

УДК: 543.544:543.51:615.91

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ИНГАЛЯЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МАЛЫХ ДОЗ АЛИФАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ С6-С10 НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОФИЛИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС

А.И. Уколов, Е.Д. Кессених,
Т.И. Орлова, А.С. Радиллов,
Н.В. Гончаров.

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России 188663, Ленинградская область, Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, Российская Федерация

Впервые исследовано хроническое ингаляционное воздействие низких концентраций алифатических углеводородов (УВ) на метаболические профили низкомолекулярных органических соединений, в том числе свободных (СЖК) и этерифицированных (ЭЖК) жирных кислот головного мозга и печени крыс. В качестве аналитических методов были использованы газовая и жидкостная хромато-масс-спектрометрия. Перечень УВ включает гексан, гептан, октан, нонан и декан в различных соотношениях. Выявлены изменения профилей низкомолекулярных соединений головного мозга при воздействии смеси УВ в концентрации 160 ± 20.5 мг/м³ в течение 90 суток, в то время как воздействие смеси УВ в более низких концентрациях - 31.4 ± 5.6 мг/м³ и 5.2 ± 1.08 мг/м³, приводит лишь к незначительным изменениям профилей. Выявлено значительное повышение концентраций лизофосфолипидов, в основном лизофосфатидилхолинов, в экстракте из головного мозга и плазме крови.

Повышение содержания лизофосфолипидов в тканях мозга можно рассматривать как следствие деградации клеточных мембран, характерной для нейродегенеративных процессов. В то же время, повышение концентрации лизофосфатидилхолинов в мозге сопровождается статистически значимым уменьшением концентрации глицерол-3-фосфата и не сопровождается изменениями концентраций глицерофосфохолина, глицерофосфоэтанолamina, холина, ацетилхолина, СЖК или лизофосфатидной кислоты. Показано, что концентрации лизофосфатидилхолинов и лизофосфатидилэтанолaminов, отнесенные к концентрациям глицерофосфохолина и глицерофосфоэтанолamina в плазме крови, могут служить потенциальными маркерами влияния УВ на головной мозг.

Ключевые слова: углеводороды, хроническое воздействие, головной мозг, печень, маркер, лизофосфатидилхолины, хроматомасс-спектрометрия.

Введение. Алифатические углеводороды (УВ) находят широкое применение в нефтехимической, химической, металлургической, резиновой, текстильной, кожевенной и мебельной промышленности. УВ характеризуются высокой летучестью, высокой растворимостью в жирах и способностью к аккумуляции в организме человека. Хроническое воздействие УВ может стать причиной нейропатий – заболеваний преимущественно периферических сенсорных и моторных нервов [1], проявляющихся в расстройстве цветного зрения, нарушении регуляции деятельности сердца,

слабости и онемении конечностей, нарушении тактильной чувствительности [2]. Среди алифатических УВ наиболее токсичным и потому хорошо изученным является н-гексан.

Основные превращения алифатических углеводородов в организме заключаются в образовании кетонов и дикетонов в результате их окисления преимущественно в печени и легких. Наиболее токсичными метаболитами углеводородов, образующихся при окислении, являются т.н. 2,5-дикетоны, образующиеся в процессе метаболизма н-гексана. Метод количественного

Уколов Антон Игоревич (Ukolov Anton Igorevich), к.х.н., с.н.с. лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, AntonUkolov@gmail.com

Кессених Елизавета Дмитриевна (Kessenikh Elizaveta Dmitrievna), н.с. лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, kessenikh@gmail.com

Орлова Татьяна Игоревна (Orlova Tatyana Igorevna), н.с. лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, orlovatatianagpeh@mail.ru

Радиллов Андрей Станиславович (Radilov Andrey Stanislavovich), д.м.н., проф., заведующий отделом токсикологии, заместитель директора по научной работе ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, radilov@rihophe.ru

Гончаров Николай Васильевич (Goncharov Nikolay Vasilievich), д.б.н., вед.н.с. лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, ngoncharov@gmail.com

определения в биообразцах алифатических УВ и их метаболитов, в том числе продуктов окисления и дальнейшего превращения, был нами разработан ранее [3].

Гексан обладает широким спектром токсического действия на организм, в частности он вызывает атрофию тестикул, обладает нейротропностью, влияет на печень и почки животных и человека. В нервной системе при экспонировании гексаном выявлено снижение активности АХЭ и нейронспецифической енолазы (ЕС 4.2.1.11), повышенное фосфорилирование глиального фибриллярного кислого белка в гиппокампе крыс. Гексан вызывает энцефалопатию, оказывает токсическое действие на аксоны центральной и периферической нервных систем [4]: в пораженных волокнах можно наблюдать мультифокальные набухания, в основном в паранодальных областях, которые ассоциируются с утоньшением вышележащих миелиновых оболочек. Выявлено набухание дистальных фрагментов аксонов при повышенной концентрации нейрофиламентов диаметром 10 нм, а также валлеровская дегенерация удлинённых аксонов [5,6]. В белом веществе мозга выявлено уменьшение степени утилизации глюкозы в 1,5 раза [7].

Несмотря на имеющиеся сведения о влиянии УВ на морфофункциональные и клинико-биохимические показатели, механизмы возникновения патологий нуждаются в уточнении, а отсутствие *a priori* сведений о ведущем механизме патогенеза при воздействии УВ предопределяет использование методов нецелевой метаболомики, которые позволяют проводить исчерпывающее определение всех измеряемых метаболитов в исследуемых биообразцах, в том числе неизвестных [8].

В работе [9] нами впервые исследовано хроническое ингаляционное воздействие низких доз алифатических углеводов на метаболический профиль плазмы крови лабораторных животных с использованием сочетания газовой (ГХ-МС) и жидкостной (ВЭЖХ-МС) хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения. Выявлены маркеры нарушения биосинтеза полиаминов, метаболизма желчных кислот, функции почек, нарушения цикла мочевины, синтеза триглицеридов и глицерофосфолипидов, что свидетельствует о снижении функциональной активности печени. Между тем в плазме крови мы не обнаружили маркеров воздействия на нервную систему, поэтому основной целью настоящего исследования является получение новых сведений о возможном механизме токсического действия низких доз УВ на головной мозг и печень крыс.

Материалы и методы исследования. Для оценки токсических свойств смеси нормальных алифатических углеводов С₆-С₁₀, а именно гексана, гептана, октана, нонана и декана (да-

лее – УВ) был проведен хронический 90-суточный эксперимент. Концентрации УВ в воздухе при экспонировании животных были довольно низкими: содержание гептана в смеси составляло 104.7 мг/м³ в первой группе, 20.3 мг/м³ во второй и 3.4 мг/м³ в третьей.

Соотношения предельных углеводов в смеси соответствуют соотношению их концентраций в атмосферном воздухе вблизи нефтеперерабатывающих заводов. Содержание гексана в смеси 16.2%, гептана – 65.4%, октана – 16.2%, нонана – 1.1% и декана – 1.1%. Смесь предельных углеводов подавали в камеры непрерывно в течение 90 суток с помощью специально сконструированного дозатора, позволяющего точно регулировать и постоянно поддерживать заданную концентрацию смеси в камере в течение эксперимента.

Эксперименты проводили на белых нелинейных крысах-самцах массой 180-230 г. Условия содержания экспериментальных животных соответствовали «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (GLP)» (утв. Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 N 267). Для получения плазмы кровь отбирали в пробирки с ЭДТА-К3 после декапитации крыс и центрифугировали 15 мин при 4000g. После отбора крови у животных были взяты образцы органов, которые незамедлительно замораживали в жидком азоте (-196 °С) и затем гомогенизировали.

Подопытные животные были разделены на 4 группы: первая группа была экспонирована смесью с концентрацией 160 ± 20.5 мг/м³, вторая – 31.4 ± 5.6 мг/м³, третья – 5.2 ± 1.08 мг/м³ и четвертая – контрольная. В каждой группе было по 6 животных.

