

14. Кочетков Г. А. Практическое руководство по энзимологии, М., Высшая школа, 1980.
15. Маурер Г. Р. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в полиакриламидном геле, М., Мир, 1971.
16. Weber K., Osborn M. J. Biol. Chem., v. 244, p. 4406—4412, 1969.
17. Fonyo A., Somogyi J. Acta physiol. Acad. sci. hung., v. 18, № 3, p. 191—198, 1960.
18. Banaszak L. J., Bradshaw P. A.—In: The Enzymes (ed. P. D. Boyer), N.-Y., v. XI, part A, p. 369—396, 1975.
19. Bracht A., Campello A. P. Experientia, v. 35, p. 1559—1561, 1979.
20. Thorne C. J. R., Kapan N. O. J. Biol. Chem., v. 238, p. 1861—1868, 1963.
21. Bracht A., Campello A. P. Arg. Biol. Technol., v. 23, p. 337—341, 1980.
22. Kitto G. B., Kaplan N. O. Biochemistry, v. 5, p. 3966—3980, 1966.
23. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты, т. 1, М., Мир, 1982.

Поступила 14. V 1986

УДК 546.001.1:547.963:616.8.009

НАРУШЕНИЯ КАТАБОЛИЗМА БИОГЕННЫХ АМИНОВ И ДРУГИХ АЗОТИСТЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

ХУЖАМБЕРДИЕВ М., САЙДУЛЛАЕВ Т., МАМАДИЕВ М., *ГОРКИН В. З.

Андижанский государственный медицинский институт им. М. И. Калининна
*Институт биологической и медицинской химии АМН СССР, Москва

В динамике развития экспериментального атеросклероза на фоне выраженных нарушений содержания в крови холестерина, триглицеридов и β -липопротеидов обнаружено снижение дезаминирования моноаминов—серотонина, бензиламина и тирамина—при одновременном усилении дезаминирования АМР и появлении качественно новой кадавериндезаминазной активности в митохондриальной фракции ткани головного мозга кроликов. Полученные результаты указывают на возможность качественного обратимого модифицирования свойств митохондриальных МАО. При способствующем развитию атеросклероза гипотиреозе, но не при гипертиреозе, такие нарушения катаболизма азотистых соединений были выражены в еще большей мере, что согласуется с предположением о возможном патогенетическом значении качественного модифицирования активности МАО при атеросклерозе.

Нарушения метаболизма биогенных аминов в головном мозгу при атеросклерозе давно привлекают внимание исследователей [1] вследствие того, что амины и ферменты, участвующие в их метаболизме, имеют первостепенное значение для регуляции жизнедеятельности мозга [2], а также в связи с важностью для медицины нарушений его функций при атеросклерозе [3].

Целью настоящей работы было изучение в ткани головного мозга в динамике развития экспериментального атеросклероза особенностей нарушения ферментативного дезаминирования биогенных аминов и других азотистых соединений как ключевой реакции их катаболизма [4].

277

Материалы и методы

Опыты проводили на беспородных кроликах-самцах массой 2,2—2,5 кг. Экспериментальную алиментарную гиперхолестеринемию вызывали путем ежедневного введения в желудок животных при помощи эластичного зонда эмульсии холестерина в хлопковом масле в течение 30, 60 или 90 суток из расчета 0,3 г/кг массы тела [5]. Гипертиреоз у кроликов вызывали ежедневным добавлением к корму тиреондина по соответствующей схеме в течение 4 недель [6]. Для получения гипертиреоза на фоне гиперхолестеринемии животным в течение 30 дней ежедневно вводили эмульсию холестерина, а затем (через 1,5—2 г) тиреондин. Гипотиреоз вызывали ежедневным добавлением к корму 1-метил-2-меркаптоимидазола (мерказолил, мети-мазол) из расчета 10 мг/кг массы тела в течение 30 дней [7, 8].

Методы и условия выделения митохондриальной фракции, исследования скорости дезаминирования азотистых соединений, определения содержания белка, холестерина, триглицеридов, β -липопротеидов, проведения морфометрических и электрокардиографических исследований указаны ранее [9, 10]. Содержание в сыворотке крови связанного с белками йода (СБИ), определяли, используя свойство йода служить катализатором в реакции восстановления сульфата церия мышьяковистой кислотой [11].

