

К. Г. КАРАГЕЗЯН

## ФОСФОЛИПИДЫ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У СОБАК ПРИ СОСТОЯНИЯХ, БЛИЗКИХ К ИНСУЛИНОВОЙ КОМЕ

В наших прежних исследованиях [1 — 3], проведенных методом артериовенозной разницы [5] на собаках в хроническом эксперименте, было показано, что гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) и адреналин при внутриартериальных введениях в определенных концентрациях заметно увеличивают общее количество липидного фосфора в крови, оттекающей от головного мозга. В дальнейшем в опытах на белых крысах было установлено, что под действием указанных факторов развиваются также глубокие изменения в общей сумме липидного фосфора и индивидуальных фосфолипидов головного мозга и печени подопытных животных с соответствующими сдвигами в величине количественных соотношений отдельных фракций. Учитывая существующую анатомическую и функциональную связь между головным, спинным мозгом и цереброспинальной жидкостью (ЦСЖ), физиологическое значение которой в деятельности центральной нервной системы до сих пор остается невыясненным, представляло интерес изучение качественного и количественного фосфолипидного состава ЦСЖ в нормальных условиях и его изменения при различных функциональных состояниях у собак.

Недавно проведенные исследования [4, 7] с помощью бумажной хроматографии позволили установить качественный состав фосфолипидов ЦСЖ, который совершенно идентичен фосфолипидному спектру мозговой ткани, и на хроматограмме проявляется в виде X-фосфолипидов (ХФ) монофосфоинозитфосфатидов (МФИФ), сфингомиелинов (СФМ), лецитинов (Л), серинфосфатидов (СФ), этанол-аминфосфатидов (ЭФ) и полиглицерофосфатидов (ПФ). В количественном отношении фосфолипиды ЦСЖ значительно уступают фосфолипидам головного мозга. Липидный фосфор в общем гомогенате нервной ткани у собак колеблется в пределах 2200 — 2600 мкг/г свежей ткани, а в ЦСЖ составляет всего 0,6 — 0,9 мкг/мл. В дальнейшем в условиях инсулиновой гипогликемии (1,2 — 2,4 ед/кг веса животного) было установлено значительное понижение (на 30,0%) уровня общего липидного фосфора в ЦСЖ у собак, причем это обеспечивалось, главным образом, за счет ХФ, МФИФ, СФМ и Л, тогда как содержание СФ, наоборот, заметно (в 5 раз) возрастало по сравнению с контролем.

Учитывая многочисленные литературные данные относительно су-

ществующей зависимости между фармакологическим эффектом ряда веществ, в частности инсулина, и их применяемой дозой, мы нашли целесообразным изучить количественные изменения фосфора суммарных и индивидуальных фосфолипидов ЦСЖ у собак в условиях тяжелой формы инсулиновой гипогликемии (на грани гипогликемической комы), развивавшейся при внутривенных введениях 3,6 ед. инсулина/кг веса животного. Предварительные наблюдения показали, что количество общего липидного фосфора в ЦСЖ у собак в среднем составляет около 73,0 мкг%. Начиная с 5-й мин. после внутривенного введения указанной дозы инсулина наблюдалось развитие характерных признаков возбуждения в виде беспокойства, хорошо выраженного мидриаза, одышки, слюноотделения, учащения ритма сердечной деятельности. Спустя 30 мин. после введения инсулина с максимальным падением уровня глюкозы в крови наблюдалось судорожное сокращение периферической мускулатуры и мышц лица, которое достигало своего наибольшего развития к 60-й мин. На этом фоне инсулиновой гипогликемической реакции мы брали ЦСЖ в количестве 5—10 мл и обрабатывали ее для получения ацетонового порошка и фосфолипидного экстракта последнего с последующей хроматографией на бумаге, пропитанной кремниевой кислотой [6, 8].

