

БИОХИМИЯ

УДК 547.953+611.81+611.96+612.1

Академик К. Г. Карагезян¹, Г. А. Овеян², М. А. Бадалян², А. Г. Овеян³

Изменение фосфолипидного состава митохондриальной фракции
головного мозга и печени белых крыс в условиях
ганглиосимпатэктомии, ваготомии, солярэктомии

(Представлено 8/X 2010)

Ключевые слова: ганглиосимпатэктомия, ваготомия, солярэктомия, митохондриальная фракция, фосфолипиды, лизофосфатидилхолины, фосфолипаза А₂, фосфатидилхолиновый цикл

В современной медико-биологической науке особый интерес представляет выяснение молекулярных механизмов адаптационного действия вегетативной нервной системы (ВНС), и в частности ее периферических отделов, на субклеточные структуры клетки и организм в целом [1,2]. При этом большое значение приобретает изучение изменений качественного и количественного состава фосфолипидов (ФЛ) митохондриальной фракции головного мозга и печени при односторонней ганглиосимпатэктомии (ГСЭ – удаление правого верхнего шейного симпатического ганглия), двусторонней поддиафрагмальной ваготомии, солярэктомии (удаление солнечного сплетения) и сочетании двух последних на седьмые сутки после проведенных вмешательств с учетом наивысшей выраженности наблюдаемых отклонений.

Исследования проводились на 100 беспородных крысах-самцах массой 180-200 г. Удаление ганглия (с констатацией синдрома Клода Бернара-Горнера), поддиафрагмальную ваготомию, солярэктомию и их сочетание производили под легким эфирным наркозом. Крыс декапитировали через 7 суток под легким эфирным наркозом. Выделение митохондриальной фракции головного мозга и печени проводили методом дифференциального центрифугирования [3]. Экстракцию ФЛ осуществляли по Фолчу [4] в модификации Карагезяна [5], состоящей в получении обезвоженных ацетоновых

порошков исследуемого материала как важного условия для достижения максимально эффективного извлечения ФЛ из первоисточников, фракционирование их индивидуальных представителей – методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля с использованием системы растворителей: хлороформ – метанол – аммиак в объемных соотношениях 65:35:5. Пятна ФЛ идентифицировали с помощью химически чистых свидетелей производства фирмы "Sigma" (США) в атмосфере, насыщенной парами йода. Минерализацию липидного фосфора проводили в среде концентрированных серной и азотной кислот [6], с последующим пересчетом его содержания в мкг на 1 мг сухого остатка митохондриальной фракции. Полученные данные были обработаны по методу Стьюдента и программе SPSS 12.0.

Таблица 1

Динамика количественных изменений индивидуальных фракций фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/мг сухого остатка исследуемого материала) в митохондриальной фракции головного мозга белых крыс при односторонней ганглиосимпатэктомии (абсолютные количества $M \pm m$, % разницы от контроля, $n = 8$)

Фосфолипиды	Контроль (К)	Митохондрии правого полушария	% разницы от К	Митохондрии левого полушария	% разницы от К
ЛФХ	0.619 ± 0.004	$1.177 \pm 0.024^*$	+ 90.1	$0.942 \pm 0.016^*$	+ 52.2
ФХ	4.417 ± 0.032	$3.307 \pm 0.016^*$	-25.1	$3.552 \pm 0.031^*$	-19.6
ФЭА	3.155 ± 0.037	$2.085 \pm 0.024^*$	-33.9	$2.533 \pm 0.320^*$	-19.7
ФС	1.787 ± 0.024	$2.278 \pm 0.010^*$	+ 27.5	$2.155 \pm 0.040^*$	+ 20.6
СФМ	1.213 ± 0.037	$1.902 \pm 0.013^*$	+ 56.8	$1.723 \pm 0.024^*$	+ 42.0
МФИ	0.721 ± 0.004	$0.431 \pm 0.002^*$	-40.2	$0.513 \pm 0.004^*$	-28.8
ФК и КЛ	1.000 ± 0.005	$0.713 \pm 0.011^*$	-28.7	$1.178 \pm 0.018^*$	+ 17.8
СНФЛ	9.404 ± 0.108	$8.471 \pm 0.077^*$	-9.9	$8.750 \pm 0.098^{**}$	-7.0
СКФЛ	3.508 ± 0.033	3.422 ± 0.023	-2.5	$3.846 \pm 0.062^{**}$	+ 9.6
СФЛ	12.912 ± 0.141	$11.893 \pm 0.100^{**}$	-7.9	12.596 ± 0.160	-2.4
КФ СНФЛ/СКФЛ	2.68	2.48	-7.5	2.28	-14.9

