



УДК 612.82+571.1123+577.175.343

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ФОСФОЛИПИДОВ В НЕКОТОРЫХ СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС С ВРОЖДЕННЫМ ДЕФИЦИТОМ ВАЗОПРЕССИНА

ДИШКЕЛОВ А., МИТЕВ Ю., ПАЧЕВ В.

Институт по изучению мозга, Болгарская Академия Наук, София

Вязкость и латеральная подвижность клеточной мембраны являются важными факторами процесса взаимодействия клетки с химическими агентами. Вид углеродной цепи жирных кислот в составе мембранных фосфолипидов считают элементом, определяющим в значительной мере вязкость биологических мембран [1].

Вазопрессину отводится значительная роль в осуществлении ряда адаптивных реакций организма. Особый интерес вызывают результаты, подчеркивающие значение нейропептида в регуляции системы гипоталамус-гипофиз-надпочечники и в мнестических процессах [2, 3]. Вазопрессин замедляет угасание условных рефлексов [4], а также оказывает положительное воздействие на мнестические функции у человека [5, 6]. Нейрохимические механизмы действия вазопрессина на процессы памяти изучены недостаточно. Считают, что гормон воздействует преимущественно на моноаминергическую трансмиссию в лимбических и мезенцефальных структурах мозга [7]. В предыдущих исследованиях нами установлено, что однократное введение вазопрессина оказывает длительное воздействие на липидный метаболизм в мозгу [8], а внутримышечная инъекция гормона в процессе формирования условного оборонительного рефлекса вызывает характерные изменения в содержании жирных кислот липидов в гиппокампе [9]. На основании этих результатов возникло предположение, что воздействие на состав и метаболизм липидов в мозгу является одним из нейрохимических механизмов влияния вазопрессина на процессы памяти.

Цель настоящей работы—проверка указанной гипотезы при использовании модели врожденного дефицита вазопрессина. Крысы линии *Brattleboro*—спонтанные мутанты линии *Long Evans*—страдают генетически обусловленным отсутствием вазопрессина. Гомозиготные представители линии характеризуются тяжелым несхарным диабетом, нарушением нейроэндокринной регуляции [10], ухудшением вырабатывания условных рефлексов и их угасанием [11].

Исследование проводили на 10 взрослых гомозиготных самцах линии *Brattleboro* (D1) и 10 самцах линии *Long Evans*. Исследуемые структуры—септальные ядра, область аркуатного ядра и сре-

динного возвышения в меднобазальном гипоталамусе и гиппокамп препарировали способом Palkovits [12] и гомогенизировали в 2 мл смеси хлороформа, метанола и воды (2:1:0,8); фосфолипиды изолировали хроматографией в флоризиле [13]. Фосфолипидную фракцию подвергали гидролизу, после которого жирные кислоты превращали в метиловые эфиры. Эстерифицированные жирные кислоты растворяли в 1 мл хлороформа и 0,005 мл раствора анализировали методом ГЖХ. Исследования проводили на газовом хроматографе GC 93 («Analytical Instruments», Великобритания) с колонкой типа BP 20 и пламенно-ионизационным детектором. Жирные кислоты выявляли в температурном диапазоне от 185 до 250° при линейном непрерывном повышении температуры на 7,5° в мин. В качестве внутренних стандартов использовали набор метиловых эфиров жирных кислот («Sigma», США). В каждой пробе, после идентификации и измерения площади отдельных пиков (микропроцессорный интегратор TRIO Trivector, США), вычисляли соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в процентах. Статистическую обработку результатов проводили по Стьюденту.

В фосфолипидных фракциях, изолированных из трех структур мозга, обнаружены насыщенные жирные кислоты с цепями, состоящими из 12, 14, 16, 18, 20 и 22 углеродных атомов. Выявлены ненасыщенные жирные кислоты C 16:1, C 18:1, C 18:2, C 20:2, C 20:4 и C 22:6. Установлены следующие качественные различия: кислоты C 12:0 и C 22:6 отсутствуют в фосфолипидах септальных ядер у контрольных животных, а гиппокамп крыс линии *Brattleboro* не содержит кислоты C 20:0. Процентные соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в каждой структуре даны в таблице.

Таблица

Соотношение содержания насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в фосфолипидах, изолированных из отдельных структур мозга

Жирные кислоты		Септум	Гипоталамус	Гиппокамп
Насыщенные	LE	43,7±1,1	18,1±0,9	48,6±2,2
	D1	57,2±6,3*	35,7±1,5	47,5±1,9
Ненасыщенные	LE	56,3±1,1	81,9±0,9	51,4±2,2
	D1	43,8±6,3*	64,3±1,5	52,5±1,9

Примечание. Данные выражены в процентах. LE— нормальные крысы линии *Long Evans*, D1— крысы линии *Brattleboro* с врожденным дефицитом вазопрессина. * $p < 0.01$.

Содержание ненасыщенных жирных кислот в ядрах перегородки и в меднобазальном гипоталамусе крыс линии *Brattleboro* значительно ниже, чем у нормальных крыс линии *Long Evans*. Основным источником разницы является понижение содержания кислот C 18:1 и C 18:2, а также повышенные концентрации насыщенных кислот с 14- и 16-атомными цепями.

