

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1989

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1989

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ 35

БЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. В. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

QUANTITATIVE ESTIMATION OF VOLATILE FATTY ACIDS BY MEANS OF GAS CHROMATOGRAPHY IN EXPRESS DIAGNOSIS OF NONCLOSTRIDIAL ANAEROBIC INFECTION

T. I. Mayakova, E. E. Kuznetsova, M. V. Lazareva, G. S. Dolgushina

Institute of Surgery, East Siberian Branch, Siberian Department of the Academy of Sciences of the USSR, Irkutsk

Gas chromatographic procedure was used for quantitative estimation of metabolic [volatile fatty acids (C_2 - C_6)] of anaerobic bacteria in express diagnosis of nonclostridial anaerobic infection in surgical patients with purulent bacterial destruction of lungs and with abdominal impairments as well as in patients with calculous cholecystitis. Only traces of acid metabolites were detected in donor blood. A 10-30-fold increase in their content in blood of patients with surgical and gynecologic sepsis enabled to diagnose the anaerobic form of the disease.

УДК 616.831-008.939.15/455-02:615.917:547.262]-092.9

М. И. Селевич

МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОЛИПИДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ ЭТАНОЛА

Институт биохимии АН БССР, Гродно

В последние годы наблюдается быстрый прогресс в области липидологии мозга. Липиды, содержание которых в нервной ткани наиболее высокое (исключая жировую), всегда вызвали особый интерес исследователей. Многим из них (например, сульфатидам и цереброзидам) свойственны специфические функции (участие в межклеточном взаимодействии, структурообразовании миелиновых мембран, регенерации, старении и др.) в процессах жизнедеятельности нервных и глиальных клеток.

Исследований метаболизма гликолипидов в головном мозге крыс при различных видах алкогольной интоксикации практически нет, а встречающиеся единичные работы по содержанию сульфатидов и цереброзидов при алкоголизации неоднозначны. Так, установлено, что этанол тормозит окисление жирных кислот, увеличивает содержание цереброзидов в головном мозге животных [11]. Другими авторами [10] показано, что у умерших от цирроза печени алкогольной этиологии в богатых миелином (серое и белое вещество) областях мозга, наоборот, понижено содержание цереброзидов. У крыс, получавших на протяжении 6 мес 32 % раствор этанола, в мозжечке обнаружены изменения в уровне сфингофосфолипидов и сульфocereброзидов [14].

Целью настоящего исследования явилось изучение не только содержания гликолипидных фракций в головном мозге крыс при острой и хронической

алкогольной интоксикации, но и включение в них $1,2\text{-}^{14}\text{C}$ -этанола как предшественника в биосинтезе липидов [5]. Отличительной особенностью данного эксперимента является то, что нами проведен анализ включения меченого этанола в составные части гликолипидов (жирные кислоты, сфингозин, галактоза).

Методика

В опыте использовали крыс-самок массой 160—180 г. Острую алкогольную интоксикацию на 1 ч вызывали однократным введением 25 % раствора этанола (внутрижелудочно в дозе 4 г/кг), хроническую — ежедневными инъекциями 25 % концентрации алкоголя (внутрижелудочно в дозе 7 г/кг) в течение 21 дня. В обоих экспериментах за 1 ч до декапитации животным подкожно вводили $1,2\text{-}^{14}\text{C}$ -этанол в дозе 20 мкКи на 100 г массы тела. Избранный срок мечения липидов соответствует ситуации, в которой мы ранее [5] обнаруживали наиболее высокую удельную радиоактивность липидных фракций головного мозга после введения меченого этанола (применяемая доза была такой же, как в настоящем эксперименте). В каждой серии опыта использовано по 16 крыс (8 контрольных и 8 подопытных).

