

К. Г. КАРАГЕЗЯН, Л. Т. МАКАРЯН

АРТЕРНО-ВЕНОЗНАЯ РАЗНИЦА (общая сонная артерия— наружная яремная вена) В СОДЕРЖАНИИ СВОБОДНОГО ЭТАНОЛАМИНА КРОВИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Этаноламин является одним из наиболее распространенных веществ растительного и животного организмов, что свидетельствует о его важном значении в обменных процессах. О существовании этаноламина в организме животных говорил еще Тудихум [35, 36] в конце прошлого столетия, а Триер [37—39] получил его в чистом виде из семян бобовых растений. Выделение этаноламина из животных тканей долгое время встречало большие затруднения, которые наводили на мысль, что он существует только в виде своих фосфорных эфиров—фосфорилэтанолamina и глицерофосфорилэтанолamina [22]. После неудачных попыток получить свободный этаноламин из мозгового вещества, Мюллеру [29] удалось выделить его в виде соли золота.

С внедрением хроматографических методов исследования в биохимическую практику Денту [20] представилась возможность в 1948 году изолировать этаноламин в свободном виде из различных биологических сред методом двухмерной хроматографии на бумаге. В дальнейшем Роберте и др. [31] выделили его из нервной ткани, Волкер [41] из печени и форменных элементов крови, Шторгарде и др. [33] из молока, Кнауфф и др. [25] из спинномозговой жидкости и Дорданне [14] из линзы глаза.

Основательное изучение этаноламина мозгового вещества было предпринято Де-Роппом [17], а Таллан и др. [34] после систематических исследований его содержания в отдельных органах пришли к заключению, что в количественном отношении этаноламин занимает видное место по сравнению с рядом аминокислот и больше всего находится в головном мозгу (20,6 мг %), затем в печени, мышцах, почках и т. д. Наряду с другими азотистыми основаниями фосфатидов особый интерес представляет биохимическая роль этаноламина в мозгу, где содержится большое количество фосфатидилэтанолamina, в состав которого он входит.

За последнее время фосфолипидам нервной ткани придается важное значение в обмене веществ мозга и проведено много исследований по изучению процессов биосинтеза и расщепления их отдельных представителей в нормальных условиях и при различных функциональных состояниях. Однако вопрос о механизмах образования этаноламина в мозгу пока не получил своего окончательного разрешения. Это касается и фосфорилэтанолamina, которому, как известно, придается важное зна-

чение в фосфолипидном обмене нервной ткани. Исследованиями Кометани и сотр. [5] было показано, что внедрение меченого фосфата в структуру фосфорилэтанолamina происходит значительно интенсивнее, нежели в молекулу фосфатидилэтанолamina. Это свидетельствует о самостоятельном образовании фосфорилэтанолamina в результате прямого фосфорилирования, а не вследствие распада фосфатидилэтанолamina. Авторы придерживаются аналогичного мнения и в отношении образования фосфорилхолина [6, 7], что нашло свое подтверждение в результатах исследований Даусона [15, 16]. В то же время не исключается возможность образования фосфорилэтанолamina из фосфорилсерина, что показано и в исследованиях Бремера и др. [9] при изучении образования фосфатидилэтанолamina из фосфатидилсерина при декарбоксилировании последнего. Эта точка зрения отвергается Чаргаффом и Кестеном [12], считающими, что фосфорилэтанолamin не является участником синтеза фосфатидов, а представляет собой продукт распада фосфатидилэтанолamina, тем более, что в литературе имеются указания относительно существования фермента кефалиназы в нервной ткани [40]. Несмотря на все эти точки зрения исследования последних лет склоняют ученых к мысли о возможном образовании фосфорилэтанолamina химическим путем, о чем говорили Плимер и Бурч [30] еще в 1937 г. и позднее Харбузиер и Уэнигер [13] в 1946 г. Имеются данные о существовании и других путей образования фосфорилэтанолamina. Так, например, Бухилоуке и др. [10] в 1947 г., Рох и др. [32] в 1948 г. впервые наблюдали его ферментативный синтез под действием щелочной фосфатазы слизистой кишок. В дальнейшем Мартон [27] показал катализирующее действие этого фермента на перенос фосфора от монофосфоэстеров на этанолamin. Несмотря на отсутствие единого мнения о путях возникновения этанолamina и его фосфата в нервной ткани (являются ли они продуктами, участвующими в синтезе фосфолипидов, или, наоборот, образуются в результате их гидролитического расщепления) этот вопрос заслуживает определенного внимания.

