УДК 577.115

М. В. АРТАМОНОВ, О. Д. ЖУКОВ, Т. М. ГОРІДЬКО, В. М. КЛІМАШЕВСЬКИЙ, О. П. МАРЦЕНЮК, Н. М. ГУЛА

ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА ЛІПІДНІ КОМПОНЕНТИ МІКРОСОМ ПЕЧІНКИ ТА СЕРЦЯ ЗА ДІЇ НА ЩУРІВ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Исследовали влияние ионизирующего излучения и N-стеароилэтаноламина на липидный состав микросом печени и сердца крыс. Установлено, что облучение животных (2 Гр) не оказывает по сравнению с интактными заметного влияния на фосфолипидный состав микросом сердца, тогда как в печени возрастает уровень фосфатидилэтаноламина, фосфатидилинозитола и фосфатидилсерина на фоне снижения содержания сфингомиелина. N-стеароилэтаноламин, вводимый животным per os перед облучением (в течение 10 дней) и после него (14 дней), не влияет на данные показатели. При исследовании соотношения плазмалогенной и диацильной форм фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина изменения также были обнаружены только в микросомах печени. Жирнокислотный спектр фосфолипидов микросомной фракции сердца изменяется значительно меньше при действии ионизирующего излучения, чем жирнокислотный состав фосфолипидов микросом печени. Введение животным N-стеароилэтаноламина приводит к повышению в изучаемых структурах количества некоторых ненасыщенных жирных кислот, в частности арахидоновой, и к незначительному повышению в печени свободного холестерола, что может рассматриваться как защитный процесс, направленный на уплотнение мембран при их повреждении.

Таким образом, можно сделать вывод о бо́льшей уязвимости тканей печени сравнительно с тканью сердца при действии на крыс ионизирующего излучения и защитном влиянии на них N-стеароилэтаноламина.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, N-ацилэтаноламины, N-стеароилэтаноламин, фосфолипиды, арахидоновая кислота, холестерол.

Дія іонізуючого випромінювання спричинює істотні зміни в організмі, а іноді й загибель клітин [1]. Вплив його залежить від радіочутливості тканин і дози радіації. До найбільш радіочутливих належать ті тканини, в яких найінтенсивніше відбувається поділ клітин (кровотворна, лімфоїдна).

Особливо чутливими до радіаційного ушкодження є мембрани клітин [2]. Кількісні і якісні зміни ліпідних мембранних компонентів залежать від тривалості часу після опромінення організму та дози. Раніше нами було встановлено, що у віддалений від опромінення організму в низьких дозах період у клітинах крові людини відбуваються досить глибокі порушення ліпідного складу, особливо жирнокислотного [3, 4]. У плазматичних мембранах печінки внаслідок дії іонізуючої радіації спостерігається активація процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), знижується рівень загальних фосфоліпідів, величина співвідношення холестерол/фосфоліпіди і ліпіди/білок та збільшується вміст холестеролу [5–7]. При цьому в мембранах модифікується фосфоліпідний склад, змінюється заряд, знижуються мікров'язкість ліпідів [8] і відносна кількість жирних кислот, зокрема ненасичених – ліноленової ($C_{18:3}$) та арахідонової ($C_{20:4\,\omega 6}$) [7] та змінюється активність багатьох ферментів ліпідного обміну, зокрема в мікросомах печінки зменшується активність холестерол-7α-гідролази і зростає активність гідроксиметилглютарил-СоА-редуктази [9].

Опромінення іонізуючою радіацією індукує переокислення ліпідів у біологічних і штучних мембранах. Структура і функції їхнього подвійного ліпідного шару порушуються через дію на нього новоутворених продуктів ПОЛ – кон'югованих дієнів та гідропероксидів [10,11]. Підвищення кількості останніх є сигналом для активації фосфоліпаз, насамперед фосфоліпази A_2 [11], що зумовлює появу лізоформ фосфоліпідів, які, у свою чергу, порушують структуру ліпідного бішару [12] і сприяють підвищенню проникності та рідинності мембран [13]. Особливу роль у процесах ПОЛ відіграють плазмалогенні форми фосфоліпідів. Саме вони, передусім, зазнають впливу вільних радикалів та дії плазмалогенспецифічної фосфоліпази A_2 [15,16]. Тому пошук природних агентів, які сприяють збереженню цілісності клітинних мембран і мають антиоксидантні властивості, набуває важливого значення.

N-ацилетаноламіни (NAE) належать до нового класу біорегуляторів із широким спектром біологічної та фармакологічної дії. Показано, що ці сполуки виявляють протизапальний неспецифічний антимікробний ефект [17], інгібують набрякання [18] та неспецифічну проникність внутрішніх мембран мітохондрій серця для Ca^{2+} [19]. Відомо також, що деякі NAE пригнічують ПОЛ [20]. Так, у 70-х роках було створено протибактеріальний та антивірусний препарат "Імпульсин" на основі N-пальмітоїлетаноламіну [21]. Поворотним моментом у вивченні NAE стали дослідження групи вчених, які на початку 80-х років виявили і ідентифікували в інфарктній зоні міокарда собак NAE та їхні попередники – N-ацилфосфатидилетаноламіни (NAPE) [22]. Автори висловили припущення, що такі сполуки генеруються як протектори, зменшуючи зону ішемічного ураження серцевого м'яза. Накопичення NAE та NAPE відбувається не лише за розвитку некротичних процесів у мембранах: рівень цих сполук підвищується і під час клітинного стресу [23]. Серед ацильних залишків у складі NAE переважають пальмітоїл ($C_{16:0}$), пальмітолеїл ($C_{16:1\,\omega9}$), стеароїл ($C_{18:0}$) та олеїл ($C_{18:1\,\omega9}$) [24], серед яких залишки насичених кислот становлять близько 70% загальної кількості їх. З огляду на це, ми у дослідженнях використали саме N-стеароїлетаноламін (NSE).

