

УДК 576.8.097.29 + 616.36.04

Академик К. Г. Карагезян^а, А. С. Маргарян^б, Л. М. Овсепян^а,
А. А. Симонян^б

**О коррекции тиосульфатом Na и α -токоферолом патологических
сдвигов качественного и количественного состава фосфолипидов
головного мозга белых крыс при CCl_4 -индуцированном
циррозе печени**

(Представлено 29/III 2005)

Мембранные липиды, в частности фосфолипиды (ФЛ), играют важную роль в жизнедеятельности организма. Основные регуляторные функции мембран - это регуляция проницаемости ионов и веществ, рецепторная функция, которая существенно зависит от состава и содержания мембранных липидов [1-3].

Результаты комплексного изучения различных биохимических показателей мозга, печени, крови при целом ряде патологий [4] свидетельствуют, что развитие выраженных структурно-функциональных сдвигов в исследованных тканях коррелирует с интенсивностью перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состоянием антиоксидантной системы.

Целью настоящей статьи стало изучение особенностей изменения ФЛ-ФЛ соотношений в головном мозге при экспериментальном циррозе печени, а также изучение на фоне цирроза печени особенностей действия тиосульфата натрия (ТСН) и α -токоферола (ТФ) в опытах *in vivo*.

Исследования проводились на 30 беспородных белых крысах-самцах массой 150-200 г, разделенных на шесть экспериментальных групп: I) контрольная группа; II) опытная группа с экспериментальным CCl_4 -индуцированным циррозом; III) интактные животные, получившие ТФ; IV) опытная группа с экспериментальным CCl_4 -индуцированным циррозом, получившая ТФ; V) интактные животные, получившие ТСН; VI) опытная группа с экспериментальным CCl_4 -индуцированным циррозом, получившая ТСН.

В течение 20 дней два раза в неделю опытные группы II, IV и VI внутрибрюшинно получали 0.3 мл CCl_4 ; опытные группы III и IV - 0.4 мг ТФ; опытные группы V и VI - 1 мл ТСН и группа I - 1 мл физиологического раствора.

Животных декапитировали под легким наркозом, мозг быстро извлекали, охлаждали и отмывали от крови в изотоническом растворе NaCl, на холоду освобождали от оболочек и кровеносных сосудов. После многократной экстракции фосфолипидов хлороформ-метаноловой смесью из заранее приготовленных ацетоновых порошков головного мозга [5] производили их фракционирование в тонком слое силикагеля на пластинах фирмы "Мерк" (Германия) в системе растворителей хлороформ:метанол:аммиак (65:35:5).

Идентификацию хроматографических пятен индивидуальных ФЛ производили с помощью стандартов ("Sigma", США) в атмосфере, насыщенной парами йода. Количество ФЛ выражали в мг липидного фосфора, минерализованного сжиганием проб ФЛ в смеси концентрированных серной и азотной кислот в песочной бане при 180-200°C до состояния прозрачности, с последующим расчетом количества неорганического фосфора, определяемого по цветной реакции молибденовокислого аммония с витамином С [6]. Белок определяли по Лоури и соавт. [7]. Полученные результаты были обработаны методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента [8].

Относительные содержания индивидуальных ФЛ в ткани головного мозга белых крыс в норме при CCl₄-индуцированном циррозе печени, а также при применении ТФ и ТСН на фоне болезни представлены в таблице.

Анализ полученных результатов свидетельствует о значительных качественных и количественных изменениях в фосфолипидном составе изученных образцов. Количество лизофосфатидилхолинов (ЛФХ) в головном мозге больных животных увеличилось на 47%, что может быть результатом чувствительной интенсификации процессов деацилирования фосфатидилхолинов (ФХ), характеризующихся также образованием высокого пула неэстерифицированных жирных кислот, вступающих в окислительные процессы, связанные с активацией ПОЛ и образованием малонового диальдегида (МДА).

Снижение содержания ФХ (11%) сопровождается одновременным уменьшением количеств фосфатидилсеринов (ФС) и фосфатидилэтаноламинов (ФЭ) (14 и 12% соответственно). Значение последних в катализе реакций окисления и поддержании дыхательной функции митохондрий едва ли можно переоценить. Антиокислительная смесь ФХ, полученная из сои, восстанавливает фосфолипиды поврежденных мембран и активирует их ферменты, включая фосфатидилэтаноламин метилтрансферазу [9, 10]. Уменьшение содержания ФХ, ФС и ФЭ одновременно может быть связано с тем, что они наиболее быстро подвергаются окислению свободными радикалами при усилении процессов ПОЛ.