В наших исследованиях основной акцент ставился на изучение роли отдельных представителей фосфолипидов в мозгу в разрезе их функционального значения. За последнее время в литературе появились указания об активном вовлечении фосфолипидов в энергетический обмен нервной ткани при состояниях, характеризующихся отсутствием глюкозы в организме (гипогликемическая кома). Исследованиями Абуда, Гейгера, Кнауффа и Бёкка [8, 21, 26] показано, что в нервной ткани людей, погибших в состоянии тяжелой гипогликемии, определяется высокое содержание фосфорных эфиров этанолamina, холина, серина и свободного этанолamina. Подобную картину в мозгу наблюдали Де-Ропи и др. [18] при инсулиновой гипогликемии и под действием различных возбуждающих агентов [19].

Наши прежние исследования показали [3, 23], что электрокожное раздражение вызывает значительное увеличение содержания фосфора общих и индивидуальных фосфолипидов в крови, оттекающей от мозга.

Аналогичная картина наблюдалась при воздействии гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК) и адреналином. Эти данные позволяют считать, что при возбуждении, развивающемся под влиянием указанных агентов, головной мозг выделяет ряд фосфолипидов в периферический кровоток. Не исключается, что при этом может происходить и некоторое их расщепление, что должно отразиться на уровне этаноламина в крови, питающей мозг и оттекающей от него. Результаты исследований, проведенных в этом направлении, представлены в настоящем сообщении.

Методика. Исследования проводили на 5 собаках-самцах весом в 20 кг, в хроническом эксперименте методом артерио-венозной разницы. Животных предварительно оперировали: общую сонную артерию выводили в кожный валик и с той же стороны перевязывали все ветви наружной яремной вены, за исключением задвельцевой, имеющей непосредственное сообщение с поперечными синусами мозга [4]. Кровь брали из указанных сосудов почти одновременно (из наружной яремной вены на 14—17 секунд позже, что соответствует времени полного кровообращения в мозгу [2]) до опыта и через 5, 10, 15, 20 и 25 минут после соответствующих манипуляций. ГАМК и адреналин вводили интракаротидно, электрокожное раздражение наносили на очищенную поверхность кожи задней конечности. Животных заранее приучали к условиям экспериментальной обстановки и затем приступали к проведению собственных исследований.

Количественное определение этаноламина производили по методике Барсегяна [1], основанной на способности этаноламина развивать с парабензохиноном специфическое оранжево-красное окрашивание. Эта реакция не протекает с другими аминами, аминокислотами и даже фосфорилэтансламином.

Результаты собственных исследований. Перед нами стояла задача: изучить количественные колебания свободного этаноламина в крови, питающей мозг и оттекающей от него, при функциональных состояниях, разыгрывающихся под воздействием 2,5, 3,75 и 5,0 мг/кг ГАМК. Это представляло интерес в связи с результатами исследований Бунятына и сотр. [11], показавших, что ГАМК в определенных концентрациях обладает инсулиноподобным действием, активируя процесс проникновения глюкозы через клеточные мембраны мышечной, жировой и хрящевой тканей. С другой стороны, ГАМК, подобно адреналину, вызывает чувствительные сдвиги в углеводном обмене периферических органов, выражающиеся в развитии гликогенолитического и гипергликемического эффектов. На основании этих данных становится очевидным, что указанные изменения в углеводном обмене не могут не отразиться и на метаболизме головного мозга в целом, тем более, что нервная ткань является одним из основных потребителей глюкозы в животном организме [24]. Следовательно, представляло несомненный интерес проследить за обменом дополнительных энергетических резервов мозга, в частности фосфолипидов и их составных частей, среди которых этаноламин заслуживает определенного внимания.

