

На прагах рукопису

МУРАШКІН МИХАЙЛО ГЕОРГІЙОВИЧ

ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ ФОСФОЛІПІДІВ В КОРІ ВЕЛИКИХ ПІВ-
КУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ЕМОЦІЙНОМУ СТРЕСІ
І ІШЕМІЇ МІОКАРДА:

03.00.04. - Біохімія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук

Робота виконана у Запорізьському медичному інституті
Міністерства охорони здоров'я України.

Наукові керівники: доктор медичних наук, професор
Якушев Володимир Сергійович
доктор медичних наук, доцент
Сиволап Віктор Денисович.

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Гулевський Олександр Кирилович
доктор біологічних наук,
Бабенко Наталія Олексіївна

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00756830 (Т)

Провідна організація: Київський медичний університет

Захист дисертації відбудеться " 8 " ВЕРЕСНЯ 1994 р
о 14 годині на засіданні Спеціалізованої вченої ради
Д 088.23.04 при Харківському медичному інституті
МОН України (310022, м. Харків, пр. Леніна, 4)

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці
Харківського медичного інституту

Автореферат разісланий " 8 " СЕРПНЯ 1994 р.

Вчений секретар
Спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук

Л.О. Жубрикова

ЛННБ ім. В. Стефаніка
АН України

АКТУАЛЬНІСТЬ. Відомо, що серцево-судинна патологія відіграє важливу роль у структурі смертності [Е.И. Чазов, 1975], і саме це стало вихідним моментом в останні два десятиріччя у вивченні молекулярних механізмів порушення обміну речовин у серці та судинах [А.М. Вихерт, Н.М. Черпаченко, 1981; П.П. Дзея и др., 1986; Ф.Э. Меерсон, 1984; W. Rouslin, R. Millard, 1980; M. Kammermeir, J. Giesen, 1980; C. Jaarsveld, A. Lochner, 1982]. Завдяки цьому були виділені головні шляхи розвитку уражень в серці та інших органах, особливості порушення їх метаболізму, розроблені принципи метаболічної корекції, а також основні підходи до реабілітації хворих з ішемічними ураженнями серця [И.К. Швацхабая, 1974; В.П. Зайцев, 1975].

Проте, незважаючи на всі ці важливі досягнення, залишається актуальним вивчення різних сторін метаболізму у мозку, оскільки порушення функції ЦНС є одним з ускладнень інфаркту міокарда, який зустрічається досить часто [Т.Р. Hackett et al., 1969]. У таких хворих виявляються різні психічні та невротичні розлади, розвивається нейрогенні аритмії [Л.Г. Миллер и др., 1984]. До того ж вісцеро-вісцеральні взаємодії, сприяють не тільки циркуляторній гіпоксії, а й приводять до спазмів судин мозку, наслідком чого є гіпоксія та ішемізація головного мозку [В.П. Зайцев, 1975; Л.Г. Миллер и др., 1984; А.А. Новиков, 1983].

У зв'язку з цим залишається важливим подальше вивчення різних сторін обміну речовин у головному мозку при впливі на організм емоційного стресу, ішемії міокарда і, особливо, на нашу думку, в умовах попередньо перенесеного емоційного стресу при подальшому розвитку ішемії міокарда. Це пов'язане з тим, що емоційний стрес сам по собі порушує метаболізм органів та нейрогуморальну регуляцію в серці, м'язах, печінці, і, в першу чергу, в різних відділах центральної та периферичної нервової системи [И.К. Швацхабая, 1975; Б.М. Федоров, 1977; W.E. Sime, J.C. Vuel, 1980]. Останнє підтверджується рядом досліджень, в яких попередній емоційний стрес, у випадку подальшого інфаркту міокарда, насамперед порушує в ЦНС енергетичний та вуглеводний обмін [В.В. Давыдов, В.С. Якушев, 1985; 1988; В.И. Шарпов, 1982] на фоні зміненої нейрогуморальної регуляції, водно-сольового обміну, а також КЛС [Н.Н. Лобанова и др., 1986; I. Kitataka, 1975; W.E. Sime, J.C. Vuel, 1980].

МЕТА ПРАЦІ. Метою праці було вивчення особливостей обміну фосфоліпідів та деяких метаболічних факторів, що впливають на їх синтез і розпад у корі великих півкуль головного мозку (КВПГМ) після перенесеного емоційного стресу (ПС), ішемії міокарда (ІМ), а також їх комбінованого впливу (ПС+ІМ).

Для реалізації поставленої мети були визначені такі **ЗАВДАННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ**: 1). Вивчити процентні співвідношення окремих фосфоліпідів в нейролемі, мітохондріях, мікросомах; 2). Дослідити період піврозпаду і оновлюваність основних фосфоліпідів; зіставити з цими зрушеннями динаміку активності 5'-нуклеотидази як маркерного ферменту розпаду біологічних мембран; 3). Виявити значення зміни концентрації шГМФ, вітамінів Е і С, а також швидкості гліколізу і наявності АТФ у співвідношенні синтезу і розпаду фосфоліпідів.

НАУКОВА НОВИНА роботи визначається такими основними результатами: встановлено, що в субклітинних структурах КВПГМ внаслідок ПС, ІМ, або при їх комплексному впливі процентне співвідношення фосфоліпідів нейролеми, мітохондрій та мікросом змінюється. Внаслідок ПС та ПС+ІМ у нейролемі та мікросомах збільшується концентрація ФХ на фоні зниження ФЕ та ФС, а у мітохондріях його кількість зменшується тільки внаслідок ПС-ІМ. Встановлено, що концентрація ФІ знижується тільки у нейролемі внаслідок ПС.

