



УДК 612.82+616.001.31+577.112.115

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКРЕСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ
ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

ДЕМЧУК М. Л., ЛЕВЧЕНКО Л. Н., ПРОМЫСЛОВ М. Ш.

Институт нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко АМН СССР, Москва

Активация ПОЛ является универсальной реакцией на патологическое воздействие. Это, как правило, ведет к поражению мембран клеток и накоплению продуктов ПОЛ. Показано, что подобные изменения в тканях мозга экспериментальных животных происходят при развитии эпилептической активности [1], эмоционально-болевым стрессе [2, 3], паркинсоническом синдроме [4] и других патологических состояниях головного мозга.

В нашей лаборатории ранее исследовалось содержание малонового диальдегида (МДА) в полушариях и стволе мозга кроликов после черепно-мозговой травмы средней тяжести [5]. Однако для более полной характеристики окислительных процессов мы сочли необходимым исследовать накопление и других продуктов ПОЛ—диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ), равно как и суммарную антиоксидантную активность (АОА) ткани мозга кроликов в условиях опыта.

Определение МДА в ткани мозга мы сочли целесообразным проводить по методу Onhava и соавт. [6], который, как показано в работе Гаврилова и соавт. [7], является наиболее универсальным. Объектом исследования в работе были кролики-самцы породы шиншилла, массой 2,5—3 кг.

Черепно-мозговую травму средней степени тяжести наносили стандартным методом [8]—посредством свободного падения груза массой 500 г с высоты 2,2 м на голову фиксированного в станке животного. Крыс забивали воздушной эмболией через сутки после нанесения травмы, что связано с максимальным нарушением процессов дыхания и окислительного фосфорилирования мозга в этот период времени [9]. Извлечение мозга и все последующие операции с ним проводили на холоде. Ткань мозга гомогенизировали в фосфатно-солевом буфере (рН 7,4) при соотношении ткань мозга—буфер (1:9).

Экстракцию липидов проводили по методу Фолча [10]. Содержание ДК определяли на спектрофотометре «СФ-26» по поглощению растворов липидов в системе метанол-гексан 5:1 при $\lambda_{\text{max}} = 232$ нм [11]. Основания Шиффа регистрировали по интенсивности флуоресценции хлороформных растворов липидов на спектрофлуорометре

«Hitachi-MPF-2a» при длине волны возбуждающего света 360 нм и максимуме испускания 420—440 нм. Контролем служила флуоресценция сернокислого хинина в 0,1 н. серной кислоте (1 мг/мл), интенсивность которой принимается за 100% [12].

Суммарная АОА определялась по торможению накопления МДА при инкубации модельной системы при 37° в течение 60 мин.

В качестве субстрата окисления нами была выбрана линоленовая кислота, которая входит в состав фосфолипидов мозга и содержит 3 двойные связи, поэтому все образующиеся при окислении кислоты продукты ПО аналогичны соединениям, возникающим в мозговой ткани в процессе ПОЛ. В литературе же описано использование в этом качестве линолевой кислоты [13], содержащей 2 двойные связи, что делает ее, как нам кажется, менее подходящей для цели данного эксперимента.

Предложенная нами модельная система для определения АОА состоит в следующем: к 50 мл дистиллированной воды добавляли 50 мкл тритона X-100 и 10 мкл линоленовой кислоты. Смесь тщательно встряхивали до получения однородной эмульсии. Все описанные выше манипуляции проводили в атмосфере азота. Затем в каждую пробу (V=1 мл) приливали по 50 мкл 0,01 мМ раствора сульфата железа (II) и 100 мкл исследуемого гомогената мозга и ставили на инкубацию параллельно с модельной пробой. АОА вычисляли в процентах по формуле, где за 100% принимается активность такого антиоксиданта, который полностью подавляет образование МДА в модельной системе за один час инкубации.

$$AOA = 1 - \frac{[MDA_{\text{мн}}]_{60'} - [MDA_{\text{мн}}]_{0'}}{[MDA_{\text{ст}}]_{60'} - [MDA_{\text{ст}}]_{0'}} \cdot 100,$$

где $[MDA_{\text{мн}}]$ — содержание МДА в модельной системе с добавкой гомогената мозга, $[MDA_{\text{ст}}]$ — содержание МДА в растворе линоленовой кислоты соответственно в начальный момент времени (0') и после часовой инкубации (60').