Аналіз даних літератури показує, що багато досліджень присвячено виявленню порушень, які відбуваються під впливом радіації в ядрі та плазматичних мембранах. Однак дію іонізуючого випромінювання на ліпіди мікросом печінки та серця, переважну більшість яких становлять мембрани ендоплазматичного ретикулума, лізосоми, пероксисоми та апарат Гольджі, вивчено недостатньо. Крім того, практичне застосування NAE як протекторів за дії на організм іонізуючої радіації все ще неможливе через недостатність експериментальних даних щодо їхньої ефективності. З огляду на це, метою роботи було оцінити зміни в ліпідному складі мікросом серця та печінки щурів у досить віддалений період (через два тижні) після одноразового опромінення щурів у дозі 2 Гр та можливість протекторної дії на опромінених тварин N-стеароїлетаноламіну (NSE).

Матеріали і методи

Дослідження проведено на щурах лінії Вістар з масою тіла 150–200 г, яких розділили на 5 груп відповідно до схеми, наведеної нижче:

Групи щурів	Щури	Кількість щурів	Тривалість введення щурам NSE*	Доза введеного per os NSE
1	Інтактні	7	–	–
2	Опромінені	10	–	–
3	Введення тваринам NSE до опромінення	10	10 днів щоденно перед опроміненням	50 мг/кг
4	Введення тваринам NSE після опромінення	10	14 днів щоденно після опромінення	50 мг/кг
5	Введення NSE неопроміненим щурам (контроль)	5	14 днів щоденно	50 мг/кг

Така схема введення щурам per os NSE – впродовж 10 діб перед опроміненням і 14 діб після нього – грунтується на наших попередніх, але ще неопублікованих дослідженнях: саме за цих умов було виявлено протекторні властивості біорегулятора на тварин. NSE застосовували у вигляді дрібнодисперсної водної суспензії, яку попередньо обробляли ультразвуком на приладі УЗДН протягом 20 хв. Рентгенівське опромінення щурів здійснювали на установці РУМ-17 (напруга 180 кВ, сила струму 10 мА, фільтри 0,5 мм Cu + 0,1 мм Al, відстань до об'єкта – 40 см за потужності дози 46,5 Р/хв).

Тварин декапітували під наркозом (використовували етамінал натрію, 5 мг/100 г маси тіла) на 14-й день після їхнього опромінення. Видалені серце та печінку ретельно відмивали від крові. Від кожної печінки відокремлювали шматочки (маса 1–2 г), які потім об'єднували в одну робу. Мікросоми печінки і серця щурів виділяли методами, описаними в роботах [25] та [26] відповідно. Для одержання достатньої кількості матеріалу об'єднували 2–3 серця. Після осадження мітохондріальної фракції супернатант центрифугували 1 год при 100 000 g. Одержану мікросомну фракцію використовували для досліджень.

Ліпіди із мікросом печінки та серця екстрагували згідно з рекомендаціями E. G. Bligh і W. I. Dyer [27]. Для розділення індивідуальних фосфоліпідів застосовували двовимірну мікротонкошарову хроматографію на силікагелі КСК-2 (Росія) і такі системи розчинників:

хлороформ – метанол – бензол – 28%-й аміак (65 : 30 : 10 : 6) – перший напрямок,

хлороформ – метанол – бензол – ацетон – льодяна оцтова кислота – H_2O (70 : 30 : 10 : 5 : 4 : 1) –

другий напрямок [28].

Плазмалогенні і діацильні форми фосфоліпідів розділяли в трьох системах розчинників:

Хлороформ – метанол – 28%-й аміак (65 : 35 : 5) – перший напрямок,

3 М розчин HCl у метанолі – другий напрямок,

хлороформ – ацетон – метанол – льодяна оцтова кислота – H_2O (50 : 20 : 10 : 10 : 5) – третій напрямок [29].

Ліпіди різних класів – фосфоліпіди, вільний холестерол та його ефіри – розділяли методом одновимірної мікротонкошарової хроматографії на силікагелі L5/40 («Lachema», Чехія) у наступній системі розчинників: гексан – діетиловий ефір – льодяна оцтова кислота (85 : 15 : 1). Метилові ефіри жирних кислот фосфоліпідів одержували за методом W. W. Christie [30]. Склад жирних кислот та кількість холестеролу визначали, застосовуючи газо-рідинну хроматографію, на хроматографі HRGC 5300 («Carlo Erba», Італія), кількість білка – методом O. H. Lowry et al. [31]. Статистичний аналіз проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента.

Результати та обговорення

Одержані нами дані показують, що опромінення щурів іонізуючою радіацією вірогідно не впливає порівняно з інтактними на кількість білка і загальних фосфоліпідів в мікросомах печінки та серця (табл. 1). Після введення тваринам NSE кількість білка дещо зменшується тільки в мікросомах серця ($p < 0,05$).

Аналіз складу фосфоліпідів мікросом свідчить, що внутрішньоклітинні мембрани печінки, на відміну від виділених із серця зазнають істотнішого впливу γ-опромінення (табл. 2 та 3). В мікросомах серця, як абсолютний вміст фосфоліпідів (табл. 2), так і відносний – % фосфоліпіду від загальної суми їх (дані в таблиці не наведено) – вірогідно не змінюються. У печінці опромінених щурів спостерігаються певні порушення їхнього фосфоліпідного складу (табл. 3). З наведених даних випливає, що за дії іонізуючої радіації в мікросомах печінки відбуваються суттєві кількісні зміни індивідуальних фосфоліпідів, зо-

Таблиця 1. Вміст білка (мг/ г тканини) та фосфоліпідів (мкмоль/г тканини) в мікросомах печінки й серця щурів (M ± m)