Жирикислотный состав фосфолипидов имеет определенное воздействие на вязкость и латеральную подвижность клеточной мембраны. Присутствие значительных количеств ненасыщенных жирных кислот обеспечивает пониженную вязкость мембраны [4], облегчая латеральную диффузию и конформационные изменения интеграль-

ных протеннов мембраны (рецепторные и каналы белки, ферменты). Установленное нами относительное понижение содержания ненасыщенных жирных кислот в фосфолипидах мозга крыс с врожденным дефицитом вазопрессина вызывает предположение о некоторой «жесткости» нейронных мембран у этих животных и о связанной с этим инертности интегральных белков, физиологическим итогом являлась бы нарушенная переработка химических сигналов.

Поскольку введение вазопрессина в гиппокамп интактных крыс вызывает улучшение консолидации условного рефлекса, сопровождаемое увеличением содержания ненасыщенных жирных кислот в тотальной липидной фракции мозга [9], есть основание считать, что изменения жирнокислотного спектра у крыс линии *Brattleboro* связано с отсутствием вазопрессина. Однако не исключается возможность сосуществования нескольких генетических дефектов у этих мутантов, затрагивающих кроме синтеза вазопрессина и некоторые элементы синтеза длинноцепочечных ненасыщенных жирных кислот.

Неожиданным результатом является отсутствие значительных изменений в гиппокампе, который выполняет важную роль в процессах обучения и запоминания. В отличие от септальных ядер и внешней зоны срединного возвышения, исследуемый нами дорзальный гиппокамп не принадлежит к главным проекциям вазопрессинсинтезирующих нейронов [14]. Относительно низкая плотность вазопрессинергических проекций в этой структуре—одно из возможных объяснений отсутствия значительных различий в жирнокислотных спектрах фосфолипидов в гиппокампе. Однако исследование биосинтеза фосфолипидов в тех же структурах мозга показало, что врожденный дефицит этого гормона сопровождается выраженным угнетением включения меченых предшественников ($[^{32}\text{P}]$ и $[^{14}\text{C}]$) в фосфолипиды гиппокампа [15]. Этот факт дает основание считать, что фосфолипиды в гиппокампе, несмотря на отсутствие изменений в жирнокислотных спектрах, также являются объектом действия вазопрессина.

FATTY ACID COMPOSITION OF PHOSPHOLIPIDS IN SOME BRAIN STRUCTURES OF RATS WITH INNATE VASOPRESSIN DEFICIENCY

DISHKELOV A., MITEV Y., PATCHEV V.

Brain Research Institute, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia

The fatty acid spectra of the phospholipids from the septum, the mediobasal hypothalamus and the hippocampus of rats with innate vasopressin deficiency (*Brattleboro* strain) and their intact „relatives“ from the Long Evans strain were analyzed using gas-liquid chromatography. The rats with inherited vasopressin deficiency showed a significant decrease of the content of non-saturated fatty acids in the septal and hypothalamic phospholipids, whereas no considerable differences were observed in the hippocampus. The finding suggests that hereditary vasopressin deficiency affects the structure of brain phospholipids and, probably, the functional properties of the neuronal membranes. The importance of phospholipid fatty acid changes in the pathogenesis of impaired adaptive capability in *Brattleboro* rats is discussed.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hucko F.* Einführung in die Neurochemie, Weinheim, Verlag Chemie, 1982.
2. *Vale W., Rivier C.* Federat. Proc., v. 36, p. 2094—2099, 1977.
3. *De Wied D., Versteeg D. H. G.* Federat. Proc., v. 38, p. 2348—2354, 1979.
4. *De Wied D., van Wimersma Greidanus T. B., Bohus B., Urban J., Gispen W. H.* Progr. Brain Res., v. 45, p. 181—191, 1976.
5. *Van Praag H. M., Verhoeven W. M. A.* Progr. Brain Res., v. 53, p. 229—252, 1980.
6. *Бахаров В. Д., Тухомиров С. М., Пансевич О. С., Чипенс Г. И.* Журн. невропатол. и психиатрии, т. 84, вып. 1, с. 88—92, 1984.
7. *Kovacs S. L., Bohus B., versteeg D. H.*, Progr. Brain Res., v. 53, p. 123—140, 1980.
8. *Patchev V., Dishkelov A.* Acta physiol. pharmacol. bulg., v. 13, p. 51—55, 1987.
9. *Dishkelov A., Patchev V.* Structure and functions of the brain. v. 13. p. 53—56 1988.
10. *Baertschi A. J., Beny J. -L.* Ann. N. Y. Acad. Sci., v. 394, p. 591—602. 1982.
11. *De Wied D., Bohus B., van Wimersma Greidanus T. B.* Brain Res., v. 85, 152—156, 1975.
12. *Palkovits M.* Brain Res., v. 59, p. 449—450, 1973.
13. *Кейте М.* Техника липидологии, Москва, Мир, 1975.
14. *Weindl A., Sofroniew M.* —In: Neurobiology of Vasopressin, p. 137—196, Berlin, Springer, 1985.
15. *Dishkelov A., Aliev Y., Patchev V.* Life Sci. (In press), 1989.

Поступила 11.XII.1989