Настораживающим при CCl₄-индуцированном циррозе печени является и наблюдающееся увеличение таких относительно медленно обменивающихся ФЛ головного мозга, каковыми являются сфингомиелины (СФМ) - главные липидные компоненты миелиновой фракции. Так как СФМ - обычно очень насыщенный липид, не содержащий полиеновые кислоты, повышенное количество этих липидов приводит к выраженной жесткости мембран, т.е. к увеличению микровязкости липидной фазы мембран, что, в частности, характеризуется угнетением активности Na,K-АТФ-5 нуклеотидазы [11].

Содержание кардиолипинов (КЛ) в головном мозге невелико, однако нельзя игнорировать чувствительное повышение содержания этого липида, который вместе с ФС и монофосфоинозидами (МФИ) обеспечивает необходимый уровень гидрофобности, следовательно, и липидзависимости ряда митохондриальных ферментов, катализирующих реакции электронтранспортирующей цепи в отмеченных субфракциях клеток и дыхательной функции клеток в целом. Как известно, КЛ являются носителями отрицательного заряда, следовательно, они способны выполнять ионофорную функцию, в том числе влиять на транспорт Ca²⁺ и Na⁺.

Выявлен также факт повышенного содержания МФИ. В крови содержание МФИ при CCl_4 -индуцированном циррозе было понижено [12], а в головном мозге - наоборот, повышено (на 23%). Это связано с тем, что МФИ участвуют в так называемом фосфатозитидном цикле [13], который отвечает за синаптическую передачу нервных импульсов [14].

Описанные сдвиги в известной степени отражают характер ответной реакции организма на комплекс патогенетических сигналов, поступающих из очага поражения. Следовательно, противоположная направленность количественных изменений нейтральных и кислых ФЛ в исследованных биологических системах может быть интерпретирована как адекватная для данной патологии специфическая ответная реакция организма.

Введение животным ТФ и ТСН сопровождается заметным нивелированием расстройств, что отражается в количественном содержании всех исследованных категорий ФЛ головного мозга белых крыс при CCl_4 -индуцированном циррозе печени: в частности ЛФХ, СФМ, ФХ, ФЭ и КЛ проявили тенденцию к нормализации, а нормализация количественных сдвигов МФИ и ФС достигла 100%. Констатируется, что ТСН является более эффективным корректором метаболизма ФЛ головного мозга, нежели ТФ, хотя в случае СФМ ТФ эффективнее.

Обобщение полученных результатов позволяет говорить о возможной патогенетической роли нарушения метаболизма важнейших компонентов липидного бислоя, что, безусловно, приводит к нарушению функциональной активности мембранных структур клеток при данной патологии, а также о высокой эффективности применения ТФ и ТСН в случае CCl_4 -индуцированного цирроза.

Содержание индивидуальных представителей фосфолипидов (в % от общей суммы) в головном мозге при CCl_4 -индуцированном циррозе печени под воздействием ТФ и ТСН

Фракции фосфолипидов	Контроль	CCl_4	ТФ	CCl_4 +ТФ	ТСН	CCl_4 +ТСН
МФИ	7.22±0.02	8.85±0.03 P* <0.001 +23%	6.22±0.01 P<0.001	6.95±0.02 P ₁ ** <0.001 -22%	6.53±0.03 P<0.001	6.77±0.02 P ₁ <0.001 -24%
ЛФХ	5.61±0.03	8.23±0.02 P<0.001 +47%	5.78±0.02 P<0.001	6.87±0.01 P ₁ <0.001 -17%	5.48±0.01 P<0.001	5.92±0.03 P ₁ <0.001 -28%
СФМ	14.52±0.02	16.64±0.03 P<0.001 +15%	15.62±0.03 P<0.001	15.73±0.01 P ₁ <0.001 -6%	15.32±0.01 P<0.001	16.24±0.02 P ₁ <0.001 -3%
ФХ	32.30±0.01	28.78±0.03 P<0.001 -11%	30.98±0.03 P<0.001	30.68±0.02 P ₁ <0.001 +7%	30.17±0.02 P<0.001	31.45±0.01 P ₁ <0.001 +9%
ФС	15.42±0.01	13.25±0.01 P<0.001 -14%	15.88±0.01 P<0.001	15.39±0.02 P ₁ <0.001 +16%	16.65±0.02 P<0.001	15.62±0.03 P ₁ <0.001 +18%
ФЭ	18.61±0.03	16.48±0.02 P<0.001 -12%	19.52±0.02 P<0.001	17.65±0.03 P ₁ <0.001 +7%	19.63±0.03 P<0.001	17.78±0.01 P ₁ <0.001 +8%
КЛ	6.37±0.03	7.32±0.02 P<0.001 +15%	6.00±0.02 P<0.001	7.00±0.01 P ₁ <0.001 -4%	6.32±0.01 P<0.001	6.80±0.03 P ₁ <0.001 -7%

*Р - в сравнении с контролем; **P₁ - в сравнении с получившей CCl_4 группой.

