

УДК 612"32:351.761.1

НЕКОТОРЫЕ СТОРОНЫ ОБМЕНА ФОСФОЛИПИДОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРОЛИКОВ ПРИ ШЕСТИНЕДЕЛЬНОМ АЛКОГОЛЬНОМ ОТРАВЛЕНИИ

Д. В. АЛЕКСАНДРЯН, О. М. АМИРХАНЫН, К. Г. КАРАГЕЗЯН

Длительное введение алкоголя приводит к активации синтеза фосфолипидов. В гомогенатах, митохондриях и микросомах количество кислых фосфолипидов, метаболически более активных, заметно увеличивается по сравнению с нейтральными фосфолипидами.

Липиды, в частности фосфолипиды (ФЛ), являются существенными структурными компонентами мембранных систем клетки, благодаря которым обеспечивается сродство между механическими (поверхностное натяжение), оптическими (показатель преломления), электрическими (сопротивление и емкость) и осмотическими (непроницаемость для ионов и проницаемость для воды) свойствами естественных клеточных и искусственных фосфолипидов биомолекулярных мембран [1].

Еще в 1963 г. было показано [2], что процесс синтеза ФЛ локализован преимущественно в мембранах эндоплазматического ретикулума. К настоящему времени накоплено достаточно сведений, говорящих о синтезе ФЛ и в митохондриях (МХ), и даже в ядрах. Имеются данные [3] о существовании в субмитохондриальных частицах, выделенных с помощью ультразвука, специфичной ферментной системы, катализирующей процесс превращения лизоформ фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ) в диацильные формы этих ФЛ, а также о возможном автономном синтезе в МХ фосфатидной кислоты (ФК) [4] и кардиолипина (КЛ) [5]. В дальнейшем [6] в опытах *in vitro* с использованием H^3 -холина была продемонстрирована способность ядер клеток печени крысы синтезировать один из основных ФЛ—ФХ. Оказывается, что степень включения холина в реакции биосинтеза холин-содержащих ФЛ в ядрах значительно выше, чем в микросомах.

Таким образом, неравномерность в интенсивности биогенеза различных по своему химическому строению и функциональной активности ФЛ в отдельных клеточных образованиях, по-видимому, и обуславливает филогенетически сложившееся постоянство качественного и количественного набора этих соединений в них. С этой точки зрения представляет несомненный интерес изучение сдвигов в уровне индивидуаль-

ных ФЛ клеточных субфракций при состояниях, характеризующихся расстройством общих метаболических процессов. Одним из таких состояний является хроническое алкогольное отравление, которое, как известно, обладает комплексом отрицательных эффектов на организм, в частности на центральную нервную систему. Как известно, алкоголь выступает как в качестве фармакологического агента, так и энергетического субстрата с выходом энергии 1 мл—7 кал. Физические свойства этанола обуславливают легкость прохождения его через биологические мембраны [7]. Являясь основным конкурентом глюкозы за ацетил-КоА, алкоголь вместе со своим метаболитом—уксусным альдегидом—выступает в нервных структурах в роли субстрата окисления взамен глюкозы [8].

Материал и методика. Кроликам-самцам породы шиншилла на протяжении 6 недель давали 40% раствор этанола (4 г/кг); животных содержали на обычном пищевом рационе. Субклеточные фракции мозга выделяли методом дифференциального центрифугирования на рефрижераторной центрифуге ВАК-601. Определяли: содержание ФЛ с помощью метода одномерной восходящей хроматографии на бумаге, пропитанной кремневой кислотой, по Маринетти и Штоццу [9] в модификации Смирнова и сотр. [10] и Карагсыяна [11]; минерализованный липидный фосфор—по Фиске и Суббароу [12], выражаемый в мкг фосфора/мг белка; белок—по Лоури [13].

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о значительных количественных изменениях общих и индивидуальных ФЛ в гомогенатах, МХ и микросомах (МС) головного мозга кроликов, перенесших 6-недельное алкогольное отравление. Отмеченные сдвиги коснулись всех фракций и привели к увеличению общей суммы ФЛ приблизительно на 30%. Этот эффект наиболее отчетливо проявился в отношении содержания КЛ (55%) и сульфатидо-ФЛ (СЛФЛ) фракции (56%). Как явствует из табл. 1, описанные изменения в сравнительно меньшей степени коснулись других фракций ФЛ, а именно фосфатидилсерина (ФС 37%), сфингомиелинов (СФМ 28%), ФХ (24%), монофосфоинозитидов (МФИ 22%) и ФЭ (21%). Несмотря на глубокие изменения в количественном составе изученных ФЛ, нельзя утверждать, что этот показатель является единственным в оценке истинной картины метаболических расстройств, развивающихся в клетке в целом.