Результаты и обсуждение

Как следует из данных, представленных в табл. 1, на 90-ые сутки развития экспериментальной гиперхолестеринемии в митохондриальной фракции головного мозга кроликов были обнаружены особенно

Таблица 1

Дезаминирование некоторых азотистых соединений при их инкубации с митохондриями головного мозга кроликов в динамике развития экспериментального атеросклероза

Группы кроликов	Дезаминирование (мкмоль аммиака/мг белка/45 мин)				
	серотонина	бензиламина	тирамина	кадаверина	АМР
Интактные	0,29±0,02 (10)	0,36±0,03 (10)	0,53±0,05 (10)	0 (10)	0,30±0,02 (10)
Атеросклероз (сутки) 30	0,23±0,02 (8) *p<0,05	0,26±0,02 (8) p<0,05	0,46±0,03 (8)	0 (8)	0,48±0,03 (8) p<0,001
60	0,29±0,02 (8)	0,29±0,03 (8)	0,47±0,04 (8)	0 (8)	0,43±0,04 (8) p<0,05
90	0,23±0,02 (7) p<0,05	0,23±0,03 (7) p<0,05	0,34±0,03 (7) p<0,01	0,11±0,01 (7)	0,52±0,04 (7) p<0,001

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 *p по сравнению с группой интактных кроликов. В скобках—число опытов.

отчетливые нарушения дезаминирования азотистых соединений. Эти нарушения характеризовались статистически достоверным снижением дезаминирования всех трех исследованных моноаминов: серотонина (специфический субстрат МАО типа А), бензиламина (специфический субстрат МАО типа В) и тирамина, условно причисляемого к числу так называемых смешанных субстратов, окисляемых при участии МАО

типов А и Б [4]. Одновременно имели место статистически достоверное увеличение дезаминирования АМР и появление качественно нового для митохондриальной фракции мозга кролика свойства дезаминировать субстрат динминоксидазы кадаверин, причем скорость этой последней реакции достигала при оптимальных условиях измерения 48% от скорости дезаминирования серотонина в данном биологическом объекте. Усиление дезаминирования в сложной биологической системе АМР [12], кадаверина или других азотистых соединений, не относящихся к числу субстратов МАО, на фоне снижения ее активности может происходить либо в результате стимуляции аденилатдезаминазы, либо как следствие качественной обратной модификации каталитических свойств МАО. Ранее было установлено, что в каждом конкретном случае ответить на этот вопрос удастся с помощью избирательных ингибиторов МАО [4]. Если правильна вторая гипотеза, то ингибиторы МАО, в особенности такие избирательные ингибиторы МАО типа А, как хлоргидин или пипразидол, должны предотвращать усиление дезаминирования азотистых соединений, не относящихся к числу субстратов МАО, что и было экспериментально доказано в целом ряде систем [4].

В опытах с высокоочищенными препаратами МАО из различных биологических объектов вызываемое обработкой окислителями частично обратимое окисление тиоловых групп до остатков сульфеновых кислот приводило не только к снижению скорости окисления моноаминов, но и к предотвращаемому специфическими ингибиторами МАО появлению качественно новых свойств катализировать дезаминирование (как окислительное, так и гидролитическое) целого ряда азотистых соединений, в частности днаминов, АМР, аминосахаров и др., не являющихся субстратами МАО [4]. В пробах, содержавших фрагменты митохондриальных мембран и каталитические концентрации Fe^{2+} , а также в организме при различных патологических состояниях, сопровождающихся накоплением в тканях липидных перекисей (лучевые поражения, гипервитаминоз D_2 , интоксикации кислородом под высоким давлением и др.) именно они инициировали частичное окисление тиоловых групп МАО [15].