Для нецелевого метаболического профилирования образцов головного мозга и печени крыс использовали сочетание газовой хроматомасс-спектрометрии с высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрией высокого разрешения по методике, опубликованной нами ранее [9].

Определение СЖК и ЭЖК в гомогенатах органов проводили следующим образом: к гомогенатам массой от 80 до 120 мг добавляли раствор 4 мл КОН в метаноле, пробы тщательно перемешивали в УЗ-ванне в течение 10 мин, а затем в вортексе в течение 15 мин, затем проводили экстракцию метиловых эфиров 4 мл гексана дважды, экстракт выпаривали и определяли ЭЖК ГХ-МС. В оставшийся раствор гидроксида калия для установления рН 7 добавляли фосфатный буфер, а затем проводили процедуру экстрактивного алкилирования иодистым метилом (200 мкл) в присутствии катализатора межфазного переноса ГТБА (300 мкл) [10,11]. При увеличении массы

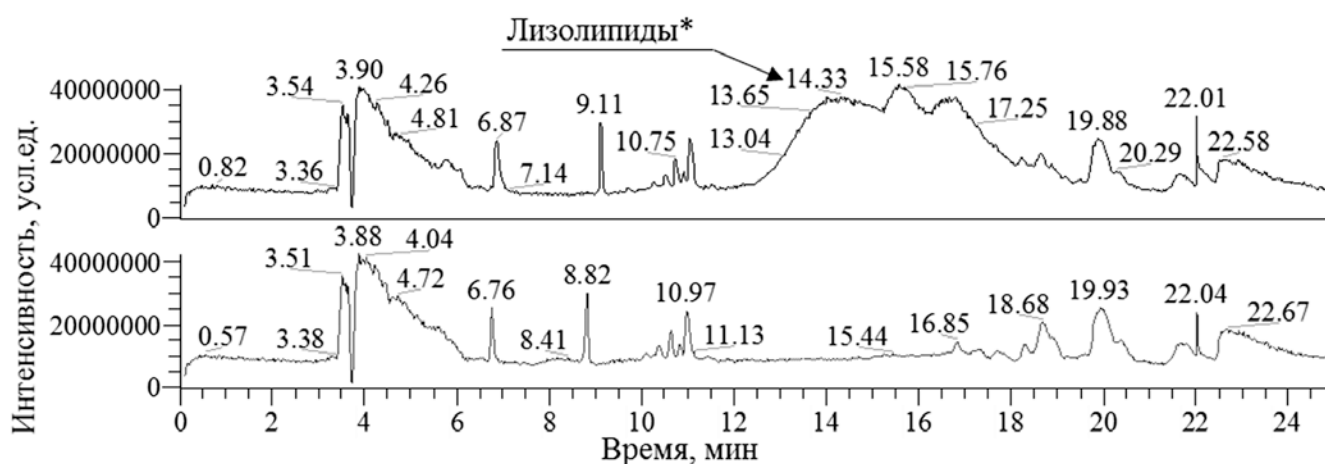


Рис. 1 – Масс-хроматограммы экстрактов из гомогенатов головного мозга крыс полученные методом ВЭЖХ-МС с регистрацией отрицательно заряженных ионов. Вверху хроматограмма образца, полученного из группы экспонированной высокой дозой УВ, внизу – контрольной группы

образцов соответственно увеличивали количество реагентов. Результаты приведены в виде отношения содержания ЖК на массу образца органа (мкг/мг образца).

Результаты и обсуждение. На рисунке 1 приведены масс-хроматограммы экстрактов из гомогенатов головного мозга крыс, полученные методом ВЭЖХ-МС в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов.

Хроматографический пик на рисунке 1 в области времен удерживания от 12 до 18 мин в основном обусловлен повышением содержания ЛФЭ(18:0), ЛФЭ(20:0), ЛФХ(20:5), Цер(20:1/d18:2) и Цер(18:0/d18:1) в экстрактах из образцов головного мозга крыс, экспонированных высокой дозой УВ.

На рисунке 2 приведен результат PLS-DA анализа данных полученных при метаболическом профилировании образцов гомогенатов головного мозга крыс четырех групп методом ВЭЖХ-МС. Каждая точка представляет собой один метаболический профиль в координатах главных компонент. Овалами выделены метаболические профили одной группы животных. Выявлены дозозависимые изменения метаболических профилей у животных, экспонированных различными дозами УВ.

При регистрации положительно заряженных ионов методом ВЭЖХ-МС гомогенатов головного мозга крыс выявлена аналогичная картина дозозависимого изменения метаболического профиля.

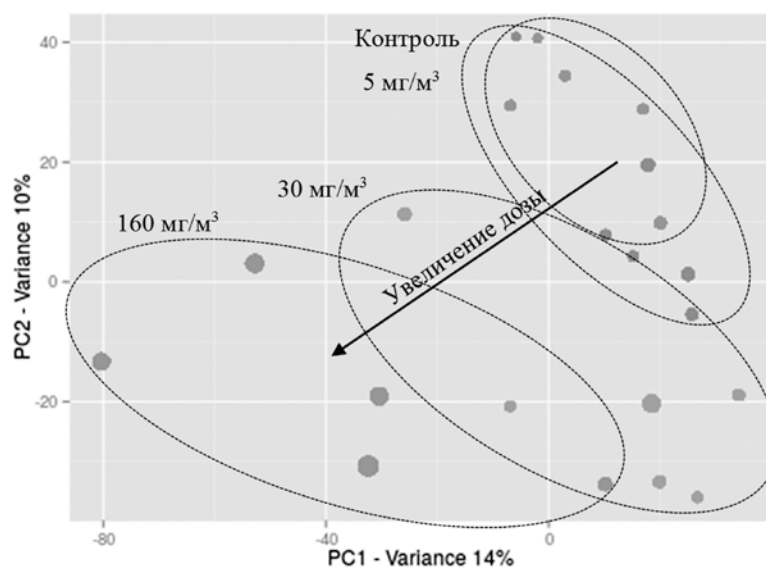


Рис. 2. График «счетов» старших главных компонент, построенный методом PLS-DA по результатам метаболического профилирования методом ВЭЖХ-МС

Валидация построенной PLS-DA модели с помощью перестановочного теста ($n = 20$) показала, что достоверно отличить от контрольной можно только группу 1. В таблице 1 приведены результаты выявления метаболических маркеров воздействия УВ различными методами. В таблице приведены отношения площадей хроматографических пиков группы 1 и контрольной и методы определения анализа.

Нецелевое профилирование образцов гомогенатов головного мозга методом ВЭЖХ позволило выявить значительное увеличение концентрации монозамещенных фосфолипидов. Выявлено увеличение концентрации монозамещенных фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов, также уменьшение концентрации сфингомиелина 16:1. Методом ГХ-МС во всех группах выявлено дозозависимое уменьшение концентрации глицерол-3-фосфата.