Согласно нашим данным, количество свободного этаноламина в цельной крови собак в нормальных условиях колеблется в пределах 0,8—1,2 мг%.

В начале наших исследований мы изучали артерио-венозную разницу уровня свободного этаноламина в цельной крови после интракаротидного введения 1 мл физиологического раствора. Как видно из рис. 1, в первые 30 мин. его заметных колебаний не наблюдалось.

На этом фоне изучалось действие различных доз ГАМК. Первоначально мы испытали ее в количестве 0,05, 0,25, 0,5, 1,0 и 1,5 мг/кг веса животного, которые, как показали результаты наших исследований, не оказали эффективного воздействия на сдвиги в артерио-венозной разнице содержания этаноламина. В дальнейшем количество вводимой ГАМК подняли до 2,5, 3,75 и 5,0 мг/кг веса животного и,

как видно на рис. 2, наблюдали возникновение чувствительной артерио-венозной разницы в содержании этаноламина в крови, притекающей

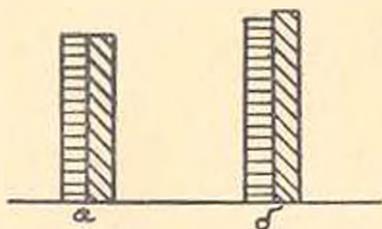


Рис. 1. Содержание свободного этаноламина в мг% в крови, питающей мозг (▨) и оттекающей от него (▤) (артерио-венозная разница), в контрольных опытах (а — 1,05 (8) 1,05) и через 30 минут после интракаротидного введения 1 мл физиологического раствора (б — $0,93 \pm 0,02$ (9) $0,96 \pm 0,02$; $P > 0,5$).

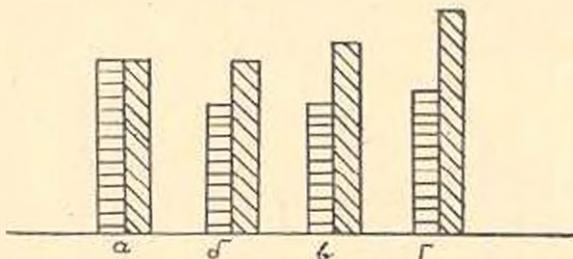


Рис. 2. Артерио-венозная разница содержания свободного этаноламина в мг% в контрольных опытах (а — см. рис. 1) и через 30 минут после интракаротидного введения 2,5 мг/кг (б — $0,83 \pm 0,02$ (5) $1,10 \pm 0,03$; $P = 0,005$), 3,75 мг/кг (в — $0,83 \pm 0,03$ (6) $1,19 \pm 0,05$; $P = 0,001$) и 5,0 мг/кг ГАМК (г — $0,84 \pm 0,07$ (6) $1,40 \pm 0,09$; $P = 0,005$).

шей в мозг и оттекающей от него. Возрастание артерио-венозной разницы в содержании свободного этаноламина в подавляющем большинстве случаев происходило, с одной стороны, за счет понижения его количества в крови, питающей мозг, с другой — увеличения его уровня в крови, оттекающей от мозга, при сравнении с показателями контрольных опытов. Следует отметить, что вышеописанные сдвиги в большинстве случаев развиваются через 25—30 минут после интракаротидного введения ГАМК; в остальные же промежутки времени нам не удалось обнару-

жить сколько-нибудь закономерных колебаний уровня свободного этаноламина. Интересно отметить, что проявление описанного эффекта находится в прямой зависимости от дозы введенной ГАМК. Наряду с описанными изменениями в количественном содержании этаноламина в артериальной и венозной крови, развивавшимися под действием испытанных доз ГАМК, бросалось в глаза проявление известных признаков возбуждения животного в виде беспокойства, мидриаза, выраженной саливации, одышки и учащения ритма сердечной деятельности, которые через несколько минут после введения ГАМК развивались значительно быстрее.