Экстракцию липидов проводили по методу Фолча [9], очистку от нелипидных примесей по описанной методике [4]. Гликолипиды разделяли с помощью ТСХ в системе растворителей хлороформ — метанол — концентрированный аммиак (80 : 20 : 0,4), содержание их определяли по углеводному компоненту и выражали в миллиграммах на 1 г ткани [4]. Удельную радиоактивность подсчитывали в толуольном сцинтилляторе на спектрометре «Mark-II» фирмы «Nuclear Chicago», выражая ее в импульсах на 1 моль галактозы за 1 мин. Для определения включения метки из $1,2\text{-}^{14}\text{C}$ -этанола в составные части гликолипидных фракций (жирные кислоты, сфингозин, галактоза) проводили их жесткий кислотный гидролиз [4].

Таблица 1

Содержание гликолипидов головного мозга крыс при острой и хронической алкогольной интоксикации (в мг/г)

Показатель	Острая алкоголизация		Хроническая алкоголизация	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Сульфатиды I	5,85±0,26	6,83±0,37*	3,97±0,24	6,24±0,43*
Сульфатиды II	3,27±0,29	4,47±0,38*	3,62±0,19	3,88±0,39
Цереброзиды I	2,85±0,24	2,51±0,12	3,11±0,42	3,04±0,33
Цереброзиды II	2,46±0,27	2,72±0,13	3,88±0,38	3,80±0,31
Цереброзиды III	4,98±0,54	3,45±0,39*	4,27±0,54	4,24±0,54

Примечание. Здесь и в табл. 2 — 4: звездочка — $p < 0,01$.

Результаты и обсуждение

Однократное введение крысам этанола сопровождается повышением в головном мозге содержания сульфатидов I и II с одновременным снижением концентрации цереброзидов III (табл. 1). Снижение количества цереброзидов III может происходить, по видимому, в связи с использованием данной гликолипидной фракции в биосинтезе сульфатидов I и II, так как синтез последних осуществляется путем прямого переноса сульфатной группы с фосфоаденозинфосфосульфата на цереброзид [1]. В данном случае этанол, скорее всего, активирует цереброзидсульфотрансферазу — фермент, ответственный за перенос сульфата на цереброзид, что подтверждается экспериментальными данными: уровень цереброзидсульфатов I и II возрастает. Хроническая алкогольная интоксикация приводит лишь к увеличению относительного уровня цереброзидсульфатов I при неизменном содержании остальных гликолипидных фракций.

При острой алкогольной интоксикации происходит торможение включения меченого предшественника в цереброзиды II и III, в то время как

хроническое введение этанола приводит только к снижению удельной радиоактивности цереброзидов III (табл. 2).

Следует отметить, что снижение включения метки из 1,2-¹⁴C-этанола в цереброзиды III при однократном введении алкоголя с одновременным уменьшением их количества в ткани головного мозга свидетельствует об угнетении этиловым спиртом процессов биосинтеза данной гликолипидной фракции.

При проведении гидролиза цереброзидов II установлено, что уменьшение включения метки из 1,2-¹⁴C-этанола в этот гликолипид обусловлено снижением удельной радиоактивности всех входящих в него фрагментов — жирных кислот, сфингозина, галактозы (табл. 3). В этих условиях снижение удельной радиоактивности цереброзидов II головного мозга происходит в основном за счет понижения включения меченого этанола в жирные кислоты.

Уменьшение включения метки из 1,2-¹⁴C-этанола в указанные гликолипидные компоненты при различных вариантах алкоголизации может быть реализовано на различных биохимических уровнях. Во-первых, что зави-

Таблица 2

Удельная радиоактивность гликолипидов головного мозга крыс при острой и хронической алкогольной интоксикации (в имп/моль галактозы · 10⁶ за 1 мин)

Показатель	Острая алкоголизация		Хроническая алкоголизация	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Сульфатиды I	22±4	20±3	12±2	7±2
Сульфатиды II	51±8	38±6	17±4	23±6
Цереброзиды I	61±17	51±14	20±8	35±8
Цереброзиды II	80±16	46±9*	47±6	41±7
Цереброзиды III	96±7	56±7*	65±10	41±8*

Таблица 3

Удельная радиоактивность отдельных частей цереброзидов II и III головного мозга крыс при острой алкогольной интоксикации (в имп/моль галактозы $\cdot 10^6$ за 1 мин)

