

К. Г. КАРАГЕЗЯН, Л. Т. АМИРХАНЯН, О. М. АМИРХАНЯН, М. А. РОСТОМЯН,  
С. С. АБРАМЯН, Д. В. АЛЕКСАНДРЯН

## ДИНАМИКА ФОСФОЛИПИДОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ 40-ДНЕВНОМ АЛКОГОЛЬНОМ ОТРАВЛЕНИИ

Полученные данные свидетельствуют о неоднотипных изменениях содержания общих и индивидуальных фосфолипидов (ФЛ) в головном мозге и печени белых крыс под действием этилового спирта. Однако даже в условиях жировой дегенерации печени величина коэффициента отношения суммы нейтральных ФЛ к сумме кислых сохраняется в пределах нормы как в мозге, так и в печени алкоголизированных животных.

Одним из актуальных вопросов нейрохимии является определение молекулярных основ физиологической активности ЦНС, в частности метаболических особенностей и функциональной роли ФЛ. Однако вопрос о роли этих веществ в деятельности мозга и других органов пока остается проблематичным, несмотря на большое число исследований, проводимых в этом аспекте отечественными и зарубежными авторами [1, 4—6, 9, 11, 13, 15]. Все чаще появляются указания относительно возможной энергетической роли ФЛ как дополнительных источников энергии при терминальных состояниях организма. Исследованиями ряда авторов [2, 12, 14] показано включение ФЛ в окислительные реакции организма при гипогликемиях в качестве потенциальных источников энергии, особенно для нервной ткани.

Исходя из вышеизложенного, мы приступили к изучению особенностей количественных сдвигов ФЛ при экспериментальном систематическом насыщении организма этиловым спиртом, обладающим, как известно, комплексом отрицательных эффектов на жизнедеятельность животных тканей. Наряду с ярко выраженным липотропным действием, алкоголь, с другой стороны, вступает в организме в конкуренцию с глюкозой за кислород и тем самым тормозит процесс окисления глюкозы с последующим нарушением образования макроэргов, богатых аккумулярованной энергией.

Одновременно были предприняты специальные исследования по гистохимическому изучению содержания триглицеридов и ФЛ в препаратах печени нормальных и алкоголизированных животных.

*Материал и методика.* С целью выработки модели алкогольного отравления мы прибегли к методике комбинированного введения этилового спирта. На протяжении 40 дней белым крысам через день поочередно вводили внутривенно 1 мл 33% раствора алкоголя, а внутрибрюшинно—2 мл 16,5% раствора спирта. Взамен воды животным давали 10% раствор алкоголя.

Для гистохимического определения нейтральных жиров и других жировых включений срезы печени окрашивались сульфатом нильского голубого по Клеебергу [7]. Для определения же ФЛ в препаратах печеночной ткани использовался модифицированный метод Меншика [8], согласно которому производится предварительная ацетоновая экстракция прочих жировых включений. Для выявления суммарных липидов в гистохимических препаратах была предпринята также известная методика их обработки суданом черным.

Содержание ФЛ определялось методом одномерной восходящей хроматографии на бумаге, пропитанной кремневой кислотой, по Маринетти и Стотцу [16] в модификации Смирнова и сотр. [10] и Карагезяна [3].

*Результаты и обсуждение.* Результаты проведенных исследований свидетельствуют о резком увеличении размеров печени, сердца, селезенки и почек по мере систематического введения алкоголя. Наряду с этим отмечается развитие общего ожирения со значительным накоплением жира в брыжейке и подкожной клетчатке. Гистологически в печени обнаруживается резкое увеличение просветов центральных вен долек и некоторое разрастание междольковой соединительной ткани, сопровождающееся прогрессивным накоплением липидов в клетках печени, особенно ненасыщенных. В норме в печени животных включения, содержащие ненасыщенные триглицериды, встречаются в незначительной части клеток. В отдельных из них появляются 1—5 каплевидных включений, имеющих в диаметре 0,2—3,0 мк. В единичных случаях попадаются капельки более крупных размеров, достигающие в диаметре 5 мк. Примечательно, что уже на 27-ой день алкогольного отравления капли, содержащие ненасыщенные жиры, обнаруживаются в подавляющем большинстве клеток. Включений величиной до 1 мк уже не обнаруживается, они, как правило, увеличиваются, достигая в своем диаметре 2—5 мк. Почти во всех клетках выявляется около десяти, а иногда и больше капелек, достигающих в отдельных случаях 10—12 мк в диаметре. Жировые включения имеют примерно одинаковое и равномерное распределение среди большинства печеночных клеток. Спустя 40 дней констатируется увеличение размеров указанных включений до 3—8 мк. Довольно часто ядра печеночных клеток оказываются почти полностью окруженными этими каплями в виде своеобразной формы образований, напоминающих венец. Примечательно, что даже в клетках, наиболее бедных липидами, прилегающих к центральной вене, выявляется по крайней мере несколько капелек. Клетки же, расположенные по периферии печеночных долек, богаче ненасыщенными липидами и содержат около двух десятков включений различного размера, отдельные из них достигают 15 мк. Крупные включения локализуются преимущественно по периферии печеночных долек, вдали от центральных вен. Ненасыщенные жиры изредка встречаются также в просвете внутридольковых капилляров и более крупных сосудов. Этот факт свидетельствует об усиленном поступлении в циркулирующую кровь указанных соединений, количество которых резко возрастает в результате хронического алкогольного отравления.

