

В. Я. ДВОРКИН

**ОБМЕН ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ФОСФОЛИПИДОВ
В ГОЛОВНОМ МОЗГУ КРЫС ПРИ НАРКОТИЧЕСКОМ
(ТИОПЕНТАЛОВОМ) СНЕ**

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 9 VII 1971)

Уже в первых исследованиях по функциональной биохимии фосфолипидов (ФЛ) головного мозга было показано, что интенсивность обмена фосфатной группы ФЛ мозговой ткани отчетливо снижалась при различных видах сна, на основании чего был сделан вывод о тесной связи между обменом ФЛ в ткани мозга и функциональным состоянием ц.н.с. (¹⁻⁴). Однако все эти исследования были выполнены на суммарных ФЛ мозговой ткани, которые, как хорошо известно, представляют собой весьма гетерогенную группу соединений, отдельные представители которой существенно отличаются друг от друга по своему химическому строению, физико-химическим свойствам, распределению в нервной ткани и по интенсивности обновления отдельных компонентов своей молекулы. Возникает вопрос: какова роль каждого из представителей ФЛ в общей метаболической реакции суммарных ФЛ мозговой ткани при изменениях функционального состояния ц.н.с., наблюдаемых во время сна; в какой мере обмен отдельных представителей ФЛ мозговой ткани связан с изменениями ее функциональной активности в этих условиях? Сведения по этому вопросу практически отсутствуют. Лишь в работах Анселла и сотрудников (^{5, 6}) было показано подавление включения P^{32} во фракции фосфатидилэтанолamina и фосфатидилхолина в головном мозгу крыс при тиопенталовом сне, однако совершенно очевидно, что эти две фракции ФЛ далеко не отражают разнообразия «набора» ФЛ мозговой ткани. Данные по интенсивности их обмена не дают возможности ответить на вопрос, существует ли какая-либо зависимость между уровнем метаболической активности отдельных представителей ФЛ в нормальных физиологических условиях и степенью изменений функционального состояния ц.н.с. в условиях сна.

Хорошо известно, что состояние сна у животных сопровождается развитием более или менее выраженной гипотермии. Остается неясным, каков удельный вес этой гипотермии в депрессии обмена ФЛ мозговой ткани, наблюдаемой во время сна. Нами было показано, что в тех случаях, когда воздействия на организм сопровождались развитием у животных достаточно выраженной гипотермии, наблюдалось снижение интенсивности обмена ФЛ в головном мозгу, которое в значительной мере было обусловлено сопутствующей гипотермией (^{7, 8}).

Задача настоящей работы и состояла в изучении особенностей обмена отдельных фракций ФЛ головного мозга крыс в условиях сна и в выяснении роли гипотермии в метаболической реакции отдельных фракций ФЛ.

Опыты проводили на взрослых белых крысах-самцах линии Вистар. Состояние сна у животных вызывали путем подкожного введения тиопентала в дозе 70—100 мг/кг веса тела. Через 15—20 мин. после введения тиопентала крысы погружались в состояние глубокого сна: у животных наступало полное расслабление скелетной мускулатуры, дыхание урежалось, они не реагировали на внешние раздражители. Через 30 мин. после

введения тиопентала на фоне выраженного сна крысам подкожно вводили радиоактивный ортофосфат из расчета 5 μ C на 1 г веса тела. Через 2 часа после введения изотопа животных опытных и контрольной групп забивали, извлекали большие полушария головного мозга, тщательно очищали их от сосудистых сплетений и отмывали от крови в охлажденном физиологическом растворе. Экстракцию липидов производили по Фольчу смесью хлороформ-метанол 2 : 1; экстракты отмывали 0,29 *M* раствором NaCl от примеси неорганического фосфата и других веществ нелипидной природы и отмывые липидные экстракты подвергали хроматографии на колонках из силикагеля по описанной ранее схеме (9). Этим методом в сочетании с

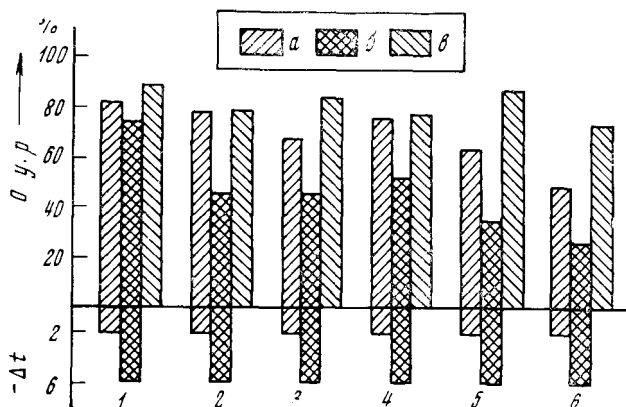


Рис. 1. Относительная удельная радиоактивность ФЛ и температура тела. 1—ФК + ПГФ, 2—диац. АФЛ, 3—пл. АФЛ, 4—МФИ, 5—ФХ, 6—СФМ. $\Delta t = -2,3^\circ$ (а), -6° (б), 0° (в)