Таблица 1

Количественные изменения липидного фосфора в ЦСЖ у собак при внутривенных введениях 3,6 ед. инсулина/кг веса

Фосфолипиды ЦСЖ	Количество липидного фосфора в мкг %		Разница	% разницы от контроля	% разницы от суммы разностей
	контроль (10)	инсулин (10)			
ХФ	3,6	7,0	3,4	+ 94,0	0,50
МФИФ	6,5	25,0	18,5	+ 284,4	2,40
СФМ	13,9	116,0	102,1	+ 734,5	15,00
Л	39,2	506,0	466,8	+ 1200,0	68,50
СФ	4,0	64,0	60,0	+ 1500,0	9,40
ЭФ	2,7	10,0	7,3	+ 270,0	1,40
ПФ	3,2	20,0	16,8	+ 525,0	2,80
Сумма	73,1	748,0	674,9	+ 923,0	100,00

Как видно из табл. 1, при внутривенных введениях инсулина в дозе 3,6 ед/кг веса животного имеют место заметные изменения в количестве суммарного липидного фосфора и индивидуальных фосфолипидов ЦСЖ. Однако эти сдвиги оказались диаметрально противоположными по сравнению с теми, что наблюдались под действием инсулина в количестве 1,2—2,4 ед/кг веса животного. Так, например, если в условиях гипогликемии, развивавшейся под действием этого количества инсулина, наблюдалось значительное понижение суммарного липидного фосфора в ЦСЖ с соответствующими изменениями в уровне индивидуальных фос-

фолипидов, то при состояниях, близких к гипогликемической коме, наступавших через 60 мин. после внутривенного введения 3,6 ед. инсулина, наоборот, имело место значительное увеличение суммарного фосфолипидного фосфора от 73,1 до 748,0 мкг%, т. е. на 676,9 мкг%, что приблизительно составляло 923,0% от контрольного уровня и обеспечивалось за счет увеличения содержания всех фосфолипидных фракций (табл. 1). Более чем 68,5% этого увеличения приходится на долю Л, затем СФМ (15,0%), СФ (9,4%) и т. д. Сравнивая уровень липидного фосфора индивидуальных фосфолипидов в ЦСЖ через 60 мин. после введения инсулина с контролем, мы обнаружили увеличение уровня всех фракций, причем наименьшее приходилось на фосфор ХФ (+94,0%), а наибольшее — на фосфор СФ и Л (1500,0 и 1200,0% соответственно). Для суждения о фосфолипидах ЦСЖ у собак в условиях тяжелой инсулиновой гипогликемии, близкой к шоковому состоянию, важно не только констатировать их количественные сдвиги, но и устанавливать величины соотношений между количествами отдельных фосфолипидов в виде определенных коэффициентов, имеющих, по-видимому, не меньшее значение в определении роли индивидуальных фосфолипидов в создававшихся функциональных и патологических состояниях организма.

Исходя из этого, мы вычислили коэффициенты количественных соотношений между содержанием фосфора всех нейтральных и кислых фосфолипидов в ЦСЖ до и после развития состояния тяжелой инсулиновой гипогликемии. Из табл. 2, видно, что через 60 мин. после введения инсулина на фоне четко выраженной гипогликемической реакции наблюдается закономерное увеличение коэффициентов отношения количества липидного фосфора СФМ, Л к уровню фосфора всех кислых фосфолипидов в отдельности за исключением СФ. Этот факт свидетельствует о значительном понижении содержания ХФ, МФИФ и ПФ в ЦСЖ при изученных состояниях гипогликемии. Что касается СФ, то их уровень в ЦСЖ, наоборот, заметно возрастал, что, по-видимому, имеет определенное физиологическое значение в метаболизме самой нервной ткани и ЦСЖ.

С небольшими отклонениями указанные закономерности наблюдались и в коэффициентах ЭФ ко всем кислым фосфолипидам за исключением коэффициента ЭФ/МФИФ, который не изменился по сравнению с контролем и ЭФ/ПФ, понижавшийся по сравнению с исходным и указывавший на относительное повышение количества ПФ по отношению к уровню ЭФ.