Согласно полученным данным, иная картина отмечается в отношении ФЛ. Если у нормальных животных печеночные препараты проявляют хорошо выраженную реакцию на ФЛ, то после алкогольного отравления интенсивность окраски указанных веществ заметно ослабевает, что, по всей вероятности, может быть следствием имеющего место уменьшения содержания ФЛ в печени.

Как показали результаты проведенных исследований, с помощью метода хроматографического фракционирования не представляется возможным установить сколько-нибудь заметных отклонений в обычной картине ФЛ спектра головного мозга отравленных алкоголем животных; этот спектр (табл. 1) состоит из У-ФЛ, смешанной фракции суль-

Таблица 1

Уровень суммарных и индивидуальных фосфолипидов в головном мозге белых крыс при 40-дневном алкогольном отравлении, мкг фосфора на г свежей ткани

Фосфолипиды	Контроль	Спыт	Разница	% разницы	Вероятность
У-фосфолипиды	35,7±0,3	26,8±0,2	8,9	-25,0	P<0,001
Смешанная фракция сульфатидов и фосфолипидов	62,3±0,4	78,7±0,4	16,4	+26,3	P<0,01
Монофосфоинозитиды	97,3±1,2	66,3±0,9	31,0	-31,9	P<0,001
Сфингомиелины	234,5±2,3	280,6±2,5	46,1	+19,6	P<0,001
Лецитины	801,0±14,7	890,4±16,3	89,4	+11,1	P=0,2
Серинфосфолипиды	275,0±2,8	327,1±3,4	52,1	+18,9	P<0,01
Этаноламинфосфолипиды	380,0±4,4	413,5±4,8	33,5	+8,8	P>0,5
Полиглицерофосфолипиды	104,7±1,3	117,5±2,5	12,8	+12,2	P>0,25
Суммарные фосфолипиды	1990,5	2200,9	210,4	+10,5	P>0,5
Сумма нейтральных фосфолипидов (СФМ+Л+ЭФЛ)	1415,5	1584,5	—	—	—
Сумма кислых фосфолипидов (У-ФЛ+СЛФЛ+МФИ+СФЛ+ПГФЛ)	575,0	616,4	—	—	—
Коэффициент отношения суммы нейтральных фосфолипидов к сумме кислых фосфолипидов	2,4	2,5	—	—	—

фатидов (СЛ) и ФЛ (СЛФЛ), монофосфоинозитидов (МФИ), сфингомиелинов (СФМ), лецитинов (Л), серинфосфолипидов (СФЛ) и полиглицерофосфатидов (ПГФЛ). Как явствует из данных табл. 1, 40-дневное алкогольное отравление не оказывает заметного влияния на содержание суммарных ФЛ (ΣФЛ) в головном мозге белых крыс (по сравнению с нормой оно возрастает всего на 10,5%). Однако на описанном фоне разыгрываются интересные межфракционные изменения в уровне отдельных представителей нейтральных и кислых ФЛ как в сторону их увеличения, так и уменьшения. Заслуживает внимания увеличение нейтральной группы ФЛ, среди которой СФМ занимают ведущее положение (увеличение их уровня на 19,6% от контроля), за ними следуют Л и ЭФЛ. Параллельно возрастает также количество СЛФЛ, СФЛ и ПГФЛ на 26,3, 18,9 и 12,2% соответственно. Наоборот, У-ФЛ и МФИ уменьшаются в своем содержании на 25,0 и 31,9% соответственно. По нашим данным, при алкогольном отравлении имеет место пропорциональное, но незначительное повышение уровня суммы и кислых, и нейтральных

ФЛ. По-видимому, это и является причиной стабильной величины коэффициента отношения суммы нейтральных ФЛ к сумме кислых. Согласно известной концепции Крепса, для обеспечения функциональной активности ЦНС существенное значение имеет не только качественный набор ФЛ, но и постоянство их количественных взаимоотношений, однотипно проявляющееся у многих представителей животного мира [6]. Таким образом, можно заключить, что даже в условиях хронического алкогольного отравления имеет место максимальное сохранение нормального фона количественных соотношений указанных функционально различных групп ФЛ (коэффициент 2,5). Следовательно, можно предполагать о важной функциональной роли этих соединений в обеспечении нормального течения жизненно важных процессов организма даже в условиях патологии.

