

ИНТЕНСИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЗМА ОБЩИХ ЛИПИДОВ, ГАЛАКТОЦЕРЕБРОЗИДОВ И СУЛЬФОЦЕРЕБРОЗИДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ЛНМ КОРОНАВИРУСНОМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТЕ У МЫШЕЙ

АННАНЕПЕСОВ Х. Н., ЧАЕВА Л. С., КОНОВАЛОВ Г. В., МАПОРОВА Л. П.

Туркменский государственный медицинский институт, Ашхабад,
лаборатория биохимии нервной системы и обмена веществ ЛГУ
Институт экспериментальной медицины, Ленинград

Изучена интенсивность метаболизма общих липидов, галактоцереброзидов и сульфocereброзидов головного мозга при остром и хроническом ЛНМ коронавирусном энцефаломиелите у мышей. В острой стадии заболевания обнаружены существенные нарушения метаболизма общих липидов и гликолипидов, выразившиеся в уменьшении их содержания на 15% и в резком снижении включения радиоактивного предшественника $2[^{14}\text{C}]$ ацетата как в общие липиды (в 10 раз), так и в цереброзиды и сульфocereброзиды (на 55—68%). При хроническом энцефаломиелите не выявлено изменений содержания указанных липидов, однако интенсивность включения радиоактивного предшественника в цереброзиды с нормальными жирными кислотами снижена на 65%, а в сульфocereброзиды — на 20%.

В последние годы вновь обсуждается возможная роль вирусов в этиопатогенезе рассеянного склероза и ряде других медленно прогрессирующих демиелинизирующих заболеваний ЦС [1]. Одной из удачных экспериментальных моделей демиелинизирующего процесса вирусной природы является энцефаломиелит, вызываемый ЛНМ штаммом коронавируса. Последний позволяет воспроизвести острую, подострую и хроническую форму вирусной демиелинизации [2]. В работах Коновалова и соавт., детально изучена неврологическая симптоматика, проведены вирусологические и морфологические исследования, характеризующие различные стадии развития демиелинизирующего поражения [3]. Показано, что при острой вирусной инфекции демиелинизация возникает как результат функциональной недостаточности преимущественно глиальных клеток. В хронической стадии заболевания наблюдалось периодическое обострение патологического процесса с последующими ремиссиями [4].

Ранее было изучено содержание фосфолипидов, цереброзидов и сульфocereброзидов ЦС при остром ЛНМ энцефаломиелите [5]. Однако данные по изменению количества изучаемых липидов еще не могут дать ответа о нарушении их метаболизма под влиянием экспе-

риментальной демиелинизации. В этом отношении большое значение имеют исследования, проводимые с использованием радиоактивного предшественника, позволяющие определить интенсивность включения радиоактивной метки. Таким образом, особенности обмена липидов ЦНС при коронавирусной демиелинизации практически не исследованы.

Изучение влияния JHM коронавирусов на метаболизм липидов нервной ткани представляет и самостоятельный интерес. Известно [6], что различные вирусы имеют характерную биохимию внутриклеточного паразитирования, определяющую особенности взаимодействия вируса и клетки-хозяина.

В настоящей работе исследовано содержание и интенсивность обмена общих липидов, цереброзидов и сульфocereброзидов в ЦНС при остром и хроническом энцефаломиелите с помощью радиоактивного $2 [^{14}\text{C}]$ ацетата.

Материалы и методы

В работе использовали мышей линии СЗН, зараженных интрацеребрально в возрасте 4-х недель JHM штаммом коронавируса мышинного гепатита. Это приводило к развитию хронического рецидивирующего заболевания энцефаломиелита, в котором на основании клинико-морфологических данных выделен острый период (5—13-й день после заражения), подострая стадия (14—30-й день после инфицирования) и хроническая стадия (4—5 месяцев после заражения). Острый период заболевания сопровождался парезами и развитием спастических судорог. У мышей с хронической формой вирусной демиелинизации отчетливых неврологических симптомов не проявлялось.

В экспериментах использовали животных, находящихся в остром периоде заболевания, возраст которых к моменту постановки опыта составлял 5 недель и животных в хронической стадии заболевания в возрасте 5 месяцев. За 1 ч до забоя животным подкожно вводили $2 [^{14}\text{C}]$ ацетат из расчета 30 мкКи на 100 г массы тела. Экстракцию липидов из ткани мозга, их количественное определение и измерение радиоактивности проводили по ранее описанным методикам [7].

