

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 577.1:577.125:620.186:611.8:615.099.091:615.781

Академик НАН Армении К.Г.Карагезян, А.А.Оганесян, М.А.Шакарян,
Л.М.Овсепян, Р.Л.Данилова, М.К.Карагезян

**Нарушения метаболизма фосфолипидов в мозговой ткани белых
крыс и их место в патогенетическом комплексе
токсических эффектов галотанового наркоза**

(Представлено 26/VII 1996)

В связи с широким применением в хирургической практике наркотических препаратов самого различного происхождения, которые согласно имеющейся научной информации, оказывают вредоносное действие на функционирование биологических систем организма, возникла необходимость обстоятельного изучения природы этих нарушений и изыскания наиболее результативных мер борьбы с ними. Особого внимания заслуживает изучение молекулярных механизмов токсического действия галотанового наркоза на метаболизм фосфолипидов (ФЛ) и интенсивность течения реакций свободнорадикального окисления (СРО) липидов на различных уровнях структурной организации клетки, обуславливающей в известной степени филогенетически запрограммированный уровень постоянства ее активности (¹) и интенсивность процесса трансдукции внешнего сигнала (²).

В программу настоящего исследования включено изучение в общем мозговом гомогенате (ОМГ), митохондриальной и микросомальной фракциях (МХФ и МКФ соответственно) головного мозга животных, находившихся под галотановым наркозом, качественных и количественных нарушений суммарных ФЛ (СФЛ), суммы нейтральных ФЛ (СНФЛ) и кислых ФЛ (СКФЛ), коэффициента К – отношения СНФЛ к СКФЛ, сдвигов содержания лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), сфингомиелинов (СФМ), фосфатидилхолинов (ФХ), фосфатидилэтаноламинов (ФЭ), монофосфоинозитидов (МФИ), ди- и трифосфоинозитидов, фосфатидилсеринов (ФС), фосфатидных кислот, кардиолипинов (КЛ), а также интенсивности течения реакций СРО липидов.

Исследования проводили на 80 беспородных белых крысах-самцах, массой 180-220 г; контрольную группу составили 20 животных. Галотановый наркоз вызывали выдерживанием животных в течение 30 мин в специально предназ-

наченных стеклянных камерах, насыщенных кислородом с примесью галотана, в пределах 1,0-1,5 объемных процента. Выделение МХФ и МКФ мозговой ткани проводили в среде, содержащей 0,25 М раствор сахарозы и 0,01 М раствор ТРИС-НСI буфера, с использованием метода дифференциального центрифугирования. Определение общего содержания белка (3), концентрации малонового диальдегида (МДА) и гидроперекисей производили в соответствующих биологических средах. Экстракцию ФЛ осуществляли из ацетоновых порошков исследуемого материала (4), фракционирование индивидуальных ФЛ — методом одномерной восходящей хроматографии СФЛ в тонком слое силикагеля в системе растворителей хлороформ-метанол-концентрированный аммиак в объемных соотношениях 65:35:5, а их количество рассчитывали в мкг минерализованного липидного фосфора /0,5 г сухого остатка.

Как видно из табл.1, галотановый наркоз у белых крыс характеризуется статистически достоверным изменением ФЛ-ФЛ соотношений в ОМГ, МХФ, МКФ мозговой ткани преимущественно за счет убыли количества ФХ, вызываемой, по всей вероятности, повышением активности фосфолипазы А₂, приводящем также к выходу высоких концентраций незэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) полиенового ряда, продуктов их перекисления и ЛФХ, обладающих в комплексе ярко выраженным мембранотоксическим действием. Отмечаемое при галотановом наркозе уменьшение содержания ФХ, сопрягающееся с параллельно развивающимся возрастанием уровня ФС, расценивается как результат возможного карбоксилирования ФЭ, выступающих в роли промежуточных продуктов, образующихся при деметилировании ФХ и тотчас вовлекающихся в отмеченный процесс биосинтеза ФС. Такое объяснение возможного механизма возрастания уровня ФС в мозговой ткани и ее субклеточных образованиях на фоне галотанового наркоза, на наш взгляд, логично совпадает с сопровождающимся формированием гипоксического синдрома и в целом с проявлением признаков оксидативного стресса, характеризующегося подавлением дыхательной функции МХФ.