Как известно, кислые ФЛ (КФЛ), являющиеся метаболически более активными по сравнению с нейтральными ФЛ (НФЛ), принимают более активное участие в структурной организации биомембран.

Как видно из приведенных данных, при 6-недельном алкогольном отравлении в головном мозге кроликов происходит повышение уровня КФЛ (по сравнению с нормой) приблизительно на 41, а НФЛ—на 24%. По-видимому, это и послужило причиной дестабилизации коэффициента (К) отношения суммы НФЛ к сумме КФЛ (НФЛ/КФЛ). Известно, что, согласно концепции Крепса [14], постоянство величины К имеет существенное значение в обеспечении и поддержании ряда важнейших физиологических функций центральной нервной системы.

Таблица I

Уровень суммарных и индивидуальных фосфолипидов в гомогенате головного мозга кролика при 6-недельной алкогольной интоксикации, мкг фосфора/мг белка

Фосфолипиды	Контроль	Алкоголь	Разница	% разницы
СЛФЛ	0,71	1,11	+ 0,40	+ 56,33
МФИ	0,96	1,20	+ 0,22	+ 22,44
СФМ	1,39	1,79	+ 0,40	+ 28,77
ФХ	3,64	4,54	+ 0,90	+ 24,72
ФС	1,58	2,17	+ 0,59	+ 37,34
ФЭ	2,05	2,49	+ 0,44	+ 21,46
КЛ	0,95	1,48	+ 0,53	+ 55,78
Сумма	11,33	14,81	+ 3,48	+ 30,71
Сумма НФЛ	7,08	8,82	+ 1,74	+ 24,57
Сумма КФЛ	4,22	5,96	+ 1,74	+ 41,23
НФЛ/КФЛ	1,67	1,47	- 0,20	- 11,97

Таким образом, на основании наших исследований можно сделать вывод о существенных изменениях в качественном и количественном составе ФЛ гомогенатов головного мозга кроликов, перенесших 6-недельное алкогольное отравление. В результате этих сдвигов нарушается стабильность коэффициента НФЛ/КФЛ и происходят одновременные срывы в метаболических процессах клеточных органелл, в частности МФ, где сумма НФЛ изменяется всего на 13, а КФЛ—на 42%. Как явствует из табл. 2, из КФЛ значительные изменения претерпевает фракция КЛ-соединений, специфичных для мембран МХ. Примечательно, что семейство этих так называемых «полимерных» ФЛ способно образовывать в мембранах сеть из ковалентно связанных звеньев ФЛ, составляющих приблизительно 18% от всех присутствующих здесь липидов [15]. Как известно, МХ способны к автономному синтезу двух «мембранных» ФЛ—ФК и КЛ, выполняющих как бы роль своеобразных крепок, определяющих в значительной степени функциональную активность этих образований [16]. Отмеченное нами повышение (приблизительно на 71%) количества КЛ в мозговой ткани кроликов при алкогольной интоксикации, по всей вероятности, можно рассматривать как проявление защитной реакции клетки в ответ на отрицательное действие этанола на биомембраны МХ.

Одним из важнейших представителей группы кислых ФЛ в мозговой ткани являются МФИ, количество которых здесь при алкогольном отравлении заметно повышается (приблизительно на 32%). Показана [17] стимулирующая роль МФИ в АТФ-индуцированном сокращении МФ (старевших в течение 1—3 дней в растворе сахарозы). Существование функциональной связи между фосфатидинозитами (ФИ) и АТФ-азной системой и идентичность регионарной локализации АТФ-аз и ферментов, катализирующих биосинтез и распад ФИ, позволяют прийти к выводу, что отмеченное выше повышение количества ФИ в МХ мозговой ткани алкоголизированных животных направлено на поддержание повышенной активности адениловой системы (АМФ—АДФ—АТФ).

