



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ N-АЦЕТИЛНЕЙРАМИНОВЫХ КИСЛОТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТЕКЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Г.В. ЗАХАРЯН

Кафедра медицинской химии ЕГМУ им. М.Гераци
gayanezak@gmail.com

Проведено исследование по определению общей и липидсвязанной нейраминовой кислоты в головном мозге животных с экспериментальным отеком мозга. Обнаружено уменьшение как общей, так и связанной с липидами N- ацетилнейраминовой кислоты в головном мозге животных с экспериментальным отеком мозга. В сыворотке крови наблюдается противоположная картина: увеличивается как общая, так и липидсвязанная нейраминовая кислота.

N-ацетилнейраминовая кислота – отек мозга – сыворотка крови

Ուսումնասիրվել է ընդհանուր և լիպիդկապված նեյրամինաթթուների քանակը գլխուղեղում փորձարարական այտուցի ժամանակ: Ցույց է տրվել, որ գլխուղեղում նվազում է ընդհանուր և լիպիդկապված նեյրամինաթթուների քանակը, իսկ արյան շրջուկում, ընդհակառակ, ավելանում է:

Նեյրամինաթթու – գլխուղեղի այտուց – արյան շրջուկ

Amount of the total (protein and lipid-bound) neuraminic acid in brain and blood sera of animals with experimental cerebral edema was studied. The concentration of total neuraminic acids and lipid-bound neuraminic acids has decreased in both general and related lipids neuraminic acid in the brains of animals with experimental cerebral edema. In serum, on the contrary, the amount of neuraminic acids has increased.

Neuraminic acids – brain edema – blood serum

В современной медицинской биохимии проблема гипоксии и коррекция гипоксических нарушений является одной из ведущих. Особый интерес представляют так называемые экстремальные и критические состояния, при которых гипоксия как неспецифическое проявление выдвигается на первый план. Гипоксическая патология мозга может проявляться как самостоятельное заболевание (вследствие окклюзии сосудов, кровоснабжающих головной мозг) или как осложнение при травме головного мозга и возникающих при этом гематомах и других формах его сдавливания (компрессиях), приводящих к развитию отека мозга. В результате сдавливания ограниченных участков поверхности головного мозга возникает фокальная ишемия, сопровождающаяся деструкцией коры и формированием отека мозга [2]. Проблема ишемического повреждения головного мозга, а также фармакологической коррекции данной патологии является в настоящее время одной из основных проблем экспериментальной и клинической неврологии и нейрохирургии [6,8].

N-ацетилнейраминовые (сиаловые) кислоты являются полифункциональными соединениями с сильными кислотными свойствами. Как правило, в свободном виде в норме они не встречаются, а входят в состав различных углеводсодержащих веществ. Занимая в молекулах этих веществ концевое положение, нейраминовые кислоты оказывают значительное влияние на их физико-химические свойства и биологическую активность. N-ацетилнейраминовая кислота входит в состав ганглиозидов, относящихся к классу гликофинголипидов, являющихся одним из основных компонентов нейрональных мембран, особенно синаптических (61%), и участвующих во всех основных функциях нейрона и межнейрональном взаимодействии (синаптогенез, регуляция ионного микроокружения, мембранный электрогенез и др.).

Гликопротеины также являются важнейшими участниками межклеточных контактов, обеспечивая взаимное узнавание и адгезию определенных нейронов, участвуют в синаптической передаче, рецепторных реакциях, формировании и хранении памяти. Они входят в состав сложных надмолекулярных образований синаптических мембран.

Исходя из вышеизложенного, нами проведено сравнительное исследование содержания общей и липидсвязанной нейраминовой кислоты в головном мозге крыс с отеком мозга.

Материал и методика. Исследование проводили на беспородных белых крысах, обоего пола, массой 170-200 г, содержащихся в условиях вивария.

Токсический отек головного мозга вызывали внутрибрюшинным введением тетраэтилола в дозе 10 мг на 1 кг массы животного. Критерием развития отека мозга служили выраженная гидратация мозговой ткани и показатели микроскопического исследования [4]. О содержании воды судили по сухому остатку ткани мозга после высушивания при 110°C до постоянной массы.

Животные были распределены на 2 группы по 10 в каждой: 1 – интактные; 2 – животные с воспроизведенным отеком мозга.

Общую нейраминовую кислоту определяли резорциновым методом по модифицированной методике Свеннерхольма [9].