Подтверждением вышесказанного является и факт количественного увеличения в МХФ КЛ как важнейших стимуляторов КЛ-зависимых ферментов, катализирующих реакции дыхательной цепи МХФ (5), значение которых трудно переоценить, особенно в условиях ингибирования этой жизненно необходимой функции клетки. Вкупе с ФС и КЛ немаловажно функциональное значение и третьего представителя КФЛ-МФИ, наделенного широким спектром действия и имеющего, в частности, прямое отношение к деятельности фосфоинозитидного и фосфатидилхолинового циклов, кооперация активностей которых обеспечивает течение сложнейших процессов трансдукции внешнего сигнала внутрь клетки и обеспечения механизмов регуляции клеточной активности в целом (6,7), несомненно, страдающей в условиях действия галотана.

Таблица 1

Сдвиги содержания отдельных категорий фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/0,5 г сухого остатка исследуемого материала) в общем мозговом гомогенате (1), митохондриальной (2) и микросомальной (3) фракциях головного мозга белых крыс в контроле (4) и при галотановом наркозе (5)

Показатели	1		2		3	
	4	5	4	5	4	5
ЛФХ	326,6±3,02	374,4±3,11	28,8±2,81	120,8±4,03 ^а	42,7±1,12	60,82±1,23 ^а
СФМ	129,0±2,01	120,9±1,09 ^б	93,3±2,16	52,0±1,99 ^а	49,3 - 2,00	55,21 - 2,23 ^а
ФС	105,8±2,00	122,0±2,32 ^а	47,1±3,11	84,1±3,03 ^а	26,5±1,13	22,82±1,63 ^а
МФИ	246,8±3,07	191,5±2,22 ^а	142,0±3,09	29,0±2,02 ^а	95,0±2,03	74,80±2,91 ^а
ФХ	607,7±6,01	540,2±4,13 ^а	421,0±4,03	262,7±4,40 ^а	238,2±2,01	204,21±2,01 ^а
ФЭ	553,8±3,00	493,0±3,01	320,0±2,23	301,4±1,73 ^а	152,0±2,00	140,02±1,97 ^а
КЛ	106,8±0,32	108,2 - 0,91 ^а	31,1 - 0,40	37,0 - 0,51	—	—
СФЛ	2074,0±6,02	1950,4±4,00 ^а	1085,0±6,04	884,0±5,00 ^а	605,0±2,04	558,00±3,04 ^а
СНФЛ	1616,0±6,09	1528,5±6,05 ^г	863,1±4,02	734,0±3,07 ^а	483,8±1,51	460,21±1,32 ^а
СКФЛ	460,0±3,69	421,7±4,00 ^г	220,0±4,05	50,1±4,16 ^а	121,5±1,16	97,61±1,22 ^а
К	3,5	3,6	3,9	4,9	4,0	4,7

Примечание: а – $P < 0,001$; б – $P < 0,01$; в – $P < 0,02$, г – P недостоверен.

Таблица 2

Сдвиги содержания гидроперекисей (E_{480} /мг белка) и малонового диальдегида (в нМ/мг белка) в общем мозговом гомогенате, митохондриальной и микросомальной фракциях головного мозга белых крыс в неферментативной (1) и ферментативной (2) системах переоxygenения липидов в контроле и галотановом наркозе

Показатели	Контроль		Галотановый наркоз			
	1	2	1	% разницы от контроля	2	% разницы от контроля
Митохондриальная фракция						
Гидроперекиси	$0,75 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,03$	$1,25 \pm 0,05^a$	67,0	$0,99 \pm 0,05^a$	94,0
Малоновый диальдегид	$4,21 \pm 0,09$	$2,02 \pm 0,07$	$6,42 \pm 0,21^a$	52,5	$4,67 \pm 0,06^a$	131,0
Микросомальная фракция						
Гидроперекиси	$0,55 \pm 0,04$	$0,31 \pm 0,03$	$0,73 \pm 0,03^b$	33,0	$0,58 \pm 0,02^a$	90,0
Малоновый диальдегид	$2,07 \pm 0,07$	$1,42 \pm 0,08$	$3,04 \pm 0,17^a$	47,0	$2,07 \pm 0,11^a$	46,0
Общий мозговой гомогенат						
Гидроперекиси	$0,42 \pm 0,06$	$0,29 \pm 0,05$	$0,65 \pm 0,04^a$	55,0	$0,49 \pm 0,04^a$	68,0
Малоновый диальдегид	$1,66 \pm 0,02$	$0,81 \pm 0,07$	$1,86 \pm 0,02^a$	12,0	$1,04 \pm 0,02^b$	29,0

Примечание: а – $P < 0,001$; б – $P < 0,002$, в – $P < 0,01$.