Таблица 1

Результаты выявления метаболитических маркеров воздействия УВ

Si/Сконтр ¹			Соединение	Метод
160 мг/м ³	30 мг/м ³	5 мг/м ³		
Головной мозг				
+535.3**	-2	-	ЛФХ(18:1)3	HPLC ESI+
+92.0**	+2.4	-	ЛФЭ(20:0)	HPLC ESI-
-91.6**	-	-	СМ(16:0)	HPLC ESI+
-61.0**	-36.8**	-3.1	ФЭ(38:6)	HPLC ESI+
+50.1**	-	-	ЛФХ(18:2)	HPLC ESI+
+39.6**	+16.5	-	ФЭ(38:4)	HPLC ESI+
+25.4**	-	-	ЛФХ(20:5)	HPLC ESI+
+11.4**	-	-	ЛФЭ(18:0)	HPLC ESI-
+10.5	-	-	Цер(20:1/d18:2)	HPLC ESI-
+10.4**	-	-	ЛФХ(18:0)	HPLC ESI+
-5.7**	-2.0*	-1.4	Глицерол-3-фосфат	GC EI+
+3.1	+2.8	-	2-гидроксикаприловая кислота	HPLC ESI-
+2.5	+2.3	-	Субериновая кислота	HPLC ESI-
+1.5	-	-	ФИ(36:2)	HPLC ESI-
+1.5	-	-	Цер(18:0/d18:1)	HPLC ESI-
+1.3	+1.2	-	Тимин	HPLC ESI+
+1.3	-	-	ФИ(34:2)	HPLC ESI-
Печень				
+11.0	+5.0	+2.1	Фумаровая кислота	GC EI+
+9.6	-	-	Инозитол	GC EI+
+1.2	+1.1	-	9-NODE	HPLC ESI-

Примечание: ¹ – Отношение площадей хроматографических пиков в *i*-ой и контрольной группах. Для иллюстрации добавлен знак: «+» - концентрация в группе выше, чем в контрольной в X раз, «-» - концентрация в первой группе меньше. * - значение $p < 0.01$; ** - значение $p < 0.001$. ² – статистически значимые изменения отсутствуют. ³ – общепринятое краткое обозначение липидов: ФЭ - фосфатидилэтаноламины, ЛФЭ - лизофосфатидилэтаноламины, ЛФХ - лизофосфатидилхолины, ФИ - фосфатидилинозитолы, СМ - сфингомиелины, Цер - церамиды. В скобках указаны количество атомов углерода в ацильных остатках и количество двойных связей С=C.

В гомогенатах печени в группе с высокой дозой методом ГХ-МС выявлено увеличение концентрации свободного инозитола и накопление фумаровой кислоты. Выявлены некоторые признаки перекисного окисления липидов, в частности,

присутствие гидроксиктадекадиеновой кислоты (9-NODE).

Для количественной оценки изменений профилей липидов в образцах гомогенатов, в них были определены СЖК и ЭЖК. Разработанная мето-

Таблица 2

Результаты измерений концентраций СЖК и ЭЖК в печени крыс при хроническом ингаляционном воздействии различных доз УВ

Группа	Суммарная концентрация СЖК, мкг/мг образца	Суммарная концентрация ЭЖК, мкг/мг образца	PUFA/SFA (СЖК)	PUFA/SFA (ЭЖК)
Контроль	1.05 (0.5; 1.8)	74.4 (63.3; 83.3)	0.51 (0.48; 0.53)	0.43 (0.41; 0.45)
Высокая доза, 160 мг/м ³	0.37* (0.3; 0.4)	72.2 (46.2; 100.0)	0.46 (0.34; 0.57)	0.38* (0.36; 0.40)
Средняя доза, 30 мг/м ³	1.11 (1.1; 1.2)	59.5 (46.7; 66.0)	0.64 (0.60; 0.70)	0.42 (0.37; 0.46)
Низкая доза, 5 мг/м ³	1.10 (0.7; 1.7)	79.4 (65.3; 100.6)	0.66 (0.57; 0.75)	0.42 (0.39; 0.45)

Примечание: * - достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$).

Таблица 3

Результаты измерений концентраций СЖК и ЭЖК в головном мозге крыс при хроническом ингаляционном воздействии различных доз УВ

Группа	Суммарная концентрация СЖК, мкг/мг образца	Суммарная концентрация ЭЖК, мкг/мг образца	PUFA/SFA (СЖК)	PUFA/SFA (ЭЖК)
Контроль	4.6 (4.2; 4.9)	170.5 (103.8; 207.4)	0.47 (0.44; 0.51)	0.33 (0.27; 0.37)
Высокая доза, 160 мг/м ³	4.6 (2.9; 6.6)	95.8* (44.0; 141.5)	0.46 (0.43; 0.48)	0.38 (0.36; 0.40)
Средняя доза, 30 мг/м ³	3.2 (2.1; 5.5)	136.5 (88.8; 184.5)	0.46 (0.43; 0.49)	0.34 (0.32; 0.35)
Низкая доза, 5 мг/м ³	5.0 (4.6; 5.7)	153.5 (75.2; 210.6)	0.48 (0.46; 0.50)	0.35 (0.32; 0.36)

Примечание: * - достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$).

дика измерения концентраций ЭЖК позволяет определять суммарное содержание ЖК входящих, в виде ацильных функциональных групп в различные липиды, в частности эфиры холестерина, триглицериды и фосфолипиды.

В таблицах 2 и 3 приведены результаты измерений концентраций СЖК и ЭЖК в образцах головного мозга и печени крыс при хроническом ингаляционном воздействии различных доз УВ. Помимо суммарных концентраций ЭЖК и СЖК приведены относительные величины массовых долей полиненасыщенных жирных кислот в общем содержании свободных или этерифицированных ЖК. Результаты представлены как медиана (5%; 95% перцентиль).

В головном мозге крыс обнаружено снижение суммарного содержания ЭЖК, в среднем в 2 раза. Достоверные изменения наблюдаются только в группе с максимальной дозой, однако тенденция к снижению сохраняется и в других группах.

В печени выявлено уменьшение доли ПНЖК во фракции ЭЖК и значительное (более чем двукратное) снижение содержания СЖК.

Нами установлено, что повышение концентрации ЛФХ в мозге сопровождается статистически значимым уменьшением концентрации глицерол-3-фосфата (табл.1) и не сопровождается изменениями концентраций глицерофосфохолина, глицерофосфоэтаноламина, холина, ацетилхолина или лизофосфатидной кислоты.

Так как содержание глицерофосфохолина (ГФХ) и глицерофосфоэтаноламина (ГФЭ) в головном мозге и плазме крови значимо не различаются при экспонировании различными дозами УВ, можно вычислить относительное содержание ЛФХ и ЛФЭ при отнесении их концентраций к концентрации ГФХ и ГФЭ, соответственно (табл. 4 и 5).

В группу липидов головного мозга входят фосфолипиды, холестерин, сфингомиелины, цере-

Концентрации лизофосфатидилхолинов отнесенные к концентрации глицерофосфохолина в головном мозге и плазме крови крыс при хроническом ингаляционном воздействии различных доз УВ

Группа	Головной мозг		
	ЛФХ(18:1)/ГФХ**	ЛФХ(18:2)/ГФХ	ЛФХ(18:0)/ГФХ
Контроль	0.2 (0.1; 0.3)	0.15 (0.06; 0.18)	5.7 (4.0; 7.4)
Высокая доза, 160 мг/мЗ	111.4* (2.2; 441.5)	3.65* (0.11; 10.25)	90.4* (4.6; 235.2)
Средняя доза, 30 мг/мЗ	0.4 (0.1; 0.7)	0.14 (0.01; 0.26)	9.5 (3.4; 19.5)
Низкая доза, 5 мг/мЗ	0.6 (0.2; 0.8)	0.12 (0.02; 0.29)	8.7 (3.7; 15.3)
	Плазма крови		
Контроль	2.3 (1.7; 3.3)	16.4 (12.5; 20.4)	1.2 (0.9; 1.5)
Высокая доза, 160 мг/мЗ	8.1* (4.2; 11.9)	64.4* (44.3; 100.9)	3.4* (2.4; 4.5)
Средняя доза, 30 мг/мЗ	4.7 (1.6; 9.4)	45.3 (7.2; 71.8)	1.6 (0.9; 3.1)
Низкая доза, 5 мг/мЗ	3.4 (2.7; 4.3)	33.8 (13.6; 41.5)	1.6 (0.3; 2.8)

Примечание: * - достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$); ** - отношение площадей хроматографических пиков.

брозиды, ганглиозиды и многие другие. В сером веществе головного мозга фосфоглицериды составляют более 60% от всех липидов, а в белом веществе – около 40%. Напротив, в белом веществе содержание холестерина, сфингомиелинов и особенно цереброзидов больше, чем в сером веществе.