Показано, що за таких умов (ПС, ІМ, ПС+ІМ) концентрація лізоформ збільшується в основному у нейролемі та мітохондріях, а попередньо перенесений стрес, у випадку подальшої ішемії, відіграє провідну роль у накопиченні ЛФЕ.

Разом з тим у корі великих півкуль головного мозку у порядку вираженості зменшується період піврозпаду ФХ, ФЕ, ФС та ФІ. Вперше встановлено, що попередньо перенесений стрес сприяє більш інтенсивному гідролізу ФЕ.

Вперше відзначено, що постстресорний і постінфарктний стан змінюють в корі великих півкуль головного мозку співвідношення найважливіших факторів регуляції розпаду і синтезу фосфоліпідів внаслідок ПС, ІМ та ПС+ІМ.

ТЕОРЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ роботи полягає в тому, що встановлені закономірності розпаду та синтезу фосфоліпідів в корі ВПГМ під впливом перенесеного стресу, ішемії міокарда та при їх комбінованих діях є важливими факторами порушення функції ЦНС у постстресорному та постінфарктному періодах.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ. В результаті здійснених експериментів одержані нові дані про розпад і синтез фосфоліпідів та про їх мета-

болісну регуляцію у корі ВПГМ, які дають змогу обґрунтувати більш ефективні підходи в галузі молекулярної фармакології постстресорних та постінфарктних розладів в ЦНС.

ВПРОВАДЖЕННЯ. Результати дисертаційного дослідження були впроваджені в курс лекцій та практичних занять з біохімії в медичних інститутах м.м. Запоріжжя, Дніпропетровська.

АПРОБАЦІЯ РОБОТИ. Головні положення дисертації доповідались і обговорювались під час Всесоюзної конференції з міжнародною участю з питань лабораторних тварин для медико-біологічних і біотехнологічних досліджень АМН СРСР, м. Москва, 1990; під час Всеукраїнського симпозиуму з міжнародною участю з питань біохімії стресу і про шляхи підвищення ефективності лікування захворювань, що мають стресорну природу, м. Запоріжжя, 1992; під час 53-ої підсумкової наукової конференції Запорізького інституту удосконалення лікарів МОЗ України, м. Запоріжжя, 1993; під час науково-практичної конференції раціоналізаторів та винахідників Запорізького інституту удосконалення лікарів МОЗ України, 1993; на засіданні Запорізького відділення УВТ АН України, 1991, 1993.

ПУБЛІКАЦІЇ. За матеріалами дисертації було опубліковано 6 друкованих праць.

ОБСЯГ І СТРУКТУРА ДИСЕРТАЦІЇ. Робота викладена на сторінках машинописного тексту і складається зі вступу, 6-ти глав, висновків, 30 таблиць, 7 малюнків, списку цитованої літератури (287 посилань).

ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ, ЯКІ ВИНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ.

1. Постстресорний та постінфарктний стан є важливою умовою порушення обміну ліпідів кори ВПГМ, що відбивається в зміні процентного співвідношення і періоду піврозпаду найважливіших фосфоліпідів.

2. При станах, що модулюються, в основі накопичення лізоформ ФХ та ФЕ кори ВПГМ лежить порушення співвідношення періоду піврозпаду відповідних пар фосфоліпідів та їх лізоформ (ФХ-ЛФХ, ФЕ-ЛФЕ).

3. Перенесений стрес, постінфарктний стан, а також їх комплексний вплив на кору ВПГМ є важливими умовами зміни співвідношення метаболічних факторів регуляції розпаду і синтезу фосфоліпідів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ. Дослідження були виконані на 471 щурі самці лінії Вістар, масою 150-180 г., відібраних з розплідника АМН СРСР (Столбова, Московська обл.). Тварин розподіляли на такі групи: інтактні (n = 100); тварини, піддані дії емоційного стресу (ЕС) за методом O. Desiderato et al. (1974) (n = 175); тварини, у яких за методом А.Х. Когана (1979) робилося перев'язування вітки ко-

ронарної артерії (ПКА) як моделі ішемії міокарда (ІМ) (n = 96); тварини з некрозом міокарда, що відтворювався через 24 години після попередньо перенесеного стресу (n = 100).

Ефективність розвитку гострого стресу у щурів оцінювали за наявністю виразки на слизовій оболонці шлунка, гіпертрофії наднирників та інволюції тимуса, а ПКА - на підставі результатів електрокардіографічного і патоморфологічного методів дослідження.

Евтанзію здійснювали методом декапітації в умовах холодної кімнати (Т +4°С).

Всі дослідження проводились в умовах стандартного комбікормового годування.

Для досліджень у тварин брали тканину кори великих півкуль головного мозку і сироватку крові.

