



УДК 577.125.33.612.82

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ И ОБМЕНА ФОСФОЛИПИДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТЕКЕ МОЗГА

КАРАГЕЗЯН К. Г., \*САМВЕЛЯН В. М., ОВСЕПЯН Л. М.,  
МАМАДЖАНЫН Л. З., ЗАХАРЯН Э. К.

Институт биохимии АН АрмССР, \*Институт кардиологии им. Л. А. Оганесяна, Ереван

Отек головного мозга относится к числу наиболее распространенных и крайне тяжелых осложнений в клинике самых разнообразных заболеваний [1, 2]. В основе происходящих при этом метаболических изменений лежит, в первую очередь, нарушение структуры и функции нейромембран.

Одним из факторов, вызывающих нарушение фосфолипидного состава мембран, является развитие в них процесса перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот, приводящее к увеличению количества перекисей и образованию в мембранах так называемых пор, что обуславливает значительное изменение проницаемости. Образование перекисей липидов регулируется каталитическими системами. Небелковая система перекисного окисления (аскорбатзависимая) включает в себя ионы металлов переменной валентности и использует в качестве восстановителя аскорбиновую кислоту. Она не проявляет чувствительности к нагреванию и сульфгидрильным ядам и представлена во всех субклеточных образованиях. Другая, так называемая ферментная система является характерной для эндоплазматического ретикулума, использует в качестве донора электронов восстановленный NADP и инактивируется нагреванием и п-хлормеркурибензоатом [3].

Задачей данной работы было изучение закономерностей качественного и количественного изменения спектра фосфолипидов в митохондриальной и микросомной фракции при одновременном исследовании колебаний интенсивности процесса перекисного окисления липидов в изученных субфракциях в норме и при экспериментальном отеке мозга.

Опыты ставили на беспородных белых крысах обоего пола, содержавшихся в стандартных условиях. Отек головного мозга воспроизводили внутрибрюшинным

введением дистиллированной воды в количестве, соответствующем 22% массы животного [4].

Митохондриальную и микросомную фракции головного мозга выделяли дифференциальным центрифугированием [5].

Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля (марки КСК) с использованием системы растворителей: хлороформ—метанол—аммиак 65:35:5. Фосфолипидные пятна идентифицировали с помощью соответствующих свидетелей. Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде серной и азотной кислот с последующим расчетом количества  $P_i$  в мкг на 1 мг сухой массы [6]. Содержание гидроперекисей липидов определяли с помощью цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [7]. Об активности перекисного окисления судили по содержанию малонового диальдегида, образующего с тиобарбитуровой кислотой окрашивание, интенсивность которого регистрировали спектрофотометрически при длине волны 535 нм [8]. Количество перекисей пересчитывали на 1 мг белка данной фракции [9].

Как показали результаты проведенных исследований (табл. 1), экспериментальный отек мозга сопровождается накоплением гидроперекисей и увеличением количества вторичного продукта перекисирования липидов—малонового диальдегида в микросомной фракции как в аскорбат, так и в НАДРН-зависимой системах перекисления. Первичный механизм зарождения свободных радикалов при отеке мозга остается проблематичным, хотя из литературных данных известно, что развитие патологических процессов в мозговой ткани характеризуется определенным стимулированием реакций радикалообразования [10]. Показано, что основное количество свободных радикалов образуется во фракции фосфолипидов, особенно при возбужденных состояниях [11].

Исследование перекисного окисления липидов в митохондриях интактных животных позволило обнаружить определенный стационарный уровень перекисей. По всей вероятности, последние отражают степень подверженности митохондриальных липидов воздействию молекулярного кислорода в условиях нормально протекающих метаболических процессов при возможном участии гемопротендов как катализаторов реакций перекисного окисления.

Как было отмечено выше, перекисное окисление липидов затрагивает фосфолипидные компоненты клетки. Исходя из этого, интересно было проследить за качественным и количественным содержанием фосфолипидов при экспериментальном отеке мозга. Результаты наших исследований (табл. 2) показали, что общее содержание фосфолипидов в микросомной фракции мозгового вещества равно 16,08 мкг  $P_i$ /мг сухой фракции, а в митохондриальной—12,99. Экспериментальный отек мозга сопровождается уменьшением количества фосфатидилхолинов, фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилсеринов при параллельном увеличении уровня монофосфоинозитидов, лизолецитинов в микросомной фракции. Отмеченное нами уменьшение фосфатидилхолина согласуется с литературными данными, в которых показано резкое падение содержания в мозгу фосфатидилхолина в области максимально выраженного отека [12]. Изучение фосфолипидного состава митохондриальной

Таблица 1.