Выше было отмечено, что в определенных концентрациях ГАМК вызывает адреналиноподобный эффект в отношении периферического обмена углеводов. В связи с этим Бунятян и сотр. высказывают предположение о возможном вовлечении некоторых звеньев адреналовой системы в сферу специфического действия ГАМК на животный организм [11]. С другой стороны, известно, что болевые состояния различного происхождения, наступающие, в частности, под воздействием электрокожного раздражения, сопровождаются развитием четко выраженной гиперадреналинемии. В развитие этих исследований мы решили проследить за картиной артерио-венозной разницы и содержания свободного этаноламина при интракаротидном введении 0,025, 0,0375 и 0,05 мг/кг адреналина и под действием электрокожного раздражения, напряжением в 30—40 вольт в течение 20—30 секунд. Результаты этих исследований показали их однотипность с приведенными выше данными, полученными при испытании действия различных доз ГАМК (рис. 3 и 4). Во избежание

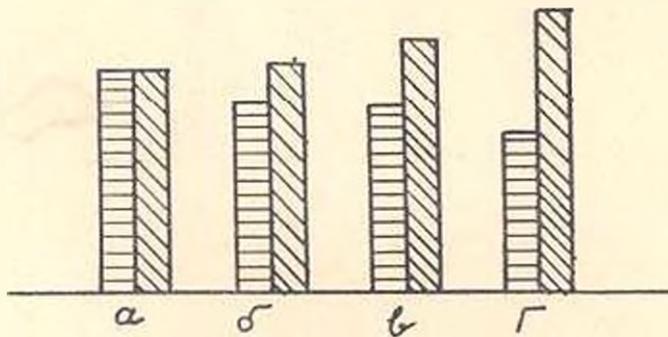


Рис. 3. Артерио-венозная разница содержания свободного этаноламина в мг% в контрольных опытах (а — см. рис. 1) и через 30 минут после интракаротидного введения 0,025 мг/кг (б — $0,93 \pm 0,02$ (б) $1,12 \pm 0,04$; $P = 0,01$), 0,0375 мг/кг (в — $0,90 \pm 0,02$ (б) $1,18 \pm 0,04$; $P = 0,001$) и 0,05 мг/кг адреналина (г — $0,79 \pm 0,08$ (б) $1,33 \pm 0,09$; $P = 0,01$).

повторения мы нашли целесообразным не останавливаться на подробном описании характера действия каждого из испытанных раздражителей в отдельности. Однако следует подчеркнуть, что при сравнении с эффектом действия испытанных доз ГАМК глубина сдвигов и артерио-венозной разнице содержания свободного этаноламина при воздействии раз-

личными количествами адреналина проявлялась в более выраженном виде и еще ярче при электрокожном раздражении.

На основании накопленного фактического материала мы склонны думать, что функциональные состояния центральной нервной системы и особенно ее высших отделов, разыгрывающиеся под воздействием ГАМК, адреналина и электрокожного раздражения, характеризуются не только заметными сдвигами в артерио-венозной разнице содержания общих и индивидуальных фосфолипидов, как это было показано в наших прежних исследованиях, но и чувствительным возрастанием уровня свободного этаноламина в крови, оттекающей от мозга. Таким образом, результаты наших исследований хорошо согласуются с данными Кнауффа и Бёкка [26], наблюдавшими значительное возрастание количества свободного этаноламина в нервной ткани больных, погибших в состоянии тяжелой гипогликемической комы, и свидетельствуют о роли фосфолипидов в мозгу, как дополнительных источников энергии. С другой стороны, эти данные показывают, что этаноламин, образующийся из фосфатидов, не только накапливается в мозгу, но и частично выделяется им в оттекающую периферическую кровь.

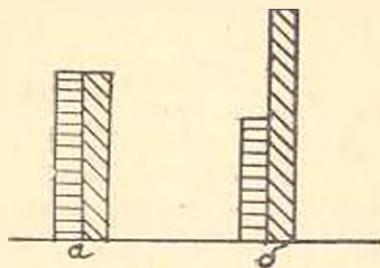


Рис. 1. Артерио-венозная разница содержания свободного этаноламина в мг%, в контрольных опытах (а — см. рис. 1) и через 30 минут после электрокожного раздражения напряжением в 30 вольт в течение 30 секунд (б — $0,79 \pm 0,06$ (б) $1,43 \pm 0,14$; $P = 0,01$).