Для вивчення фосфоліпідного складу мембран кори ВПГМ, а також метаболічних факторів регуляції розпаду та синтезу фосфоліпідів під час перенесеного стресу (ПС), ішемії міокарда (ІМ) та ІМ, що була відтворена після перенесеного стресу (ПС+ІМ), використовувалися такі методики:

1. Фосфоліпідний склад мембран вивчали за методом двовимірної високоефективної мікроскошарової хроматографії у системі розчинників: І - хлороформ:метанол:бензол:28% аміак (65:30:10:6); ІІ - хлороформ:метанол:бензол:ацетон:крижана оцтова кислота:вода (70:30:10:5:4:1) [Т.А. Терехова, 1981]. Кількісне визначення фосфора і розрахунок концентрації фосфоліпідів проводили за методом V. Vaskovsky et al. (1975). Чистоту мембранних фракцій контролювали ензиматично: для нейролеми - Na^+ , K^+ -АТФаза, для мітохондрії - цитохромоксидаза, для мікросоми - НАДФН-цитохром С-редуктаза. Під час досліджень періоду піврозпаду ($T_{1/2}$) фосфоліпідів (ФЛ) щурам вводили [$^3\text{H}_2$]-стеаринову кислоту в дозі 40 мккюри на 100 г маси тварини. На підставі одержаних даних досліджувалася загальна радіоактивність (ЗА) ФЛ, яка виражалася в імп/хв/мг ФЛ в 1 г тканини. Розглядаючи розпад ФЛ, за початкову і кінцеву точку дослідження брали відповідно 1-у та 7-у добу експерименту і результати виражали періодом піврозпаду ($T_{1/2}$), часом кругосбігу (Т), % заміщення ФЛ [М.П. Явич, 1977].
2. Активність 5' - нуклеотидази визначали у сироватці крові за методом Н.Д. Мансурової, Р.В. Стосмана (1973).
3. Концентрацію АКТГ у сироватці крові визначали радіоімунологічним методом за допомогою набору "Compagnie Oris Industrie SA" (Франція).
4. Концентрацію щГМФ у КВПГМ визначали радіоімунологічним методом за допомогою набору

"Cyclic GMP RIA kit" фірми "Amersham". 5. Концентрацію L- і дегідроаскорбінової кислоти визначали спектрофотометрично за методом В.В. Соколовського та співавторів (1974). 6. Концентрацію α -токоферола визначали за методом ВЕРХ на "МІЛІХРОМ-4". 7. Швидкість гліколізу вимірювали по утворенню лактата з цитозолі з КВПГМ при інкубації з глюкозою в атмосфері азоту за загальноновживаною методикою. 8. Концентрацію АТФ визначали за Н. Adam (1962). 9. Розрахунок калібрувальних кривих і статистичну обробку результатів здійснили за допомогою програми "БІОСТАТ" О.А. Рижова (1990) на ЕОМ.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБМІРКУВАННЯ.

Встановлено, що у КВПГМ процентне співвідношення між найважливішими фосфоліпідами змінюється переважно в окремих субклітинних структурах, зокрема, у нейролемі, мітохондріях, мікросомах. Так, під впливом емоційного стресу в нейролемі і мікросомах збільшується частка ФХ при зменшенні відносної концентрації ФЕ, ФС, та ФІ. При цьому процентне співвідношення фосфоліпідів у мітохондріях, за винятком ФС, є близьким до інтактних тварин.

У цілому, зниження концентрації і зміна в результаті цього процентного співвідношення фосфоліпідів підтверджують активізацію їх розпаду, коли посилення гідролізу відбувається внаслідок збільшення активності фосфоліпаз [A.D. Edgar, J. Strossnajer, L.A. Horrocks, 1982; W. Tang, G.Y. Sun, 1985; S. Yoshida, M Ikeda, R. Busto et al., 1986], перекисного окислення ліпідів [О.Н. Замуруев, 1987; М.Б. Плотников, А.А. Лобанов, В.В. Иванов, 1988; В.К. Siesjo, S. Rehncrona, 1980; D.B. Watson, R. Busto, W.J. Goldberg et al., 1984], що супроводжується, у кінцевому підсумку, зміненням фосфоліпідного складу, фізико-хімічних параметрів та цілісності субцелюлярних мембран [В.И. Брусованик, А.Н. Ерин, А.А. Селищева и др., 1986]. Разом з цим процент лізоформ фосфоліпідів, особливо ЛФХ у нейролемі та мітохондріях, збільшується у порівнянні з інтактними тваринами. Відомо, що активація гіпофіз-адреналової системи, що викликана емоційним стресом [А.А. Филаретов, 1987; G.V. Gravin, 1985] змінює метаболізм в нервовій системі. Катехоламіни у високій концентрації сприяють прониканню кальція в клітини тканини і таким чином порушують функцію зовнішніх клітинних мембран, мітохондрій. Останні, перевантажені кальцієм, змінюють свою функцію під впливом своїх фосфоліпаз [Ф.Э. Меерсон, 1984; Ф.Э. Меерсон, М.Г. Пшенникова, 1988; В.С. Якушев,

В.В. Давыдов, 1982].

Аналіз цих даних свідчить про те, що емоційний стрес, як правило, в КВПГМ супроводжується порушенням процентного співвідношення фосфоліпідів в нейролемі і ретикулумі при надмірному накопиченні лізофосфоліпідів в зовнішній клітинній мембрані та мітохондріях. Характерним моментом цих порушень є передусім збільшення частки не тільки ФХ, але і його лізоформи.

Порівняльне вивчення аналогічних показників при ішемії міокарда, яка викликається перев'язуванням коронарної артерії (ЛКА), показує, що в субклітинних фракціях виявляються певні особливості. Зокрема, вони торкаються насамперед різкого зменшення при 1М процента ФЕ в нейролемі і мікросомах на фоні відповідно діаметрально протилежного зсуву з боку ФС (в нейролемі - збільшення, в мікросомах - зниження). При цьому, так як і при емоційному стресі, відмічається збільшення частки ЛФХ і ЛФЕ в нейролемі і мітохондріях.

