

ФОСФОЛИПИДЫ И ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТЕКЕ МОЗГА, ВЫЗВАННОМ ТЕТРАЭТИЛОЛОВОМ

А. Ю. ПОГОСЯН, Л. М. ОВСЕЯН, К. Г. КАРАГЕЗЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

Установлено, что ЭОМ сопровождается уменьшением в митохондриальной фракции количества монофосфоринозитидов, сфингомиелинов, фосфатидилхолинов и возрастанием содержания лизофосфатидилхолинов, фосфатидилсеринов, фосфатидилэтанолламинов и кардиолипинов. В микросомальной фракции имеет место уменьшение количества монофосфоринозитидов, фосфатидилхолинов, фосфатидилэтанолламинов, увеличение уровня лизофосфатидилхолинов и сфингомиелинов.

ЭОМ характеризуется накоплением гидроперекисей и перекисей в общем гомогенате и микросомальной фракции как в аскорбат-, так и в НАДФН-зависимых системах перекисления.

Հաստատվել է, որ ուղեղի էքսպերիմենտալ օտեկը ուղեկցվում է միտոքոնդրիումների ֆրակցիայում մոնոֆոսֆորինոզիդների, սֆինգոմիելինների և ֆոսֆատիդիլխոլինների քանակի նվազմամբ և լիզոֆոսֆատիդիլխոլինների, ֆոսֆատիդիլսերինների, ֆոսֆատիդիլէթանոլամինների և կարդիոլիպիների քանակի մեծացմամբ: Արհեստական ֆրակցիայում իջնում է լիզոսոմալ ֆոսֆատիդիլխոլինների, ֆոսֆատիդիլէթանոլամինների քանակը և մեծանում է լիզոֆոսֆատիդիլխոլինների և սֆինգոմիելինների մակարանը: Էքսպերիմենտալ ալոստեր ընտելացվում է ընդհանուր և միկրոսոմալ ֆրակցիայում գերօքսիդների և իզոֆերոքսիդների կուտակմամբ: Ինչպես անօքսիդատ-, այնպես էլ НАДФН-կախում բնեզող գերօքսիդացման սխեմաներում:

It was established that experimental oedema of brain in mitochondrial fractions was accompanied by the decrease of monophosphonositides, sphingomielines, phosphatidylcholines and increase of the content of lizosphosphatidylcholines, phosphatidylserins, phosphatidylethanolamines and cardiolipins. In microsomal fractions the experimental oedema was accompanied by the decrease of monophosphonositides, phosphatidylcholines, phosphatidylethanolamines and increase of the level of lizosphosphatidylcholines and sphingomielines. The experimental oedema was characterized by the accumulation of hydroperoxides and peroxides in the general homogenate and microsomal fraction of ascorbate- and NADPH-dependent systems of peroxidation.

ЭОМ—фосфолипиды—НОЛ.

Отек головного мозга относится к числу наиболее распространенных и крайне тяжелых осложнений в клинике самых разнообразных заболеваний [2, 6]. В основе происходящих при этом метаболических изменений лежит в первую очередь нарушение структуры и функции нейромембран, обусловленное преимущественно отклонениями в них качественного и количественного состава основных компонентов клеточной

Сокращения: ЭОМ—экспериментальный отек мозга; ПОЛ—перекисное окисление липидов; НФП—ферментативное аскорбат-зависимое перекисное окисление липидов; ФП—ферментативное НАДФН-зависимое перекисное окисление липидов.

мембраны—фосфолипидов. Количественные изменения последних сопровождаются расстройством микроструктуры, физико-химических свойств и основных функций мембран, в частности, прочности, проводимости, ферментативной активности, избирательной проницаемости в отношении различных метаболитов и ионов.

Исходя из вышесказанного, мы предприняли исследования по изучению количественного состава фосфолипидов в гомогенате, в митохондриальной и микросомальной фракциях головного мозга белых крыс в норме и при ЭОМ.

Материал и методика. Исследования проводили на беспородных белых крысах обоего пола массой 180—200 г, содержащихся на обычном пищевом рационе. При ЭОМ вызвали внутрибрюшинным введением тетраэтилола в дозе 10 мл на 1 кг массы животного. Его критерием служили увеличение в мозговой ткани содержания общей воды и сдвиги в показателях его микроструктуры. Об увеличении количества воды при формировании отека мозга судили по весовым различиям сухих остатков мозговой ткани, тщательно высушенной при 110° до постоянной массы. Гомогенизирование мозговой ткани проводили в среде, содержащей 0,25 М сахарозу и 0,001 М трис HCl буфер, pH 7,4. Субклеточные органеллы отделяли центрифугированием ядер при 900 g, митохондрий при 13000 g в течение 20 мин (центрифуга К-24), микросом при 105000 g на протяжении 120 мин (центрифуга ВAK-601) [7].

Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля (марки KSK) с использованием системы растворителей: хлороформ—метанол—аммиак (65:35:5). Фосфолипидные пятна идентифицировали с помощью соответствующих свидетелей. Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде с серной и азотной кислотами и выражали в мкг на 1 г влажной ткани [8].

Содержание гидроперекисей липидов определяли с помощью цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [8]. Об активности перекисного окисления судили по содержанию малонового диальдегида, образующего с тиобарбитуровой кислотой окрашивание, интенсивность которого регистрировали спектрофотометрически при длине волны 535 нм [3]. Количество перекисей пересчитывали на 1 мг белка данной фракции [11].

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследований (табл. 1), ЭОМ сопровождается накоплением в микросомальной фракции мозга и в общем гомогенате гидроперекисей и вторичного продукта пероксидирования липидов—малонового диальдегида, образующихся как в аскорбат-, так и в НАДФН-зависимых системах перекисления. Первичный механизм зарождения свободных радикалов при ЭОМ остается проблематичным, хотя из литературных данных известно, что развитие патологических процессов в мозговой ткани характеризуется определенным стимулированием реакций радикалообразования [9]. Показано, что основное количество свободных радикалов образуется во фракции фосфолипидов, что особенно характерно для возбужденных состояний организма [4].

Как уже отмечалось, ПОЛ преимущественно затрагивает фосфолипидные компоненты клетки. Как явствует из табл. 2, ЭОМ сопровождается уменьшением в митохондриальной фракции мозга количества монофосфоинозитидов, сфингомиелинов, фосфатидилхолинов и возрастанием содержания лизофосфатидилхолинов, фосфатидилсеринов, фосфатидилэтаноламинов, кардиолипинов. В микросомальной фракции

Таблица 1. Содержание гидроперекиси и малонового диальдегида в общем гомогенате и микросомальной фракции головного мозга при его экспериментальном отеке

Условия опыта	Микросомальная фракция				Общий гомогенат			
	контроль		опыт		контроль		опыт	
	НФП	ФП	НФП	ФП	НФП	ФП	НФП	ФП
Гидроперекиси, Ед, мг белка	0.519 ± 0.04	0.08 ± 0.03	0.731 ± 0.03 P < 0.002 n=10	0.584 ± 0.02 P < 0.01 n=10	0.119 ± 0.06	0.292 ± 0.05	0.648 ± 0.03 P < 0.001 n=10	0.492 ± 0.04 P < 0.001 n=10
Малоновый диальдегид, нмоль/мг белка	2.07 ± 0.07	1.42 ± 0.08	3.04 ± 0.17 P < 0.001 n=8	2.07 ± 0.1 P < 0.001 n=8	1.662 ± 0.02	0.810 ± 0.07	1.857 ± 0.02 P < 0.001 n=7	1.044 ± 0.02 P < 0.01 n=7

имеет место уменьшение уровня фосфатидилхолинов, монофосфолипидов, фосфатидилэтаноламинов и увеличение лизофосфатидилхолинов и сфингомиелинов.

Таблица 2. Количественный состав индивидуальных фосфолипидов (% от суммы фосфолипидов) в общем гомогенате, митохондриальной и микросомальной фракциях головного мозга при его экспериментальном отеке

Фракция фосфолипидов	Общий гомогенат		Митохондриальная фракция		Микросомальная фракция	
	конт- роль, %	опыт, n=12, %	конт- роль, %	опыт, n=7, %	конт- роль, %	опыт, n=7, %
Монофосфолипиды	11.92	10.82	13.06	7.38	15.74	11.42
Лизофосфатидилхолины	15.67	17.20	2.75	12.96	7.05	9.93
Сфингомиелины	26.70	25.26	8.60	3.87	8.14	9.89
Фосфатидилхолины	29.15	28.72	38.63	37.58	39.58	36.62
Фосфатидилсерины	6.22	6.20	29.54	30.11	25.11	25.06
Фосфатидилэтаноламины	5.10	6.26	1.34	4.79	4.39	4.09
Кардиолипиды	5.15	5.55	2.87	3.31	—	—
Суммарные фосфолипиды	2073.5	1958.3	52.30	11.35	29.23	26.9

* Суммарные фосфолипиды выражены в мкг Р₂ влажной ткани.

Отмеченное нами уменьшение фосфатидилхолинов в обеих фракциях и в общем гомогенате согласуется с данными литературы, свидетельствующими о резком падении их содержания в области максимального выраженного отека мозга [10].