Об'єкти	Показники	Інтактні щури ($n = 3$)	Опромінені щури ($n = 5$)	Введення щурам NSE		
				До опромінення ($n = 5$)	Після опромінення ($n = 5$)	Контроль, неопромінені щури ($n = 3$)
Печінка	Білок	5,0 ± 0,5	6,1 ± 0,2	6,0 ± 0,1	6,4 ± 0,5	6,6 ± 0,4
	Фосфоліпіди	3,5 ± 1,0	4,3 ± 0,3	4,9 ± 0,4	4,8 ± 0,5	5,0 ± 0,2
Серце	Білок	9,3 ± 0,3	10,3 ± 0,4	8,1 ± 0,4 *,#	8,2 ± 0,6#	7,6 ± 1,0#
	Фосфоліпіди	3,9 ± 0,1	3,5 ± 0,7	2,8 ± 0,5	4,0 ± 0,1	2,6 ± 0,9

Тут і в інших табл. та на рисунках: * зміни показників порівняно зі щурами групи "інтактні щури" вірогідні, $p < 0,05$; #зміни показників порівняно з групою "опромінені щури" вірогідні, $p < 0,05$.

Таблиця 2. Вміст фосфоліпідів (10^{-8} моль /мг білка) в мікросомах серця щурів (M ± m)

Фосфоліпіди	Інтактні щури ($n = 3$)	Опромінені щури ($n = 5$)	Введення щурам NSE		
			До опромінення ($n = 5$)	Після опромінення ($n = 5$)	Контроль, неопромінені щури ($n = 3$)
Фосфатидилхолін	13,8 ± 3,0	14,1 ± 2,9	13,1 ± 2,6	18,2 ± 2,3	13,4 ± 4,9
Фосфатидилетаноламін	18,9 ± 5,6	11,5 ± 2,4	11,6 ± 2,3	18,8 ± 3,5	12,5 ± 4,5
Дифосфатидилгліцерол	3,5 ± 0,9	3,9 ± 0,8	3,9 ± 0,6	5,1 ± 1,1	4,8 ± 2,3
Сфінгомієлін	1,9 ± 0,3	1,5 ± 0,3	1,7 ± 0,2	2,1 ± 0,4	2,2 ± 0,8
Фосфатидилсерин	1,1 ± 0,3	0,9 ± 0,3	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,2	1,1 ± 0,5
Фосфатидилінозитол	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	1,3 ± 0,6	0,8 ± 0,4
Лізофосфатидилхолін	0,7 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3
Фосфатидилгліцерол	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,2	1,1 ± 0,8	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,3

Таблиця 3. Вміст фосфоліпідів (10^{-8}моль /мг білка) в мікросомах печінки щурів (M ± m)

Фосфоліпіди	Інтактні щури (n = 3)	Опромінені щури (n = 5–6)	Введення щурам NSE		
			До опромінення (n = 6)	Після опромінення (n = 5)	Контроль, неопромінені щури (n = 3)
Фосфатидилхолін	30,1 ± 0,7	30,1 ± 3,3	28,3 ± 3,2	27,7 ± 2,7	31,9 ± 2,5
Фосфатидилетаноламін	5,9 ± 0,9	10,7 ± 1,4*	10,6 ± 1,3*	9,1 ± 2,4	7,7 ± 0,9
Дифосфатидилгліцерол	0,2 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,8 ± 0,3	1,5 ± 0,2*,#	0,2 ± 0,1*
Сфінгомієлін	4,5 ± 0,3	3,3 ± 0,5	3,2 ± 0,4*	3,6 ± 0,7	2,6 ± 0,3*
Фосфатидилінозитол	0,3 ± 0,1	2,0 ± 0,3*	1,6 ± 0,3*	2,2 ± 0,8*	1,7 ± 0,1*
Фосфатидилсерин	0,2 ± 0,2	1,8 ± 0,9	0,6 ± 0,2	1,9 ± 0,5*	0,7 ± 0,1*
Лізофосфатидилхолін	1,7 ± 0,5	1,1 ± 0,2	1,3 ± 0,4	1,9 ± 0,7	1,1 ± 0,2

крема зменшується вміст сфінгомієліну (на 26,7% порівняно з інтактними щурами) та вірогідно зростає рівень фосфатидилетаноламіну, фосфатидилінозитолу і фосфатидилсерину. Відомо, що фосфатидилхолін і сфінгомієлін містять значно більше насичених жирних кислот, ніж фосфатидилетаноламін та фосфатидилінозитол. Тому зменшення або збільшення в мембранних структурах печінки кількості індивідуальних фосфоліпідів може бути чинником змін рідинності клітинних мембран. Крім того, фосфатидилхолін створює на мембрані позитивний заряд, у той час як фосфатидилетаноламін та фосфатидилінозитол – негативний. Отже, порушення фосфоліпідного складу можуть призвести, відповідно, до порушень функціонування мембранозв'язаних білків.

Згідно з даними літератури, введення опроміненим щурам NSE спричинює істотне підвищення в мікросомах печінки рівня важливого сигнального фосфоліпіду – фосфатидилсерину (з 0,6% у контролі до 3,6% за введення біорегулятора), зміни вмісту якого можуть зумовити порушення сигнальної трансдукції [32].

Дані щодо співвідношення діацильної та плазмалогенної форм основних за вмістом мембранних фосфоліпідів – фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну – свідчать про відсутність вірогідних змін їх у клітинах серця опромінених щурів (табл. 4). Натомість у клітинах печінки тварин за таких умов експерименту спостерігається істотне зменшення плазмалогенних форм фосфоліпідів і, відповідно, збільшення стабільніших діацильних форм (табл. 5), які здатні ущільнювати мембрани.