последующим разделением некоторых фракций с помощью мягкого щелочного гидролиза по Даусону (10) из ткани больших полушарий головного мозга крыс были выделены следующие фракции: фосфатидные кислоты + полиглицерофосфатиды (ФК + ПГФ), диацильные аминоксфолпиды (диац. АФЛ), плазмалогенные аминоксфолпиды (пл. АФЛ), фосфоинозитиды (ФИ), фосфатидилхолины (ФХ) и сфингомиелины (СФМ). Для каждой фракции определяли содержание фосфора и измеряли его радиоактивность. Об интенсивности обмена каждой из фракций ФЛ судили по величинам относительной удельной радиоактивности (о.у.р.), которые представляли собой отношение удельной радиоактивности фракции ФЛ к удельной радиоактивности неорганического фосфата ткани мозга (X100). У всех крыс в начале и в конце опыта измеряли ректальную температуру с помощью электротермометра.

Следует отметить, прежде всего, что в условиях наркотического сна, вызванного тиопенталом, ни для одной из исследованных фракций ФЛ не отмечалось достоверных изменений содержания этих фракций в мозговой ткани. Эти данные согласуются с результатами наших предыдущих исследований, в которых даже при более тяжелых воздействиях на организм, вызывающих у животных тяжелые патологические состояния, не наблюдалось изменений в содержании отдельных фракций ФЛ (8, 11).

Что касается интенсивности обмена фосфатной группы исследованных фракций ФЛ, то она отчетливо снижалась уже при дозе тиопентала в 70 мг/кг (1-я группа крыс). Характерно, что снижение температуры тела у крыс этой группы было незначительным и составляло в среднем $-1,3^\circ$ (от $-0,4$ до $-2,4^\circ$), однако снижение интенсивности обмена было статистически значимым для всех фракций ФЛ. Следует отметить, что для всех фракций, кроме ФК + ПГФ, степень снижения интенсивности

обмена при сне, вызванном дозой тиопентала 70 мг/кг, была примерно одинаковой и составляла 25—28%; для фракции ФК + ПГФ депрессия обмена при этой дозе тиопентала была выражена в меньшей степени, чем для остальных фракций.

Поскольку при дозе тиопентала 70 мг/кг нам не удалось получить достаточно выраженного снижения температуры тела у крыс во время сна, была поставлена следующая серия опытов, в которой животным вводили тиопентал в дозе 100 мг/кг (рис. 1). Оказалось, что по степени снижения температуры тела всех животных при этой дозе можно разделить на две группы: крыс, у которых снижение температуры тела было сравнительно невелико и составляло в среднем $-2,3^\circ$ (от $-1,4$ до $-3,3^\circ$) (группа крыс 2А), и крыс, у которых снижение температуры тела было более выраженным и составляло в среднем $-6,0^\circ$ (от $-5,2$ до $-6,9^\circ$) (группа крыс 2Б). Как видно из табл. 1, для всех фракций ФЛ степень депрессии обмена у крыс группы 2Б была достоверно ниже, чем у крыс группы 2А.

Таким образом, при тиопенталовом сне, как и при других изученных нами ранее воздействиях, выявлена важная роль гипотермии в депрессии обмена отдельных фракций ФЛ головного мозга крыс во время сна.

Для того чтобы выяснить, какова относительная роль гипотермии в депрессии обмена ФЛ в ткани мозга в условиях тиопенталового сна, была поставлена следующая серия

Таблица 1

Относительная удельная радиоактивность фракций фосфолипидов больших полушарий головного мозга крыс при тиопенталовом сне

Группы крыс	Показатель	Суммарные ФЛ	ФК + ПГФ	диан. АФЛ	ил. АФЛ	ФН	ФХ	СФМ
Контроль (n = 20)	$\bar{X} \pm S$	$1,95 \pm 0,04$	$5,92 \pm 0,20$	$1,06 \pm 0,06$	$0,44 \pm 0,02$	$43,6 \pm 0,6$	$1,48 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,01$
	$\bar{X} \pm S$	$1,62 \pm 0,04$	$5,50 \pm 0,14$	$0,84 \pm 0,07$	$0,33 \pm 0,02$	$9,75 \pm 0,6$	$0,92 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,02$
	% к контролю	$83,1$	$93,0$	$79,3$	$75,0$	$74,7$	$78,0$	$75,0$
	P	$< 0,001$	$0,05 < P < 0,1$	$< 0,05$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$= 0,001$
2А Тиопентал 70 мг/кг $\Delta t = -1,3^\circ$ (n = 12)	$\bar{X} \pm S$	$1,44 \pm 0,08$	$4,91 \pm 0,20$	$0,82 \pm 0,05$	$0,30 \pm 0,02$	$40,2 \pm 0,9$	$0,75 \pm 0,05$	$0,47 \pm 0,01$
	% к контролю	$74,0$	$82,9$	$77,4$	$68,2$	$75,0$	$63,5$	$53,4$
	P	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,001$	$< 0,001$
2Б Тиопентал 100 мг/кг $\Delta t = -2,3^\circ$ (n = 11)	$\bar{X} \pm S$	$0,96 \pm 0,05$	$4,39 \pm 0,16$	$0,47 \pm 0,02$	$0,20 \pm 0,01$	$6,93 \pm 0,49$	$0,44 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,005$
	% к контролю	$49,3$	$74,2$	$44,4$	$45,5$	$50,8$	$34,7$	$28,4$
	P	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$
3 Тиопентал 100 мг/кг $\Delta t = 0^\circ$ (подогрев) (n = 20)	$\bar{X} \pm S$	$1,58 \pm 0,04$	$5,48 \pm 0,13$	$0,83 \pm 0,04$	$0,35 \pm 0,02$	$40,4 \pm 0,5$	$1,01 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,02$
	% к контролю	$81,2$	$87,5$	$78,3$	$79,6$	$78,9$	$85,5$	$81,3$
	P	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,01$

