



УДК 577.1:577.125:620.186:611.8:615.099.091

МЕТАБОЛИЗМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТЕКЕ

ПОГОСЯН А. Ю., ОВСЕПЯН Л. М., *ОВЕЯН Г. А., **ПАНОСЯН А. Г.,
КАРАГЕЗЯН К. Г., ПЕПОЯН А. З.

Институт экспериментальной биологии АН Армении, Ереван

*Ереванский государственный медицинский институт

**ИТОХ им. Миджояна, Ереван

Из литературы [1, 2] известна губительная роль больших концентраций неэстерифицированной арахидоновой кислоты ($C_{20:4}$) в усугублении отека процесса в головном мозгу. Превращения свободной $C_{20:4}$ могут развиваться, по крайней мере, по четырем основным направлениям: путем ферментативного β -окисления, через перекисное по свободнорадикальному механизму с образованием гидроперекисей и перекисей в сторону биосинтеза биологически активных соединений типа простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов и ряда промежуточных веществ и, наконец, посредством реэстерификации их в составе вновь формирующихся молекул фосфолипидов (ФЛ). Эти процессы, очевидно, являются важным звеном в формировании компенсаторно-приспособительной, защитной функции данной биологической системы и организма в целом, что в условиях отека мозга (ОМ), по всей вероятности, имеет особое значение. Оно расценивается как проявление так называемой «биологической нейтрализации» жирных кислот (ЖК), в том числе и $C_{20:4}$, высокие концентрации которых обладают детергентным действием на биологические системы и главным образом клеточные мембраны. В отмеченном контексте и было проведено настоящее исследование.

В молекулярной организации биологических мембран ЖК придается существенное значение как факторам, обуславливающим высокую степень жидкости этих образований, соединениям, создающим соответствующее микроокружение, необходимое для максимального обеспечения функциональной активности мембранных белков-рецепторов и мембраносвязанных ферментов [3]; присутствие свободных ЖК в тканевых системах, в частности в головном мозгу, интенсивно влияет на протекающие в них метаболические процессы.

Целью настоящего исследования явилось изучение состава ЖК ФЛ, а также процессов ПОЛ при экспериментальном ОМ. Ставилась задача проследить за динамикой содержания эстерифицированной $C_{20:4}$ в головном мозгу при его отеке, вызванном тетраэтиловым, что явилось бы показателем приспособительной функции организма, направленной на возможное лимитирование ее свободной формы путем эстерификации в составе ФЛ, синтезирующихся *de novo*.

Исследования проводили на беспородных белых крысах, содержащихся на обычном пищевом рационе. Экспериментальный ОМ вызывали внутрибрюшинным введением 0,2%-ного раствора тетраэтилолова, приготовленного на подсолнечном масле, в дозе 10 мг на 1 кг массы животного. Критерием развивающегося отека служило увеличение в мозговом веществе содержания общей воды и нарушение его микроструктуры. Суждения об увеличении количества воды при формировании ОМ строились по весовым различиям остатков мозговой ткани, тщательно высушенных при температуре 110° до постоянной массы. Экстракцию ФЛ производили из ацетоновых порошков мозговой ткани по методу Folch [4], в модификации Карагезяна [5]. Метиловые эфиры ЖК ФЛ получали по методу Штоффеля [6], их состав определяли методом ГЖХ на хроматографе «Хром-5» (ЧССР) с пламенноионизационным детектором. Идентификацию метиловых эфиров ЖК проводили путем сравнения с хроматограммой смеси их насыщенных и ненасыщенных представителей с длиной углеродной цепи C_{14-22} . Об активности ПОЛ судили по содержанию малонового диальдегида, образующего с тиобарбитуровой кислотой цветное окрашивание, интенсивность которого регистрировали спектрофотометрически при длине волны 535 нм [7]. Количество перекисей пересчитывали на 1 мг белка [8]. Статистическую достоверность полученных результатов рассчитывали по шкале Стьюдента-Рихтера.

Визуально ОМ проявлялся потерей координации, параличом конечностей, потерей аппетита, а также отчетливыми расстройствами микроструктуры коры теменной области головного мозга, отраженными на рисунке (а, б). Микроскопический анализ мозга свидетельствует о том, что при примененной дозе тетраэтилолова и при декарпитации животных на 3-и сутки наблюдается четко выраженный отек в виде характерного диффузного разрыхления белого вещества мозга [9].



Рис. Кора теменной доли: а—контроль ($\times 180$), б—отечное разрыхление белого вещества ($\times 290$); целлондин, гематоксилин-эозин

Как показали результаты проведенных исследований, при экспериментальном ОМ наблюдаются глубокие изменения в ЖК ФЛ (табл. 1). По нашим данным, в составе указанных соединений имеет место уменьшение содержания пальмитиновой ($C_{16:0}$), пальмитоолеиновой ($C_{18:1}$), стеариновой ($C_{18:0}$) ЖК. Значительно возрастает уровень содержания полиеновых ЖК в основном за счет увеличения процента содержания $C_{20:1}$, что заслуживает особого внимания. Сумма насыщенных ЖК уменьшается.