Существует небольшое число работ, в которых описано воздействие УВ на состав липидов мозга, в частности в работе [12] показано, что нейропатия, вызванная воздействием 2,5-гександиона и 2,5-гександиола, приводит к изменению состава липидов мозга и седалищного нерва крыс. Выявлено уменьшение веса мозга по сравнению с контрольной группой (на 20%), селезенки и тимуса, а также ингибирование биосинтеза стерола 2,5-гександионом [13]. Нарушения метаболизма холестерина могут приводить к изменению текучести мембран нервов, изменять влияние АТФаз и потенциально приводить к различным проявлениям нейротоксичности [14], однако корреляция между ингибированием стерологенеза и развитием периферической нейропатии не установлена.

В данной работе нами выявлено уменьшение относительной концентрации ненасыщенных жирных кислот в печени, что является индикатором вязкости клеточных мембран [15]. В качестве маркера текучести мембран мы использовали отношение концентраций ПНЖК в общем пуле ЖК, при этом уменьшение числа ПНЖК отра-

жает уменьшение текучести клеточных мембран [16] и, соответственно, увеличение их проницаемости для воды и других малых гидрофильных молекул. Также известно о влиянии ПНЖК на активность транспортеров в клетках печени [17].

Текучесть мембран зависит от липидного состава и температуры окружающей среды. С увеличением содержания ненасыщенных жирных кислот текучесть возрастает, так как наличие двойных связей способствует нарушению полукристаллической мембранной структуры. Известно, что активные формы кислорода (АФК), например, перекись водорода способны уменьшать текучесть мембран и увеличивать их проницаемость в опытах *in vitro* [18]. Оксидативный стресс и увеличение концентрации АФК приводит к уменьшению текучести мембран, что, вероятно, является одним из поражающих факторов АФК [19]. УВ не способны сами по себе образовывать свободные радикалы, однако, могут быть вовлечены в механизм возникновения оксидативного стресса опосредованно. Так, показано, что экспонирование гексаном (см. [20,21,22]) приводит к избыточному образованию перекиси водорода и малондиальдегида.

Возможное уменьшение текучести клеточных мембран в печени может вносить вклад в потерю целостности мембран [23]: в ходе морфологических исследований тканей печени в группе под-

Таблица 5

Концентрации лизофосфатидилэтанолamines отнесенные к концентрации глицерофосфоэтанолamina в головном мозге и плазме крови крыс при хроническом ингаляционном воздействии различных доз УВ

Группа	Головной мозг	
	ЛФЭ(18:0)/ГФЭ	ЛФЭ(20:0)/ГФЭ
Контроль	14.3 (8.4; 18.3)	2.7 (2.0; 3.9)
Высокая доза, 160 мг/м3	335.6* (128.2; 511.8)	341.0* (121.0; 526.7)
Средняя доза, 30 мг/м3	12.7 (7.7; 16.6)	10.2* (6.0; 20.1)
Низкая доза, 5 мг/м3	16.6 (12.4; 21.6)	3.4 (2.0; 5.8)
	Плазма крови	
Контроль	24.1 (15.4; 30.4)	65.9 (8.6; 133.0)
Высокая доза, 160 мг/м3	288.1* (240.7; 339.2)	218.9* (211.6; 231.4)
Средняя доза, 30 мг/м3	19.1 (12.2; 24.0)	61.3 (8.0; 123.7)
Низкая доза, 5 мг/м3	27.3 (17.4; 34.4)	74.3 (9.7; 150.0)

Примечание: * - достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$).

вергавшейся экспонированию максимальной дозой УВ выявлена вакуолизация гепатоцитов [24].

Можно предположить, что выявленное изменение содержания ПНЖК в печени способствует процессам перекисного окисления липидов. Воздействие АФК на ПНЖК и состав ЖК вызывает изменения в мембранах клеток [25]. Косвенным подтверждением гипотезы об окислении липидов в печени может служить некоторое повышение уровней 9-HODE в экстрактах.

Выявленное статистически значимое уменьшение СЖК в печени не удалось объяснить привлечением литературных примеров, так как различные гепатотоксичные соединения обычно вызывают увеличение, а не уменьшение концентраций СЖК в печени, например, ацетаминофен [26] и CCl_4 [27]. С другой стороны, при этом исследователи выявляли изменения классических маркеров гепатотоксичности – АСТ и АЛТ, уровень которых значимо не изменился в ходе нашего эксперимента [24]. Следовательно, можно предположить, что выявленное уменьшение концентрации СЖК не обусловлено гепатотоксическим воздействием углеводов.

Наиболее впечатляющим результатом, полученным в ходе исследования хронического влияния низких доз УВ на метаболические профили крыс, является выявленное значительное повышение концентрации лизофосфолипидов в экс-

тракте из головного мозга. Данный эффект в основном обусловлен значительным возрастанием концентраций одного лизофосфатидилэтанолamina ЛФЭ(20:0) и четырех лизофосфатидилхолинов: ЛФХ(18:0), ЛФХ(18:1), ЛФХ(18:2) и ЛФХ(20:5). Необходимо отметить, что определение ди- и триглицеридов использованными методами невозможно. Изменений в фосфатидилхолинах, фосфатидилсеринах и эфирах холестерина не выявлено, а в фосфатидилэтанолaminaх изменения разнонаправлены.

Повышение концентрации лизофосфолипидов должно приводить к уменьшению количества ацильных групп в липидах (концентрация ЭЖК). Так как использованный метод ВЭЖХ-МС не количественный, то можно предположить, что реальное уменьшение содержания жирнокислотных остатков в экстракте из гомогената головного мозга соответствует двукратному уменьшению, выявленному при количественной оценке концентрации ЭЖК.

Изменение содержания различных липидов могут быть связаны с патологическими процессами в мозге [28]. Фосфолипиды – это основные липиды клеточных мембран и изменения в их метаболизме в нервной системе могут наблюдаться при различных воздействиях, например, при хроническом воздействии этанола [29]. Фосфолипиды клеточных мембран участвуют в клеточных от-

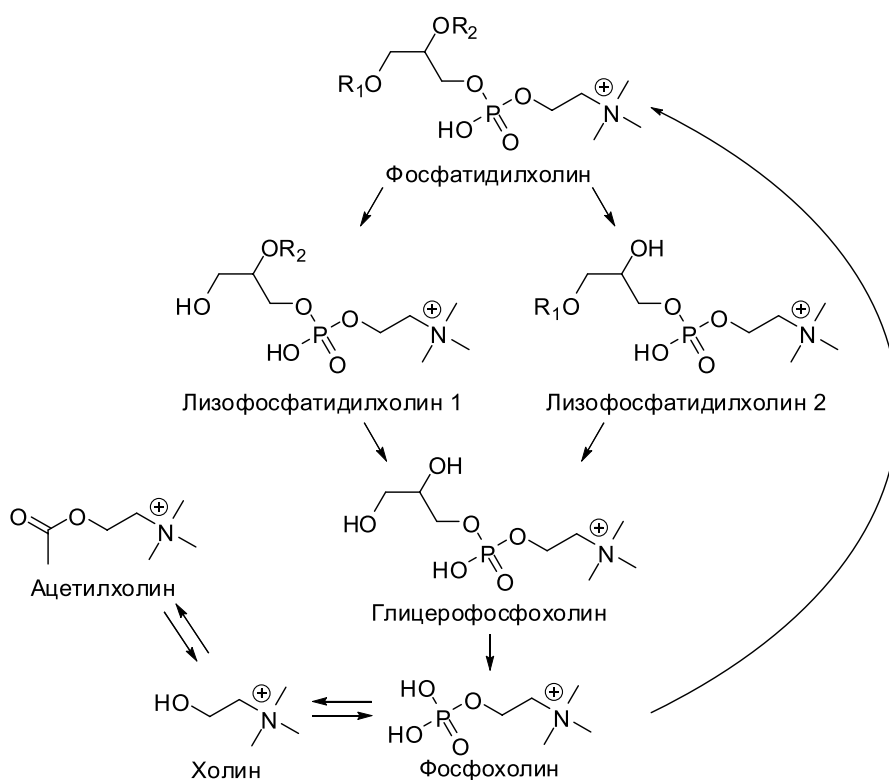


Рис. 3. Биосинтез и распад ФХ. ФХ распадается на СЖК и ЛФХ, который в свою очередь может образовывать СЖК и ГФХ. Затем он гидролизуется либо до холина либо до фосфохолина. R1 и R2 – ацильные группы.