Примечание: ЛФХ – лизофосфатидилхолины, ФХ – фосфатидилхолины, ФЭА – фосфатидилэтанолламины, ФС – фосфатидилсерины, СФМ – сфингомиелины, МФИ – монофосфоинозитиды, ФК и КЛ – фосфатидные кислоты и кардиолипины, СНФЛ – сумма монофосфоинозитиды, ФК и КЛ – фосфатидные кислоты и кардиолипины, СНФЛ – сумма нейтральных фосфолипидов, СКФЛ – сумма кислых фосфолипидов, СФЛ – сумма всех фосфолипидов, КФ СНФЛ/СКФЛ – коэффициент отношения суммы нейтральных к сумме кислых фосфолипидов, * – $p < 0.001$, ** – $p < 0.01$.

Таблица 2

Динамика количественных изменений индивидуальных фракций фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/мг сухого остатка исследуемого материала) в митохондриальной фракции гепатоцитов белых крыс при двусторонней ваготомии, солярэктомии и их сочетании (абсолютные количества $M \pm m$, % разницы от контроля, $n=8$)

Фосфолипиды	Контроль (К)	Ваготомия	% разницы от К	Солярэктомия	% разницы от К	Сочетание	% разницы от К
ЛФХ	0.646 ± 0.02	$1.20 \pm 0.06^*$	+85.7	$1.00 \pm 0.04^*$	+55.8	$1.21 \pm 0.04^*$	+87.3
ФХ	2.43 ± 0.12	$1.31 \pm 0.10^*$	-46.0	$1.44 \pm 0.10^*$	-40.7	$1.53 \pm 0.10^*$	-37.0
ФЭА	1.47 ± 0.09	$1.176 \pm 0.05^{***}$	-20.0	$1.03 \pm 0.03^{**}$	-29.6	$1.12 \pm 0.03^{**}$	-23.8
ФС	1.04 ± 0.03	$0.88 \pm 0.05^{***}$	-15.5	1.15 ± 0.02	+10.5	$1.38 \pm 0.01^*$	+32.7
СФМ	1.09 ± 0.02	$0.855 \pm 0.02^*$	-21.6	$1.315 \pm 0.02^*$	+20.6	$1.58 \pm 0.01^{**}$	+44.9
МФИ	0.765 ± 0.02	$0.597 \pm 0.01^*$	-22.0	0.735 ± 0.01	-4.3	$0.44 \pm 0.01^*$	-42.4
ФК и КЛ	0.77 ± 0.01	$0.447 \pm 0.01^*$	-42.8	$0.421 \pm 0.01^*$	-45.3	$0.525 \pm 0.01^*$	-31.9
СНФЛ	5.653 ± 0.18	$4.597 \pm 0.15^{**}$	-19.4	$4.79 \pm 0.13^{**}$	-15.0	5.42 ± 0.12	-3.6
СКФЛ	2.586 ± 0.05	$1.923 \pm 0.14^*$	-25.6	$2.31 \pm 0.05^{**}$	-10.5	$2.35 \pm 0.03^*$	-9.1
СФЛ	8.238 ± 0.18	$6.518 \pm 0.17^*$	-21.3	$7.1 \pm 0.13^*$	-13.8	7.8 ± 0.13	-5.3
КФ СНФЛ/СКФЛ	2.19 ± 0.09	2.36 ± 0.06	+7.9	2.07 ± 0.06	+8.0	2.32 ± 0.05	+5.9

Примечание: ЛФХ - лизофосфатидилхолины, ФХ - фосфатидилхолины, ФЭА - фосфатидилэтаноламины, ФС - фосфатидилсерины, СФМ - сфингомиелины, МФИ - монофосфоинозитиды, ФК и КЛ - фосфатидные кислоты и кардиолипиды, СНФЛ - сумма нейтральных фосфолипидов, СКФЛ - сумма кислых фосфолипидов, СФЛ - сумма всех фосфолипидов, КФ СНФЛ/СКФЛ - коэффициент отношения суммы нейтральных к сумме кислых фосфолипидов, * - $p < 0.001$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.02$.