Не меньшего внимания заслуживает и динамика изменений ФС, количество которых на фоне хронического действия алкоголя в головном мозге заметно возрастает (приблизительно на 30%). Этот факт приобретает особое значение, если учесть существование тесной метаболической связи между ФХ, ФЭ и ФС. Однако, согласно результатам наших наблюдений, отмеченное увеличение количества ФС и ФЭ в мозговой ткани алкоголизованных кроликов не сопровождалось одновременным возрастанием и количества основного ФЛ МХ—ФХ. Примечательно, что отсутствие сколько-нибудь заметных отклонений в содержании ФХ сопровождалось параллельным слабо выраженным увеличением (приблизительно на 13%) количества СФМ. Объяснить факт заторможенного синтеза холинсодержащих ФЛ в головном мозге животных, перенесших состояние длительного алкогольного отравления, можно на основании существующих данных [18] относительно подавляющего влияния этанола на формирование метильных групп и реакции трансметилирования. С другой стороны, факт увеличения количества ФС и ФЭ в МХ мозга на фоне ингибирования процессов дыхания и окислительного фосфорилирования [19], на наш взгляд, можно рассматривать как дополнительное подтверждение возможной коферментной роли этих липидов в процессах переноса ионов водорода и син-

Т а б л и ц а 2

Уровень суммарных и индивидуальных фосфолипидов в митохондриальной фракции головного мозга кролика при 6-недельной алкогольной интоксикации

Фосфолипиды	Контроль	Алкоголь	Разница	% разницы
МФИ	0,84	1,11	+ 0,27	+ 32,14
СФМ	0,99	1,12	+ 0,13	+ 13,13
ФХ	3,59	3,82	+ 0,23	+ 6,40
ФС	0,93	1,21	+ 0,28	+ 30,10
ФЭ	1,91	2,41	+ 0,50	+ 26,17
КЛ	0,69	1,18	+ 0,49	+ 71,01
Сумма	8,95	10,85	+ 1,90	+ 21,22
Сумма НФЛ	6,49	7,35	+ 0,86	+ 13,25
Сумма КФЛ	2,46	3,50	+ 1,04	+ 42,25
НФЛ/КФЛ	2,63	2,10	- 0,53	- 20,15

теза АТФ [20], т. е. в поддержании нормального течения реакций энергетического сопряжения. Помимо высказанных выше соображений, не исключено также, что увеличение количества ФЛ в МХ мозга при алкогольном воздействии может быть также следствием миграции их из МС [21].

Таким образом, не вызывает сомнений, что биосинтез ФЛ может осуществляться единой системой синтеза этих веществ, локализованной в эндоплазматическом ретикуле, откуда они с легкостью транспортируются и включаются в соответствующие структуры МХ.

Как вытекает из данных, приведенных в табл. 2 и 3, при 6-недельном алкогольном отравлении количество ФХ в фракциях головного мозга кроликов увеличивается соответственно на 6 и 10%, в то время

Таблица 3

Уровень суммарных и индивидуальных фосфолипидов в микросомальной фракции головного мозга кролика при 6-недельной алкогольной интоксикации, мкг фосфора/мг белка

Фосфолипиды	Контроль	Алкоголь	Разница	% разницы
СЛФЛ	0,44	0,67	+ 0,23	+ 52,27
МФИ	0,95	1,15	+ 0,20	+ 21,05
СФМ	1,21	1,24	+ 0,03	+ 2,47
ФХ	4,61	5,09	+ 0,48	+ 10,41
ФС	1,21	2,14	+ 0,93	+ 78,85
ФЭ	2,14	2,31	+ 0,17	+ 7,94
КЛ	0,43	0,52	+ 0,09	+ 20,93
Сумма	10,99	13,12	+ 2,13	+ 19,38
Сумма НФЛ	7,96	8,64	+ 0,68	+ 8,54
Сумма КФЛ	3,03	4,48	+ 1,45	+ 47,85
НФЛ/КФЛ	2,62	1,92	- 0,70	- 26,71

как содержание ФС и ФЭ возрастает в МХ на 30 и 26%, а в МС—на 78 и 8% соответственно. Описанные сдвиги обусловлены, по всей вероятности, активацией процессов транспорта ФЭ из МС в МХ, являющегося, как уже отмечалось, основным коферментным соединением в реакциях активации энергетического сопряжения. Под действием этанола в МС обнаруживается заметное увеличение (приблизительно на 52%) количество ФС, затем МФИ (на 21%) и КЛ (на 19%). Из вышесказанного следует, что при 6-недельном алкогольном отравлении в головном мозге кроликов (гомогенат, МХ и МС) происходит чувствительное активирование процессов биосинтеза КФЛ (по сравнению с НФЛ), что и приводит к дестабилизации коэффициента НФЛ/КФЛ. Таким образом, повышенное образование метаболически более активных КФЛ при алкогольной интоксикации, по всей вероятности, служит важным подспорьем быстрому вовлечению этих соединений в обменные процессы клетки, где они, несомненно, оказывают свое нормализующее действие на течение соответствующих биохимических процессов и ряда морфологических нарушений.