Выше уже отмечалось развитие алкогольной жировой дегенерации печени, в связи с чем представляло интерес и одновременное изучение изменений, происходящих в количественных сдвигах ФЛ печеночной ткани. Это оказалось бы необходимым при сопоставлении полученных данных с картиной обмена ФЛ в мозговой ткани, а также с результатами гистохимических исследований.

Таблица 2

Уровень суммарных и индивидуальных фосфолипидов в печени белых крыс при 40-дневном алкогольном отравлении, мкг фосфора на г свежей ткани

Фосфолипиды	Контроль	Опыт	Разница	% разницы	Вероятность
У—фосфолипиды	25,2±0,4	17,1±0,3	8,1	-32,2	P<0,001
Лизолецитины	52,1±1,0	54,2±1,2	2,1	+ 4,0	P>0,5
Монофосфоинозитиды	106,8±2,4	91,1±1,8	15,7	-14,8	P<0,001
Сфингомиелины	69,0±0,8	63,3±0,6	5,7	- 8,3	P=0,5
Лецитины	503,3±15,7	425,3±11,4	78,0	-15,5	P=0,01
Серинфосфолипиды	70,1±1,3	66,1±1,2	4,0	- 5,8	P>0,5
Этаноламинфосфолипиды	224,0±3,3	150,1±2,7	73,9	-33,0	P<0,001
Полиглицерофосфолипиды	77,3±1,9	64,2±1,1	13,1	-17,0	P<0,01
Суммарные фосфолипиды	1127,8	931,4	196,4	-17,5	P<0,001
Сумма нейтральных фосфолипидов (ЛЛ+СФМ+Л+ЭФЛ)	848,4	692,9	—	—	—
Сумма кислых фосфолипидов (У—ФЛ+МФИ+СФЛ+ПГФЛ)	279,4	238,5	—	—	—
Коэффициент отношения суммы нейтральных фосфолипидов к сумме кислых фосфолипидов	3,0	2,9	—	—	—

Данные, представленные в табл. 2, свидетельствуют о статистически достоверном ( $P<0,001$ ) уменьшении  $\Sigma$  ФЛ в печеночной ткани, чего, однако, не отмечалось в головном мозге. По нашим подсчетам, уровень указанных соединений в печени понижается по сравнению с контролем на 196,4 мкг фосфора/г свежей ткани, что составляет приблизительно 17,5%. Этот сдвиг происходит за счет аналогичных изменений в количестве исследованных фракций ФЛ, за исключением лизолецитинов (ЛЛ), уровень которых почти не испытывает видимых изменений. По сравнению с контролем наибольшее уменьшение содержания исследован-

ных веществ обнаруживается у ЭФЛ и У-ФЛ (на 33,0 и 32,2% соответственно), за ними следуют ПФЛ (на 17,0%), Л (на 15,5%), МФИ (на 14,8%) и, наконец, СФМ и СФЛ, проявляющие слабую тенденцию к аналогичным сдвигам. Изучение соотношения нейтральной и кислой групп ФЛ (табл. 2) показало, что в печени белых крыс, как и в мозге, эта величина (2,9) по сравнению с контролем (3,0) практически не изменяется. Это свидетельствует о правомерности концепции Крепса [6], по всей вероятности, и в отношении периферических органов, в частности печени алкоголизированных животных.

На основании проведенных наблюдений можно прийти к заключению о неоднотипности картины алкогольного отравления в отношении сдвигов ФЛ в головном мозге и печени экспериментальных животных. Известно, что в возникновении и развитии процессов возбуждения и торможения в ЦНС, а также в проведении нервного импульса [17] ФЛ играют важную роль. Некоторое увеличение содержания ФЛ (особенно СФМ-основных ФЛ компонентов миелина), по всей вероятности, играет определенную роль в развитии повышенной раздражимости или торможения. Представляет несомненный интерес изучение действия алкоголя на некоторые стороны обмена ФЛ в головном мозге и печени белых крыс на молекулярном ферментативном уровне. Это поможет углубить исследования по выявлению природы интимных биохимических превращений, касающихся жиров и жироподобных соединений, при алкогольном и других видах отравлений. Вопрос касается обстоятельного изучения активности отдельных ферментативных систем, катализирующих различные этапы биосинтеза и распада указанных соединений.