опытов, в которой снижение температуры тела у крыс во время сна устранялось путем искусственного подогревания животных (3-я группа крыс). С этой целью крыс сразу после введения тиопентала помещали в клетки с регулируемым подогревом пола, что препятствовало развитию гипотермии у крыс во время сна. Проверочные опыты показали, что при поддержании температуры пола в клетке в пределах 25—27° (при окружающей температуре 18—20°) гипотермия у крыс не развивалась, сон был таким же глубоким, смертность животных при этом отсутствовала. Оказалось, что устранение гипотермии у крыс во время сна в значительной мере предупреждало развитие выраженной депрессии обмена, которая наблюдалась у крыс с гипотермией. В то же время, даже при отсутствии гипотермии во время тиопенталового сна, для всех фракций ФЛ обнаруживался определенный уровень снижения интенсивности обмена, статистически значимо отличающийся от контроля.

Таким образом, в депрессии обмена всех фракций ФЛ головного мозга крыс при тиопенталовом сне можно выделить два компонента: неспецифический «гипотермический» компонент, обусловленный развитием во время сна гипотермии, и специфический «наркотический» компонент, обусловленный эффектом самого воздействия, в данном случае тиопенталового сна.

Обращает на себя внимание отсутствие принципиальных различий в метаболической реакции со стороны отдельных фракций ФЛ во время тиопенталового сна; примерно одинаковая степень депрессии обмена наблюдалась как для быстрообменивающихся ФИ, так и для медленно обменивающихся плазмалогенов. Единственная закономерность, которую можно отметить в поведении отдельных фракций ФЛ во время тиопенталового сна, — это незначительная степень депрессии обмена со стороны фракции ФК + ПГФ и выраженная степень депрессии обмена со стороны фракций холинсодержащих ФЛ — ФХ и СФМ. Сравнительно невысокая реактивность обмена фракции ФК + ПГФ в мозговой ткани крыс наблюдалась нами и при других воздействиях на организм, в частности при гипоксической гипоксии⁽¹¹⁾. Возможно, это связано с особой ролью входящих в состав этой фракции фосфатидных кислот, как ключевого промежуточного соединения в биосинтезе остальных ФЛ, что обуславливает необходимость поддержания на определенном уровне интенсивности обмена фосфатной группы фосфатидных кислот, ибо снижение обмена ниже этого уровня может привести к серьезным нарушениям биосинтеза других ФЛ, входящих в состав жизненно важных структур клеток. Что касается выраженной депрессии обмена фракций ФХ и СФМ, то, как видно из табл. 1, углубление депрессии этих двух фракций обнаруживается в тех случаях, когда во время сна наблюдается выраженная гипотермия; у «подогретых» крыс, у которых гипотермия во время сна отсутствует, степень снижения интенсивности обмена фракций ФХ и СФМ была примерно такой же, как и у остальных фракций ФЛ мозговой ткани. По-видимому, обмен этих двух фракций характеризуется повышенной чувствительностью к снижению температуры тела во время глубокого сна.

Институт физиологии им. И. П. Павлова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
25 VI 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. M. C. Dawson, D. Richter, Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B, **137**, 252 (1950). ² Г. Е. Владимиров, В сборн. Биохимия нервной системы, Киев, 1954, стр. 25. ³ А. В. Палладин, Биохимия, **17**, 456 (1952). ⁴ А. А. Смирнов, ДАН, **101**, 913 (1955). ⁵ G. V. Ansell, H. Dohmen, J. Neurochem., **2**, 1 (1957). ⁶ G. V. Ansell, A. Morgan, Biochem. J., **69**, 30 (1958). ⁷ С. В. Гастева, В. Я. Дворкин, Д. А. Четвериков, ДАН, **169**, 978 (1966). ⁸ В. Я. Дворкин, В. И. Розенгарт и др., Вопр. мед. хим., **16**, 63 (1970). ⁹ В. Я. Дворкин, Д. А. Четвериков, А. А. Шмелев, Биохимия, **28**, 475 (1963). ¹⁰ R. M. C. Dawson, Biochem. J., **75**, 45 (1960). ¹¹ В. Я. Дворкин, ДАН, **160**, 728 (1965).