Содержание гидроперекисей и перекисей в митохондриальной и микросомной фракциях при экспериментальном отеке мозга

| Условия опыта                                             | Митохондриальная фракция |                  |                                  |                                 | Микросомная фракция |                   |                                  |                                  |
|-----------------------------------------------------------|--------------------------|------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|                                                           | контроль                 |                  | отек                             |                                 | контроль            |                   | отек                             |                                  |
| Тип перекисления                                          | НФП                      | ФП               | НФП                              | ФП                              | НФП                 | ФП                | НФП                              | ФП                               |
| Гидроперекиси<br>( $E_{480}$ /мг белка)                   | $0,183 \pm 0,012$        | $0,168 \pm 0,02$ | $0,243 \pm 0,015$<br>$p < 0,001$ | $0,200 \pm 0,018$<br>$p < 0,01$ | $0,240 \pm 0,033$   | $0,184 \pm 0,018$ | $0,332 \pm 0,026$<br>$p < 0,001$ | $0,386 \pm 0,014$<br>$p < 0,001$ |
| Перекиси<br>(нмоль малонового<br>диальдегида/мг<br>белка) | $10,35 \pm 1,02$         | $6,55 \pm 0,83$  | $18,23 \pm 1,12$<br>$p < 0,001$  | $7,18 \pm 1,04$<br>$p < 0,5$    | $12,28 \pm 1,35$    | $7,33 \pm 1,08$   | $22,28 \pm 1,53$<br>$p < 0,001$  | $13,48 \pm 1,06$<br>$p < 0,001$  |

Примечание. НФП—неферментативное аскорбатзависимое перекисление; ФП—ферментативное зависимое перекисление.  $n=10$ .

фракции при экспериментальном отеке позволило обнаружить распад фосфатидилэтаноламинов, монофосфоннозитидфосфатидов, кардиолипинов и увеличение лизофосфатидилхолинов и фосфатидилсерпинов. Заслуживает внимания факт уменьшения кардиолипинов в митохондриальной фракции. Кардиолипины являются маркерными фосфолипидами митохондрий и играют важную роль в функционировании электронпереносящих систем, и если фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины сравнительно легко вычлняются из состава оксидо-

Таблица 2

Содержание фосфолипидов (в мкг  $P_i$  /мг сухой фракции) в митохондриальной и микросомной фракциях головного мозга крыс в норме и при экспериментальном отеке ( $n=5$ )

| Фракции фосфолипидов            | Митохондриальная фракция |                                  | Микросомная фракция |                                 |
|---------------------------------|--------------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------------------|
|                                 | контроль                 | отек                             | контроль            | отек                            |
| Неидентифицированный фосфолипид | $0,248 \pm 0,033$        | $0,222 \pm 0,028$<br>$p > 0,1$   | $0,490 \pm 0,03$    | $0,533 \pm 0,02$<br>$p > 0,05$  |
| Лизофосфатидилхолины            | $0,637 \pm 0,021$        | $0,992 \pm 0,033$<br>$p < 0,001$ | $0,832 \pm 0,012$   | $2,09 \pm 0,1$<br>$p < 0,001$   |
| Монофосфоннозитидфосфатиды      | $0,553 \pm 0,04$         | $0,328 \pm 0,024$<br>$p < 0,001$ | $0,619 \pm 0,06$    | $0,922 \pm 0,08$<br>$p < 0,05$  |
| Сфингомиелины                   | $1,09 \pm 0,068$         | $1,20 \pm 0,053$<br>$p > 0,5$    | $2,98 \pm 0,07$     | $2,84 \pm 0,077$<br>$p > 0,1$   |
| Фосфатидилхолины                | $4,53 \pm 0,083$         | $4,03 \pm 0,067$<br>$p < 0,001$  | $5,04 \pm 0,063$    | $2,94 \pm 0,058$<br>$p < 0,001$ |
| Фосфатидилсерпины               | $1,90 \pm 0,034$         | $2,5 \pm 0,023$<br>$p < 0,001$   | $2,76 \pm 0,07$     | $1,81 \pm 0,05$<br>$p < 0,001$  |
| Фосфатидилэтанол-амины          | $3,08 \pm 0,076$         | $2,46 \pm 0,055$<br>$p < 0,001$  | $3,28 \pm 0,05$     | $2,21 \pm 0,06$<br>$p < 0,001$  |
| Кардиолипины                    | $0,960 \pm 0,043$        | $0,685 \pm 0,037$<br>$p < 0,001$ | $0,082 \pm 0,016$   | $0,086 \pm 0,02$<br>$p > 0,1$   |
| Суммарные фосфолипиды           | 12,99                    | 12,21                            | 16,08               | 13,42                           |