Результаты и обсуждение

Как видно из результатов опытов (табл. 1), в головном мозгу мышей при остром JHM коронавирусном энцефаломиелите отмечается небольшое, по сравнению с контролем, снижение содержания общих липидов—на 11,2%. Содержание цереброзидов с оксикислотами снизилось на 15%, а цереброзидов с нормальными жирными кислотами изменилось менее существенно, на 7,7% и оказалось статистически недостоверным ($p > 0,05$). Количество сульфocereброзидов при острой форме энцефаломиелита оказалось сниженным на 15,6%. Однако существенного перераспределения процентного соотношения фракций

гликолипидов не выявлено. Как следует из данных, представленных в табл. 2, при хроническом JHM-энцефаломиелите не установлено статистически достоверных изменений содержания как общих липидов, так и фракций цереброзидов и сульфocereброзидов. Во всех случаях $p > 0,05$.

Таблица 1

Содержание и удельная радиоактивность общих липидов, галактоцереброзидов и сульфocereброзидов головного мозга мышей линии СЗН в норме и при остром JHM-энцефаломиелите ($M \pm m$, $n=6$)

Л и п и д ы	мг г влажной ткани		Удельная радиоактивность нмн/мг	
	контроль	энцефаломиелит	контроль	энцефаломиелит
Общие липиды	$55,40 \pm 0,91$	$49,50 \pm 2,74^*$	386 ± 10	$3 \pm 3^*$
Цереброзиды с оксикислотами	$5,74 \pm 0,28$	$4,87 \pm 0,33^*$	154 ± 13	$9 \pm 9^*$
Цереброзиды с нормальными жирными кислотами	$4,15 \pm 0,12$	$3,83 \pm 0,17^*$	182 ± 18	$58 \pm 14^*$
Сульфocereброзиды	$4,41 \pm 0,04$	$1,19 \pm 0,05^*$	129 ± 9	$46 \pm 6^*$

Примечание. Здесь и в табл. 2 звездочкой отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контролем ($p < 0,05 - 0,001$).

Использование 2 [^{14}C] ацетата позволило проследить интенсивность включения радиоактивного предшественника в общие липиды и исследуемые гликосфинголипиды мозга в норме и при коронавирусном энцефаломиелите. Результаты экспериментов (табл. 1) свидетельствуют о том, что при острой форме энцефаломиелита обнаруживаются резко выраженные изменения этого показателя (табл. 1). Так, удельная радиоактивность общих липидов головного мозга при JHM энцефаломиелите по сравнению с контрольными данными в 10 раз снижена. Величины УР цереброзидов с оксикислотами у больных животных понижены на 55,2%, а цереброзидов с нормальными жирными кислотами — на 68,2% по сравнению с контролем. При этом установлено также резко выраженное снижение включения радиоактивной метки и в сульфocereброзиды головного мозга мышей на 64,4%.

В отличие от острой формы, при хроническом JHM энцефаломиелите получены данные (табл. 2), позволяющие говорить о менее существенном нарушении включения 2 [^{14}C] ацетата в липиды головного мозга мышей. В этих условиях величина УР общих липидов увеличилась на 17,5% от контрольной величины. В то же время УР цереброзидов с оксикислотами не изменилась, однако существенно снизилось включение радиоактивного предшественника в цереброзиды с нормальными жирными кислотами и в сульфocereброзиды.

Об общем уровне радиоактивности предшественников в головном мозгу можно судить по УР гомогената ткани. В опытах с острой формой энцефаломиелита УР гомогената мозговой ткани возросла с

764 имп/мин/мг до 1018 имп/мин/мг в расчете на сухой вес ткани, то есть в 1,5 раза. Тем не менее, несмотря на значительное возрастание УР гомогената, полученные данные указывают на резкое снижение включения $[^{14}\text{C}]$ ацетата в общие липиды и гликолипиды. Последнее с учетом снижения содержания цереброзидов и сульфocereброзидов может служить доказательством угнетения их синтеза при остром энцефаломиелите. При хроническом JHM-энцефаломиелите УР гомогената мозговой ткани не отличалась от контрольной величины (соот-

Таблица 2

Содержание и удельная радиоактивность общих липидов, галактоцереброзидов и сульфocereброзидов головного мозга мышей линии С3Н в норме и при хроническом коронавирусном энцефаломиелите ($M \pm m$, $n=6$)