Одержані результати свідчать про те, що в КВПГМ постінфарктний період, на відміну від постстресорного, супроводжується переважно різким зниженням частки ФЕ, що характеризується насамперед великою концентрацією радикалів ненасичених жирних кислот [Н.В. White, С. Galli, R. Paoletti, 1971]. В той же час спільним, як в одному, так і в іншому випадку, є накопичення лізофосфоліпідів, яке відображає неспецифічну природу даного зсуву в умовах емоційного стресу або ішемії міокарда. При цьому якісною стороною постінфарктного періоду є вибіркоче збільшення частки ФХ тільки в ретикулумі, в той час як в нейролемі і мітохондріях такого зсуву не виявляється.

Таким чином, постстресорний і постінфарктний період в КВПГМ супроводжується певними якісними зсувами у процентному співвідношенні фосфоліпідів та їх лізоформ в субклітинних структурах. Додатковою відмінністю першого від другого також є різке зменшення частки ФІ у нейролемі.

Указані результати свідчать про те, що стан емоційного стресу може вплинути певним чином на обмін фосфоліпідів в КВПГМ при подальшому розвитку 1М. Експериментальна перевірка цього висновку показала, що моделювання ПС+1М викликає переважно збільшення частки ФХ в нейролемі, мікросомах, при зниженні цього показника в мітохондріях. Другою стороною цих порушень є зниження забезпеченості клітинних структур, особливо нейролеми ФЕ, ФС, ФІ.

Разом з цим, переважно в нейролемі і мітохондріях КВПГМ, виявляється накопичення ЛФХ та ЛФЕ. Привертає до себе увагу той факт, що

відносна концентрація ЛФЕ зростає в 2-3 рази у порівнянні з іншими групами експериментів.

Аналіз здобутих результатів свідчить про те, що стан перенесеного емоційного стресу впливає в значній мірі на співвідношення фосфоліпідів та їх лізоформ в субклітинних фракціях КВПГМ. Легко помітити, що попередній емоційний стрес у випадку подальшого моделювання ішемії міокарда викликає ті ж зміни, які характерні в основному для перенесеного емоційного стресу. Особливістю цього впливу є також надмірне накопичення у нейролемі ЛФЕ, що доповнює виявлений раніше зсув, зв'язаний з лізофосфатиділхоліном. Ці дані ще раз підкреслюють, що обмін фосфоліпідів у ЦНС має високу чутливість до різних видів впливу, а особливо до таких як емоційний стрес та ішемія міокарда [С.В. Гастева, Т.Е. Райзе, Л.М. Шарагіна, 1983; 1986; 1987; В.С. Якушев, В.В. Давыдов, 1986; 1988].

Паралельне дослідження процентного співвідношення фосфоліпідів в субклітинних фракціях КВПГМ та їх розпаду дає змогу виявити ряд додаткових особливостей обміну фосфоліпідів при емоційному стресі, ішемії міокарда, а також при їх комбінованому впливі.

Встановлено, що після перенесеного емоційного стресу у КВПГМ найшвидше відбувається розпад ФХ у порівнянні з ФЕ, ФС та ФІ (у 2-3 рази). Одночасно з цим $T_{1/2}$ ЛФХ та ЛФЕ мають різноспрямовану динаміку, зокрема розпад ЛФХ збільшується в 4:1 раз, а ЛФЕ зменщується в 3,8 рази по відношенню до вихідного рівня.

Одержані результати свідчать про те, що ПС у мозку різко активує розпад найважливіших фосфоліпідів. При цьому швидкість розпаду ФХ у 1,5 рази вища за такий же показник у ЛФХ. Останнє дозволяє зробити висновок про те, що зростання швидкості деградації лізо-ФХ відстає від аналогічного процесу з боку ФХ і саме це лежить в основі приросту самого ЛФХ. Одночасно з боку ЛФЕ характерне різке обмеження його деградації і, в умовах майже 3-кратного збільшення $T_{1/2}$ ФЕ, вказаний зсув сприяє різкому зростанню концентрації лізоФЕ. Проте в кількісному відношенні він виражений значно менше у порівнянні до пари ФХ-ЛФХ.

Дослідження процесу розпаду фосфоліпідів та їх лізоформ при ішемії міокарда виявили практично ту ж спрямованість, що і при емоційному стресі. Проте в кількісному відношенні є важливі особливості, які полягають в тому, що на 30% більш інтенсивно розпадається ФЕ, за його ж самого, але в умовах ПС. При цьому $T_{1/2}$ ФХ та ФС відповідно менше в 2,3 та 1,7 рази у порівнянні з цими ж показниками

при ПС.

Вивчення часу розпаду ЛФХ та ЛФЕ показує, що при ІМ у КВПГМ в 1,2 рази більш активно деградує ЛФХ, в той час як розпад ЛФЕ виражений значно менше.

Аналіз цих результатів свідчить про те, що при ІМ в КВПГМ більш інтенсивно зазнає розпаду ФЕ на фоні зменшення $T_{1/2}$ ЛФЕ. Останнє складає основу приросту даної лізоформи. При цьому швидкість гідролізу ФХ значно менша ніж ФЕ при паралельному більш вираженому зменшенні кількості лізоФХ.

Разом з цим звертає на себе увагу той факт, що в КВПГМ попередній емоційний стрес у випадку подальшого моделювання ІМ викликає невеликі зсуви у процесах розпаду фосфоліпідів. Так, особливістю комбінованого впливу ПС+ІМ є додаткове посилення на 36% часу розпаду ФЕ і зростання на 75% $T_{1/2}$ ЛФЕ у порівнянні з ізольованим відтворенням ІМ. Кількісні параметри для інших фосфоліпідів в КВПГМ залишаються на тому ж рівні, що й при ІМ.