З даних літератури [33] випливає, що внаслідок γ-опромінення організму у тканинах значно зростає кількість вільних радикалів і підвищується окислення поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) фосфоліпідів циклооксі- та ліпоксигеназами з наступним відщепленням окислених ацилів фосфоліпазою A_2. При цьому ПОЛ, перш за все, впливає саме на плазмалогенні форми фосфоліпідів [13]. У працях різних авторів дискутується також питання стосовно особливої ролі плазмалогенних форм фосфоліпідів, насамперед, за умов впливу ПОЛ і дії фосфоліпаз [14]. Одержані нами результати свідчать про імовірність значної активації плазмалогенселективних фос-

Таблиця 4. Співвідношення діацильної і плазмалогенної форм фосфатидилхоліну (ФХ) та фосфатидилетаноламіну (ФЕА) у мікросомах серця (в % від суми плазмалогенної та діацильної форм фосфоліпідів) щурів (M ± m)

Фосфоліпіди	Інтактні щури (n = 3)	Опромінені щури (n = 5)	Введення щурам NSE		
			До опромінення (n = 5)	Після опромінення (n = 5)	Контроль, неопромінені щури (n = 3)
ФХ-плазмалоген	4,8 ± 1,1	4,4 ± 0,6	7,5 ± 1,3#	4,9 ± 0,2	4,3 ± 0,7
ФХ-діацил	95,2 ± 1,1	95,6 ± 0,6	92,5 ± 1,3#	95,1 ± 0,2	95,7 ± 0,7
ФЕА-плазмалоген	29,0 ± 2,7	25,9 ± 1,3	28,1 ± 2,7	29,1 ± 1,2	30,7 ± 7,2
ФЕА-діацил	71,0 ± 2,7	74,1 ± 1,3	71,9 ± 2,7	70,9 ± 1,2	69,3 ± 7,2

* Зміни показників порівняно з опроміненими щурами вірогідні, $t = 2,17$; $p = 0,055$.

Таблиця 5. Співвідношення діацильної та плазмалогенної форм фосфатидилхоліну (ФХ) та фосфатидилетаноламіну (ФЕА) в мікросомах печінки (% від суми плазмалогенної та діацильної форм фосфоліпідів) щурів (M ± m)

Фосфоліпіди	Інтактні щури (n = 3)	Опромінені щури (n = 5)	Введення щурам NSE		
			До опромінення (n = 5)	Після опромінення (n = 5)	Контроль, неопромінені щури (n = 3)
ФХ-плазмалоген	20,1 ± 0,1	8,4 ± 1,8*	12,9 ± 2,8*	6,95 ± 1,9*	5,4 ± 1,4*
ФХ-діацил	79,9 ± 0,1	91,6 ± 1,8*	87,1 ± 2,8*	93,03 ± 1,9*	94,6 ± 1,4*
ФЕА-плазмалоген	18,8 ± 1,4	11,1 ± 2,4*	15,4 ± 4,6	10,9 ± 6,8	15,0 ± 6,3
ФЕА-діацил	81,2 ± 1,4	88,9 ± 2,4*	84,6 ± 4,6	89,1 ± 6,8	85,0 ± 6,3

фоліпаз у мікросомах печінки.

Якщо щури до опромінення впродовж 10 днів отримували per os NSE, то спостерігається тенденція до зростання в мікросомах, виділених із серця, рівня плазмалогенної форми фосфатидилхоліну і, відповідно, зменшення діацильної форми ($t = 2,17$; $p = 0,055$; $n = 10$) порівняно із тваринами групи "опромінені щури" (табл. 4). Оскільки NSE притаманні антиоксидантні і мембранопротекторні властивості [18, 34], то, ймовірно, що під впливом біорегулятора вміст продуктів ПОЛ у тканинах серця зменшується, внаслідок чого підвищується вміст плазмалогенної форми фосфатидилхоліну.

Жирнокислотний аналіз фосфоліпідного пула свідчить про відсутність істотних кількісних змін жирних кислот в мікросомах серця опромінених щурів (табл. 6). Тільки у тварин, яким після опромінення впродовж 14 днів вводили NAE, вміст стеаринової кислоти підвищується на 30 і 60% порівняно з контролем та щурами групи "опромінені щури" відповідно. Одержані нами результати можна пояснити гідролізом NSE специфічними амідогідролазами [35] і наступним реацилюванням вивільненої стеаринової кислоти до фосфоліпідів. Можливість такого використання екзогенного NAE нами показано раніше [36]. Виявлено також деякі відмінності у відсотковому вмісті жирних кислот. Так, після введення щурам NSE до опромінення у фосфоліпідах мембранних структур, виділених із серця, вірогідно зростає рівень ПНЖК ω6-ряду: арахідонової та докозапентаєнової – з 23,9 до 27,3 та з 2 до 2,8% відповідно. Підвищується також на 19% загальна кількість ПНЖК у фосфоліпідах мікросом серця (табл. 7). Можливо, що NSE запобігає окисленню ПНЖК у мембранах, виявляючи мембраностабілізувальні та антиоксидантні властивості [37–39]. Однак зазначені зміни не впливають на загальний вміст жирних кислот мікросом серця та індекс їхньої ненасиченості.

У мікросомах, виділених із печінки, відбуваються істотні порушення як у фракційному фосфоліпідному складі, так і в жирнокислотному.