На основании вышеизложенного создается общее впечатление о заметном понижении относительного содержания кислых фосфолипидов в ЦСЖ в условиях тяжелой инсулиновой гипогликемии, хотя их абсолютное количество в ЦСЖ, как видно из табл. 2, повышается. Однако в значительно большей степени увеличивается количество нейтральных фосфолипидов, которое и создает большой разрыв между уровнями

нейтральных и кислых фосфолипидов по сравнению с тем, что наблюдается в ЦСЖ контрольной серии опытов и соответствующим образом отражается в величине вышеуказанных коэффициентов. Проведенные исследования позволяют заключить, что инсулин, примененный в больших дозах (3,6 ед/кг веса животного), у подопытных собак вызывает резкое повышение уровня липидного фосфора в ЦСЖ. Эти сдвиги оказались совершенно противоположными по сравнению с теми, что наблюдались в наших предыдущих исследованиях с инсулиновой гипогликемией, развивавшейся при внутривенных введениях сравнительно низких доз инсулина (1,2—2,4 ед/кг веса животного). На основании этих данных можно высказать предположение, что функциональные состояния центральной нервной системы сопровождаются не только поглощением фосфолипидов головным мозгом из периферического кровотока и выделением их

Таблица 2

Величина отношений количества нейтральных фосфолипидов к кислым (по фосфору) в ЦСЖ у собак в норме и через 60 мин. после введения инсулина на фоне тяжелой гипогликемии

Отношение нейтральных фосфолипидов к кислым	Липидный фосфор в мкг ‰		Приблизительные коэффициенты	
	контроль	под действием инсулина	контроль	под действ. инсулина
СФМ/ХФ	13,9/3,6	116,0/ 7,0	3,9	16,6
СФМ/МФИФ	13,9/6,5	116,0/25,0	2,1	4,6
СФМ/СФ	13,9/4,0	116,0/64,0	3,5	1,8
СФМ/ПФ	13,9/3,2	116,0/20,0	4,3	6,0
Л/ХФ	39,2/3,6	506,0/ 7,0	11,0	72,3
Л/МФИФ	39,2/6,5	506,0/25,0	6,0	20,2
Л/СФ	39,2/4,0	506,0/64,0	10,0	7,9
Л/ПФ	39,2/3,2	506,0/20,0	12,3	25,3
ЭФ/ХФ	2,7/3,6	10,0/ 7,0	0,8	1,4
ЭФ/МФИФ	2,7/6,5	10,0/25,0	0,4	0,4
ЭФ/СФ	2,7/4,0	10,0/64,0	0,7	0,2
ЭФ/ПФ	2,7/3,2	10,0/20,0	0,8	0,5

в кровь. Накопленный нами материал позволяет заключить, что в этих реакциях организма активно участвуют также фосфолипиды ЦСЖ. При более глубоком анализе полученных результатов становится очевидным количественное повышение в ЦСЖ у собак всех фосфолипидов без исключения. Однако эти сдвиги происходят в самой различной степени и несравненно больше со стороны нейтральных фосфолипидов в связи с чем кислые фосфолипиды оказываются на относительно низком уровне, чем это наблюдалось в контрольных опытах.

Таким образом, исходя из многочисленных литературных данных, свидетельствующих об огромной роли инсулина в процессах проницаемости через клеточные мембраны, мы убедились также в стимули-

рующем воздействии различных доз инсулина на процессы проникновения фосфолипидов из ЦСЖ в нервную ткань и, наоборот, расценивая эти реакции как один из возможных механизмов количественных перемещений указанных веществ в центральной нервной системе. Если допустить, что ЦСЖ выступает в роли межклеточной субстанции головного мозга, то высказываемое предположение становится наиболее очевидным. Проведенные исследования проливают свет на дальнейшее изучение количественных сдвигов отдельных фосфолипидов в центральной нервной системе, ЦСЖ и в крови, питающей головной мозг и оттекающей от него при гипогликемических состояниях различной тяжести. При этом, по-видимому, наступают определенные физиологические и патологические изменения в деятельности различных отделов головного мозга, на фоне которых изучение функциональной перестройки в биохимической активности фосфолипидов и их количественные изменения заслуживают большого внимания.