Было выдвинуто предположение [9, 10], что подобное явление могло бы иметь место также при атеросклерозе или экспериментальной гиперхолестеринемии, сопровождающихся накоплением в тканях липидных перекисей [16], что подтверждается данными, представленными в табл. 1. Однако существенные для его проверки опыты с избирательными ингибиторами МАО, необходимую и достаточную тканевую концентрацию которых надо создать и поддерживать в организме на протяжении всего эксперимента [4], не удалось осуществить вследствие большой продолжительности эксперимента. Сравнительное исследование каталитических и физико-химических свойств высокоочищенных препаратов МАО, выделенных из тканей головного мозга в норме и при атеросклерозе, позволит в дальнейшем однозначно доказать выдвинутое предположение.

Из данных, приведенных в табл. 2, следует, что наиболее значительные изменения в содержании липидов отмечались в сыворотке крови кроликов именно на 90-й день развития гиперхолестеринемии, когда были обнаружены и особенно значительные нарушения дезаминирования азотистых соединений, косвенно указывающие на возможность качественного модифицирования каталитических свойств MAO.

Таблица 2

Содержание липидов в сыворотке крови кроликов в динамике развития экспериментального атеросклероза

Группы кроликов	Холестерин, мг %	Триглицериды, мг %	β -липопротеиды, мг %
Интактные	65,8 $\pm$ 4,15 (9)	50,5 $\pm$ 3,62 (9)	118 $\pm$ 12,8 (9)
Атеросклероз (сутки) 30	387,37 $\pm$ 42,7* (8)	94,36 $\pm$ 6,94* (8)	685 $\pm$ 76,67* (8)
60	465,92 $\pm$ 35,17* (11)	118,66 $\pm$ 7,53* (11)	998,18 $\pm$ 52,46* (11)
90	644,4 $\pm$ 50,41* (7)	140,57 $\pm$ 12,93* (7)	1400 $\pm$ 139,4* (7)

Примечание. * $p < 0,001$.

Если предположить, что обнаруженные при экспериментальном атеросклерозе нарушения реакций дезаминирования азотистых соединений не просто сопровождают развитие патологического процесса, а имеют определенное патогенетическое значение, то можно было ожидать, что в условиях гипотиреоза эти нарушения должны быть выражены в большей мере, чем у животных с нормально функционирующей щитовидной железой. Дисфункции щитовидной железы существенно влияют на процессы развития атеросклероза, причем гипотиреоидные состояния в общем способствуют формированию атеросклеротических изменений [1]. Имеются сведения о приводящих к повышению скорости окисления серотонина изменениях при гипотиреозе свойств фосфолипидного микроокружения MAO в наружных митохондриальных мембранах [7].

Результаты исследований, проведенных с целью проверки этого предположения, представлены в табл. 3.

Эксперименты проводили на 30-й день развития атеросклероза, когда, несмотря на наличие гиперхолестеринемии и повышение содержания в сыворотке крови триглицеридов и β -липопротеидов (табл. 2), содержание в ней СБИ еще не снижено, что характерно для выраженного атеросклероза [13, 14]. На внутренней поверхности аорты атеросклеротические бляшки в этот период еще отсутствуют, а прижизненные электрокардиографические исследования указывают лишь на относительно небольшие отклонения от нормы. При этом в митохондриальной фракции головного мозга кроликов было выявлено лишь статистически достоверное снижение дезаминирования серотонина и в особенности бензиламина, а также увеличение АМР-дезаминазной активности. Однако тираминдезаминазная активность статистически

Таблица 3

Дезаминирование некоторых азотистых соединений при их инкубации с митохондриями головного мозга кроликов при экспериментальном атеросклерозе (30 суток) на фоне гипер- или гипотиреоза