Установленные нами межфракционные изменения ФЛ и ОМГ в внутриклеточных образованиях головного мозга при галотановом наркозе проливают свет на понимание сдвигов К, отражающего специфику функциональных изменений исследованных категорий ФЛ. Изучение особенностей течения процесса перекисеобразования в ОМГ и главным образом в МХФ и МКФ головного мозга продемонстрировало существенные нарушения, отраженные в табл. 2. Токсические эффекты галотана характеризуются ярко выраженным активированием реакций перекисеобразования, особенно в ферментативной (NADPH-зависимой) системе переоxygenения липидов. При этом сравнительно более высокий выход гидроперекисей мы рассматриваем как результат интенсификации реакций СРО липидов, в известной степени свидетельствующей об интенсивности развития болезненного процесса и его генерализации. Описанная закономерность в динамике количественных сдвигов гидроперекисей и МДА, наиболее ярко выраженная в МХФ, затем МКФ мозговой ткани и менее отчетливо проявляющаяся в ОМГ, свидетельствует о том, что активация процессов перекисеобразования является обязательным, но не специфическим компонентом патогенетического комплекса различных болезненных состояний организма, в том числе и своеобразных расстройств, проявляющихся при токсических воздействиях наркотических веществ. Все они сопровождаются не

только интенсификацией процессов деацилирования ФЛ с выходом высоких концентраций ЛФХ, а также НЭЖК, активно вовлекающихся в реакции СРО, но и очевидным изменением внутримолекулярных пертурбаций качественного состава и количественного содержания жирных кислот в самом строении отдельных фракций ФЛ. Благодаря последним осуществляются отчетливо проявляющиеся отклонения физико-химических, метаболических и функциональных свойств указанных соединений.

Институт молекулярной биологии Национальной академии наук Армении
Ереванский государственный медицинский университет

Հայաստանի ԳԱԱ ակադեմիկոս Կ. Գ. ՂԱՐԱԳՅՈՋՅԱՆ, Ա. Ա. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ,
Մ. Ա. ՇԱՔԱՐՅԱՆ, Լ. Մ. ՀՈՎՍԵՓՅԱՆ, Ռ. Լ. ԴԱՆԻՆՈՎԱ, Կ. Մ. ՂԱՐԱԳՅՈՋՅԱՆ

**Սպիտակ առնետների ուղեղային հյուսվածքների ֆոսֆոլիպիդների մետաբոլիկ
խանգարումները և վերջինների դերը գալուտանային նարկոզի տոքսիկ
էֆեկտների պաթոգենեզի վարգապման մեջ**

Սպիտակ առնետների գլխուղեղի ընդհանուր հոմոգենատի, միտոքոնդրիալ և միկրոսոմալ ֆրեկցիաներում գալուտանի լողեցությունը ներքո զարգանում են վաղ արտահայտված խանգարումներ ֆոսֆոլիպիդների տարբեր կատեգորիաների որակական կազմի և քանակության մեջ: Այս խանգարումները զուգորդվում են նշված գոյացություններում լիպիդների ազատ ուղիկալային ռիսկիաների արագացմամբ: Վերջինս բնութագրվում է լիպիդային գերօքսիդների բարձր կոնցենտրացիաների առաջացմամբ, որոնք օժտված են թաղանթատոքսիկ հատկությամբ, մի բան, որ ընկած է տարբեր հիվանդագին վիճակների, այդ թվում և գալուտանային տոքսիկոզների պաթոգենեզի հիմքում:

ЛИТЕРАТУРА – ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ Е.М.Крепс, Липиды клеточных мембран, Л., Наука, 1981. ² К.Г.Карагезян, Ю.В.Тадевосян, Т.Б.Батикян, ДАН СССР, т.295, с.1254-1257 (1987). ³ О.Н.Lowry, N.J.Rosenbrough, A.L.Fart, J.Biol.Chem., v.193, №1, p.265-275 (1951). ⁴ J.Folch, M.Lees, G.Sloane-Stane, J Biol Chem., v.226, p.497-509 (1957). ⁵ Е.Б.Бурлакова, М.И.Джалябова, В.О.Гвахария и др. в кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии, М., Наука, с.113-140 (1982). ⁶ К.Г.Карагезян, Ю.В.Тадевосян, Т.Б.Батикян, ДАН СССР, т.286, с.465-467 (1986). ⁷ К.Г.Карагезян, Э.С.Геворкян, Ю.В.Тадевосян и др., Укр.биохим.журн., т.60, №4, с. 81-83 (1988).