Таблица 1

Жиросекислотный состав фосфолипидов (% от суммы всех жирных кислот) головного мозга белых крыс в норме и при экспериментальном отеке мозга

Жирные кислоты (ЖК)	Контроль	Опыт
C _{11:0} 16:0	следи 28,6±0.3	следи 23,30±0.33 p<0.001
C _{16:1}	1,64±0.02	1,25±0.02 p<0.001
C _{17:0} C _{18:0}	следи 29,70±0.45	следи 26,80±0.17 p<0.001
C _{18:1} C _{19:0}	32,10±0.25 следи	33,10±0.13 следи
C _{20:0} C _{20:1}	4,66±0.6	следи 4,04±0.16 p<0.5
C _{20:4}	2,75±0.01	11,5±0.3 p<1.001
C _{21:0} Сумма насыщенных ЖК	следи 58,30±0.75	следи 50,1±0.5 p<0.001
Сумма моноеновых ЖК	38,40±0.87	38,40±0.49 11,5±0.3 p<0.001
Полиеновые ЖК	2,75±0.01	49,90±0.79 p<0.001
Сумма ненасыщенных ЖК	41,20±0.88	

Zands, Merkl [10] показали существование так называемого цикла деацилирования—реацилирования при активном участии фосфолипазы А₂. Процесс деградации ФЛ сопровождается образованием значительного пула лизопронзводных этих соединений при одновременном активировании ацилтрансфераз, катализирующих реакции ацилирования лизофосфолипидов присоединением новой молекулы ЖК взамен отщепленной. По всей видимости, ацилообменный механизм является особенно важным для контроля качественных изменений полиеновых ЖК во втором положении глицерина в молекуле ФЛ. Изменение гидрофобных областей мембраны при переходе диацильных форм ФЛ в моноацильные и обратно оказывает существенное влияние на степень проницаемости различных веществ, транспорт ионов. При отщеплении полиеновых ЖК наблюдается резкое снижение активности Na⁺ K⁺ АТФазы [11]. Дальнейший ход обмениваемости этих соединений преимущественно протекает в направлении ферментативного окисления с образованием углекислоты и воды. Значительная часть их окисляется также по свободнорадикальному механизму с образованием перекисей и гидроперекисей и, наконец, они служат субстратом в процессах простагландинов синтеза. По нашим данным, экспериментальный ОМ сопровождается активированием процесса ПОЛ (табл. 2) как в аскорбат-, так и в NADPH-зависимых системах окисления липидов. Известно, что микросомы мозга содержат NADPH-специфичный флавопротеид и цитохром В₅, тогда как цитохром Р₄₅₀ в этих мембранах полностью отсутствует. Именно на NADPH-специфичном флавопротеиде происходит активация кислорода с образованием супероксидного анион-радикала или гидроксил-

Таблица 2

Содержание гидроперкисей и перекисей в общем гомогенате и в микросомной фракции при экспериментальном отеке мозга

Условия опыта	Микросомная фракция				Общий гомогенат			
	Контроль		Опыт		Контроль		Опыт	
Тип перекис- ления	НФП	ФП	НФП	ФП	НФП	ФП	НФП	ФП
Гидроперекиси $E_{480}/\text{мг}$ белка	0.549 ± 0.040	0.308 ± 0.030	0.731 ± 0.030 $p < 0.002$ $n = 10$	0.584 ± 0.020 $p < 0.001$ $n = 10$	0.419 ± 0.060	0.292 ± 0.050	0.648 ± 0.030 $p < 0.001$ $n = 10$	0.492 ± 0.040 $p < 0.001$ $n = 10$
Перекиси	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 ± 0.020	0.810 ± 0.070	1.857 ± 0.020 $p < 0.001$ $n = 7$	1.044 ± 0.020 $p < 0.01$ $n = 7$

Примечание. НФП—неферментативное аскорбатзависимое перекисление, ФП—ферментативное перекисление.

радикала. Не менее вероятной является и версия, допускающая возможность образования синглетного кислорода [12]. Супероксидный анион-радикал, генерируемый ксантиноксидазой при окислении ксантина, может индуцировать в мозгу липопероксидацию $C_{20:1}$ [13].