Фрагмент	Цереброзиды II		Цереброзиды III	
	конт-роль	опыт	конт-роль	опыт
Жирные кислоты	29 \pm 2	17 \pm 4*	32 \pm 7	5 \pm 1*
Сфингозин	21 \pm 3	13 \pm 3*	12 \pm 3	11 \pm 1
Галактоза	62 \pm 8	20 \pm 3*	22 \pm 5	20 \pm 5

сит от состояния ферментных систем, метаболизирующих этанол (алкоголь- и альдегиддегидрогеназы), и, во-вторых, от степени влияния этанола на активность ферментов цикла трикарбоновых кислот и реакций глюконеогенеза.

Однозначного мнения исследователей о влиянии острой и хронической алкогольной интоксикации на активность алкоголь- и альдегиддегидрогеназы головного мозга в настоящее время нет. Известно лишь, что алкогольная интоксикация крыс в течение 9 нед повышала активность алкогольдегидрогеназы мозга, начиная с 2 нед в течение всего последующего периода эксперимента; отмена этанола сопровождалась снижением ферментной активности до нормы с полувременем около 15 ч. Активность же альдегиддегидрогеназы оставалась неизменной в течение всего опыта [2]. У мышей, которые в течение 4 нед получали жидкий рацион с 6% содержанием алкоголя, не отмечено изменения активности алкогольдегидрогеназы в нервной ткани [12].

Имеются данные, подтверждающие участие ацетальдегида в действии этанола на мозг. Так, показано, что активность альдегиддегидрогеназы мозга у крыс линии Wistar коррелировала с количеством потребленного этанола [3]. Хроническая алкогольная интоксикация у крыс в течение 60 дней вызывала повышение активности альдегиддегидрогеназы целого мозга [7]. Другие авторы [3] утверждают, что хроническое потребление этанола, наоборот, уменьшает активность цитозольной альдегиддегидрогеназы во всех отделах мозга и увеличивает активность митохондриального фермента в

гипоталамусе и мозжечке у крыс. Это указывает на перераспределение окисления ацетальдегида в мозге, что можно расценивать как процесс адаптации к повышенному уровню ацетальдегида в нервной ткани при хронической алкогольной интоксикации.

Таким образом, можно считать, что нами в эксперименте не получено достаточно убедительных доказательств того, что различия в использовании меченого этанола в метаболических процессах гликолипидов при различных видах алкоголизации животных реализуются именно на уровне активности алкоголь- и альдегиддегидрогеназы.

Снижение удельной радиоактивности жирнокислотной части цереброзидов II и III при однократном введении этанола происходит, скорее всего, за счет угнетения алкоголем синтеза жирных кислот.

Чтобы $1,2-^{14}\text{C}$ -этанол включился в сфингозин, ему необходимо пройти следующий метаболический путь: этанол \rightarrow ацетальдегид \rightarrow ацетат \rightarrow ацетил-КоА \rightarrow цикл трикарбоновых кислот \rightarrow глюконеогенез \rightarrow 3-фосфоглицерат \rightarrow серин \rightarrow сфингозин, а для включения в галактозу ему необходимо пройти по этому же пути через 3-фосфоглицерат \rightarrow глюкозу \rightarrow галактозу.

Исходя из данных о том, что алкоголь ингибирует в головном мозге цикл трикарбоновых кислот [6], надо полагать, что данный этап в какой-то мере может быть барьером, приводящим к снижению включения метки из $1,2-^{14}\text{C}$ -этанола в сфингозин и галактозу.

Кроме того известно, что в ткани головного мозга под влиянием этанола активируется глюконеогенез [11] и, исключая выше отмеченные допущения, можно предположить, что в нашем опыте снижение удельной радиоактивности сфингозина происходит, по-видимому, либо на этапе превращения 3-фосфоглицерата в серин, либо по пути синтеза сфингозина из серина и пальмитоил-КоА. Второй путь, по нашему мнению, более предпочтителен, тем более что в данном эксперименте выявлено снижение включения меченого этанола и в жирные кислоты (см. табл. 3).