Таблиця 6. Жирнокислотний склад фосфоліпідів (10^{-9} моль/мг білка) мікросом серця щурів (M ± m)

Жирні кислоти	Інтактні щури (n = 3)	Опромінені щури (n = 5)	Введення щурам NSE		
			До опромінення (n = 5)	Після опромінення (n = 5)	Контроль, неопромінені щури (n = 3)
$C_{16:0}$	49,9 ± 4,1	39,6 ± 9,5	34,8 ± 6,7	63,9 ± 10,1	45,6 ± 18,9
$C_{18:0}$	123,9 ± 13,4	98,4 ± 20,9	88,3 ± 13,9	161,4 ± 19,3#	117,4 ± 50,8
$C_{18:1\omega9}$	20,4 ± 0,7	16,7 ± 3,4	16,0 ± 2,8	31,0 ± 8,4	19,1 ± 8,1
$C_{18:2\omega6}$	73,8 ± 6,5	60,8 ± 12,2	58,6 ± 11,1	78,8 ± 3,1	54,9 ± 22,7
$C_{20:4\omega6}$	100,7 ± 7,7	78,4 ± 15,9	96,5 ± 20,0	101,5 ± 10,2	84,7 ± 33,2
$C_{22:0}$	4,6 ± 0,7	4,3 ± 0,9	3,1 ± 0,5	5,4 ± 0,4	4,4 ± 1,7
$C_{22:5\omega6}$	8,6 ± 0,9	8,1 ± 1,8	10,1 ± 2,5	10,8 ± 3,0	6,8 ± 3,7
$C_{22:6\omega3}$	16,6 ± 4,1	12,8 ± 3,0	19,1 ± 4,8	15,0 ± 3,7	12,2 ± 6,0

У таблиці наведено лише мажорні за вмістом жирні кислоти.

Таблиця 7. Жирнокислотний склад фосфоліпідів (10^{-9} моль/мг білка) мікросом серця щурів (M ± m)

Жирні кислоти	Інтактні щури (n = 3)	Опромінені щури (n = 5)	Введення щурам NSE		
			До опромінення (n = 5)	Після опромінення (n = 5)	Контроль (неопромінені щури, n = 3)
Σ ненасичених	230,6 ± 17,2	185,3 ± 37,3	210,2 ± 41,9	249,6 ± 22,7	185,8 ± 68,9
Σ насичених	186,2 ± 18,3	150,8 ± 32,8	133,9 ± 22,5	240,2 ± 29,9	174,5 ± 74,3
Ненасичені/насичені	1,28 ± 0,22	1,26 ± 0,12	1,57 ± 0,13	1,10 ± 0,16	1,11 ± 0,20
Σ моноєнових	22,8 ± 0,6	18,5 ± 3,8	17,9 ± 3,1	35,1 ± 9,8	21,1 ± 8,9
Σ дієнових	74,0 ± 6,6	60,8 ± 12,2	58,8 ± 11,2	79,0 ± 3,1	54,9 ± 22,7
Σ полієнових	133,8 ± 11,6	106,0 ± 21,5	133,3 ± 28,1	135,5 ± 18,0	109,8 ± 44,4

Зокрема, за опромінення щурів виявлено тенденцію до збільшення у внутрішньоклітинних мембранах кількості арахідонової кислоти (t = 1,82; p = 0,1; n = 8; табл. 8). Такі дані потребують пояснення, оскільки відомо, що за активації ПОЛ арахідонова кислота є однією з основних мішеней дії вільних радикалів, унаслідок чого її кількість у фосфоліпідах після опромінення зменшується [40]. Можливо, що зазначені вище зміни зумовлено досить віддаленим періодом дослідження (через два тижні, після опромінення щурів). Деякі показники ліпідного обміну, що змінюються в перші години після впливу на тварин рентгенівських променів, пізніше нормалізується. Проте одержані нами результати потребують додаткових експериментів. Під впливом NSE у фосфоліпідах мембранних препаратів печінки зростає рівень ω6-жирних кислот – лінолевої ($C_{18:2\omega6}$) та арахідонової, а у варіанті досліду "введення щурам NSE після опромінення" та " введення щурам NSE без опромінення (контроль)" зростає кількість важливої ПНЖК ω3-ряду – докозагексаєнової ($C_{22:6\omega3}$). Цим, можливо, пояснюється, здатність NSE запобігати окисленню ПНЖК у мембранах печінки.

Дані аналізу відсоткового вмісту жирних кислот у фосфоліпідах мікросом печінки свідчать про ще істотніші зміни їх за впливу на організм γ-радіації. Після опромінення тварин у тканинах суттєво зменшується рівень олеїнової кислоти (з 9,1 до 5,7%), а також спостерігається тенденція до зменшення кількості таких жирних кислот, як пальмітинова – з 26,9 до 17,8%, стеаринова – з 42,2 до 30,4% та докозапентаєнова – з 3,4 до 2,0% (t = 2,1; p = 0,075; n =8). Водночас помітно підвищується рівень арахідонової кислоти – з 3,7 до 27,6%. Такий перерозподіл вмісту жирних кислот у фосфоліпідах мікросом печінки, можливо є показником більшої активності фосфоліпаз унаслідок активації процесів ПОЛ в обох органах за опромінення тварин [41]. Після введення щурам NSE вміст пальмітинової кислоти нормалізується до вихідного рівня (з 17,8 до 24,5%) і зростає лінолевої (з 6,07 до 11,10%), що, знову-таки, свідчить про антиоксидантні і мембраностабілізувальні властивості NSE. Слід зазначити, що, згідно з даними літератури, у разі активації ПОЛ, зокрема за дії на організм іонізуючого випромінювання [33], лінолева кислота окислюється 13-ліпоксигеназою з утворенням

Таблиця 8. Жирнокислотний склад фосфоліпідів (10^{-9} моль/мг білка) мікросом печінки щурів (M ± m)

Жирні кислоти	Інтактні щури (n = 3)	Опромінені щури (n = 5)	Введення щурам NSE		
			До опромінення (n = 5)	Після опромінення (n = 5)	Контроль (неопромінені щури, n = 3)
$C_{16:0}$	321,4 ± 78,8	243,7 ± 39,4	347,8 ± 37,4	384,0 ± 68,7	321,8 ± 39,6
$C_{18:0}$	489,8 ± 70,0	406,2 ± 68,0	506,9 ± 56,8	631,0 ± 110,8	548,0 ± 103,5
$C_{18:1\omega9}$	110,2 ± 27,7	78,8 ± 5,5	87,1 ± 13,0	95,3 ± 14,5	78,0 ± 6,2
$C_{18:2\omega6}$	70,2 ± 24,5	97,3 ± 24,8	160,9 ± 24,4*	132,6 ± 17,5*	178,5 ± 28,8*
$C_{20:4\omega6}$	38,3 ± 13,3	431,0 ± 215,0	215,4 ± 57,1*	219,5 ± 62,5*	285,4 ± 48,5*
$C_{22:5\omega6}$	39,2 ± 4,9	30,4 ± 8,2	34,5 ± 4,5	36,2 ± 6,2	28,7 ± 21,3
$C_{22:6\omega3}$	9,5 ± 1,2	7,6 ± 2,1	13,9 ± 3,9	14,9 ± 1,6*,#	20,8 ± 1,9*,#

