

էքսպեւ. և կլինիկ. բժշկ. ճանդես

XV, № 4, 1975

Жури, экспер. н клинич, медицины

УДК 616-036.88+616.831

г. с. хачатрян, э. е. назаретян

СДВИГИ В СОДЕРЖАНИИ СВОБОДНЫХ И СВЯЗАННЫХ ГАНГЛИОЗИДОВ В МОЗГЕ ПРИ ТЕРМИНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ

Изучены в сличественные сдвиги в содержании свободных и связанных гонглиозидов при терминальных состояниях организма.

Показано, что при уретановом наркозе и смертельном кровопускании содержание с ободных и связанных ганглиозидов особым изменениям не подвергается. При эксперементальной клинической смерти содержание свободных ганглиозидов несколько потежается, в то время как количество связанных ганглиозидов не претерпевает изменения. Пониженный уровень содержания свободных ганглиозидов отмечается и при о кивлении организма на 20 мин. При этом количество связанных ганглиозидов также не изменяется. Полученные данные показывают, что связанные ганглиозиды, являясь трудномобилизуемыми веществами, не могут быть использованы мозговой тканью при терминальных состояниях.

Обмен гликолипидов, в частности цереброзидов и ганглиозидов, тесно связан с ферментной системой уридилтрансфераз [4, 6, 9]. Нашими предыдущими исследованиями было установлено, что активность УДФ галактозо-4-эпимеразы, а также количество свободных и связанных цереброзидов подвергаются определенным изменениям при терминальных состояниях [7, 8].

В настоящем исследовании ставилась задача изучать количественные сдвиги в содержании свободных и связанных ганглиозидов при терминальных состояниях организма.

Методика

Опыты ставили на белых крысах-самцах весом 180—200 г. Животные содержались в одинаковых условиях на строгом пищевом рационе. Было произведено пять серий экспериментов.

Первая серия служила контролем. Подопытных крыс этой серии подвергали замораживанию в жидком азоте. Экспериментальных животных второй и последующих серий опытов подвергали уретановому наркозу в дозе 100 мг/100 г веса животных внутрибрюшинным введением. Подопытных крыс второй серии опытов на фоне наркоза также подвергали замораживанию. В третьей серии опытов на фоне наркоза проводили смертельное кровопускание для получения клинической смерти и на четвертой минуте после начала кровопускания животных замораживали. В четвертой серии опытов на фоне уретанового наркоза и кровопускания вызывали клиническую смерть и на восьмой минуте пос-

ле начала кровопускания также замораживали животных. Фоном терминального состояния (клиническая смерть) послужило исчезновение сердечной и дыхательной ритмики, корнеальных рефлексов и падение артериального давления до нуля. В пятой серии опытов на фоне клинической смерти производили оживление организма путем внутриартериального нагнетания выпущенной крови и на 20-й мин после оживления замораживали животных. У подопытных животных всех серий экспериментов после замораживания извлекали головной мозг и определяли содержание свободных и связанных ганглиозидов. Ганглиозиды определяли по методу М. Ш. Промыслова [2]: 100 мг ткани мозга, высушенной в вакууме, экстрагировали в аппарате Сокслета последовательно 95%-ным ацетоном, эфиром и 95%-ным ацетоном по 45 мл с каждым из растворителей, после чего экстракция велась смесью хлороформа с метанолом (2:1) в течение 2 часов. Хлороформ-метаноловый экстракт в делительной воронке смешивали с 0,1% раствором CaCl₂ в течение 20 мин и оставляли на 15 часов, после чего солевой раствор выпаривали в вакууме при 60°С. Это обеспечивало наилучшее отделение муколипидов. Полученный сухой остаток встряхивали в течение 5 мин с 20 мл серного эфира. Эфир сливали, а остаток растворяли в 10 мл дистиллированной воды. В 5 мл отфильтрованного раствора с помощью антрона определяли количество углевода. Количество ганглиозида выражали по мг на 1 г сухого веса ткани.