редуктаз митохондрий, то кардиолипины, напротив, оказываются прочно связанными с ними и не удаляются под воздействием даже сильных органических растворителей [13, 14]. По нашим данным, при экспериментальном отеке мозга наблюдается увеличение лизофосфатидилхолинов в митохондриальной и микросомной фракциях мозга. В работах ряда авторов обнаружено, что свободные жирные кислоты и продукты их окисления, а также лизофосфолипиды способны повышать проницаемость митохондриальной мембраны для катионов. Показано, что увеличение лизоформ фосфолипидов приводит к повышению проницаемости мембраны для ионов кальция и первичные продукты перекисного окисления—гидроперекиси являются их переносчиками [15]. Увеличение количества лизоформ фосфатидов может быть связано, с одной стороны, с повышением активности фосфолипазы  $A_2$ , с другой—с активированием процесса перекисного окисления липидов.



# LIPID PEROXIDATION AND METABOLISM OF PHOSPHOLIPIDS IN EXPERIMENTAL CEREBRAL EDEMA

KARAGEZYAN K. G., \*SAMVELYAN W. M., OVSEPYAN L. M.,  
MAMADZHANYAN L. Z., ZAKHARYAN E. K.

Institute of Biochemistry, Armenian SSR Academy of Sciences, \*L. A. Oganessian  
Institute of Cardiology, Yerevan

Phospholipid spectrum and lipid peroxidation in mitochondrial and microsomal fractions has been studied in rat brain tissue during experimental cerebral edema. It is certain, that the experimental cerebral edema is accompanied by decrease in phosphatidylcholines, phosphatidylserines, phosphatidylethanolamines in microsomal fractions. In mitochondrial fraction we've discovered decrease of phosphatidylethanolamines, and cardiolipins and increase of lisophosphatidylcholines and phosphatidylserins. At the same time accumulation of hydroperoxides and peroxides has been detected in both mitochondrial and microsomal fractions with experimental cerebral edema.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Квитницкий-Рыжов Ю. Н. Отек и набухание головного мозга (под ред. А. М. Гурвича), Киев, Здоровье, 1978.
2. Бакай Л., Ли Д. Отек мозга (под ред. Э. И. Канделя), М., Медицина, 1969.
3. Суслова Т. Б., Владимиров Ю. А.—В кн.: Биологические мембраны (под ред. П. В. Сергеева), с. 75—94, М., Медицина, 1973.
4. Самвелян В. М. Экспериментальная терапия отека головного мозга (под ред. Л. А. Матиняна), Ереван, Айастан, 1981.
5. Крепс Е. М., Красильникова В. И., Патрикаева М. В. Журн. эволюц. биохимии и физиологии, т. 4, с. 211—243, 1968.
6. Зубер В. Л.—В кн.: Методы биохимических исследований (под ред. М. Н. Прохоровой), с. 73—77, Л., ЛГУ, 1982.
7. Романова Л. А., Стальная И. Д.—В кн.: Современные методы в биохимии (под ред. В. Н. Ореховича), с. 64—66, М., Медицина, 1977.
8. Владимиров Н. А., Арчаков А. И.—В кн.: Перекисное окисление липидов в биологических мембранах (под ред. Г. М. Франка), с. 241—243, М., Наука, 1972.
9. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Tarr A. L., Randall R. J., J. Biol. Chem., v. 193, p. 265—275, 1951.
10. Blok M. C., Wlits K. W. A., Scherphof G. L. Biochim. et biophys. acta, v. 233, p. 61—75, 1971.
11. Вагин Ю. Е., Кондратов В. Е., Бурлакова Е. Б.—В кн.: Биоантиокислители (под ред. И. И. Иванова), с. 65—68, М., Наука, 1975.
12. Ishii S., Hainer R., Kelly W. A., Evans J. P. J. Neurosurg., v. 16, p. 152—166, 1960.
13. Awasthi J. C., Chuang T., Kecnan T., Grane T. L. Biochim. et biophys. acta v. 1, p. 226—230, 1971.
14. Berezhey R., Awasthi J. C., Graine T. L. Bioenergetic., v. 1, p. 457—462, 1970.
15. Архипенко Ю. В., Каган В. Е., Козлов Ю. П. Биохимия, т. 48, с. 433—441, 1983.

Поступила 6. IV 1985