Л и п и д ы	мг г плазмой ткани		Удельная радиоактив- ность имп/мин/мг	
	контроль	энцефало- миелит	контроль	энцефало- миелит
Общие липиды	$63,91 \pm 0,63$	$72,60 \pm 7,42$	189 ± 3	$222 \pm 11^*$
Цереброзиды с оксикислотами	$10,24 \pm 0,34$	$11,65 \pm 0,45$	18 ± 2	17 ± 1
Цереброзиды с нормальными жирными кислотами	$5,11 \pm 0,17$	$4,97 \pm 0,21$	58 ± 6	$27 \pm 3^*$
Сульфocereброзиды	$1,34 \pm 0,23$	$1,48 \pm 0,14$	80 ± 4	$64 \pm 2^*$

ветственно 506 и 535 имп/мин/мг). Как показано выше, и в этих условиях отмечалось отчетливое снижение включения радиоактивной метки в цереброзиды с нормальными жирными кислотами и в сульфocereброзиды, однако они были менее существенны, чем при острой форме заболевания.

Обнаруженное нами нарушение метаболизма гликолипидов при острой форме энцефаломиелита коррелирует с изученной при этом морфологической картиной. А именно, отечественными и зарубежными исследователями [2, 10] показано, что при острой форме JHM энцефаломиелита происходит демиелинизация нервных волокон, репликация коронавирусов в глиальных клетках и избирательное поражение олигодендроцитов. Последние участвуют в миелиногенезе и синтезе цереброзидов [11]. Исследование влияния разных липидсодержащих вирусов на обмен фосфорил-холина, предшественника фосфолипидов, в клетках куриного эмбриона и клетках почек детеныша хомячка выявило специфические особенности действия вирусов на синтез липидов [6]. В связи с этим следует подчеркнуть, что коронавирусы также относятся к липидсодержащим вирусам [8]. В то время как белки клетки-хозяина не включаются в вирусы, липиды мембран вирусов происходят целиком от клетки-хозяина [9]. Они практически содержат те же классы липидов, но соотношение их может быть различным у одних и тех же вирусов, культивируемых в разных клетках. При остром JHM энцефаломиелите показано также накопление в

нервной ткани продуктов перекисного окисления липидов, повреждающих биологические мембраны [12].

Морфологическая картина при хроническом энцефаломиелите у крысят через 1,5—12 месяцев после заражения их вирусом характеризуется преимущественной локализацией процесса в белом веществе при полной сохранности нейронов и их аксонов [10]. Для хронического коронавирусного энцефаломиелита характерны деструктивные изменения олигодендроцитов и астроцитов, сопровождающиеся глиозными разрастаниями, приводящими к образованию нейроглиальных «склеротических» бляшек. Если при остром ЯИМ энцефаломиелите с помощью методов электронной микроскопии и иммуофлуоресценции в олигодендроцитах постоянно обнаруживаются вирионы (их антитела), а вирусологически из различных отделов ЦНС удается выделить вирус, то при хронической стадии процесса выявить вирусы никогда не удается [10, 13]. Интимные вопросы патогенеза хронической вирусной демиелинизации во многом неясны, но не вызывает сомнения участие иммунопатологических механизмов—гиперчувствительности замедленного типа, против измененных вирусом антигенов мембран нервной ткани, а также гуморального ответа (антитела). Известно, что гликолипиды являются наиболее иммуногенными из липидов, а антисыворотка против галактоцереброзидов вызывает демиелинизацию [14].

Создание экспериментальных моделей демиелинизации является одним из возможных подходов к изучению демиелинизирующих поражений ЦНС. Так, в работах Тарановой и соавт. всесторонне исследовался метаболизм липидов НС [15, 16] при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите. Показано резкое угнетение всех классов липидов как в спинном, так и в головном мозгу, что свидетельствовало о генерализованном характере нарушений обмена липидов в ЦНС при аллергическом энцефаломиелите. При другой экспериментальной модели демиелинизирующего заболевания—хронической гиперфенилаланинемии выявлено уменьшение содержания цереброзидов и сульфocereброзидов, а также резкое снижение интенсивности метаболизма этих гликолипидов [7]. Влияние вирусной демиелинизации на метаболизм липидов нервной системы в литературе не освещено.

Полученные нами данные о существенном снижении интенсивности метаболизма важнейших миелиновых липидов цереброзидов и сульфocereброзидов в головном мозгу мышей при остром ЯИМ энцефаломиелите, скорее всего, связаны с нарушением функции олигодендроцитов в связи с непосредственным повреждением их коронавирусом, что, в свою очередь, приводит к распаду миелина. При хроническом ЯИМ энцефаломиелите обнаружено менее резкое изменение (за исключением цереброзидов с нормальными жирными кислотами) интенсивности метаболизма липидов. Эти данные, а также отсутствие изменений в содержании гликолипидов указывают на длительную относительную компенсированность процесса. Последнее, по-видимому, происхо-

дит за счет развития процесса демиелинизации, что отчетливо прослеживается морфологически.