ветах на различные внешние стимулы. ФХ – один из основных фосфолипидов мембран эукариотических клеток, он составляет приблизительно 11% от общей сухой массы липидов головного мозга крыс, ФЭ – 17%, СМ – 3%, ФС – 7%, ФИ – 1% и плазмалогены – 14% [30]. Обнаруженные нами лизофосфатидилхолины, представляют собой продукт частичного гидролиза ФХ. Дальнейший гидролиз приводит к образованию глицерофосфохолина и глицерол-3-фосфата. Принципиальная схема синтеза и распада ФХ приведена на рисунке 3.

Высокое содержание лизофосфолипидов может являться маркером деструкции клеточных мембран, что является характерной особенностью нейродегенерации при острых или хронических неврологических заболеваниях [31]. При болезни Альцгеймера (БА) происходит увеличение соотношения уровня ЛФХ к уровню глицерофосфохолина, из которого образуется ЛФХ под действием внутриклеточной фосфолипазы А2, внеклеточных лецитинхолестеролацилтрансферазы и/или фосфолипазы А1 [32,33]. Аутоаксин (внеклеточная фосфолипаза/эктонуклеотидпирофосфатаза/фосфодиэстераза-2) превращает лизофосфатидилхолин в лизофосфатидную кислоту [33].

Эти данные свидетельствуют, с одной стороны,

о сходстве выявленных изменений с теми, что описаны при БА, с другой стороны, позволяют предположить снижение активности аутоаксина в качестве фактора, обуславливающего повышенный уровень ЛФХ. Желчные кислоты могут выступать неконкурентными ингибиторами аутоаксина [34]. Поскольку одним из продуктов активности аутоаксина является пирофосфат, особый интерес представляет более глубокое исследование возможных причин выявленного нами повышения концентрации пирофосфата и коэффициента гидроксилирования желчи в крови животных, экспонированных УВ [9].

Известны два типа процессов деструкции мембран: ферментатическое расщепление небольшого числа фосфолипидов для синтеза мессенджеров [35] и патологическое разрушение, связанное с нарушением клеточного гомеостаза и гибелью клеток. Массовый гидролиз фосфолипидов приводит не только к образованию большого числа биологически активных соединений, но и также меняет проницаемость клеточных мембран [36], в результате чего, клетка может начать терять калий или АТФ из цитозоля или пропускать натрий и кальций, которые находятся в значительно большей концентрации в межклеточном пространстве. ЛФХ участвуют в процессе апоптоза клеток [37], они стимулируют фагоцитоз миелоидной оболочки и могут изменять свойства поверхности эритроцитов [38]. Стоит отметить, что ЛФХ являются прекурсорами для синтеза фактора активации тромбоцитов [39]. В крови у курящих людей концентрации ЛФХ выше, чем у некурящих [40].

Высвобождение СЖК при гидролизе фосфолипидов в мозге в результате имешии или конвульсий обнаружено достаточно давно [41], тем не менее, в ходе исследования мы не обнаружили статистически значимого увеличения концентрации СЖК в мозге крыс. В то же время, выявленное нами увеличение концентрации насыщенных и уменьшение концентрации ненасыщенных ЖК описано в ряде случаев болезни Альцгеймера [42].

В образцах плазмы крови крыс мы не определяли уровень СЖК и ЭЖК, однако выявили, что отношение концентраций ЛФХ(18:1) и ГФХ в гомогенате головного мозга увеличивается в 555

раз по сравнению с контрольной группой, в плазме крови при этом выявлено статистически значимое увеличение данного индекса в 3.5 раза. По-видимому, гидролиз фосфолипидов приводит к повышению гидрофильности молекул и, как следствие, повышению их концентрации в системном кровотоке. Следовательно, концентрации лизофосфолипидов в плазме крови могут служить маркером процессов, происходящих в головном мозге. Аналогичные процессы были выявлены у пациентов с множественным склерозом (увеличение концентрации ЛФХ в плазме крови) [43].

Изменение отношений концентраций ЛФХ(18:1) и ГФХ в плазме крови носят строгий дозозависимый характер, коэффициент корреляции Пирсона составляет 0.97. Тем не менее, только концентрация УВ 160 мг/м³ вызывает статистически значимые изменения.

Отношение концентраций ЛФХ с другими ацильными группами, а именно стеариновой и суммой изомеров линолевой кислоты, увеличивается при экспонировании УВ с концентрацией 160 мг/м³ в 15.8 и 24.3 раза соответственно. В плазме крови при этом увеличение составило 2.8 и 3.9 раза, соответственно.

Стоит отметить, что мы наблюдали изменение концентраций ЛФЭ, содержащих в качестве ацильных групп только насыщенные жирные кислоты: стеариновую и арахидиновую (18:0 и 20:0). Изменения их концентраций, отнесенные к концентрации ГФХ, изменились по сравнению с контрольной группой в 23.4 и 126.2 раза, соответственно. Концентрации ЛФЭ с ненасыщенными жирными кислотами не изменялись.

Таким образом, помимо общих признаков с известными нейродегенеративными заболеваниями человека, мы выявили ряд отличий, что может быть обусловлено как спецификой токсического фактора, так и видовыми особенностями.

Заключение. В данной работе нами проведен поиск изменений метаболических профилей головного мозга и печени крыс, вызванных хроническим ингаляционным воздействием УВ. В качестве аналитических методов мы применили сочетание газовой хроматомасс-спектрометрии с высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрией высокого разрешения. Профили СЖК и ЭЖК были количественно определены методом ГХ-МС. Установлено, что непрерывное ингаляционное воздействие в течение 90 суток смеси предельных углеводов С6-С10 с концентрацией 160 ± 20.5 мг/м³ приводит к различным изменениям профиля низкомолекулярных соединений головного мозга. Воздействие смесей с концентрациями 31.4 ± 5.6 мг/м³ и $5,2 \pm 1.08$ мг/м³ приводит к значительно меньшим изменениям. Наиболее значительные изме-

нения связаны с повышением концентрации лизофосфолипидов в экстракте головного мозга. Повышение в основном обусловлено значительным возрастанием концентраций одного лизофосфатидилэтаноламина ЛФЭ(20:0) и четырех лизофосфатидилхолинов: ЛФХ(18:0), ЛФХ(18:1), ЛФХ(18:2) и ЛФХ(20:5).

Высокое содержание лизофосфолипидов может свидетельствовать о деструкции клеточных мембран и развитии нейродегенеративных заболеваний. Повышение концентрации ЛФХ в мозге крыс сопровождается статистически значимым уменьшением уровня глицерол-3-фосфата и не сопровождается изменениями концентраций глицерофосфохолина, холина, ацетилхолина, СЖК или лизофосфатидной кислоты.