Литература

1. *Карагезян К. Г.* Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван. Айастан. 1972. 267 с.
2. *Климов А. Н.* Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. М. Наука. 1981. С. 45-75.
3. *Кребс Е. М.* Липиды клеточных мембран. Л. Наука. 1981. 339 с.
4. *Карагезян К. Г., Мелкумян А. В., Геворкян Д. М. и др.* - Мед. наука Армении. 1995. Т. 35. № 1-2. С. 80-86.
5. *Карагезян К. Г.* - Лаб. дело. 1969. Т. 1. С.3-6.
6. *Зубер В. Л.* - Методы биохимических исследований. Л. 1982. С. 74-87.
7. *Lowry O. H., Rosenbrough J. et al.* - Biol. Chem. 1951. V. 193. № 1. P. 265-275.
8. *Закутинский Д. И., Селиванова Л. И.* В кн.: Биологическая оценка препаратов для профилактики и лечения лучевой болезни. М. Медгиз. 1960. С. 97-102.
9. *Hayashi H., Tanaka Y., Hibino H., Umeda Y., Kawamitsu H., Fujimoto H., Amakawa T.* - Curr. Med. Res. Opin. 1999. V. 15. № 3. P 177-184.
10. *Lieber C. S.* - Alcohol. Clin. Exp. Res. 1999. V. 23. № 5. P 944-949.
11. *Дятловицкая Э. В.* - Биохимия. 1995. Т. 60. № 6. С. 843-850.
12. *Маргарян А. С., Карагезян К. Г., Овсепян Л. М., Симонян А. А.* - Кровь. 2005. Т. 2. С. 36-42.
13. *Левицкий Д. О.* Биохимия мембран. Кальций и биологические мембраны. М. 1990. 125 с.
14. *Pacheco M. A., Jope R. S.* - Prog. Neurobiol. 1996. V. 50. № 2-3. P 255-273.

Ակադեմիկոս Կ. Գ. Ղարազյոզյան, Ա. Ս. Մարգարյան, Լ. Մ. Հովսեփյան, Ա. Ա. Միմոնյան

Սպիտակ առնետների գլխուղեղի ֆոսֆոլիպիդների կազմի որակական և քանակական
ախտաբանական տեղաշարժերի կարգավորումը նատրիումի թիոսուլֆատի և α -տոկոֆերոլի
ազդեցությամբ լյարդի CCl_4 -մակածված ցիրոզի դեպքում

Հետազոտվել են թթու և չեզոք ֆոսֆոլիպիդների քանակական և որակական տեղաշարժերը սպիտակ առնետների ուղեղում CCl_4 -մակածված լյարդի ցիրոզի դեպքում և նատրիումի թիոսուլֆատի ու α -տոկոֆերոլի կարգավորիչ ազդեցությունը այդ ախտաբանության մեջ: Ցույց է տրվել, որ լիզոֆոսֆատիդիլ խոլինի քանակը ուղեղում զգալիորեն աճում է, որն ուղեկցվում է ֆոսֆատիդիլ խոլինի, ֆոսֆատիդիլ սերինի և ֆոսֆատիդիլ էթանոլամինի պարունակության կրճատումով: Փորձի նույն պայմաններում կենդանիներին ներարկված նատրիումի թիոսուլֆատի և α -տոկոֆերոլի ազդեցությամբ ուսումնասիրված ֆոսֆոլիպիդների ախտաբանական շեղումները նորմային մոտենալու միտում են դրսևորում:

Academician K. G. Karageuzyan, A. S. Margaryan, L. M. Hovsepyan, A. A. Simonyan

**Regulation of Qualitative and Quantitative Composition of Pathological Changes at
Phospholipids White Rats Brain by Sodium Thiosulfate and α -Tocopherol with
 CCl_4 -Induced Liver Cirrhosis**

Changes of qualitative and quantitative composition of white rats brain acid and neutral phospholipids (PL) at CCl_4 -induced liver cirrhosis and influence of sodium thiosulfate and α -tocopherol at this pathology have been investigated. We showed that the amount of lysophosphatidylcholine considerably increases in brain accompanied by the decrease of phosphatidylcholine, phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine contents. Under the same experimental condition the effect of injected sodium thiosulfate and α -tocopherol to animals showed pathological deviations of the investigated PL with a tendency to normalization.