Институт биохимии  
АН АрмССР

Поступило 11.VII 1973 г.

Կ. Գ. ՂԱՐԱԴՅՈՋՅԱՆ, Լ. Թ. ԱՄԻՐԻԱՆՅԱՆ, Հ. Մ. ԱՄԻՐԻԱՆՅԱՆ, Մ. Ա. ՌՈՍՏՈՄՅԱՆ,  
Ս. Ս. ԱԲՐԱՀԱՄՅԱՆ, Գ. Վ. ԱԼԵՔՍԱՆԴՐՅԱՆ

ՖՈՍՖՈԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԳԼԵՈՒԴԵՂՈՒՄ ԵՎ  
ԼՅԱՐԴՈՒՄ 40-ՕՐՅԱ ԱԼԿՈՀՈԼԱՅԻՆ ԹՈՒՆԱՎՈՐՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

### Ա մ փ ո փ ու մ

Քրոնիկ էքսպերիմենտի պայմաններում ուսումնասիրվել է էթիլ սպիրտի ազդեցությունը (որը, ինչպես հայտնի է օժտված է ցայտուն լիպոտրոպ ազդեցությամբ) սպիտակ առնետների գլխուղեղի և լյարդի գումարային և առանձին ֆոսֆոլիպիդների պարունակության վրա:

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ բացի նշված օրգաններում ֆոսֆոլիպիդների կրած բանակական փոփոխություններից ալկոհոլը լյարդում միաժամանակ առաջ է բերում նաև հիստոլոգիական փոփոխություններ (լյարդի ճարպային ինֆիլտրացիա): Ի տարբերություն ուղեղային հյուսվածքի, լյարդի ֆոսֆոլիպիդները ենթարկվում են ստատիկորեն հավա-

նական նվազման, այն դեպքում, երբ ուղեղում նրանց քանակությունը աննշան ավելանում է: Պարզվել է, որ թունավորման ժամանակ ինչպես ուղեղում, այնպես էլ լյարդում շեղոք ֆոսֆոլիպիդների գումարի և թթու ֆոսֆոլիպիդների գումարի հարաբերության գործակիցները պահպանվում են նորմալի սահմաններում: Հետևաբար կարելի է ենթադրել, որ նույնիսկ ախտաբանական պրոցեսների ժամանակ, ֆունկցիոնալ տեսակետից տարրեր վերոհիշյալ երկու խումբ ֆոսֆոլիպիդները ունեն կարևոր նշանակություն օրգանիզմի կենսագործունեության նորմալ ընթացքի ասպահովման գործում:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Владимиров Г. Е. Биохимия, 19, 578, 1954.
2. Կարազեյան Կ. Գ., Ամիրխանյան Օ. Մ. ДАН СССР, 201, 1, 228, 1971.
3. Կարազեյան Կ. Գ. Биохимия, 33, 5, 937, 1968.
4. Крекс Е. М. Успехи совр. биол., 41, 3, 261, 1956.
5. Крекс Е. М., Манукян К. Г., Смирнов А. А., Чирковская Е. В. Эволюция функций. М.—Л., 211, 1964.
6. Крекс Е. М. Биохимия и функция нервной системы. Л., 134, 1967.
7. Ромеис Б. Микроскопическая техника. М., 1954.
8. Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.
9. Палладин А. В. Вопросы биохим. нервн. системы. Киев, 1965.
10. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. Биохимия, 26, 1027, 1961.
11. Фолч-Пи Х. Д. Биохимия и функция нервной системы. Л., 123, 1967.
12. Abood L. G., Geiger A. Amer. J. Physiol., 182, 3, 557, 1955.
13. Ansell G. B., Hawthorne J. N. In: Phospholipids, 3. Philadelphia, 222, 1963.
14. Geiger A. Physiol. Rev., 181, 30, 1858.
15. Dawson R. M. C., Richter D. Proc. Roy. Soc., Ser. B., 137, 887, 252, 1953.
16. Marinetti G. V., Stotz E. Biochem. Biophys. Acta, 21, 168, 1956.
17. Tobias I. M. J. Gen. Physiol., 43, 57, 1960.