Таким чином, попередній стрес не змінює величину розпаду ФХ, ФС, ФІ, а також ЛФХ і, з одного боку, різко сприяє зменшенню ФЕ у КВПГМ, а, з іншого боку, накопиченню ЛФЕ. При цьому, порівнюючи дані показники при різних моделях, можна побачити, що вони, крім ФЕ, значно менше виражені при ІМ та ПС+ІМ, ніж при ПС. В той же час показники розпаду лізофосфоліпідів кори мозку узгоджуються з динамікою росту 5'-нуклеотидлази в крові, як маркерного ферменту пошкодження мембран клітин, активність якого є найбільшою при ПС+ІМ.

Порівнюючи динаміку розпаду фосфоліпідів з їх кількісними характеристиками в різних субклітинних структурах (нейролема, мікросоми, мітохондрії), можна встановити відносне співвідношення між синтезом і розпадом того чи іншого фосфоліпиду, яке вказує на переважаючу активність ферментів синтезу чи розпаду фосфоліпідів. Так, в умовах ПС в КВПГМ при інтенсивному розпаді ФХ зростає процентний вміст даного фосфоліпиду в таких субклітинних структурах, як нейролема та мікросоми. Зокрема, на 2-у та 7-у добу після ПС у нейролемі процентний вміст ФХ зростає близько 24-25% відносно вихідного рівня, а в мікросомах зростання процентного вмісту ФХ на ці ж строки відбувається відповідно на 12,7% та 10,9%.

Ці дані зростання процентного вмісту ФХ в субклітинних структурах КВПГМ, на нашу думку, вказують на переважання у постстресорному періоді швидкості його синтезу над швидкістю розпаду.

Аналогічний зсув посилення синтезу над розпадом, що стимулюєть-

ся емоційним стресом, відмічається також у ФЕ. Зменшення $T_{1/2}$ ФЕ в 3 рази відносно вихідної величини супроводжується зростанням процентного вмісту цього фосфоліпиду на 2-у та 7-у добу у нейролемі, де його процентна кількість збільшується відповідно на 22% та 13,6% відносно вихідного рівня. Необхідно відзначити, що в мікосомах на 2-у добу експерименту спостерігається зниження даного показника на 11,6%, а в мітохондріях процентний вміст ФЕ зростає під час тієї ж доби експерименту на 6,8% відносно вихідного рівня. Отже, стимуляція синтезу даного фосфоліпиду залежить від особливостей тої чи іншої субклітинної структури 4 часу післядії емоційного стресу. Крім того, ФЕ може інтенсивно метилуватися, оскільки цей процес стимулюється нейромедіаторами, зокрема рядом катехоламінів [F. Hirata, J. Axelrod, 1980].

Аналіз метаболізму ФС та ФІ показує, що при посиленні розпаду даних фосфоліпідів (в 2-3 рази відносно вихідної величини) в тканині КВПГМ відзначається також відносне зниження їх процентного вмісту в субклітинних структурах. Зростання процентного вмісту ФС та ФІ спостерігається лише в мітохондріях. Процент ФС в цій субклітинній фракції зростає на 2-у та 7-у добу експерименту на 25% та 34,1%, ФІ - на 2-у добу експерименту - на 10,5%, відносно вихідного рівня.

Аналізуючи метаболізм ЛФХ в тканині КВПГМ, необхідно відзначити, що посилення розпаду цієї лізоформи і зростання її процентного вмісту в нейролемі та мітохондріях є однаковим як на 2-у, так і на 7-у добу експерименту. В протилежність цьому, відносно ЛФЕ спостерігається сповільнення розпаду та збільшення його процентного співвідношення в субклітинних фракціях на 7-у добу експерименту в 2,3 рази відносно 2-ї доби. Останнє свідчить про накопичення ЛФЕ.

Аналіз даних синтезу та розпаду фосфоліпідів при ПС вказує на те, що при високому рівні розпаду ФХ, ФЕ, ФС, ФІ та ЛФХ в тканині КВПГМ можна чекати інтенсифікацію синтезу ФХ, ЛФХ, ФЕ. Тоді спостерігається відносно високий рівень розпаду ФС та ФІ. Напевно про переважання процесів розпаду над процесами синтезу можна судити тільки по відношенню до ФС та ФІ, а про превалювання синтезу над розпадом-переважно по відношенню до ЛФЕ.

Зіставляючи швидкість розпаду ФХ та ФЕ в тканині КВПГМ з їх лізоформами, встановлено, що розпад ФХ переважає над розпадом його лізоформи. Особливо це характерно для мітохондрій, де ЛФХ зростає на 7-у добу експерименту. До тих же висновків можна дійти, розглядаючи

розпад ФЕ та його лізоформи. Отже, в КВПМ при ПС відбувається накопичення лізофосфоліпідів, що лежить в основі подальшої зміни фізико-хімічних властивостей мембран даної тканини.

Порівняльний аналіз динаміки розпаду фосфоліпідів та їх лізоформ при ішемії міокарда вказує на те, що найбільш інтенсивного розпаду зазнає ЛФХ. Проте при цьому спостерігається високий процент концентрації цієї лізоформи у нейролемі та мітохондріях, що вказує на відносну рівновагу процесів синтезу та розпаду ЛФХ. В свою чергу ЛФЕ сповільнює свій розпад, саме це лежить в основі його накопичення при даній моделі експерименту.