Группы кроликов	Дезаминирование (мкмоль аммиака/мг белка/45 мин)				
	серотонина	бензламина	тирамна	кадаверина	АМР
I Интактные	$0,29 \pm 0,02$ (10)	$0,36 \pm 0,03$ (10)	$0,53 \pm 0,05$ (10)	0 (10)	$0,30 \pm 0,02$ (10)
II Атеросклероз	$0,23 \pm 0,02$ (8) $p < 0,05$	$0,26 \pm 0,02$ (8) $p < 0,05$	$0,46 \pm 0,03$ (8)	0 (8)	$0,48 \pm 0,03$ (8) $p < 0,001$
III Гипертиреоз	$0,28 \pm 0,05$ (12)	$0,39 \pm 0,02$ (12)	$0,80 \pm 0,04$ (12)	0 (12)	$0,26 \pm 0,03$ (12)
IV Гипертиреоз+атеросклероз	$0,24 \pm 0,02$ (7)	$0,35 \pm 0,04$ (7)	$0,52 \pm 0,04$ (7)	0 (7)	$0,29 \pm 0,06$ (7)
V Гипотиреоз	$0,22 \pm 0,02$ (7) $p < 0,02$	$0,30 \pm 0,04$ (7) $p < 0,05$	$0,38 \pm 0,02$ (7) $p < 0,02$	$0,12 \pm 0,02$ (7)	$0,26 \pm 0,02$ (7)
VI Гипотиреоз+атеросклероз	$0,21 \pm 0,01$ (9) $p < 0,001$	$0,23 \pm 0,02$ (9) $p < 0,01$	$0,31 \pm 0,02$ (9) $p < 0,001$	$0,17 \pm 0,01$ (9)	$0,37 \pm 0,02$ (9) $p < 0,02$

достоверно не изменялась, а кадавериндезаминазную активность не удалось обнаружить (табл. 3, группа II).

При гипертиреозе никаких отклонений по сравнению с нормой в катаболизме исследованных азотистых соединений обнаружено не было (табл. 3, группа III). Аналогичный результат был получен и при сочетанном действии гипертиреоза и атеросклероза (табл. 3, группа IV), что свидетельствует об устранении в условиях гипертиреоза [1] тех нарушений катаболизма азотистых соединений, которые отмечались в митохондриальной фракции ткани головного мозга кроликов на 30-ый день развития экспериментального атеросклероза (табл. 3, группа II).

При гипотиреозе наблюдалось статистически достоверное снижение дезаминирования моноаминов. Дезаминирование АМР не изменялось по сравнению с нормой, но появлялась кадавериндезаминазная активность, достигавшая при оптимальных условиях 55% по сравнению со скоростью дезаминирования серотонина (табл. 3, группа V). Подобное нарушение катаболизма азотистых соединений может рассматриваться как косвенное указание на возможность атипичной, не сопровождаемой усилением АМР-дезаминазной активности, качественной обратной модификации каталитических свойств митохондриальной МАО [4, 15]. Такое изменение функции МАО при гипотиреозе не было известно ранее. Оно может быть связано со снижением антиоксидательной активности липидного компонента биомембран в условиях имевшего место в наших опытах выраженного дефицита природного антиоксиданта тироксина [19], когда содержание СБИ в сыворотке крови снижалось статистически достоверно (табл. 2). При морфометрических исследованиях интимы аорты таких животных были выявлены определенные признаки образования атеросклеротических бляшек, занимавших в среднем $1,46 \pm 0,3\%$ общей площади интимы; в группе II, то есть у животных с алиментарным атеросклерозом эта величина составляла $5,20 \pm 1,54\%$, достоверно отличаясь по сравнению с группой V ($p < 0,05$), тогда как у животных в группах III и IV атеросклеротических бляшек не было вообще. Таким образом, в условиях гипотиреоза появление атеросклеротических бляшек как бы сопровождает развитие нарушений катаболизма азотистых соединений, указывающих на возможность качественной модификации свойств МАО, что согласуется с предположением о возможном патогенетическом значении таких нарушений при атеросклерозе [9, 10].

Снижение скорости дезаминирования моноаминов с одновременным появлением свойства дезаминировать субстраты диаминоксидаз (кадаверин, путресцин, гистамин) и АМР, хотя и было отмечено в опытах с высокоочищенными препаратами моноаминоксидаз и с фрагментами биомембран в качестве одного из признаков качественного обратимого модифицирования свойств МАО, имело место не во всех случаях. Так, например, инкубация очищенных препаратов МАО из печени быка с окисленным глутатионом (но не с перекисью водорода