### В ы в о д ы

1. В условиях тяжелой инсулиновой гипогликемии (близкой к шок-овому состоянию), наступавшей через 60 мин. после внутривенного введения 3,6 ед/кг веса инсулина, имеет место значительное увеличение липидного фосфора в ЦСЖ.

2. Более чем 68,5% этого увеличения обеспечивается за счет Л, затем 15,0% — СФМ, 9,4% — СФ. Наименьшее увеличение по сравнению с контролем обнаруживается в количестве ХФ — 94,0%, а наибольшее — СФ и Л — 1500,0 и 1200,0% соответственно.

3. В условиях тяжелой инсулиновой гипогликемии наблюдается относительное уменьшение уровней ХФ, МФИФ и ПФ в ЦСЖ и, наоборот, увеличение содержания СФ.

4. Инсулин в массивных дозах (3,6 ед/кг веса животного) вызывает резкие изменения в содержании фосфолипидов в ЦСЖ в сторону увеличения.

Институт биохимии  
АН Арм. ССР

Поступило 25/XII 1967 г.

Կ. Գ. ՂԱՐԱԳՅՈՉՅԱՆ

ՇՆՆՐԻ ՈՂՆՈՒՂԵՂԱՅԻՆ ՀԵՂՈՒԿԻ ՖՈՍՖՈԼԻՊԻԴԻՆԵՐԸ ԻՆՍՈՒԼԻՆԱՅԻՆ  
ԿՈՄՍՅԵ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Մեր կատարած հետազոտություններից պարզվել է, որ ծանր ինսուլինա-  
յին հիպոգլիկեմիայի (շոկային վիճակին մոտ) պայմաններում, որը տեղի է  
ունենում 3,6 միավոր/կգ քաշին ինսուլինի ներերակային ներարկումից 60  
րոպե հետո, ողնուղեղային հեղուկում տեղի է ունենում լիպիդային ֆոսֆորի  
նշանակալից ավելացում: Այդ ավելացման ավելի քան 68,5%-ը ապահովվում  
է ի հաշիվ լիցիթինների, 15%-ը՝ ի հաշիվ սֆինգոմիելինների, 9,4%-ը՝ սերին-

ֆոսֆատիդների հաշվին: Կոնտրոլի մակարդակի հետ համեմատած ամենից քիչ բարձրանում է X-ֆոսֆոլիպիդի քանակությունը՝ 94%-ով: Ամենաշատ բարձրացումը նկատվում է սերինֆոսֆատիդների և լեցիթինների մոտ, համապատասխանաբար՝ 1500,0 և 1200,0%-ով:

Մանր ինսուլինային հիպոգլիկեմիայի պայմաններում ողնուղեղային հեղուկում դիտվում է X-ֆոսֆոլիպիդի, մոնոֆոսֆոինոզիտֆոսֆատիդների և պոլիգլիցերոֆոսֆատիդների մակարդակի հարաբերական իջեցում և ընդհակառակը՝ սերինֆոսֆատիդների պարունակության բարձրացում:

Ինսուլինի 3,6 միավոր/կգ քաշին ղողան ողնուղեղային հեղուկում առաջ է բերում ֆոսֆոլիպիդների պարունակության խիստ փոփոխություն՝ նրանց ավելացման ուղղությամբ:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Карагезян К. Г. Доклады АН СССР, 1966, т. 170, 4, стр. 985.
2. Карагезян К. Г. Вопросы медицинской химии, 1968, 1, стр. 27.
3. Карагезян К. Г. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1968, 1, стр. 63.
4. Карагезян К. Г. Биологический журнал Армении, 1967, XX, 2, стр. 68.
5. Кедров А. А., Науменко А. И. и Дегтярова З. Я. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1954, 9, стр. 10.
6. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. Биохимия, 1961, 26, стр. 1027.
7. Karageosian C. G. Seventh Int. Congress Biochemistry, Abstracts IV. Tokyo, 1967, 743.
8. Marinetti G. V., Stotz E. Biochim. Biophys. Acta, 1956, 21, 168.