Учитывая, что содержание глицерофосфохолина и глицерофосфоэтаноламина в головном мозге и плазме крови значительно не различаются при экспонировании различными дозами УВ, было высказано предположение, что можно провести нормировку концентраций ЛФХ и ЛФЭ на концентрации ГФХ и ГФЭ, которые являются продуктами их дальнейшего гидролиза. В результате были вычислены относительные концентрации ЛФХ и ЛФЭ, и показано, что наиболее чувствительным маркером является отношение концентраций ЛФХ(18:1) и ГФХ в гомогенате головного мозга, которое увеличивается в 555 раз по сравнению с контрольной группой, в плазме крови при этом выявлено статистически значимое увеличение данного индекса в 3.5 раза. По-видимому, гидролиз фосфолипидов приводит к повышению гидрофильности молекул и, как следствие, повышению их концентрации в системном кровотоке. Следовательно, концентрации лизофосфолипидов в плазме крови могут служить маркером процессов, происходящих в головном мозге.

Содержание ЭЖК в экстрактах из гомогената мозга крыс экспонированных высокой дозой снижено в два раза по сравнению с контрольной группой. Высокая концентрация ЛФХ в головном мозге крыс экспонированных максимальной дозой УВ приводит к повышению концентрации ЛФХ в системном кровотоке. Таким образом, можно предположить, что концентрация ЛФХ в крови является потенциальным маркером влияния УВ на липидный состав мозга.

Совокупность метаболических маркеров составляет т.н. «сигнатуру токсичности», которая впоследствии может быть использована для выявления воздействия УВ на людей, проживающих вблизи опасных химических предприятий. Однако полученные предварительные результаты нуждаются в количественной оценке с точки зрения селективности (специфичности) и чувствительности обнаруженных метаболических маркеров как диагностических показателей [44].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Spencer P.S., Schaumburg H.H., Sabri M.I., Veronesi B. The enlarging view of hexacarbon neurotoxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* 1980; 7: 279-356.
2. Huang C.C. Polyneuropathy induced by n-hexane intoxication in Taiwan. *Acta Neurol. Taiwan.* 2008; 17: 3-3.
3. Уколов А.И., Мигаловская Е.Д., Радилов А.С. Хромато-масс-спектрометрическое исследование биологических образцов крыс подвергавшихся воздействию алифатических углеводородов с числом атомов углерода от 6 до MEDLINE.RU. 2015; 16: 335-343.
4. Simonati A., Rizzuto N., Cavanagh J.B. The Effects of 2,5-Hexanedione on Axonal Regeneration After Nerve Crush in the Rat. *Acta Neuropathol.* 1983; 59: 216-224.
5. Pereira M.E., Adams A.I.H., Silva N.S. 2,5-Hexanedione inhibits rat brain acetylcholinesterase activity in vitro. *Toxicol. Lett.* 2004; 146: 269-274.
6. Tshala-Katumbay D.D., Palmer V.S., Kayton R.J., Sabri M.I., Spencer P.S. A new murine model of giant proximal axonopathy. *Acta Neuropathol.* 2005; 109: 405-410.
7. Yokoyama K., Araki S., Akabayashi A., Kato T., Sakai T., Sato H. Decrease of Glucose Utilization Rate in the Spinal Cord of Experimental 2,5-Hexanedione Poisoning Rats: Application of Microdetermination Technique. *Industrial Health.* 2000; 38: 189-194.
8. Гончаров Н.В., Уколов А.И., Орлова Т.И., Мигаловская Е.Д., Войтенко Н.Г. Метаболизма: на пути интеграции биохимии, аналитической химии, информатики. *Успехи совр. биол.* 2015; 11: 3-17.
9. Уколов А.И., Кессених Е.Д., Радилов А.С., Гончаров Н.В. Токсикометаболизма: поиск маркеров хронического воздействия низких концентраций алифатических углеводородов. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* 2011: 24-32.
10. Уколов А.И., Орлова Т.И., Савельева Е.И., Радилов А.С. Хромато-масс-спектрометрическое определение свободных жирных кислот в плазме крови и моче с использованием экстрактивного алкилирования. *Журнал аналитической химии.* 2015; 9: 968-975.
11. Орлова Т.И., Уколов А.И., Савельева Е.И., Радилов А.С. Определение свободных и этерифицированных жирных кислот в плазме крови методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием. *Аналитика и контроль.* 2015; 2: 183-188.
12. Bhatt A., Khan S., Pandya K.P. Effect of Hexacarbon on Selected Lipids in Developing Rat Brain and Peripheral Nerves. *J. Appl. Tox.* 1988; 8; 1: 53-57.
13. Gillies P.J., Norton R.M., Bus J.S. Inhibition of sterogenesis but not glycolysis in 2,5-hexanedione induced distal axonopathy in the rat. *Toxicol. Appl. Pharm.* 199; 287-292.
14. Taranova N.P. Intensity of acetate-2-14C incorporation into brain and spinal cord phospholipids and cholesterol of healthy guinea pigs and those poisoned with Tri-o-cresylphosphate. *Bull. Exp. Biol. Med.* 1976; 85: 427-429.
15. Kharroubi W., Dhibi M., Mekni M., Haouas Z., Chreif I., Neffati F., Hammami M., Sakly R. Sodium arsenate induce changes in fatty acids profiles and oxidative damage in kidney of rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2014; 20: 12040-12049.
16. Cocchi M. Tonello L. Gabrielli F. (2011). Platelet, Fatty Acids, Membrane Viscosity, Depression and Ischemic Heart Disease - Biological-Molecular Path, with Medical-Anthropology Insights. In: *Coronary Angiography - Advances in Noninvasive Imaging Approach for Evaluation of Coronary Artery Disease.* Editor: Branislav Baskot. InTech Ed. ISBN 978-953-307-675-1.
17. Damiano F., Gnoni G.V., Siculella L. Functional analysis of rat liver citrate carrier promoter: differential responsiveness to polyunsaturated fatty acids. *Biochem J.* 2009; 42: 561-71.
18. Su Z., Yan X.D., Li Y.J., Chen X. Effects of hydrogen peroxide on membrane fluidity and Ca(2+)-transporting ATPase activity of rabbit myocardial sarcoplasmic reticulum. *Acta pharmacologica Sinica.* 1993; 5: 393-396.
19. Yehuda S., Rabinovitz S., Carasso R.L., Mostofsky D.I. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging.* 2002; 5: 843-853.
20. Adedara I.A., Abolaji A.O., Odion B.E., Okwudi I.J., Omolaja A.A., Farombi E.O. Impairment of Hepatic and Renal Functions by 2,5-Hexanedione Is Accompanied by Oxidative Stress in Rats. *J. Toxicol.* 2014; 2014: 1-9.
21. Pereira M.E., Bordignon A.M., Bürger C., Huang C.I., Rocha J.B. Long-term treatment with 2,5-hexanedione has no effect on the specific activity of some brain and liver glycolytic enzymes of adult rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1924; 7: 735-740.
22. Goel S.K., Rao G.S., Pandya K.P. Hepatotoxic effects elicited by n-hexane or n-heptane. *J. Appl. Toxicol.* 1988; 2: 81-84.
23. Conquer J.A., Martin J.B., Tummon I., Watson L.T.F. Fatty acid analysis of blood serum, seminal plasma. *Lipids.* 1999; 34: 793-799.
24. Разработка предельно допустимой концентрации (ПДК) смесей предельных углеводородов C1-C5 и C6-C10 в атмосферном воздухе населенных мест // Отчет о НИР / ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, рук. д.м.н., проф. Радилов А.С. Санкт-Петербург, 2015 г.
25. Dotan Y., Lichtenberg D., Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res.* 2004; 43: 200-227.
26. Suciuc M., Gruia A.T., Nica D.V., Azghadi S.M., Mic A.A., Mic F.A. Acetaminophen-induced liver injury: implications for temporal homeostasis of lipid metabolism and eicosanoid signaling pathway. *Chemico-Biological Interactions.* 2015; 242: 335-344.
27. Al-Assaf A.H. Preventive Effect of Corosolic Acid on Lipid Profile Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxic Rats. *Pakistan Journal of Nutrition.* 2013; 8: 748-752.
28. Kosicek M., Hecimovic S. Phospholipids and Alzheimer's Disease: Alterations, Mechanisms and Potential Biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14: 1310-1322.
29. Sun G.Y., Huang H.M., Chandrasekhar R., Lee D.Z., Sun A.Y. Effects of chronic ethanol administration on rat brain phospholipid metabolism. *J. Neurochem.* 1987; 48: 974-980.
30. Morell P., Quarles R.H. Characteristic Composition of Myelin. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, et al., editors. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects.* 6th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.
31. Klein J. Membrane breakdown in acute and chronic neurodegeneration: focus on choline-containing phospholipids. *J Neural Transm.* 2000; 107: 1027-1063.
32. Fonteh A.N., Chiang J., Cipolla M., Hale J., Diallo F., Chirino A., Arakaki X., Harrington M.G. Alterations in cerebrospinal fluid glycerophospholipids and phospholipase A2 activity in Alzheimer's disease. *J Lipid Res.* 2013; 10: 2884-2897.
33. Yung Y.C., Stoddard N.C., Mirendil H., Chun J. Lysophosphatidic Acid signaling in the nervous system. *Neuron.* 2015; 4: 669-682.
34. Matas-Rico E., Moolenaar W.H., Oude Efferink R.P., Perrakis A. Steroid binding to Autotaxin links bile salts and lysophosphatidic acid signalling. *Nat Commun.* 2016; 7: 11240-11248.
35. Divecha N., Irvine R.F. Phospholipid signalling. *Cell.* 1995; 80: 269-278.
36. O'Regan M.H., Alix S., Woodbury D.J. Phospholipase A2-evoked destabilization of planar lipid membranes. *Neurosci Lett.* 1996; 202: 201-203.
37. Lauber K., Bohn E., Kröber M., Xiao Y., Blumenthal S. Apoptotic Cells Induce Migration of Phagocytes via Caspase-3-Mediated Release of a Lipid Attraction Signal. *Cell.* 2003; 16: 717-730.
38. Munder P.G., Modolell M., Andreesen R., Weltzien H.U., Westphal O. Lysophosphatidylcholine (lysolecithin) and its synthetic analogues. Immunomodulating and other biologic effects. *Springer Seminars in Immunopathology.* 1979; 2: 187-203.
39. Bazan N.G., de Turco E.B., Allan G. Mediators of injury in neurotrauma: intracellular signal transduction and gene expression. *J Neurotrauma.* 1912: 791-814.
40. Pasini A.F., Stranieri C., Pasini A., Vallerio P., Mozzini C., Solani E., Cominacini M., Cominacini L., Garbin U. Lysophosphatidylcholine and Carotid Intima-Media Thickness in Young Smokers: A Role for Oxidized LDL-Induced Expression of PBMC Lipoprotein-Associated Phospholipase A2? *PLoS One.* 2013; 12: e83092.
41. Bazan N.G. Effects of ischemia and electroconvulsive shock on free fatty acid pool in the brain. *Biochim Biophys Acta.* 19218: 1-10.
42. Söderberg M., Edlund C., Kristensson K., Dallner G. Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and Alzheimer's disease. *Lipids* 1991; 26: 421-425.
43. [43] Andreoli V.M., Maffei F., Tonon G.C., Zibetti A. Significance of plasma lysolecithin in patients with multiple sclerosis: a longitudinal study. *J. Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry.* 1973; 36: 661-667.
44. Войтенко Н.Г., Прокофьева Д.С., Гончаров Н.В. Проблемы диагностики при интоксикации фосфорорганическими соединениями. *Токс. Вестн.* 2013; 5: 2-6.
45. Inhibition of sterogenesis but not glycolysis in 2,5-hexanedione induced distal axonopathy in the rat. *Toxicol. Appl. Pharm.* 199; 287-292.
46. Taranova N.P. Intensity of acetate-2-14C incorporation into brain and spinal cord phospholipids and cholesterol of healthy guinea pigs and those poisoned with Tri-o-cresylphosphate. *Bull. Exp. Biol. Med.* 1976; 85: 427-429.
47. Kharroubi W., Dhibi M., Mekni M., Haouas Z., Chreif I., Neffati F., Hammami M., Sakly R. Sodium arsenate induce changes in fatty acids profiles and oxidative damage in kidney of rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2014; 20: 12040-12049.
48. Cocchi M. Tonello L. Gabrielli F. (2011). Platelet, Fatty Acids, Membrane Viscosity, Depression and Ischemic Heart