или окисленной олеиновой кислотой) приводила к снижению тирамин-дезаминирующей активности и появлению свойства дезаминировать АМР, однако гистаминдезаминирующая активность при этом не проявлялась [20]. Преннкубация фрагментов митохондриальных мембран из печени крысы с 0,01 мМ Fe^{2+} приводила к некоторому снижению скорости дезаминирования тирамина и статистически достоверному снижению скорости дезаминирования триптамина. Одновременно отмечали появление свойства дезаминировать гистамин, кадаверин и АМР. Преннкубация фрагментов митохондриальных мембран в присутствии Fe^{2+} в более высокой концентрации (0,1 мМ) сопровождалась некоторым усилением дезаминирования гистамина и кадаверина по сравнению с опытами, проведенными в присутствии 0,01 мМ Fe^{2+} , однако скорость АМР-дезаминирующей реакции, индуцированной в фрагментах митохондриальных мембран, при этом не нарастала, а даже несколько снижалась [24]. Эти данные согласуются с основанными на кинетических доказательствах представлениями о том, что кадаверин и АМР дезаминируются при участии идентичных друг другу активных центров модифицированных МАО [15, 17, 18, 20—22]. Эти центры не идентичны также каталитическим центрам обычных (не подвергнутых воздействию окислителей) МАО, хотя и локализованы на поверхности макромолекул, не различимых по электрофоретической подвижности в ПААГ [23].

При гипотиреозе (табл. 3, группа V) обнаруживалось достоверное снижение дезаминирования всех исследованных моноаминов с одновременным появлением значительной кадавериндезаминирующей активности. При сочетании воздействия гипотиреоза и экспериментального атеросклероза (группа VI) интенсивность дезаминирования бензиламина и тирамина по сравнению с гипотиреотическими животными (группа V) еще более снижалась, при этом отмечалось повышение уровня кадавериндезаминирующей и АМР-дезаминирующей активности.

Таким образом, в этих условиях удалось показать усугубление вызываемых гиперхолестеринемией нарушений катаболизма азотистых соединений в условиях сочетания гипотиреоза с гиперхолестеринемией. Это заключение согласуется с результатами морфометрических исследований по измерению площади патологически измененных участков интимы аорты у этих двух групп животных.

Появление признаков качественных нарушений катаболизма азотистых соединений в ткани головного мозга и других органов, наблюдаемых при атеросклерозе, может быть предотвращено и устранено при помощи антиоксидантов, нуклеофильных реагентов и ряда соединений [10, 24, 25].

CHANGES IN THE CATABOLISM OF BIOGENIC AMINES AND OTHER AMINO COMPOUNDS IN BRAIN UNDER EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS

KHUZHAMBERDIEV M., SAIDULLAYEV T., MAMADIEV M.,
*GORKIN V. Z.

Andizhan School of Medicine; *Institute of Biological and Medical
Chemistry, Moscow

