{18:1 ω9}	8,61 ± 3,10	5,47 ± 2,48	8,25 ± 2,19
C _{18:2 ω6}	8,71 ± 2,67	8,06 ± 1,38	8,19 ± 1,96
C _{18:3 ω6}	0,39 ± 0,05	0,72 ± 0,25	0,83 ± 0,36
C _{20:4 ω6}	18,57 ± 1,87	26,94 ± 1,24*	30,92 ± 6,97
C _{22:0}	4,19 ± 1,79	4,35 ± 2,37	4,91 ± 2,39
C _{22:4 ω6}	2,23 ± 1,75	0,39 ± 0,18	0,19 ± 0,07
C _{22:5 ω6}	0,71 ± 0,18	0,25 ± 0,03*	0,38 ± 0,04 [®]
C _{22:6 ω3}	1,39 ± 0,12	—	—

Примітка: C_{16:0} – пальмітинова, C_{16:1 ω9} – пальмітолеїнова, C_{17:0} – маргарінова, C_{18:0} – стеаринова, iC_{18:0} – ізостеаринова, C_{18:1 ω9} – олеїнова, C_{18:2 ω6} – лінолева, C_{18:3 ω6} – ліноленова, C_{20:4 ω6} – арахідонова, C_{22:0} – бегенова, C_{22:4 ω6} – докозатетраєнова, C_{22:5 ω6} – докозапентаєнова, C_{22:6 ω3} – докозагексаєнова

ВЛИЯНИЕ N-СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИНА НА ПРОЦЕССЫ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ МОРФИННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Т. Н. Горидько, Н. М. Гулая,
Н. А. Стогний, Е. Ф. Мегедь,
В. М. Климашевський, С. А. Шовкун,
Н. Л. Киндрук, А. Г. Бердишев

Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев;
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua

Исследовано влияние N-стеароилэтанолamina (NSE) на процессы пероксидного окисления липидов, активность ферментов антиоксидантной защиты и фосфолипидный состав печени крыс при развитии острой морфинной интоксикации. Установлено, что однократная инъекция морфина (30 мг/кг массы тела) достоверно увеличивает в печени количество продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных продуктов),

изменяет активность ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы), снижает количество белка, общих липидов, фосфолипидов, фосфатидилхолина, эфиров холестерина, разнонаправленно изменяет содержание отдельных функционально значимых жирных кислот. Парентеральное введение крысам NSE в дозе 50 мг/кг массы тела способствует нормализации активности основных ферментов антиоксидантной защиты и препятствует накоплению ТБК-активных продуктов, замедляет снижение количества общих липидов и фосфолипидов, фосфатидилхолина и белка, повышает количество свободного и общего холестерина, корректирует содержание как общих, так и отдельных жирных кислот. Можно прийти к выводу, что N-стеароилэтанолamin при острой морфинной интоксикации оказывает на крыс выраженные антиоксидантное, мембранопротекторное и адаптогенное действие.

Ключевые слова: N-стеароилэтанолamin, пероксидное окисление липидов, ферменты антиоксидантной защиты, фосфолипиды, жирные кислоты, холестерол, морфин.

**INFLUENCE
OF N-STEAROYLETHANOLAMINE
ON THE LIPID PEROXIDATION
PROCESS AND LIPID COMPOSITION
OF THE RAT LIVER UNDER ACUTE
MORPHINE INTOXICATION**

*T. M. Goridko, N. M. Gula, N. A. Stogniy,
O. F. Meged, V. M. Klimashevsky,
S. A. Shovkun, N. L. Kindruk,
A. G. Berdyshev*

Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua

S u m m a r y

The effect of N-stearoylethanolamine (NSE) on the lipid peroxidation process, antioxidant enzymes activity, phospholipid and fatty acid content in the rat liver tissues under acute morphine administration was studied. It was shown that morphine administration (30 mg/kg of body weight) caused an increase of the amount of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), alteration of antioxidant enzymes activity, decrease the protein level, quantity of total lipids and phospholipids, phosphatidylcholine, cholesterol esters; altered the content of some individual fatty acids. NSE administration (50 mg/kg of body weight) promoted normalization of the antioxidant enzymes activity and prevented the TBARS accumulation and decreased the total lipid and phospholipid quantity, increased the content of free and total cholesterol, corrected the level of free and individual fatty acids. It was assumed that NSE possessed antioxidative, membranoprotective and adaptive properties.

Key words: N-stearoylethanolamine, lipid peroxidation, antioxidative enzymes, phospholipids, fatty acids, cholesterol, acute morphine intoxication.