Определение связанной фракции муколипидов (ганглиозидов) и др.) производилось следующим образом: белки, оставшиеся после экстракции смесью хлороформа с метанолом, подвергали обработке 20 мл 1% сернокислого метанола в кипящей водяной бане в течение часа. В этом случае происходит гидролиз липопротеиновых комплексов, а освободившиеся при этом муколипиды переходят в метанол. К оставшемуся отфильтрованному раствору метанола прибавляли двойной объем хлороформа, после чего муколипиды экстрагировали 0,1% CaCl₂ и продолжали определять, как описано выше.

Результаты и обсуждение

Сдвиги в содержании свободных и связанных ганглиозидов в моэге в норме и при терминальных состояниях организма приведены в таблице.

Как показывают данные таблицы, содержание свободных ганглиозидов в мозге крыс контрольной группы составляет 1,30±0,02 мг на 1 г сухого белка мозговой ткани. Уретановый наркоз приводит к незначительному увеличению содержания свободных ганглиозидов по сравнению с фоном контрольных опытов. При этом их количество составляет 1,42±0,018 мг на 1 г сухого белка. Смертельное кровопускание, произведенное с целью получения модели экспериментальной клинической смерти, вызывало недостоверное понижение количества свободных ганглиозидов в мозге. Анализ полученных данных показывает, что при

Таблица Сдвиги в содержании свободных и связанных ганглиозидов в мозге в норме и при терминальных состояниях (по галактозе в мг на 1 г сухого белка)

Средине данные	Контроль	Уретановый наркоз	Кровопускание	Клиническая смерть	Оживление
August Leits	The same of the	Свобдные	ганглиозиды	UNIQUE LE	in green
M+m	$ \begin{array}{r} 1.31 \pm 0.02 \\ \pm 0.06 \\ - \end{array} $	1,42±0,018 5 ±0,04	1,21±0,04 5 ±0,1 -	$0,99 \pm 0,025$ $\pm 0,08$ < 0,05	0,81±0,01 10 ±0,035 <0,05
		Связанные	ганглиозиды		
M±m n ₅ P	6,53±0,09 ±0,228	6,07±0,018 ±0,04	6,53 <u>+</u> 0,15 +0,39	6,08±0,08 10 ±0.256	6,08±0,06 10 ±0,192

уретановом наркозе и смертельном кровопускании содержание свободных ганглиозидов в мозге особым изменениям не подвергается.

Представляют определенный интерес полученные нами данные при экспериментальной клинической смерти. При этом содержание свободных ганглиозидов несколько понижается и составляет 0,99±0,025 против 1,31±0,02 мг/г в контрольных опытах. Понижение содержания свободных ганглиозидов продолжается и при оживлении организма на 20 мин. Как показывают данные таблицы, при оживлении организма содержание свободных ганглиозидов составляет 0,81±0,01 мг на 1 г сухого белка.

Таким образом, исследование количественных сдвигов в содержании свободных ганглиозидов при терминальных состояниях выявило изменения в их содержании жак при клинической смерти, так и в начальные периоды оживления организма.

На фоне некоторого изменения в содержании свободных ганглиозидов при терминальных состояниях представляло интерес изучение количественных сдвигов в содержании связанных ганглиозидов при тех же терминальных состояниях.

Как показывают данные таблицы, содержание связанных ганглиозидов в контрольных опытах составляет 6,53±0,09 мг на 1 г сухого белка. При уретановом наркозе содержание свободных ганглиозидов особым изменениям не подвергается и составляет 6,07±0,018 мг на 1 г сухого белка. Характерно, что при терминальных состояниях (смертельное кровопускание, клиническая смерть) количество связанных ганглиозидов также не подвергается изменениям. При этом содержыние связанных ганглиозидов соответственно составляет 6,53±0,15 и 6,08±0,08 мг на 1 г сухого белка.

Полученные данные с достоверностью показывают, что связанные ганглиозиды не мобилизуются и не могут быть использованы мозговой тканью даже при тяжелых условиях деятельности мозга, когда полностью прекращено поступление О2 из крови в мозг. Характерно, что

содержание связанных ганглиозидов не изменяется и при оживлении организма. При этом количество связанных ганглиозидов составляет 6,08±0,06 мг на 1 г сухого белка.