Результаты проведенных исследований, отраженные в табл. 1, показывают выраженные изменения содержания отдельных ФЛ на фоне недостоверного уменьшения содержания суммарных ФЛ, в частности, митохондриальной фракции эктомированного полушария головного мозга. Так, происходит заметное уменьшение содержания монофосфоинозитидов (МФИ), фосфатидилэтаноламинов (ФЭА), фосфатидных кислот и кардиолипинов (ФК и КЛ), фосфатидилхолинов (ФХ) (на 40.2, 33.9, 28.7 и 25.1% соответственно) и, напротив, увеличение количества лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), сфингомиелинов (СФМ) и фосфатидилсеринов (ФС) (на 90.1, 56.8 и 27.5% соответственно). Такое резкое увеличение содержания ЛФХ, являющееся результатом повышения активности фосфолипазы A_2 , может стать причиной интенсификации процессов свободнорадикального окисления (СРО) липидов в результате ускорения процессов деацилирования, что находит свое подтверждение в уменьшении содержания ФХ (на 25.1%). Особый интерес представляет также изменение содержания ФК и КЛ, являющихся маркерными ФЛ митохондрий. В интактном полушарии эти изменения носят умеренный характер, а содержание ФК и КЛ, наоборот, достоверно возрастает (на 17.8%), что, возможно, имеет компенсаторный характер. Изменения в содержании индивидуальных ФЛ обоих полушарий головного мозга отражаются также на соотношении суммы нейтральных к сумме кислых фосфолипидов (СНФЛ/СКФЛ), что обусловлено разнонаправленными сдвигами содержания нейтральных и кислых ФЛ.

В табл. 2 отражены сдвиги содержания как тотальных, так и индивидуальных ФЛ митохондриальной фракции гепатоцитов при ваготомии, солярэктомии и их сочетании. Здесь особый интерес представляет, с одной стороны, значительное увеличение содержания ЛФХ (на 85.7, 55.8 и 87.3% соответственно), с другой — параллельное уменьшение ФХ (на 46.0, 40.7 и 37.0% соответственно), ФЭА (на 20.0, 29.6 и 23.8% соответственно) и в какой-то степени ФС при ваготомии (~ на 15.5%), тенденция к увеличению при солярэктомии (на 10.5%) и достоверное увеличение при их комбинации (на 32.7%). Эти данные свидетельствуют о расстройствах в нормальном функционировании фосфатидилхолинового цикла в изучаемых структурах, а также и процессов де- и рецилирования митохондриальных ФЛ [7,2], чреватых изменениями интенсивности процессов СРО и приводящих к подавлению активности мембраносвязанных липидзависимых ферментных систем [8,9], что может привести к расстройствам структурной организации и функциональной активности этих важнейших субклеточных элементов головного мозга и печени. Так, расстройства статуса ФЛ-ФЛ соотношений в митохондриальной фракции клеток мозга и печени чреваты резким

нарушением активности различных цитохромов, катализирующих электрон-транспортующие механизмы на уровне внутренних мембран этих образований [10,11]. А стимулирующая роль ФК и КЛ в функциональной активности Na^+, K^+ -АТФаз [12] оказывается несовершенной, поскольку содержание этих липидов в изучаемых экстремальных условиях заметно убывало. Заслуживает особого внимания и прослеженная при ваготомии и ГСЭ убыль содержания ФХ и ФЭА (на 46.0 и 20.0; 25.1 и 33.9% соответственно), отрицательно отражающаяся на активности пируватоксидазы и Mg^{2+} -АТФазы [13], и содержания ФК и КЛ (на 42.8 и 28.7% соответственно) – на функциональное состояние сукцинатдегидрогеназы, NADH-дегидрогеназы [14] и глутаматдегидрогеназы, что в конечном счете может привести к разному извращению статуса клеточной активности в целом. Кроме того, меняются СНФЛ, СКФЛ, коэффициент СНФЛ/СКФЛ и содержание тотальных ФЛ в целом также при ваготмии, солярэктомии и их сочетании. Данные по изменению содержания СФМ, в частности, определенное уменьшение их количества при ваготмии (на 21.6%) и достоверное увеличение при солярэктомии и ее сочетании с ваготмией (на 20.6 и 44.9% соответственно) и ГСЭ (на 56.8%) носит компенсаторный характер и может играть определенную роль в реорганизации митохондриальных мембран.

Таким образом, при изучаемых экстремальных состояниях имеют место глубокие изменения структурных единиц митохондрий мозга и печени, чреватые последующими осложнениями, в частности, деструкцией митохондриальных мембран. Эти изменения свидетельствуют также о важной роли ВНС, особенно ее периферических отделов в регуляции нормальной жизнедеятельности субклеточных структур, клеток, органов и организма в целом [1,2,15].