REFERENCES:

1. Spencer P.S., Schaumburg H.H., Sabri M.I., Veronesi B. The enlarging view of hexacarbon neurotoxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* 1980; 7: 279-356.
2. Huang C.C. Polyneuropathy induced by n-hexane intoxication in Taiwan. *Acta Neurol. Taiwan.* 2008; 17: 3-3.
3. Ukolov A.I., Migalovskaia E.D., Radilov A.S. GC-MS and HPLC-MS analysis of biological samples from rats exposed by aliphatic C6-C10 hydrocarbons. *MEDLINE. RU.* 2015; 16: 335-3(in Russian)
4. Simonati A., Rizzuto N., Cavanagh J.B. The Effects of 2,5-Hexanedione on Axonal Regeneration After Nerve Crush in the Rat. *Acta Neuropathol.* 1983; 59: 216-224.
5. Pereira M.E., Adams A.I.H., Silva N.S. 2,5-Hexanedione inhibits rat brain acetylcholinesterase activity in vitro. *Toxicol. Lett.* 2004; 146: 269-274.
6. Tshala-Katumbay D.D., Palmer V.S., Kayton R.J., Sabri M.I., Spencer P.S. A new murine model of giant proximal axonopathy. *Acta Neuropathol.* 2005; 109: 405-410.
7. Yokoyama K., Araki S., Akabayashi A., Kato T., Sakai T., Sato H. Decrease of Glucose Utilization Rate in the Spinal Cord of Experimental 2,5-Hexanedione Poisoning Rats: Application of Microdetermination Technique. *Industrial Health.* 2000; 38: 189-194.
8. Goncharov N.V., Ukolov A.I., Orlova T.I., Migalovskaia E.D., Voitenko N.G. Metabolomics: On the Way to an Integration of Biochemistry, Analytical Chemistry, and Informatics. *Biology Bulletin Reviews.* 2015; 4: 296-307.
9. Ukolov A.I., Kessenikh E.D., Radilov A.S., Goncharov N.V. Toxicometabolomics: determination of markers of chronic exposure to low doses of aliphatic hydrocarbons. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2011: 24-32.
10. Ukolov A.I., Orlova T.I., Savelieva E.I., Radilov A.S. Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Free Fatty Acids in Blood Plasma and Urine Using Extractive Alkylation. *Journal of Analytical Chemistry.* 2015; 9: 1124-1131.
11. Orlova T.I., Ukolov A.I., Savelieva E.I., Radilov A.S. GC-MS quantification of free and esterified fatty acids in blood plasma. *Analitika i kontrol.* 2015; 2: 183-1(in Russian).
12. Bhatt A., Khan S., Pandya K.P. Effect of Hexacarbon on Selected Lipids in Developing Rat Brain and Peripheral Nerves. *J. Appl. Tox.* 1988; 8; 1: 53-57.
13. Gillies P.J., Norton R.M., Bus J.S.