1. Pagotto U., Marsicano G., Cota D. et al. // *Endocrine Revi.* – 2006. – **27**. – P. 73–100.
2. Fride E., Mechoulam R. // *Eur. J. Pharmacol.* – 1993. – **231**, N 2. – P. 313–314.
3. Хаснеков Л. Г., Бобров М. Ю. // *Нейрохимия.* – 2006. – **23**, № 2. – С. 85–105.
4. Viganò D., Valenti M., Cascio M. G. et al. // *Eur. J. Neurosci.* – 2004. – **20**, N 7. – P. 1849–1857.
5. Maldonado R., Valverde O., Berrendero F. // *Trends. Neurosci.* – 2006. – **29**, N 4. – P. 225–232.
6. Пат. 77182 (11) UA (19) C2(13), МПК (51) A61P 9/10 A61K 31/20. Застосування

N-ацилетаноламінів як лікарських засобів та спосіб їх використання / Н. М. Гула, В. М. Маргітич, Т. М. Горідько та ін. Опубл. 15.11.2006. Бюл. №11.2006.

7. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
8. Мельничук С. Д., Кузьменко А. И., Маргітич В. М. и др. // *Укр. біохім. журн.* – 1998. – **70**, № 1. – С. 87–94.
9. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. // *Лаб. дело.* – 1991. – № 10. – С. 9–13.
10. Королюк М. А., Иванова И. Г., Майорова И. Г., Токарев В. Е. // Там же. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
11. Переслегина И. А. // Там же. – 1989. – № 11. – С. 20–23.
12. Bligh E. G., Dyer W. I. // *Can. J. Biochem. Physiol.* – 1959. – **37**, N 8. – P. 911–917.
13. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – 322 с.
14. Svetashev V. I., Vaskovsky V. E. // *J. Chromatogr.* – 1972. – **67**. – P. 376–378.
15. Горідько Т. М., Маргітич В. М., Клімашевський В. М. та ін. // *Укр. біохім. журн.* – 1996. – **68**, № 2. – С. 99–102.
16. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin I. M. // *J. Chromatogr.* – 1975. – **114**. – P. 129–141.
17. Bradford M. M. // *Anal Biochem.* – 1976. – **72**. – P. 248–254.
18. Лелевич В. В., Селевич М. И., Панченко Л. Ф. и др. // *Вопр. мед. химии.* – 1999. – **45**, вып. 5. – С. 357–367.
19. Илюха В. А. // *Журн. эволюц. биохим. и физиол.* – 2001. – **37**, № 3. – С. 83–186.
20. Дудина А. М. Содержание липидов в тканях животных при наркоманиях, вызванных кокаином и морфином: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Челябинск, 1979. – 19 с.
21. Parinandi N. L., Schmid H. H. O. // *FEBS Letters.* – 1988. – **237**, N 1–2. – P. 49–52.
22. Гулая Н. М., Мельник А. А., Смирнов И. М. и др. // *Докл. АН УССР.* – 1993. – № 4. – С. 142–145.
23. Лескова Г. Ф. // *Вопр. мед. химии.* – 1999. – **45**, № 5. – С. 389–396.
24. Бурлакова Е. Б., Алексеенко А. В., Аристархова С. А. и др. Липиды биологических мембран. – Ташкент, 1982. – 112 с.
25. Kavok N. S., Krasilnikova O. A., Babenko N. A. // *BMC Cell Biology.* – 2001. – **2**. – P. 5–11.
26. Babenko N. A., Phylonenko N. S., Vilyasenor V. Z., Nikitin V. N. // *Reports USSR Acad. Sci.* – 1991. – **320**. – P.745–748.
27. Chawla S., Hardingham G. E., Quinn D. R., Bading H. // *Science.* – 1998. – **281**. – P. 1505–1509.

28. Irving H. R., Exton J. H. // J. Biol. Chem. — 1987. — **262**, N 8. — P. 3440–3443.
29. Lochner K. // Chem. Phys. Lipids. — 1996. — **81**, N 2. — P. 167–184.
30. Lochner K., Balgavy P., Hermetter A. et al. // Biochem. Biophys. Acta. — 1991. — **1061**, N 2. — P. 132–140.
31. Ford D. A., Hale C. C. // FEBS Lett. — 1996. — **394**, N 1. — P. 99–102.
32. Hale C. C., Ebeling E. G., Hsu F. F., Ford D. A. // Ibid. — 1998. — **422**, N 2. — P. 247–251.
33. Zoeller R. A., Lake A. C., Nagan N. et al. // Biochem. J. — 1999. — **338**, N 3. — P. 769–776.
34. Khaselev N., Murphy R. C. // Free Radic. Biol. Med. — 1999. — **26**, N 3–4. — P. 275–284.
35. Khaselev N., Murphy R. C. // J. Lipid Res. — 2000. — **41**, N 4. — P. 564–572.
36. Шупелькова Б. О. // Рус. мед. журн. — 2003. — **11**, № 5. — С. 300–302.

Отримано 15.05.2007