Полученные данные показывают, что при терминальных состояниях может претерпевать изменения только количество свободных ганглиозидов, тогда как связанные ганглиозиды никаким изменениям не подвергаются.

выводы

- 1. Содержание свободных и связанных ганглиозидов в норме в мозге крыс составляет соответственно 1,31±0,02 и 6,53±0,09 мг на 1 г сухого белка. Количество свободных и связанных ганглиозидов не подвергается особым изменениям при уретановом наркозе.
- 2. Содержание свободных ганглиозидов имеет тенденцию к понижению при смертельном кровопускании и в особенности при клинической смерти. Количество связанных ганглиозидов не изменяется при тех же стадиях терминального состояния. При этом их количество соответственно составляет: 1,21±0,04; 0,99±0,025 и 6,53±0,15; 6,08±0,08 мг на 1 г сухого белка.
- 3. Содержание свободных ганглиозидов остается пониженным и при восстановлении жизненных функций организма (на 20 мин), тогда как количество связанных ганглиозидов не подвергается изменениям. При этом их количество соответственно составляет 0,81±0,01 и 6,08±0,06 мг на 1 г сухого белка.

.Лаборатория биосинтетических реакций мозга и Кафедра биохимии Ереванского медицинского института

Поступила 25/ІХ 1974 г.

9. U. WUQUSPBUL, E. b. LUQUPBPBUL

ՏԵՐՄԻՆԱԼ ՎԻՃԱԿՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ «ԱԶԱՏ» ԵՎ «ԿԱՊՎԱԾ» ԳԱՆԳԼԻՈԶԻԴՆԵՐԻ ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՏԵՂԱՇԱՐԺԵՐԸ ՈՒՂԵՂՈՒՄ

Udhnhnid

Ուսումնասիրված է «ազատ» և «կապված» գանգլիոզիդների քանակական տեղաշարժերը առնետների գլխուղեղում՝ նորմայում, ուռեթանային անզգայացման, մահացու արյունահոսության, կլինիկական մահվան և հետագա վերակենդանացման ժամանակ։

Հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ «ազատ» գանգլիոզիդները ուղեղում ուռեթանային անզդայացման և մահացու արյունահոսության ժամանակ նկատելի փոփոխությունների չեն ենթարկվում, Սակայն կլինիկական մահվան ժամանակ նրանց քանակությունը որոշ չափով պակասում է և այդ իջեցումը պահպանվում է օրգանիզմի վերակենդանացման 20 րոպեին։ Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ մահացու արյունահոսության հետևանքով առաջացած օրգանիզմի տերմինալ վիճակներում քանակական տեղաշարժերի կարող են ենթարկվել միայն «ազատ» գանգլիոզիդները, իսկ «կապված» գանգլիոզիդների չի են-թարկվում։

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Мхеян Э. Е I Всесоюзный биохим. съезд. Л., 1964, стр. 111.
- 2. Промыслов М. Ш. Укр. бнох. журнал, 1962, 34, 3, стр. 451.
- 3. Промыслов М. Ш. III Всесоюзная конф. по биохимии нервной системы. Ереван, 1963, стр. 38.
- 4. Промыслов М. Ш., Попова Р. М. Вопросы мед. химин, 1972, 17, 3, стр. 227.
- 5. Туманова С. Ю., Прохорова М. И., Романова Л. В сб.: Химия и биохимия углеводов. М., 1968, стр. 298.
- 6. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга. Ереван, 1967.
- Хачатрян Г. С., Назаретян Э. Е., Азгалдян Н. Р. Биол. журнал Армении, 1971, т. XXIV, 11, стр. 19.
- Хачатрян Г. С., Назаретян Э. Е., Азгалдян Н. Р. Вопросы мед. химии, 1972, т. XVII, 6, стр. 591.
- 9. Tousfer O. Federation Proc., 1960, 19, 977.
- 10. Zakim D. Arch. Biochem. and Biophys., 1972, 148, 1, 97.