Таблиця 9. Жирнокислотний склад фосфоліпідів (10^{-9} моль/мг білка) мікросом печінки щурів ($M \pm m$)

Жирні кислоти	Інтактні щури ($n = 3$)	Опромінені щури ($n = 5$)	Введення щурам NSE		
			До опромінення ($n = 5$)	Після опромінення ($n = 5$)	Контроль (неопромінені щури, $n = 3$)
Σ ненасичених	300,9 ± 61,7	673,9 ± 175,3	538,1 ± 96,2	532,0 ± 63,8*	618.2 ± 97.4*
Σ насичених	860,5 ± 154,2	690,1 ± 107,3	892,8 ± 98,3	1064,0 ± 182,7	914.2 ± 144.6
Ненасичені/насичені	0,4 ± 0,1	1,3 ± 0,6	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0.7 ± 0.2
Σ моноєнових	121,1 ± 30,2	89,5 ± 6,4	95,7 ± 15,0	105,7 ± 15,6	83.7 ± 9.0
Σ дієнових	70,8 ± 24,1	98,4 ± 25,0	162,1 ± 24,6*	134,7 ± 17,0	179.7 ± 29.7*
Σ полієнових	109,0 ± 13,9	486,0 ± 201,1	280,3 ± 66,0*	291,6 ± 59,2*	334.6 ± 61.9

13-гідроксиоктадієнової кислоти, яка може селективно інгібувати протеїнкіназу С [42]. Тому підвищення вмісту лінолевої кислоти на фоні введення щурам NSE може відігравати важливу роль в утворенні її ліпоксигеназних продуктів.

Узагальнені дані щодо вмісту жирних кислот у мікросомах печінки наведено в табл. 9. У варіантах дослідів "введення щурам NSE після опромінення" та "введення щурам NSE без опромінення (контроль)" кількість ненасичених (дієнових та полієнових) жирних кислот підвищується на тлі відсутності вірогідних змін індексу ненасиченості їх – важливого показника, який характеризує мікров'язкість мембран (табл. 9).

Для детальнішої характеристики ліпідної складової мікросом печінки та серця опромінених щурів досліджували в цих структурах вміст вільного та естерифікованого холестеролу (рис. 1 та 2). Хоча раніше було встановлено збільшення кількості останнього за γ-опромінення тварин [43], однак в нашому експерименті не виявлено вірогідних змін рівня холестеролу та його ефірів у мікросомній фракції серця (рис. 1). Це свідчить про наявність в організмі механізмів, які забезпечують підтримання гомеостазу холестеролу у внутрішньоклітинних мембранах серця опромінених тварин.

Опромінення істотно не змінює також кількості вільного та естерифікованого холестеролу в мікросомах печінки (рис. 2), що можна пояснити, з одного боку, дією на щурів радіації в низьких дозах, а з другого, – досить віддаленим періодом дослідження після неї. Слід зазначити, що введення тваринам NSE вже само по собі зумовлює підвищення вмісту холестеролу в мікросомах печінки. Вірогідно, що саме цим і пояснюється відома мембранопротекторна дія NAE.

Таким чином, одержані нами результати свідчать, що ліпідна складова мікросом серця щурів значно менше порівняно з печінкою ушкоджується іонізуючим випромінюванням. Так, у мембранних препаратах серця майже не змінюється ані абсолютний, ані відносний склад фосфоліпідів, рівень їхніх плазмалогенних форм, жирних кислот фосфоліпідів, вільного холестеролу та його ефірів. У мікросомах печінки всі зазначені фракції ліпідів істотно модифікуються під впливом іонізуючого опромінення щурів. Особливу увагу привертає збільшення вмісту фосфатидилетаноламіну, фосфатидилінозитолу і фосфатидилсерину; перерозподіл плазмалогенної та діацильної форм фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну (в бік збільшення рівня діацильної форми); значна зміна жирнокислотного складу. N-стеароїлетаноламін за дії на організм іонізуючої радіації виявляє антиоксидантні та мембраностабілізувальні властивості. Зокрема, при введенні тваринам NSE у внутрішньоклітинних мембранах печінки зростає кількість фосфатидилсерину та вільного холестеролу, у фосфоліпідах – вміст пальмітинової кислоти, досягаючи вихідного рівня на тлі збільшення кількості ПНЖК, зокрема ліноленової, арахідонової та докозагексаєнової. У мікросомах серця підвищується вміст плазмалогенної форми фосфатидилхоліну і, відповідно, зменшується діацильної. Крім того, у фосфоліпідах внутрішньоклітинних мембран серця тварин, яким вводили NSE після опромінення, зростає кількість стеаринової кислоти.

Одержані дані можуть свідчити про можливість захисного впливу NSE на тварин у разі їхнього опромінення.