В ходе эксперимента было выявлено достоверное повышение содержания начальных продуктов ПОЛ-гидроперексидов полиеновых липидов у травмированных животных во всех исследованных отделах

Таблица

Перекисные соединения липидов и общая антиоксидантная активность в различных отделах мозга кроликов при черепно-мозговой травме

	полушарие		ствол		мозжечок	
	норма	травма	норма	травма	норма	травма
ДК нм/100мг сырой ткани	17,6±1,4 n=6	33,8±4,4 n=8 p<0,01	19,8±1,9 n=6	31,7±3,0 n=8 p<0,01	17,3±1,7 n=6	29,2±2,0 n=8 p<0,01
МДА нм/100 мг сырой ткани	5,6±0,8 n=7	8,3±0,6 n=13 p<0,05	8,4±0,8 n=7	8,7±0,7 n=7 p>0,05	4,1±0,7 n=7	6,1±0,5 n=13 p<0,05
ОШ в %	95,3±19,2 n=5	177,2±24,2 n=5 p<0,05	164,7±54,8 n=5	192,7±39,0 n=5 p>0,05	75,7±23,2 n=5	168,2±30,0 n=5 p<0,05
АОА в %	50,2±14,5 n=4	0 n=6 p<0,05	60,3±13,5 n=4	20,3±16,9 n=6 p>0,05	58,4±14,5 n=4	0 n=6 p<0,05

мозга (таблица), что позволяет сделать заключение об активации процессов ПОЛ при черепно-мозговой травме. Однако следует отметить, что увеличение концентрации МДА и ОШ наблюдается лишь в полушариях и мозжечке, а в стволе остается в пределах нормы. Следовательно, в ткани ствола мозга процесс ПОЛ как бы останавливается на образовании сопряженных диенов и не доходит до образования наиболее токсичных продуктов—карбонильных соединений, что, вероятно, связано с достаточно высокой остаточной АОА ткани ствола мозга травмированных животных. Это, в известной мере, подтверждается и тем, что количество ОШ при травме в ткани ствола мозга остается на уровне нормы. В то же время АОА в полушариях мозга и в мозжечке падает до нулевых значений.

Из анализа полученных данных следует, что при черепно-мозговой травме в мозгу резко подавляется одна из важнейших защитных реакций этого органа—АОА и нарастает количество перекисных соединений липидов. Это, как было показано нами ранее, сопровождается разрушением целостности митохондрий клеток мозга и соответственно нарушением его энергетического обмена [14].

LIPID PEROXIDATION AFTER BRAIN TRAUMA

DEMCHUK M. L., LEVCHENKO L. L., FROMYSLOV M. Sh.

Burdenko Institute of Neurosurgery, USSR Academy of Medical Sciences, Moscow

We have examined (1) changes in the activity of reactions leading to the formation of lipid peroxides and (2) total antioxidative activity of rabbit brain 24 hours after brain trauma. The content of diene conjugates, malonic acid dialdehyde and Schiff bases increased in the hemispheres and cerebellum, whereas the total antioxidant activity decreased in the studied parts of the brain.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никиткин Е. В., Крыжановский Г. Н. Патол. физиол. и эксперим. терапия, № 6, с. 19—24, 1987.
2. Меерсон Ф. З., Каган В. Е., Прилико Л. Л. Бюл. эксперим. биол. и мед., № 10, с. 404—406, 1979.
3. Меерсон Ф. З., Каган В. Е., Прилико Л. Л. Бюл. эксперим. биол. и мед., т. 100, № 12, с. 661—663, 1980.
4. Кучеряну В. Г., Атаджанов М. А., Никиткин Е. В. Бюл. эксперим. биол. и мед., № 1, с. 39—41, 1989.
5. Воробьев Ю. В., Промыслов М. Ш. Нейрохимия, т. 4, № 1, с. 65—67, 1985.
6. Ohtsuka H., Ohtsuka N., Jagi K. Anal. Biochem., v. 95, p. 351—358, 1979.
7. Гаврилов В. Г., Гаврилова Л. Р., Мажуль Л. М. Вопр. мед. химии, т. 1, с. 118—122, 1987.
8. Промыслов М. Ш., Тигранян Р. А. Вестн. АМН СССР, т. 17, № 11, с. 28—31, 1971.
9. Промыслов М. Ш. Вестн. АМН СССР, № 9, с. 81—86, 1982.
10. Dillard C., Tappel A. L. Canadian J. Biochem. Physiol., v. 37, № 8, p. 911, 1959.
11. Cardus D., Vallbona C., Vogt F. B. Aerospace Medicine, v. 36, p. 524, 1965.
12. Csallany A. S., Agas K. L. Lipids, v. 11, p. 412, 1976.
13. Al-Timimi D. J., Dormandy T. L. Biochem. J., v. 198, № 2, p. 283—288, 1977.
14. Промыслов М. Ш. Обмен веществ в мозге и его регуляция при черепно-мозговой травме, М., Медицина, 1984.

Поступила 27.VIII.1989