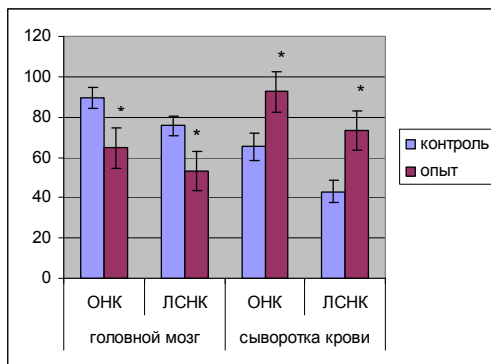
Для определения липидсвязанной сиаловой кислоты проводили экстракцию метанол-хлороформенной смесью (1:2). Супернатант с экстрагированными в нем липидами собирали, а осадок рекстрагировали трижды. К объединенному липидному экстракту добавляли холодную дистиллированную воду (в количестве 1/5 от общего экстракта), смесь тщательно перемешивали и центрифугировали (при 3000 об/мин 10 мин). Нижний хлороформенный слой, состоящий из фосфолипидов и нейтральных гликофинголипидов, отделяли от верхнего водно-метанолового слоя, содержащего ганглиозиды, который подвергали диализу против дистиллированной воды в течение 2 сут при 4°C, с частой заменой воды в диализаторе. Полученный после диализа раствор ганглиозидов выпаривали на ротационном испарителе и наносили на колонку с ДЕАЕ-сефадексом А-25. Содержание нейраминовой кислоты во всей пробе определяли периодат-резорциновым методом [3]. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента, сравнивая с калибровочной кривой, выражали в мг %.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследования у животных с отеком головного мозга наблюдается уменьшение содержания как общей, так и липидсвязанной сиаловой кислот, что, по всей видимости, связано с увеличением активности фермента нейраминидазы, которая отщепляет N-ацетилнейраминоновую кислоту из гликопротеинов и гликолипидов (рис.1).

Отщепление N-ацетилнейраминовой кислоты из гликолипидов и гликопротеинов происходит ферментом нейраминидазой (сиалидазой). Устраняя нейраминоновую кислоту из компонентов клеточных мембран, этот фермент изменяет структуру и общий заряд мембраны. Исследования последних лет показывают, что именно нейраминидаза, ассоциированная с плазматической мембраной клетки, имеет важное

физиологическое значение для клеток нервной системы человека [7]. Нейраминидаза, изменяя качественный и количественный состав гликопротеинов и ганглиозидов в мембранах клеток, модулирует активность киназ, и, следовательно, реакцию клетки на определенные сигналы. Некоторые авторы предполагают, что нейраминидаза, локализованная в плазматической мембране, способна прямо активировать рецептор к тирозинкиназе А, отщепляя остаток сиаловой кислоты [10].

В головном мозге контрольных животных общее содержание N-ацетилнейраминовой кислоты составляло 85,3 мг%, а с отеком мозга 64,7 мг%; аналогичная картина наблюдалась и при изучении липидсвязанной нейраминовой кислоты, где показатели в контроле составили 75,8 мг %, а у животных с отеком мозга 63,2 мг %. Полученные данные показывают, что в головном мозге с отеком происходит десилирование гликопротеинов и гликолипидов. В сыворотке крови наблюдается противоположная картина: увеличивается как общая, так и липидсвязанная нейраминовая кислота (рис.1).



ОНК - общая нейраминовая кислота
ЛСНК – липидсвязанная нейраминовая кислота

Рис. 1. Содержание общей и липидсвязанной нейраминовой кислоты в головном мозге и в сыворотке крови крыс с экспериментальным отеком (мг %). (n=7), * - $p < 0,01$

В последнее время появились данные о том, что повышение уровня нейраминовых кислот в биологических жидкостях отражает процессы разрушения мембранных структур мозговой ткани [5]. В связи с этим содержание N-ацетилнейраминовой кислоты может быть использовано в качестве биохимического маркера апоптоза и некротического повреждения [1]. В некоторых работах показано повышение содержания N-ацетилнейраминовой кислоты в цереброспинальной жидкости больных с инсультами, высокое содержание N-ацетилнейраминовой кислоты в 1-е сутки коррелирует с тяжестью состояния больных и обширностью ишемизированной зоны мозга [10] и отражает интенсивность процессов разрушения нейрональных мембран, сопровождающих некротическое повреждение.

Таким образом, результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о том, что в головном мозге животных с отеком наблюдается распад углеводсодержащих молекул (гликопротеидов и гликолипидов) и увеличение их в сыворотке крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга, М., Медицина, 2001.
2. Квитницкий Ю.Н. Современное учение об отеке и набухании головного мозга, Киев, Здоровье, 1988.
3. Методы биохимических исследований, Л., из-во Ленинградского университета, 1982.
4. Овсепян Л.М., Захарян Г.В., Карагезян К.Г. Особенности качественных и количественных изменений гликолипидов в мозговой ткани белых крыс с экспериментальным острым отеком мозга. Нейрохимия, 22, с.195-201, 2005.
5. Пинелис В.Г., Сорокина Е.Г., Реутов В.П. N-ацетилнейраминаовая кислота в механизмах ишемии мозга. Докл. РАН, 352, 2, 259-261, 1997.
6. Abhishek Patro, Sureswar Mohanty M. Ch., Pathophysiology and treatment of traumatic brain edema Indian Journal of Neurotrauma (IJNT), 6, 1, pp. 11-16, 2009.
7. Monti E., Bassi M.T., Papini N. et al. Identification and expression of NEU3, a novel human sialidase associated to the plasma membrane, Biochem., 349, p. 343-351, 2000.
8. Rosenberg G.A. Ischemic brain edema Prog Cardiovasc Dis, 42, 3, 209-216, 1999.
9. Svennerholm L., In: Methods in carbohydrate chemistry, New York, 6, p. 454-474, 1972.
10. Woronovicz A., Amith S.R., De Vusser K. et al. Dependence of neurotrophic factor activation of Trk tyrosine kinase receptors on cellular sialidase. Glycobiology. 17, 1, p. 10-24, 2007.

Поступила 06.09.2011