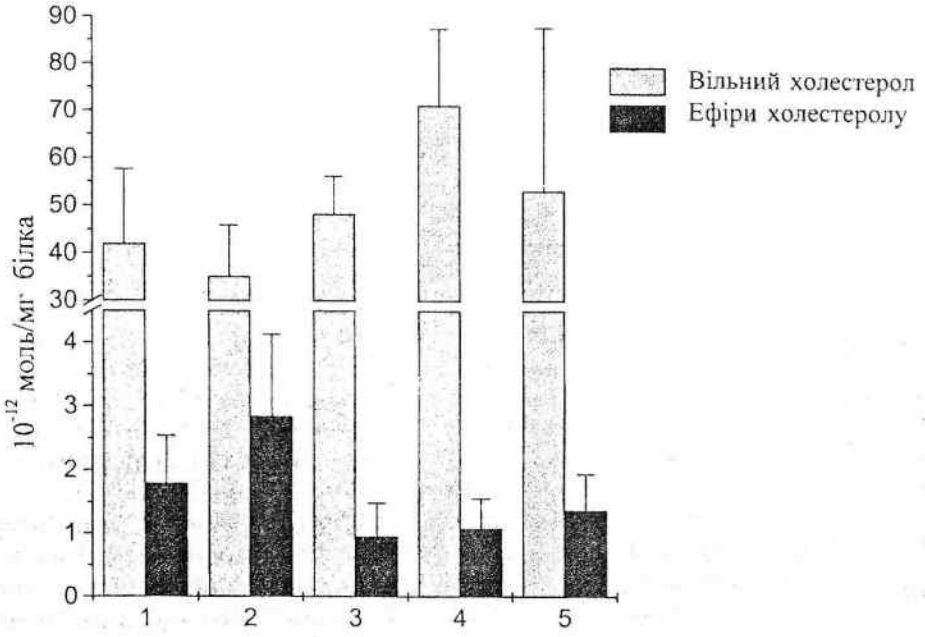

Рис. 1. Вміст холестеролу (10^{-12}моль/мг білка) в мікросомах серця щурів (M ± m, n = 6–10). Тут і на рис. 2: 1 – інтактні щури, 2 – опромінені щури, 3 – введення щурам NSE до опромінення, 4 – введення їм NSE після опромінення, 5 – введення NSE неопроміненим щурам (контроль).

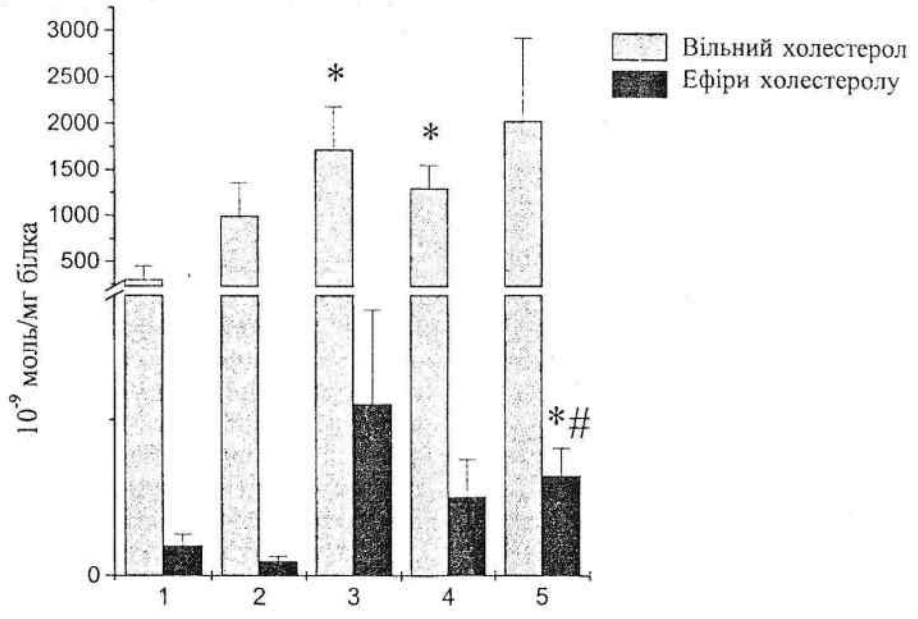

Рис. 2. Вміст холестеролу (10^{-9}моль/мг білка) в мікросомах печінки щурів (M ± m, n = 3–6).

M. V. Artamonov, O. D. Zhukov,
T. M. Gorid'ko, V. M. Klimaschevskiy,
O. P. Martsenyuk, N. M. Gulaya

INFLUENCE OF N-STEAROYLETHANOLAMINE (NSE) ON THE LIPID COMPONENTS OF THE RAT LIVER AND HEART MICROSOME FRACTIONS UNDER X-RAY IONIZATION

Summary

The influence of irradiation and NSE on the microsomal lipid composition of the rat liver and heart was studied. It was shown, that radiation treatment in a dose of 2 Gy had not a significant affect on the heart phospholipid composition, whereas in the liver the amounts of the phosphatidylethnolamine and phosphatidylinositol were increased and the amounts of the phosphatidylcholine and sphyngomieline were decreased. NSE did not impact on these characteristics. The alterations of the plasmalogen/diacyl forms ratio of the PC and PE also took place only in the liver microsome. The analysis of the fatty acids esterified to phospholipids showed similar situation: the fatty acids of the heart microsoma less were changed than those of the liver microsome undergo irradiation. The amount of arachidonic acid rised after the adding of NSE to rats. Investigation of the important component of biological membranes – cholesterol and its esters also showed that the liver tissue is more vulnerable to irradiation than the heart. NSE led to insignificant increase of the not esterified cholesterol in the liver.

As a result of the present work we may conclude that the liver microsome is more vulnerable than the heart under X-ray radiation and NSE has protective effect in these conditions.

Key words: X-ray ionization, N-acylethanolamines, N-stearoylethanolamine, phospholipids, arachidonic acid, cholesterol.