Установлено также, что реакции гликолиза в головном мозге крыс под

Таблица 4

Удельная радиоактивность отдельных частей цереброзидов III головного мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации (в имп/моль галактозы · 10⁶ за 1 мин)

Фрагмент	Цереброзиды III	
	контроль	опыт
Жирные кислоты	61±14	45±12
Сфингозин	74±9	23±6*
Галактоза	58±5	71±15

действием алкоголя ингибированы [13], следовательно, снижение удельной радиоактивности галактозного компонента осуществляется, скорее всего, вследствие торможения превращения 1,2-¹⁴C-этанола на одном из более поздних этапов: глюкоза → глюкозо-6-фосфат → глюкозо-1-фосфат → УДФ-глюкоза → УДФ-галактоза. Это подтверждается литературными данными [8], указывающими на ингибирование этанолом эпимеразной реакции биосинтеза галактозы, т. е. превращения УДФ-глюкозы в УДФ-галактозу. Снижение удельной радиоактивности сфингозиновой части цереброзидов III в нервной ткани при хроническом введении алкоголя происходит по причине, рассмотренной нами для ситуации при остром отравлении этанолом (табл. 4). Сравнительно невысокая удельная радиоактивность гликолипидных фракций головного мозга крыс при использовании в качестве метки 1,2-¹⁴C-этанола указывает, что меченый алкоголь является малоактивным предшественником для биосинтеза гликолипидов в этой ткани.

Таким образом, анализ представленных данных свидетельствует о существенных биохимических различиях в метаболизме гликолипидных фракций и их фрагментов головного мозга животных при остром и хроническом введении им этанола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крепс Е. М. Липиды клеточных мембран. — Л., 1981.
2. Этанол и обмен веществ / Под ред. Ю. М. Островского. — Минск, 1982.
3. Островский Ю. М., Сатановская В. И., Садовник М. Н. Биологический компонент в генезисе алкоголизма. — Минск, 1986.
4. Методы биохимических исследований / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л., 1982.
5. Селевич М. И., Островский Ю. М., Ларин Ф. С. // Весці АН БССР, сер. біял. навук. — 1987. — № 4. — С. 82—87.
6. Сытинский И. А. Биохимические основы действия этанола на центральную нервную систему. — М., 1980.
7. Amir S. // Neuropharmacology. — 1978. — Vol. 17, N 7. — P. 463—467.
8. Badawy Abdulla A. B. A. // Brit. J. Alcohol Alcohol. — 1977. — Vol. 12, N 3. — P. 120—136.
9. Folch J. B., Lees M., Stanley G. H. // J. biol. Chem. — 1957. — Vol. 226. — P. 497—499.
10. Lesch P., Schmidt E., Schmidt F. M. // Z. klin. Chem. klin. Biochem. — 1972. — Bd 10, N 9. — S. 410—415.
11. Rawat A. K. // Advanc. exp. Med. Biol. — 1975. — Vol. 56. — P. 165—177.
12. Rawat A. K., Kuriyama K., Mose J. // J. Neurochem. — 1973. — Vol. 20. — P. 23—28.
13. Vierling W., Gorbahn H., Ammon H. P. T. 30, N 5. — S. 773—776.
14. Vrbaski S. R., Ristic M. // J. Neurochem. — 1985. — Vol. 44, N 6. — P. 1868—1872.

Поступила 06.12.88

METABOLISM OF GLYCOLIPIDS IN BRAIN OF RATS AFTER ACUTE AND CHRONIC POISONING WITH ETHANOL

M. I. Selevich

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Grodno

Increase in content of sulfatides I and II and a decrease in cerebrosides was found in brain of rats after acute alcoholization with 25 % ethanol, 4 g/kg, intragastric administration. In this case incorporation of 1,2-¹⁴C-ethanol into cerebrosides II and III was decreased. Content of sulfatides I was increased, while specific radioactivity of cerebrosides III — decreased as a result of chronic alcohol intoxication (25 % ethanol, intragastric administration, 7 g/kg daily within 21 days).