- Disease - Biological-Molecular Path, with Medical-Anthropology Insights. In: Coronary Angiography - Advances in Noninvasive Imaging Approach for Evaluation of Coronary Artery Disease. Editor: Branislav Baskot. InTech Ed. ISBN 978-953-307-675-1.
17. Damiano F., Gnoni G.V., Siculella L. Functional analysis of rat liver citrate carrier promoter: differential responsiveness to polyunsaturated fatty acids. *Biochem J.* 2009; 42: 561-71.
18. Su Z., Yan X.D., Li Y.J., Chen X. Effects of hydrogen peroxide on membrane fluidity and Ca(2+)-transporting ATPase activity of rabbit myocardial sarcoplasmic reticulum. *Acta pharmacologica Sinica.* 1993; 5: 393-396.
19. Yehuda S., Rabinovitz S., Carasso R.L., Mostofsky D.I. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging.* 2002; 5: 843-853.
20. Adedara I.A., Abolaji A.O., Odion B.E., Okwudi I.J., Omolaja A.A., Farombi E.O. Impairment of Hepatic and Renal Functions by 2,5-Hexanedione Is Accompanied by Oxidative Stress in Rats J. *Toxicol.* 2014; 2014: 1-9.
21. Pereira M.E., Bordignon A.M., Bürger C., Huang C.I., Rocha J.B. Long-term treatment with 2,5-hexanedione has no effect on the specific activity of some brain and liver glycolytic enzymes of adult rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1924; 7: 735-740.
22. Goel S.K., Rao G.S., Pandya K.P. Hepatotoxic effects elicited by n-hexane or n-heptane. *J. Appl. Toxicol.* 1988; 2: 81-84.
23. Conquer J.A., Martin J.B., Tummon I., Watson L.T.F. Fatty acid analysis of blood serum, seminal plasma. *Lipids.* 1999; 34: 793-799.
24. Development of maximum permissible concentration (MPC) of mixtures of saturated hydrocarbons C1-C5 and C6-C10 in the air of populated areas // Research Report / FSUE "RIHOPHE" FMBA. Superv.: prof. Radilov A.S. St. Petersburg, 20(in Russian).
25. Dotan Y., Lichtenberg D., Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res.* 2004; 43: 200-227.
26. Suci M., Gruia A.T., Nica D.V., Azghadi S.M., Mic A.A., Mic F.A. Acetaminophen-induced liver injury: implications for temporal homeostasis of lipid metabolism and eicosanoid signaling pathway. *Chemico-Biological Interactions.* 2015; 242: 335-344.
27. Al-Assaf A.H. Preventive Effect of Corosolic Acid on Lipid Profile Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxic Rats. *Pakistan Journal of Nutrition.* 2013; 8: 748-752.
28. Kosicek M., Hecimovic S. Phospholipids and Alzheimer's Disease: Alterations, Mechanisms and Potential Biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14: 1310-1322.
29. Sun G.Y., Huang H.M., Chandrasekhar R., Lee D.Z., Sun A.Y. Effects of chronic ethanol administration on rat brain phospholipid metabolism. *J. Neurochem.* 1987; 48: 974-980.
30. Morell P., Quarles R.H. Characteristic Composition of Myelin. In: Siegel GJ, Agranon BW, Albers RW, et al., editors. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects.* 6th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.
31. Klein J. Membrane breakdown in acute and chronic neurodegeneration: focus on choline-containing phospholipids. *J Neural Transm.* 2000; 107: 1027-1063.
32. Fonteh A.N., Chiang J., Cipolla M., Hale J., Diallo F., Chirino A., Arakaki X., Harrington M.G. Alterations in cerebrospinal fluid glycerophospholipids and phospholipase A2 activity in Alzheimer's disease. *J Lipid Res.* 2013; 10: 2884-2897.
33. Yung Y.C., Stoddard N.C., Mirendil H., Chun J. Lysophosphatidic Acid signaling in the nervous system. *Neuron.* 2015; 4: 669-682.
34. Matas-Rico E., Moolenaar W.H., Oude Elferink R.P., Perrakis A. Steroid binding to Autotaxin links bile salts and lysophosphatidic acid signalling. *Nat Commun.* 2016; 7: 11240-11248.
35. Divecha N., Irvine R.F. Phospholipid signalling. *Cell.* 1995; 80: 269-278.
36. O'Regan M.H., Alix S., Woodbury D.J. Phospholipase A2-evoked destabilization of planar lipid membranes. *Neurosci Lett.* 1996; 202: 201-203.
37. Lauber K., Bohn E., Kröber M., Xiao Y., Blumenthal S. Apoptotic Cells Induce Migration of Phagocytes via Caspase-3-Mediated Release of a Lipid Attraction Signal. *Cell.* 2003; 16: 717-730.
38. Munder P.G., Modolell M., Andreesen R., Weltzien H.U., Westphal O. Lysophosphatidylcholine (lysolecithin) and its synthetic analogues. Immunomodulating and other biologic effects. *Springer Seminars in Immunopathology.* 1979; 2: 187-203.
39. Bazan N.G., de Turco E.B., Allan G. Mediators of injury in neurotrauma: intracellular signal transduction and gene expression. *J Neurotrauma.* 1912; 791-814.
40. Pasini A.F., Stranieri C., Pasini A., Vallerio P., Mozzini C., Solani E., Cominacini M., Cominacini L., Garbin U. Lysophosphatidylcholine and Carotid Intima-Media Thickness in Young Smokers: A Role for Oxidized LDL-Induced Expression of PBMC Lipoprotein-Associated Phospholipase A2? *PLoS One.* 2013; 12: e83092.
41. Bazan N.G. Effects of ischemia and electroconvulsive shock on free fatty acid pool in the brain. *Biochim Biophys Acta.* 19218; 1-10.
42. Söderberg M., Edlund C., Kristensson K., Dallner G. Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and Alzheimer's disease. *Lipids* 1991; 26: 421-425.
43. Andreoli V.M., Maffei F., Tonon G.C., Zibetti A. Significance of plasma lysolecithin in patients with multiple sclerosis: a longitudinal study. *J. Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry.* 1973; 36: 661-667.
44. Voitenko N.G., Prokofieva D.S., Goncharov N.V. Problems with diagnosis of intoxication by organophosphorus compounds. *Toksikologicheskii vestnik.* 2013; 5: 2-6. (in Russian).

A.I. Ukolov, E.D. Kessenikh, T.I. Orlova, A.S. Radilov, N.V. Goncharov

IMPACT OF CHRONIC INRHALATION OF LOW DOSES OF ALIPHATIC HYDROCARBONS C6-C10 ON METABOLIC PROFILES OF RATS BRAIN AND LIVER

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663 Settlement Kuz'molovsky, Vsevolozhsky District, Leningrad Region, Russian Federation

For the first time, the chronic inhalation effect of aliphatic hydrocarbons (HC) in low concentrations on metabolic profiles of low molecular weight organic compounds including free (FFA) and esterified (EFA) fatty acids in rats brain and liver was studied. Gas and liquid chromatography-mass spectrometry was used as analytical methods. The list of hydrocarbons includes hexane, heptane, octane, nonane and decane in various ratios. Changes in profiles of low-molecular compounds in the brain were detected under the action of a mixture of HCs in a concentration of $160 \pm 20.5 \text{ mg/m}^3$ for 90 days, while the action of the HCs mixture at lower concentrations of $31.4 \pm 5.6 \text{ mg/m}^3$ and $5.2 \pm 1.08 \text{ mg/m}^3$ only leads to minor changes in profiles. A significant increase in lysophospholipids concentrations, mainly of lysophosphatidylcholine, in the extract from the brain and blood plasma was revealed. The increase in the content of lysophospholipids in brain tissues can be considered as a consequence of the destruction of cell membranes, specific to neurodegenerative processes. At the same time, an increase in the lysophosphatidylcholine concentration in the brain is accompanied by a statistically significant decrease in the concentration of glycerol-3-phosphate and is not followed by changes in the concentrations of glycerophosphocholine, glycerophosphoethanolamine, choline, acetylcholine, FFA, or lysophosphatidic acid. It was shown that concentrations of lysophosphatidylcholine and lysophosphatidylethanolamine, referred to the concentrations of glycerophosphocholine and glycerophosphoethanolamine in blood plasma, may serve as potential markers of the effect of HC on the brain.

Keywords: hydrocarbons, chronic effects, brain, liver, marker, lysophosphatidylcholines, chromatography-mass spectrometry.

Материал поступил в редакцию 29.03.2017 г.