Under experimental atherosclerosis decrease in deamination of serotonin, benzylamine, tyramine and AMP has been detected in addition to appearance of cadaverin-deaminating activity in rabbit brain mitochondrial fraction. Data obtained point to a possible modification of mitochondrial MAO properties in atherosclerosis. Hypothyreosis that aggravates atherosclerosis leads to more pronounced changes in the catabolism of amino compounds.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Чеботарев Д. Ф., Коркушко О. В., Маньковский Н. Б., Миц А. Я. Атеросклероз и возраст, Л., Медицина, 1982.
2. Catecholamines: basic and clinical frontiers (eds. E. Usdin, I. J. Kopin, J. Bar-chas), New-York, Pergamon Press, 1979.
3. Банищikov В. М., Белкин Л. И. Пробл. эндокринологии, № 4, с. 82—88, 1963.
4. Горкин В. З. Аминоксидазы и их значение в медицине, М., Медицина, 1981.
5. Hall J. E., Mills S. E., Carey R. M. Atherosclerosis, v. 35, p. 87—92, 1980.
6. Гольбер Л. М., Кандрор В. И. Тиреотоксическое сердце, с. 67—71, М., Медицина, 1972.
7. Viscari A., Blassoni P., Timiras P. S. J. Neurochem., v. 40, p. 1019—1025, 1983.
8. Жукова О. Т. Пробл. эндокринологии, № 1, с. 72—78, 1958.
9. Хужамбердиев М., Мамадиев М., Горкин В. З. Вопр. мед. химии, т. 27, с. 829—835, 1981.
10. Мамадиев М., Хужамбердиев М., Горкин В. З. Вопр. мед. химии, т. 29, № 2, с. 83—89, 1983.
11. Комарова Т. Ф., Тендлер Д. С., Соколова Е. В. Пробл. эндокринологии, № 4, с. 72—76, 1964.
12. Арутюнян А. В., Гулян Э. А., Нерсисян Ц. М., Манукян Л. А., Абрамян К. С. Укр. биохим. журн., т. 50, № 5, с. 554—558, 1978.
13. Гриндева Л. Н., Суворов Н. Н., Горкин В. З. Вопр. мед. химии, т. 22, № 2, с. 245—253, 1976.
14. Исаханян Г. Д., Горкин В. З. Вопр. мед. химии, т. 22, № 3, с. 380—388, 1976.
15. Gorkin V. Z. Amine oxidases in clinical research, Oxford, Pergamon Press, 1983.
16. Ланкин В. З. Кардиология, № 8, с. 42—48, 1980.
17. Фабри Э. И. Бюл. эксперим. биол. и мед., № 8, с. 35—36, 1969.
18. Бабаджанов С. Н. Мед. журн. Узбекистана, № 4, с. 44—46, 1981.
19. Буракова Е. Б., Алесенко А. В., Молочкина Е. М., Пальмина Н. П., Храпова Н. Г. Бисантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте, М., Наука, 1975.
20. Akopyan L. I., Kulligina A. A., Terzeman I. I., Gorkin V. Z. Biochim. et biophys. acta, v. 289, p. 44—56, 1972.

21. *Гаришвили Т. Г., Кривченко Р. С., Горкин В. З.* *Вопр. мед. химии*, т. 21, с. 511—518, 1975.
22. *Горкин В. З., Аюлян Ж. И., Верекина И. В., Гриндева Л. И., Стасина Л. Н.* *Биохимия*, т. 35, с. 140—151, 1970.
23. *Гаришвили Т. Г., Горкин В. З.* *Сообщ. АН СССР*, т. 89, с. 185—188, 1978.
24. *Горкин В. З.* *Нейрохимия*, т. 4, № 1, с. 68—79, 1985.
25. *Горкин В. З., Хужамбердиев М., Мамадиев М.* *Успехи гепатологии*, т. 11, с. 40—51, 1985 г.

Поступила 7. II 1986

К СВЕДЕНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ!

С 1 квартала 1978 года в издательстве «Наука» будет выходить новый ежеквартальный журнал «Сенсорные системы».

В журнале будут освещаться различные аспекты физиологии органов чувств. В соответствии с комплексным, междисциплинарным характером исследований в области сенсорной физиологии в журнале будут публиковаться оригинальные работы по следующим основным направлениям:

- молекулярные, мембранные и клеточные механизмы сенсорной рецепции;
- нейрофизиологические механизмы передачи и переработки информации на всех уровнях сенсорных систем;
- нейро- и психофизиологические механизмы реализации сенсорной информации, опознания образов;
- моделирование сенсорных процессов и функций;
- широкий круг прикладных аспектов, в том числе медицинских, робототехнических, оптимизации операторской деятельности, восприятие сенсорной информации в процессах обучения и различного рода трудовой деятельности.

Кроме статей экспериментального характера, будут печататься обзоры по актуальным проблемам сенсорной физиологии, а также рецензии на книги и информация о конференциях по этой тематике.

Журнал рассчитан как на специалистов в области нормальной и патологической физиологии, биофизики, психологии сенсорного восприятия, так и на широкий круг биологов, медиков, инженеров, педагогов, интересующихся современным состоянием и перспективами развития физиологии органов чувств.

На журнал «Сенсорные системы» можно подписаться в отделениях «Союзпечати», на почте и у общественных распространителей. Индекс журнала 70810 в «Каталоге советских газет и журналов» на 1987 год. Подписная цена за 4 номера в год — 5 р. 20 коп., за каждый номер — 1 р. 30 коп.

Адрес редакции: 117312, Москва, В-312, ул. Вавилова, 39, ком. 20.