¹ Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА

² Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА

³ Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци

Академик К. Г. Карагезян, Г. А. Овеян, М. А. Бадалян, А. Г. Овеян

Изменение фосфолипидного состава митохондриальной фракции головного мозга и печени белых крыс в условиях ганглиосимпатэктомии, ваготомии, соларэктомии

Показаны значительные изменения качественного и количественного состава фосфолипидов митохондриальной фракции клеток головного мозга и печени белых крыс в условиях ганглиосимпатэктомии, ваготомии, соларэктомии и при их сочетании, свидетельствующие о серьезных расстройствах в структурной организации и функциональной активности вышеуказанных субклеточных структур.

Ակադեմիկոս Կ. Գ. Ղարազյոզյան, Գ. Ա. Նովեյան, Մ. Ա. Բադալյան, Ա. Գ. Նովեյան

Սպիտակ առնետների գլխուղեղի եւ լյարդի միտոքոնդրիումային ֆրակցիաների ֆոսֆոլիպիդային կազմի փոփոխությունները գանգլիոսիմպաթեկտոմիայի, վագոտոմիայի, սոլարեկտոմիայի պայմաններում

Ցույց են տրված սպիտակ առնետների գլխուղեղի եւ լյարդի բջիջների միտոքոնդրիումային ֆրակցիաների ֆոսֆոլիպիդների որակական եւ քանակական կազմի զգալի փոփոխություններ գանգլիոսիմպաթեկտոմիայի, վագոտոմիայի, սոլարեկտոմիայի եւ դրանց զուգակցման պայմաններում՝ վկայելով վերոնշյալ ենթաբջջային գոյացությունների կառուցվածքային կազմակերպման եւ ֆունկցիոնալ ակտիվության լուրջ տեղաշարժերի մասին:

Academician K. G. Karageuzyan, G. A. Hoveyan, M. A. Badalyan, A. G. Hoveyan

Changes of Phospholipids Composition of White Rat Brain and Liver Mitochondrial Fractions under Conditions of Gangliosympathectomy, Vagotomy, Solarectomy

The obtained data have shown the considerable changes in the qualitative and quantitative composition of phospholipids in white rat brain and liver cells mitochondrial fractions under conditions of gangliosympathectomy, vagotomy, solarectomy and their combination, testifying serious disturbances in structural organization and functional activity of above mentioned subcellular structures.

Литература

1. Hoveyan G.A. - Neurochemistry (Russia). 2002. V. 19. N1. P. 66-69.
2. Badalyan M.A., Hoveyan G.A. Sukiasyan L.M. et al. - Neurochemistry (Russia). 2002. V. 19. N1. P. 70-74.

3. Прохорова М.И. В кн.: Методы биохимических исследований. Липидный и энергетический обмен. Учебное пособие. 1982. С. 29-43.
4. Folch J., Lees M., Sloane-Stane G. - J. Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497-509.
5. Карагезян К.Г. В кн.: Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван, Айастан. 1972. 267 с.
6. Ames B.N. - Meth. Enzymol. 1966. V. 8. P. 115-118.
7. Steven L., Pelech A., Vence E. - Trends Biochem. Sci. 1989. V. 14. N1. P. 28-30.
8. Бурлакова Е.Б., Архипова Г.А., Голощапов А.Н. и др. В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М. Наука. 1982. С. 74-83.
9. Melkonyan M.M., Karageuzyan K.G., Hoveyan G.A. et al. - J. Neurochemistry. 1997. P. 761-764.
10. Крепс Е.М. В кн.: Липиды клеточных мембран. Л. Наука. 1981. 330 с.
11. Teclebran H., Jacobssonborin A., Brunk U., Dallner G. - BBA-Lipid Lip Med 1995. V. 1256. N2. P. 157-163.
12. Coleman R. - Biochim. et Biophys. acta. 1973. V. 300. N1. P. 1-30.
13. Peter H.W., Wiese F., Grasyński K. - J. Develop. Biol. 1975. V. 46. N2. P. 439-445.
14. Brierley G.P., Morola A.J. - Biochim. et Biophys. acta. 1962. V. 64. P. 205-217.
15. Karageuzyan K.G., Hoveyan G.A., Kevorkian G.A., Hoveyan A.G. - Reports of NAS RA. 2010. V. 110. N3. P. 285-290.