Окисление $C_{20:1}$ в мозгу катализируется циклооксигеназой и липооксигеназой. В первом случае основными продуктами метаболизма $C_{20:1}$ являются простагландины и тромбоксаны, во втором — гидроокискислоты, лейкотриены и липоксены. Имеются указания о существовании параллелизма между развитием отека-набухания и изменением содержания в мозгу простагландинов [14]. Особого внимания заслуживают продукты липооксигеназного окисления $C_{20:1}$. Это, в частности, касается биосинтеза 12/S/-12-гидроксн-5z, 8z, 10E, 14z-эйкозатетраеновой кислоты в мозгу, заметно активирующегося при ишемических состояниях [15], и роли лейкотриена C_4 [16] в обеспечении определенного статуса функционирования ГЭБ. Увеличение концентрации этих соединений в сосудистом сплетении способствует их участию в секреции цереброспинальной жидкости из крови в ЦНС. Лейкотриен C_4 сохраняется неизменным в течение нескольких часов в цереброспинальной жидкости и медленно превращается в лейкотриены D_4 и E_4 .

Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что ОМ сопровождается выраженными и достаточно специфичными сдвигами в обмене липидов и ЖК. Нами показано, что многократное увеличение уровня эстерифицированной $C_{20:1}$ в составе ФЛ отечного мозга является отчетливым частным проявлением компенсаторно-приспособительной функции организма. Одним из показателей ее является эффект максимального лимитирования пула неэстерифицированной формы $C_{20:1}$, обладающей в высоких концентрациях способностью усугубить формирование и течение отечного процесса путем включения ее в состав вновь синтезирующихся ФЛ. Изучение функциональной роли продуктов окисления $C_{20:1}$ является задачей наших дальнейших исследований.

METABOLISM OF FATTY ACIDS IN BRAIN DURING EXPERIMENTAL OEDEMA

POGOSYAN A. YU., OVSEPYAN L. M., OVEYAN G. A., PANOSYAN A. G.,
KARAGEZYAN K. G., PEP. YAN A. Z.

Institute of Experimental Biology, Academy of Sciences of the Armenia,
Yerevan

Using gas-liquid chromatography we have determined that the level of palmitic, palmitic-oleic and stearic acids markedly decreases during the experimental brain oedema. The level of polyunsaturated fatty acids increases markedly, mainly due to the elevation of arachidonic acid, whereas the sum total of saturated fatty acids goes down. Experimental brain oedema is accompanied by a statically significant elevation of hydroperoxides and malonic acid dialdehyde, both in ascorbate- and NADP-dependent systems of lipid oxidation. Our data lead to a hypothesis that the increased level of polyunsaturated fatty acids and activation of LPO play an important role in pathogenesis of brain oedema.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chan P. H., Fishman R. A. J. Fed. Proc., v. 43, № 2, p. 210—213, 1984.
2. Cestaro B., Viani P., Cerwato ., Marchesini S. J. Neurochem., v. 44, suppl., S57 C, 1985
3. Крепс Е. М. — В кн.: Липиды клеточных мембран, с. 225—240, Л., Наука, 1981.
4. Folch I. Biol. Chem., v. 146, p. 35—40, 1942
5. Карагезян К. Г. — В кн.: Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма, Ереван, 1972.
6. Методы биохимических исследований (под ред. М. И. Прохоровой) Л., ЛГУ, 1982.
7. Владимиров Н. А., Арчаков А. И. — В кн.: Перекисное окисление липидов в биологических мембранах (под ред. Г. М. Франка), с. 241—243, М., Наука, 1972.
8. Lowry O. H., Rosebrough N. I., Farr A. L., Randall R. I. J. Biol. Chem., v. 193, p. 265—275, 1951.
9. Карагезян К. Г., Квитницкий-Рыжов Ю. Н., Овсепян Л. М., Погосян А. Ю., Степанова Л. В. Вopr. мед. химии, т. 36, № 1, с. 50—51, 1990.
10. Lands W. E. M., Merkl J. J. Biol. Chem., v. 238, p. 838—904, 1963.
11. Sun A. Y., Sun G. V. — In: Function and metabolism of phospholipids in the central and peripheral nervous system, p. 189—197, (eds. G. Porcellati, L. Amaducci, C. Galli) N. J.—L., Plenum. Press., 1976.
12. Pederson T. C., Aust S. D. Biochim. and Biophys. Res. Commun., v. 52, p. 1071—1078, 1973.
13. Chan P. H., Fishman R. A. Federal. Proc., v. 43, № 2, 1984.
14. Квитницкий-Рыжов Ю. Н. — В кн.: Современное учение об отеке и набухании головного мозга, Киев, Здоровье, 1988.
15. Spagnuolo G., Sautebin L., Galli G., Racagni G., Galli C., Mazzari S. Prostaglandins, v. 18, № 1, p. 51—61, 1979.
16. Spektor R., Goetzl E. L. Biochem. Pharmacol., v. 35, № 17, p. 2849—2853, 1986.

Поступила 16.11.1990