Согласно полученным результатам, ЭОМ характеризуется увеличением содержания лизофосфатидилхолинов в митохондриальной, микросомальной фракциях мозга и в общем гомогенате. В литературе имеются сведения о росте свободных жирных кислот, продуктов их окисления и лизофосфолипидов и повышении проницаемости катионов через митохондриальную мембрану, таких, например, как ионы кальция, переносчиками которых, в частности, являются гидроперекиси как первичные продукты ПОЛ [1]. Увеличение количества лизофосфолипидов может быть обусловлено, с одной стороны, повышением активности фосфолипазы А₂, с другой — некоторым ингибированием фосфатидогенеза, связанным, на наш взгляд, с ослаблением функциональной активности ацилтрансферазных процессов. Эти соображения нуждаются в дальнейшем экспериментальном подтверждении.

Полученные результаты подтверждают бытующую в настоящее время точку зрения о важном значении стабильного состояния фосфолипид-фосфолипидных соотношений. Смысл отмеченного постоянства заключается прежде всего в поддержании строго определенного набора фосфолипидов в спектре этих соединений, характерного для данной биологической системы, чем и обуславливается так называемое липидное окружение различных протеинов, например, ферментов, во многом являющихся липидзависимыми.

В дальнейшем предполагается изучить роль измененного статуса липид-липидных соотношений в мозге при его экспериментальном отеке в регуляции каталитических свойств мембраносвязанных, липидзависимых ферментов. Это главным образом касается ферментов, которые принимают активное участие в регуляции процессов трансмем-

бранного переноса ионов, обуславливающих в известной степени процессы водонакопления в данной биологической системе и ответственных, по-видимому, за формирование определенных звеньев процесса отекообразования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипенко Ю. В., Каган В. Е., Козлов Ю. П. Биохимия, 48, 435—441, 1983.
2. Бакай Л., Ли Д. В кн.: Отек мозга (под ред. Э. И. Канделя). М., 1969.
3. Владимиров Н. А., Арляков А. И. В кн.: Перекисное окисление липидов и биологических мембранах (под ред. Г. М. Франка). М., 1972.
4. Вагин Ю. Е., Кондратов В. Е., Буракова Е. Б. В кн.: Биокислородные окислители (под ред. И. Н. Ниязова). М., 1975.
5. Зубер В. Л. В кн.: Методы биохимических исследований (под ред. М. И. Прохоровой). Л., 1982.
6. Квитницкий-Рыжов Ю. И. В кн.: Отек и набухание галлиного мозга (под ред. А. М. Гурвич). Киев, 1978.
7. Крекс Е. М., Красильникова В. И., Патрикасон М. В. Журн. эволюц. биологии и физиологии, 4, 211—243, 1968.
8. Романова Л. А., Сталина И. Л. В кн.: Современные методы в биохимии (под ред. В. Н. Орехович). М., 1977.
9. Bloch M. C., Wirts K. W. A., Scherphof A. I. Biochim. et Biophys. Acta, 233, 61—75, 1971.
10. Ishii S., Halner P., Kelly W. A., Evans J. P. J. Neurosurg, 16, 152—166, 1960.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.

Поступило 27 X 1988 г.

Биол. ж. Армения, № 1, (42), 1989

УДК 577.135.3

ИНГИБИРОВАНИЕ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НЕКОТОРЫМИ АМИНОКИСЛОТАМИ

А. А. ДАВТЯН, М. Л. ГЕВОРКЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Показано, что L-аминокислоты орнитин, лизин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, α-аминономасляная кислота и норвалин конкурентно ингибируют аргиназу печени крупного рогатого скота, а α-аминономасляная кислота является ингибитором смешанного типа. Разветвленные аминокислоты являются наиболее эффективными ингибиторами фермента. Установлено также, что в присутствии орнитина чувствительность фермента к воздействию температуры возрастает; это указывает на специфичность взаимодействия указанной аминокислоты с аргиназой.

Վերը լրագրված, որ L-ամինաթթուներ օրնիտինը, լիզինը, վալինը, լեյցինը, իզոլեյցինը, պրոլինը, α-ամինոնոմասկաթթուն և նորվալինը մրցակցորեն ազդեցություն են խոչընդոտում առնանոնների բարձր արգինազային ակտիվությունը, իսկ α-ամինաթթուները նախընտրելի է խոտոր ախտի արգինազինը ճնշողությամբ ամինաթթուները նախընտրելի են լուսնաթթուի փոխարինող անալոգի

Сокращения: АНМК—аминономасляная кислота; АМК—аминомасляная кислота