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

1. *Кузин А. М.* Структурно-метаболическая теория в радиобиологии. М.: Наука. 1970. 222 с.
2. *Yau T. M.* // Scan. Electron. Microsc. 1981. **4**. P. 47–54.
3. *Chumak A., Thevenon Ch., Gulaya N. et al.* // Radiat. Res. 2001. **156**, N 5. P. 478–487.
4. *Gulaya N., Margitich V., Chumak A.* // Укр. біохім. журн. 2000. 72, № 6. С. 56–62.
5. *Рыскулова С. Т., Балахчи Т. А.* // Радиобиология. 1984. **24**, № 5. С. 650–651.
6. *Казначеев Ю. С., Кулагина Т. П., Маркевич Л. Н., Коломийцева И. К.* // Там же. 1985. **25**, № 2. С. 174–178.
7. *Егуткин Г. Г., Якубовский С. М., Самбурский С. С., Гацко Г. Г.* // Там же. 1993. **33**, № 1. С. 55–60.
8. *Древаль В. И.* // Там же. С. 45–48.
9. *Feurgard C., Boehler N., Ferezou J. et al.* // Int. J. Radiat. Biol. 1999. **75**, N 6. P. 757–66.
10. *Гродзинський Д. М.* Радіобіологія. К.: Либідь. 2000. 447 с.
11. *Yeagle Ph. L.* // FASEB J. 1989. **3**, N 7. P. 1830–1842.
12. *Никушкин Е. В., Михайлева Л. И., Бордюков М. М. и др.* Фундаментальные достижения нейрохимии – медицине / Тезисы докладов. Горький. 1987. С. 134.
13. *Дудник Л. Б., Биленко М. В., Алесенко А. В. и др.* // Вопр. мед. химии. 1981. **273**, N 3. С. 380–383.
14. *Mitchell D. J., Petersen D. R.* //Arch. Biochem. Biophys. 1989. **269**, N 1. P. 11–17.
15. *Khaselev N., Murphy R. C.* // Free Radic. Biol. Med. 1999. **26**, N 3–4. P. 275–284.
16. *Khaselev N., Murphy R. C.* // J. Lipid Reas. 2000. **41**, N 4. P. 564–572.
17. *Perlik F., Raskova H., Elis J.* // Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung. 1971. **39**, N 4. 395–400.
18. *Broekemeier K. M., Schmid P. C., Schmid H. H. O., Pfeiffer D. R.* // J. Biol. Chem. 1985. **260**, N 1. P. 105–113.
19. *Epps D. E., Palmer J. W., Schmid H. H. O. et al.* // Ibid. 1982. **257**, N 3. P. 1383–1391.
20. *Parinandi N. L., Schmid H. H. O.* // FEBS Letters. 1988. **237**, N 1–2. P. 49–52.
21. *Lackovic V., Borecky L., Kresakova J.* // Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz). 1977. **25**, N 5. P. 655–61.
22. *Epps D. E., Natarajan V., Schmid P. C., Schmid H. H. O.* // Biochim. Biophys. Acta. 1980. **618**, N 3. P. 420–430.
23. *Berdyshev E. V., Schmid P. C., Dong Z., Schmid H. H.* // Biochem. J. 2000. **346**, N 2. P. 369–74.
24. *Natarajan V., Schmid P. C., Reddy P. V. et al.* // Biochim. Biophys. Acta. 1985. **835**, N 3. P. 426–433.
25. *Aronson N. N., Touster O.* Methods Enzymology. /Eds. S. Fleister, L. Packer. Academ. Press. New York, USA. 1974. **XXXI**(A). P. 90–102.
26. *Maeda T., Balakrishnan K., Mehdi S. Q.* // Biochim. Biophys. Acta. 1983. **731**, N 1. P. 115–120.
27. *Bligh E. G., Dyer W. I.* // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. **37**. P. 911–17.
28. *Vaskovsky V. E., Terekhova T. A.* // J. High Resol.Chromatogr. and C.C. 1979. **2**. P. 671–672.

29. *Vaskovsky V. E., Dembitzky V. M.* // J. Chromatogr. 1975. **115**, N 2. P. 645–647.
30. *Christie W. W.* Lipid analysis. Pergamon Press: Oxford. 1979. 338 p.
31. *Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* // J. Biol. Chem. 1951. 193, N 2. P. 265–275.
32. *Somersan S., Bhardwaj N.* // Cell Biol. 2001. **155**, N 4. P. 501–504.
33. *Матышевская О. П., Пастух В. Н., Солодушко В. А.* // Укр. биохим. журн. 1998. **70**, N 5. С. 91–96.
34. *Hansen H. S., Moesgaard B., Petersen G., Hansen H. H.* // Pharmacol. Ther. 2002. **95**, N 2. P. 119–126.
35. *Maccarrone M., Pauselli R., Di Rienzo M., Finazzi-Agr A.* // Biochem. J. 2002. **366**. Pt 1. P. 137–144.
36. *Артамонов М. В., Жуков О. Д., Маргітич В. М. та ін.* // Укр. біохім. журн. 2002. **74**, № 2. С. 86–94.
37. *Gulaya N. M., Melnik A. A., Balkov D. I. et al.* // Biochim. Biophys. Acta. 1993. **1152**, N 2. P. 280–288.
38. *Горідько Т. М., Гула Н. М., Маргітич В. М. та ін.* // Укр. біохім. журн. 2001. **73**, № 1. С. 82–87.
39. *Gulaya N. M., Kuzmenko A. J., Margitych V. V. et al.* // Chem. Phys. Lipids. 1998. **97**, N 1. P. 49–54.
40. *Матышевская О. П., Слатвинская Е. А, Кучеренко Н. Е.* // Укр. биохим. журн. 1994. **66**, № 3. С. 60–66.
41. *Матышевская О. П., Слатвинская Е. А, Кучеренко Н. Е.* // Вопр. мед. химии. 1994. **40**, № 2. С. 28–31.
42. *Pongracz J., Lord J. M.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1999. **256**, N 2. P. 269–272.
43. *Потехина Н. И., Коломийцева И. К.* // Радиобиология. 1992. **32**, № 4. С. 528–533.

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

Отримано 16.09.2002