При ішемії міокарда спостерігається також високий рівень розпаду ФЕ, який в 1,6 раз перевищує рівень розпаду ФХ і в 4,1 раза рівень розпаду у інтактних тварин. При цьому у нейролемі, мікросомах та мітохондріях також спостерігається зменшення процентного співвідношення цього фосфоліпіда. Це вказує на переважання процесів розпаду ФЕ над його синтезом.

В тканині КВПМ при ІМ $T_{1/2}$ ФХ і процентний його вміст в субклітинних структурах вказують на відносну рівновагу синтезу і розпаду цього фосфоліпіду, що не є характерним для ФС та ФІ. У них, на нашу думку, переважає синтез над процесами їх розпаду. Так, зростання $T_{1/2}$ для ФС та ФІ вказує на сповільнення їх розпаду, а їх процентний вміст в субклітинних структурах зростає або залишається на вихідному рівні.

Зіставляючи швидкості розпаду ФХ та ФЕ в тканині КВПМ зі швидкістю розпаду їх лізоформ, було відмічено, що їх гідроліз може переважати над розпадом їх лізоформ. В той же час очевидне превалювання розпаду ФХ над його лізоформою відмічається тільки в мітохондріях.

Аналіз динаміки деградації фосфоліпідів при ПС+ІМ показує високий рівень розпаду ФЕ, що в 1,9 раза перевищує рівень розпаду ФХ; і в 5,6 раза вихідний рівень. При цьому в субклітинних структурах (нейролема, мікросоми, мітохондрії) спостерігається зниження його (ФЕ) процентного співвідношення, що вказує на переважання розпаду над синтезом.

У відношенні до ФХ, ФС та ФІ необхідно відзначити, що їх синтез та розпад може бути у відносній рівновазі.

Аналізуючи обмін ЛФХ, необхідно відзначити, що швидкість розпаду цієї лізоформи при даній моделі експерименту залишається на рівні інтактних тварин. Відзначається зростання процентного вмісту цієї

лізоформи в субклітинних структурах КВПГМ, що вказує на очевидне переважання процесів синтезу над розпадом і накопичення ЛФХ при моделі ПС+ІМ. Про аналогічний зсув можна судити і по відношенню до ЛФЕ, $T_{1/2}$ якого вказує на сповільнення його розпаду.

Таким чином, постстресорний та постінфарктний період в КВПГМ супроводжується характерними зсувами в розпаді ФХ, ФЕ, а також їх лізоформ. Решта змін з боку ФС та ФІ доповнюють ці особливості, які поряд з їх процентним співвідношенням дають більш чітке уявлення про спрямованість обміну фосфоліпідів.

Отримані результати дають підставу вважати, що в КВПГМ при досліджуваних експериментальних станах змінюється регуляція процесів синтезу та розпаду даних фосфоліпідів. Серед великої кількості таких умов ми обрали фактори, які раніше при патології, що мала стресорну природу, в даному відношенні аналізувалися мало.

Так, в КВПГМ в постстресорному періоді спостерігається різке зростання вмісту ЦГМФ, яке значно збільшується на 7-у добу експерименту. Відомо, що саме цей циклічний нуклеотид [В.И. Брусованик, А.А. Селищева, Л.Л. Прилипка, 1986; Г.А. Грибанов, 1991] стимулює розпад фосфоліпідів, і що його концентрація підтримується високим рівнем лізофосфоліпідів [Г.А. Грибанов, 1991].

Разом з цим зменшення антиоксидантного захисту мембран КВПГМ через дефіцит а-токоферола та L-АК [Ю.А. Александровский, М.В. Порровский, Г.Г. Незнамов, 1991; М.В. Биленко, 1989; Н.В. Блажевич, 1987; Л.М. Джапаридзе, Е.Е. Устинова, Ю.В. Архипенко, 1986; В.Б. Спиричев, И.Я. Конь, 1989] також посилює розпад фосфоліпідів [Л.М. Белкина, Ю.В. Архипенко, Л.М. Джапаридзе и др., 1986]. При цьому одномоментна недостатність вітамінів Е і С в тканинах в значній мірі стимулює ПОЛ [Л.М. Белкина, Ю.В. Архипенко, Л.М. Джапаридзе и др., 1986].

Крім вітамінної недостатності на фоні збільшення ЦГМФ при ПС у КВПГМ знижується швидкість гліколізу та концентрація АТФ, що гальмує оновлюваність фосфоліпідів [J.P. Berry, W.C. McMurray, 1957; R.M.C. Dawson, 1954]. Отже, на фоні зростання факторів, що посилюють розпад фосфоліпідів, спостерігається зниження факторів, що активують їх синтез, головним з яких є АТФ [J.G.A. Thompson, 1973; T. Yuasa, T. Kuwabara, T. Miyatake et al., 1985].

Аналіз вищевказаних зсувів при ПС приводить до висновку про те, що зростання ЦГМФ на фоні дефіциту вітамінів Е і С, а також на фоні зменшення швидкості гліколізу і рівня АТФ, може лежати в основі ме-

таболічних механізмів, що стимулюють посилення розпаду фосфоліпідів.

Дослідження аналогічних показників у КВПГМ після ішемії міокарда показали, що на фоні дефіциту вітамінів Е і С як антиоксидантів спостерігається зниження швидкості гліколізу і рівня АТФ. Саме ці причини при ІМ є важливими для стимуляції розпаду фосфоліпідів. Разом з цим, необхідно відзначити, що при ІМ не спостерігається високий рівень концентрації цГМФ, як це спостерігається у випадку перенесеного стресу, де показники розпаду фосфоліпідів більш значні.