В ы в о д ы

1. Количество свободного этаноламина цельной крови у собак в нормальных условиях составляет 0,8—1,2 мг% и заметной артерио-венозной разницы в его уровне в крови, питающей мозг и оттекающей от него, не отмечается.

2. Интракаротидное введение физиологического раствора не приводит к образованию артерио-венозной разницы в содержании свободного этаноламина.

3. ГАМК, адреналин и электрокожное раздражение в испытанных дозах вызывают возникновение чувствительной артерио-венозной разницы в содержании свободного этаноламина и ее дальнейшее возрастание через 25—30 минут после действия указанных раздражителей. При этом разница в количестве свободного этаноламина между кровью, оттекающей от мозга и питающей его, примерно составляет 27—64% от среднего уровня этаноламина в контрольной крови.

4. Полученные данные проливают свет на дальнейшее изучение функциональной роли фосфолипидов нервной ткани, как потенциальных источников энергии головного мозга.

Институт биохимии
Академии наук Арийской ССР

Поступило 22.III 1966 г.

Կ. Գ. ԿԱՐԱԳԵՅԱՆ, Լ. Թ. ՄԱԿԱՐՅԱՆ

ԱՐՅԱՆ ԱԶԱՏ ԷՔԱՆՈՒԱՄՈՆԻ ՔԱՆԱԿԻ ԶԱՐԿՆԵՐԱԿԱ-ԵՐԱԿԱՅԻՆ (րնդհանուր-
 բնային գորկերակ-առուաբին լծային եռակ) ՏԱՐԻՆԻՐԻԹՅՈՒՆԸ,
 ԿԵՆՏՐՈՆԱԿԱՆ ՆՅԱՐԿԱՅԻՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳՈՒԹՅԱՆ ՏԱՐԻՆԻ ՅՈՒՆԻՅԵՐՈՆԱԿ
 ՎԻՃԱԿՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մեր հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տալիս, որ շների ար-
 յան մեջ ազատ էթանոլամինի քանակը $0,8-1,2$ մգ% է: Նորմալ սպաճմաննե-
 րում չի նկատվում նրա քանակի աչքի ընկնող գարկերակա-երակային տարբե-
 րություն:

Չամմա-ամֆնակարտոգաթիվի $2,5, 3,75$ և $5,0$ մգ/կգ, սպրենայինի $0,025, 0,0375$ և $0,05$ մգ/կգ քանակները և $30-40$ վրտո լարվածություններ էլեկտրամաշ-
 կային զրդիոր 30 վայրկյանի ընթացքում առաջացնում են սյնայինի ֆունկցիո-
 նալ վիճակներ, որոնք բնորոշվում են ուսումնասիրված նյութի քանակի զարկե-
 րակա-երակային տարբերության առաջացմամբ և վերջինիս մեծացմամբ նշված
 զրդոիչներով ազդելուց $25-30$ րոպե անց: Այդ առդի է ունենում շնորհիվ
 ազատ էթանոլամինի քանակի զգալի անկման դեպի ուղեղ հոսող արյան մեջ
 և ավելացման՝ ուղեղից արտահոսող արյան մեջ: էլեկտրամաշկային գրգռիչի
 ազդեցության ներքո նշված տարբերությունը կազմում է կոնտրոլ փորձերում
 ազատ էթանոլամինի միջին քանակի մաստվորսույնն $27-64$ ձև-ը:

Մեր փորձերի արդյունքները հնարավորություն են ստեղծում հետազոտում
 ուսումնասիրելու ազատ էթանոլամինի քանակի տատանումները արյան մեջ և
 նյարդային հյուսվածքում, որպես աղոտային հիմքի, որը մտնում է ուղեղի
 այնպիսի հիմնական ֆոսֆոլիպիդների բաղադրության մեջ, ինչպիսիք են էթա-
 նոլամին-ֆոսֆատիդները, որոնց դերը ուղեղի էներգետիկ փոխանակության
 մեջ նշանակալից է:

Լ Ի Կ Ե Բ Ե Դ Ե Կ Ը

1. Барсегян Г. В. ДАН АрмССР, XI, 1, 2, 93, 1965.
2. Егян В. Б. Изв. АН АрмССР (биол. науки), 13, 43, 1960.
3. Карагезян К. Г. III Всесоюз. конф. по биохим. пернн. свес. (сб. докл. 387, изд. АН АрмССР, Ереван, 1963.
4. Кедров А. А., Науменко А. И. и Дегтярева З. Я. Бюлл. эксп. биол. и мед., 9, 10, 1964.
5. Кометиани П. А., Ткешелашинли Л. К. и Овсянко Т. Я., Тр. I Закав-
 . казск. конф. мед. радиол. (Тбилиси), 1956.
6. Кометиани П. А. Сообщ. АН ГрузССР, XII, 17, 1951.
7. Кометиани П. А. Биохимия, 17, 108, 1952.
8. Abood L. G. and Geiger A. Am. J. Physiol., 182, 557, 1955.
9. Bremer J., Figard P. H. and Greenberg D. M. Biochim. Biophys. Acta
 43, 477, 1960.
10. Bouchilloux S. and Tissieres A. Bull. Soc. Chim. Biol. 29, 955, 1947.

11. Buntattan H. Ch. Studies of the Role of Gamma-Aminobutyric Acid in Carbohydrates Metabolism, Erevan, 1961.
12. Chargaff E. and Keston A. S. J. Biol. Chem., 134, 515, 1940.
13. Charboulter E. and Weniger H. Heiv. Chim. Acta, 29, 2006, 1946.
14. Dardanne U. and Kirsten G. Exptl. Eye Res., 1, 415, 1962.
15. Dawson R. M. C. Biochem. J., 62, 689, 1956.
16. Dawson R. M. C. Biochem. J., 62, 693, 1956.
17. De Ropp R. S. and Snedeker E. H. Anal. Biochem., 1, 424, 1960.
18. De Ropp R. S. and Snedeker E. H. J. Neurochem., 7, 128, 1961.
19. De Ropp R. S. and Snedeker E. H. Proc. Exptl. Biol. Med., 106, 696, 1961.
20. Dent C. E. Biochem. J., 43, 169, 1948.
21. Gelger A. Physiol. Rev., 38, 1, 17, 1958.
22. Hansen S. E. and Plum C. M. Studies in multiple sclerosis, Copenhagen, 1960.
23. Karageoslan C. G. Sixth Intern. Congr. Biochem., Abstracts—VII—Lipids and Steroids, N. Y., 589, 1964.
24. Kety S. and Schmidt C. J. Clin. Invest., 27, 470, 1948.
25. Knauff H. G. and Zeckgraf H. Zeitschr. Physiol. Chem., 312., 264, 1958.
26. Knauff H. G. and Böck F. J. Neurochem., 6, 171, 1961.
27. Morton R. K. Biochem. J., 70, 139, 1952.
28. Müller E. Zeitschr. Biol., 100, 49, 1940.
29. Müller E. Zeitschr. Biol., 100, 249, 1940.
30. Plimmer R. H. A. and Butch W. J. N. Biochem. J., 31, 398, 1937.
31. Roberts E., Frankel S. and Harman P. J., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 74, 383, 1950.
32. Roch J. and Bouchilloux S. Compl. Rend. Soc. Biol., 141, 1068, 1947.
33. Storgards T. and Lindqvist B. Intern. Dafry Congr. Proc. 16-th, Copenhagen, Sect. A, 793, 1962.
34. Tallan H. H., Moore S. and Stein W. H. J. Biol. Chem., 211, 927, 1954.
35. Thudichum J. L. W. A treatise on the chemical constitution of the brain, London, 1884.
36. Thudichum J. L. W. Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere Tübingen, Franz, Pletzcker, 1901.
37. Trier G. Zeitschr. Physiol. Chem., 73, 383, 1911.
38. Trier G. Physiol. Chem., 76, 496, 1911—12.
39. Trier G. Physiol. Chem., 80, 409, 1912.
40. Tyrrell L. W. Nature, 166, 310, 1950.
41. Walker D. M. Biochem. J., 52, 679, 1952.