В заключение следует указать, что представленные нами результаты находятся в соответствии с данными о нарушении обмена липидов при других моделях демиелинизирующих поражений, что свидетельствует в пользу положения о едином неспецифическом механизме развития демиелинизации, независимо от природы патогенного фактора.

THE INTENSITY OF TOTAL LIPID, GALACTOCEREBROSIDE AND SULFOCERE ROSIDE METABOLISM IN THE BRAIN OF MICE WITH JHM-CORONAVIRUS INDUCED ACUTE AND CHRONIC ENCEPHALOMYEELITIS

ANNANEPESOV Kh. A., CHAYEVA L. S., KONOVALOV G. V.,
MAJOROVA L. P.

The Turkmenian State Medical Institute, Ashkhabad, USSR

*The Laboratory of Biochemistry of nervous system and metabolism,
Leningrad State University, Leningrad, USSR

**The Institute of experimental medicine, the Academy of Medical Sciences
of the USSR, Leningrad

The intensity of total lipid, galactocerebroside and sulfocerebroside metabolism in the brain of mice with acute and chronic encephalomyelitis induced by JHM-coronaviruses was studied.

It was shown the insignificant decrease of total lipid content (by 11,2%) in the brain of animals with acute encephalomyelitis. The specific radioactivity of total lipids in infected animals was lower than in control by 10 times. The incorporation of ^{14}C -acetate in the cerebroside with hydroxy and with normal fatty acids in the brain of damaged animals was decreased by 55,2% and 68,2%, respectively. It was also found the sharp decrease (by 64,4%) of label incorporation in the infected mice brain sulfocerebroside.

Content of lipids and glycolipids did not change in the brain of mice with chronic encephalomyelitis. Nevertheless the incorporation of ^{14}C -acetate in cerebroside with normal fatty acids and sulfocerebroside is decreased by 65 and 20%, respectively.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Cook S. D., Dowling P. C. Neurology. 30. 7, part 2, p. 80—91, 1980.
2. Коновалов Г. В., Майорова Л. П. Журн. невропатол. и психиатрии, т. 12, с. 24—27, 1982.
3. Майорова Л. П., Коновалов Г. В., Огурцов Р. П., Смородинцев А. С. Вopr. вирусол., № 6, с. 1263—1269, 1986.
4. Коновалов Г. В. — В кн.: «Ультроструктурная патология нейровирусных инфекций», Наука, Новосибирск, с. 64—71, 1984.
5. Аннанепесов Х. А., Левитина М. В., Сергеев Е. В. Бюл. эксперим. биол. и мед., № 1, с. 33—34, 1985.

6. *Caric-Lazar M., Schwarz R., Scholtisser Ch.* Eur. J. Biochem., v. 91, p. 51—61, 1978.
7. *Чаева Л. С.* Вопр. мед. химии, т. 29, в. 6, с. 51—54, 1983.
8. *Закстельская Л. О., Шебоддов А. В.* — Кн.: «Коронавирусы человека и животных», М., Медицина, с. 22—54, 1977.
9. *Klenk H. D.* — In: Biological membranes, I., Acad. Press, p. 145—183, 1973.
10. *Nagashima K., Wege H., V. ter Meulen.* — In: Myelination and demyelination. (ed. J. Palo) Plenum press, N. York, London, p. 395—409, 1978.
11. *Chao-Se-Wan.* Biochem. Soc. Trans., v. 8, p. 604—605, 1980.
12. *Аннанпесов Х. А., Горбунов Н. В., Тюрин В. А.* Докл. АН СССР, т. 234, № 5, с. 1242—1244, 1984.
13. *Weiner L. P., Johnson R. T., Herdon R. M.* Arch. Neurology, v. 23, p. 298—303, 1973.
14. *Saida T., Saida K., Sielberg D. H.* Acta Neuropath. (Berlin), 48, p. 19—25, 1979.
15. *Таранова Н. П., Кацнельсон И. П.* Вопр. мед. химии, т. 22, № 1, с. 108—112, 1976.
16. *Таранова Н. П.* — Кн.: «Липиды центральной нервной системы при повреждающих воздействиях», Л., «Наука».

Поступила 13. VII. 1990