Подальше вивчення факторів регуляції обміну фосфоліпідів у КВПГМ при ПС+ІМ дозволяє встановити зниження вмісту вітамінів Е і С, а також падіння швидкості гліколізу і рівня АТФ. Це посилює розпад фосфоліпідів і сприяє створенню їх лізоформ. Високий рівень цГМФ в цьому випадку відіграє істотну роль. При ПС+ІМ швидкість розпаду ЛФХ залишається на вихідному рівні, активуючи гуанілатциклазу, що є однією з причин високого рівня цГМФ [В.И. Брусованик, А.Н. Ерин, А.А. Селищева и др., 1986; Г.А. Грибанов, 1991] на 7-у добу експерименту.

Аналіз одержаних даних свідчить про те, що спільним для різних експериментальних моделей (ПС, ІМ, ПС+ІМ) є зменшення а-токоферола, що в значній мірі посилює прооксидантні системи мозку і активує ПОЛ, що збільшує процентний вміст лізофосфоліпідів в мембранних структурах. При даних моделях спостерігається уповільнення швидкості гліколізу та зниження концентрації АТФ, що посилює розпад фосфоліпідів. Це підтверджується літературними даними [Н.Е. Кучеренко, А.Н. Васильев, 1985; J.P. Berry, W.C. McMurray, 1957; R.M.C. Dawson, 1954].

Необхідно відзначити особливості динаміки цГМФ при експериментальних моделях (ПС, ІМ, ПС+ІМ), з якими пов'язана швидкість розпаду фосфоліпідів. Так, концентрація цГМФ значно вища при ПС та ПС+ІМ. Причому, при ПС відбувається посилений розпад фосфоліпідів, зокрема ФХ, а при ПС+ІМ спостерігається зменшення розпаду лізоформ при посиленому розпаді таких основних структурних фосфоліпідів як ФХ та ФЕ.

Дані фактори, які активують розпад фосфоліпідів у КВПГМ, мають різну ступінь значущості в деградації фосфоліпідів. Зокрема, це залежить від характеру експериментальної моделі (ПС, ІМ, ПС+ІМ). Так, після перенесеного стресу найбільш вагомим є механізм розпаду фосфоліпідів, пов'язаних з впливом цГМФ, концентрація якої зростає більше, ніж в стані, що викликається моделями ІМ та ПС+ІМ. Найнижчі концентрації цГМФ спостерігаються при ІМ.

В свою чергу при ішемії міокарда основним фактором посилення деградації фосфоліпідів є зниження концентрації АТФ і швидкості гліколізу, які сприяють оновленню фосфоліпідів мембран через стимуляцію їх синтезу.

При комбінованому впливі (ПС+ІМ) спостерігається значне збільшення всіх факторів, що активують розпад фосфоліпідів: як факторів, притаманних стану емоційного стресу (ЦГМФ), так і факторів, що відіграють головну роль у регуляції фосфоліпідного обміну при ішемії міокарда (АТФ, гліколіз).

Відносне зниження концентрації вітамінів Е і С відзначено по всім експериментальним моделям (ПС, ІМ, ПС+ІМ), що, на нашу думку, посилює процес ПОЛ [Ю. А. Александровский, М. В. Покровский, Г. Г. Незнамов, 1991; М. В. Биленко, 1989]. Відомо, що в низьких концентраціях АК є прооксидантом, що входить у аскорбатзалежну систему [В. Halliwell, O. I. Aruoma, 1991]. В високих концентраціях АК є антиоксидантом, він реагує з $O_2^{\cdot -}$ і $O^{\cdot -}$, усуваючи при цьому вільні радикали. Незважаючи на те, що АК активує неферментативні шляхи ПОЛ в субклітинних фракціях, регулює рівень іонів металів, взаємодіючих з перекисами [O. P. Sharma, 1977], вона при високих концентраціях захищає мозок від пошкоджуючої дії ПОЛ [A. Seregi, A. Schaefer, M. Komlos, 1978]. Концентрація АК в головному мозку щура достатньо висока (200-300 мкг АК /г тканини) [J. O. Schenk, E. Miller, R. Gaddis, et al., 1982], щоб інгібувати ПОЛ у гомогенатах головного мозку та виділених з нього субклітинних фракціях [J. Feher, A. Blazovics, A. Vereckei, et al., 1985]. Більш того, спеціальні системи [R. Spector, J. Eclls, 1984] додатково концентрують АК усередині нервових клітин [R. Spector, J. Eclls, 1984], що при нормальному рівні Fe^{3+} робить її антиоксидантом. Мозок містить високі концентрації заліза у формі феритина, тоді коли добре відомо, що іони перехідних металів у сполученні з оксирадикалами є найважливішими факторами окислювального пошкодження клітинних мембран [O. В. Годухин, В. И. Малахова, С. В. Калемєнев, 1992; А. В. Лебедев, Л. В. Богуславская, Д. О. Левицкий и др. 1988]. Крім того, в ньому міститься високий рівень поліненасичених жирних кислот, які можуть легко піддаватися перекисному окисленню, зокрема під дією оксирадикалів [O. В. Годухин, В. И. Малахова, С. В. Калемєнев, 1992]. Це свідчить про можливість інтенсивного руйнування мембран мозку під впливом екстремальних факторів, таких як емоційний стрес та ішемія міокарда. Тому значення вільно-радикальних процесів у мозку прямо залежить від

рівня антиоксидантної активності [F. Akai, M. Maeda, K. Suzuki et al., 1990], пов'язаної з вітамінами L-АК і Е, оскільки відомо, що активність антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонредуктаза і глутатіонпероксидаза) у мозку невисока [V. Ravindranth, D.J. Reed, 1990].