Институт биохимии АН АрмССР

. Поступило 17.XI 1977 г.

ՀԱԳԱՐՆԵՐԻ ԳԼԵՈՒՂԵՂՈՒՄ ՖՈՍՖՈԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ՓՈՆԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇ ԿՈՂՄԵՐԸ 6-ՇԱՐԱԹՅԱ ԱԼԿՈՀՈԼԱՅԻՆ ԹՈՒՆԱՎՈՐՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Կ. Վ. ԱԼԵՔՍԱՆԴՐՅԱՆ, Օ. Մ. ԱՄԻՐԻԱՆՅԱՆ, Կ. Գ. ՂԱՐԱԳՅՈՋՅԱՆ

Ալկոհոլի երկարատև, 6-շաբաթյա ներարկումները (4 գ 1 կգ քաշին) առաջ են բերում ֆոսֆոլիպիդների սինթեզի ակտիվացում ճազարների գլխուղեղի հումքենատում, միտոքոնդրիաներում և միկրոսոմներում: Առավել նկատելի փոփոխություններ կատարվում են թթու ֆոսֆոլիպիդների քանակական պարունակությունում: Չեզոք ֆոսֆոլիպիդների համեմատությամբ առավել ակտիվ թթու ֆոսֆոլիպիդների քանակի նկատելի ավելացումը կարող է նպաստել այս միացությունների արագ ընդգրկմանը բջջի նյութափոխանա-

կուլթյան պրոպեանների մեջ, որտեղ նրանք կայունացնող ազդեցութիւն են գործում համապատասխան կենսաքիմիական պրոպեանների ընթացքի վրա:

SOME ASPECTS OF PHOSPHOLIPID METABOLISM IN RABBIT BRAIN FOLLOWING 6 WEEK ALCOHOL INTOXICATION

D. V. ALEXANDRIAN, O. M. AMIRKHANIAN, K. G. KARAGEOZIAN

The prolonged alcohol injection results in the phospholipid synthesis activation. However, metabolically more active acid phospholipid quantity in the homogenates, mitochondries and microsomes considerably increased in comparison with the neutral phospholipids.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Thomson T. In: Cellular Membrans in Development, 83, 1964.
2. Wilgram G. R., Kennedy E. P. J. biol. chem., 238, 2615, 1963.
3. Turki P. R., Clenn J. G. Biochim. Biophys. Acta, 152, 104, 1968.
4. Sherford E. H., Hübscher G. Biochem. J., 113, 429, 1969.
5. Stanacev N. Z. et all. J. biol. chem., 242, 3918, 1967.
6. Soto E. F. et all. Arch. Biochem. 150, 362, 1972.
7. Linderberg B. A. J. Chem. Phys., 48, 350, 1951.
8. Kiesling K. H. Exptl. Cell Res., 26, 462, 1962.
9. Martinetti G. V., Stotz E. Biochim. Biophys. Acta, 168, 21, 1956.
10. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. Биохимия, 26, 1027, 1961.
11. Карагезян К. Г. Биохимия, 33, 937, 1968.
12. Fliske C. H., Subbarow J. J. biol. chem., 66, 365, 1935.
13. Lowri et all. J. biol. chem., 193, 265, 1951.
14. Крепс Е. М. Биохимия и функция нервной системы, Киев, 1967.
15. Ленинджер А. Митохондрия. М., 1966.
16. Zborowski I., Woltczak L. Biochim. Biophys. Acta, 187, 73, 1969.
17. Vignats P. V. et all. J. biol. chem., 249, 2011, 1964.
18. Yochida A., Harper A. E. J. biol. chem., 235, 2586, 1960.
19. Beer C. T., Quastel J. H. Caned. J. Biochem. Physiol., 38, 531, 1958.
20. Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах. М., 1972.
21. Miller E. K., Dawson R. N. C. Biochem. J., 126, 805, 1972.