Указані результати дозволяють зробити висновок про те, що встановлені закономірності зміни процентного співвідношення фосфоліпідів окремих субклітинних фракцій кори великих півкуль головного мозку, особливості розпаду фосфоліпідів, разом з динамікою метаболічних факторів регуляції синтезу та розпаду фосфоліпідів при впливі на організм емоційного стресу, ішемії міокарда та їх комбінованому впливі, стають важливими факторами для розуміння порушення обміну речовин головного мозку, характеристика яких дасть змогу створити нові, більш ефективні, напрямки молекулярної фармакології і біохімічної корекції постстресорних та постішемічних розладів у ЦНС.

ВИСНОВКИ.

1. У нейролемі та мікосомах кори ВПГМ при ПС, ІМ та їх комбінованому впливі збільшується процентний вміст ФХ і знижується відносна кількість ФЕ. У мітохондріях вміст ФХ зменшується тільки при ПС+ІМ. Відносна концентрація ФС зазнає змін залежно від змодельованого стану та характеру субклітинної структури. А процентний вміст ФІ падає тільки в нейролемі при ПС.

2. В корі ВПГМ, переважно в нейролемі та мітохондріях, при всіх змодельованих станах збільшується процентний вміст лізоформ ФХ та ФЕ. При цьому попередньо перенесений стрес у випадку подальшої ІМ відіграє провідну роль у накопиченні в нейролемі ЛФЕ.

3. Постстресорний та постінфарктний стан в КВПГМ супроводжується зменшенням періоду піврозпаду ФХ, ФЕ, ФС та ФІ. При цьому ПС викликає найбільш активний розпад ФХ, а ІМ - ФЕ. Попередньо перенесений стрес у випадку подальшого моделювання ІМ сприяє більш інтенсивному гідролізу ФЕ.

4. В корі ВПГМ при досліджених моделях період піврозпаду для ЛФХ зменшується, а для ЛФЕ збільшується. При цьому найбільш виражений зсув спостерігається в постстресорному стані.

5. Посилення розпаду фосфоліпідів в корі ВПГМ співпадає за часом зі зростанням в крові активності 5' - нуклеотидази і концентрації АКТГ. Причому, показники активності 5' - нуклеотидази і концентрації АКТГ при ПС+ІМ найбільш високі.

6. Залежно від модельованого стану в корі ВПГМ змінюється

співвідношення метаболічних факторів регуляції розпаду та синтезу фосфоліпідів; при ПС та ПС+ІМ такими умовами є зростання вмісту ШГФ, а також зменшення швидкості гліколізу і концентрації АТФ; при ІМ дефіцит АТФ та обмеження швидкості гліколізу. В однаковій мірі для всіх досліджених станах є характерним дефіцит вітамінів Е і зростання співвідношення L-АК/ДАК.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.

1. Биохимические характеристики крови крыс Wistar в норме и при перенесенном стрессе / Якушев В.С., Белоконь Л.Е., Филина И.С., Куча Н.А., Крисанова Н.В., Рыжов А.А., Миронова Е.В., Шкопинский Е.А., Мурашкин М.Г. // Лабораторные животные для медико-биологических и биотехнологических исследований: Тез. докл. Междунар. науч. конф. Москва, 20 - 22 ноября 1990 г. - Москва, 1990. - С. 130-132.

2. Мурашкин М.Г. Синтез и распад фосфолипидов и их лизоформ при ишемии миокарда после предварительного воздействия эмоционально-болевого стресса // Биохимия стресса и пути повышения эффективности лечения заболеваний стрессорной природы: Материалы Всеукраинского симпозиума с международным участием. - Запорожье, 1992. - С. 38-39.

3. Мурашкин М.Г. Синтез и распад фосфолипидов и их лизоформ при эмоционально-болевым стрессе // Биохимия стресса и пути повышения эффективности лечения заболеваний стрессорной природы: Материалы Всеукраинского симпозиума с международным участием. - Запорожье, 1992. - С. 23-24.

4. Макрелд О.Б., Мурашкин М.Г. Ферментативная активность и липидный состав мембран сердца и эритроцитов при развитии эмоционального стресса и ишемии миокарда // Биохимия стресса и пути повышения эффективности лечения заболеваний стрессорной природы: Материалы Всеукраинского симпозиума с международным участием. - Запорожье, 1992. - С. 36-37.

5. Мурашкин М.Г. Особенности обмена фосфолипидов в органах при воздействии на организм эмоционального стресса // Тезисы 53-й итоговой научной конференции Запорожского института усовершенствования врачей 24 - 26 ноября 1992 года. Запорожье, 1993. - С. 28.

6. Мурашкин М.Г. Распад лизофосфолипидов органов при эмоциональном стрессе и ишемии миокарда // Тезисы докладов научно-практической конференции рационализаторов и изобретателей Запорожского института усовершенствования врачей 24 - 25 декабря 1992 года. Запорожье, 1993. - С. 33.

БЕ 06235
Формат бумаги 80Х114 1/16 Объем 1 в. л.
Заказ в 1948 Тираж 100 экз.
Бумага писч.
Издательство "Днепропетровский металлург"
г. Запорожье, ул. Интернац. 4.

458862

AB 30.659

AB 30.659

1970
U.S. | ROAD BILL | STATE | FEDERAL | 1970
200 001 2000 000 0 0000
"REVENUE" | 1970
1970 001 2000 000 0 0000

000000