

УДК 661.732.9-611.81-599.323.4-616.379.608.64-771.74

Академик К. Г. Карагезян, А. Р. Едоян, Ш. С. Карян, Л. А. Едоян

**Особенности нормализующего действия сочетанного применения
сверхмалых доз кальциевого преципитата двуспиральной РНК с
тиосульфатом натрия на метаболизм жирных кислот головного мозга
белых крыс с аллоксановым диабетом**

(Представлено 11/VI 2003)

Исследования последних лет [1-4] продемонстрировали особенности регуляторных механизмов, ответственных за нормальное функционирование эндокринного аппарата поджелудочной железы с участием Ca^{2+} и принимающих непосредственное участие в оптимизации медиаторных и гормональных систем регуляции клеточной активности [5,6], обусловленной во многом мессенджерной функцией этих ионов и кальциевых каналов [7-9] как мембраностабилизирующих факторов первостепенной важности. Показана важная регуляторная роль сверхмалых доз [10] кальциевого преципитата дрожжевой низкомолекулярной двуспиральной РНК (Ca^{2+} -дс-РНК). Нормализующая роль этого физиологически активного соединения продемонстрирована при различных болезненных состояниях организма, в частности при болезнях крови [11-14], а также при аллоксановом диабете (АД) [15].

Целью настоящего сообщения явилось изучение особенностей физиологической активности сверхмалых доз Ca^{2+} -дс-РНК при более ограниченных сроках применения (10 дней) в комбинации с определенными дозами тиосульфата натрия (ТСН). Согласно научной информации последних лет [16-18] это соединение обладает ярко выраженной антиоксидантной активностью при различных экстремальных и патологических состояниях организма.

Как показали наши наблюдения, хотя изолированное действие Ca^{2+} -дс-РНК на протяжении 10 дней и характеризуется ярко проявляющейся тенденцией к восстановлению исходных показателей состава жирных кислот (ЖК) в мозговой ткани аллоксандиабетических белых крыс, тем не менее полученные данные продолжают демонстрировать статистически достоверные расхождения по сравнению с контролем и полностью нивелируются лишь спустя 20 дней после его применения. Дальнейшие исследования велись в направлении изучения особенностей комбинированного однократного введения в течение дня сверхмалых доз Ca^{2+} -дс-РНК (10^{-12}М) в сочетании с одновременной внутримышечной инъекцией 1 мл 10% раствора ТСН на протяжении 20 дней.

Исследования проводили на 60 беспородных белых крысах-самцах массой 180-200 г. АД вырабатывали однократным внутримышечным введением аллоксана из расчета 15 мг/100 г массы тела. Животных декапитировали под легким эфирным наркозом на 10 день после введения аллоксана на фоне ярко выраженной и стойкой гипергликемии. Изолирование головного мозга, его очистку от оболочек и кровеносных сосудов, гомогенизирование,

экстракцию ЖК проводили на холоду; их количественные колебания определяли на газовом хроматографе (Рau Unіkam, Англия).

Как показали исследования (табл. 1), АД у белых крыс характеризуется развитием в мозговой ткани ярко выраженных расстройств изменением качественного состава и количественного содержания как насыщенных (НЖК) (пальмитиновой - $C_{16:0}$, стеариновой - $C_{18:0}$), так и ненасыщенных (ННЖК) (олеиновой - $C_{18:1}$, линолевой - $C_{18:2}$, линоленовой - $C_{18:3}$, арахидоновой - $C_{20:4}$) кислот. Это свидетельствует о глубоких структурных нарушениях фосфолипидного компонента мозговой ткани, развивающихся в результате максимально повышенной активности фосфолипазы A_2 , катализирующей, как известно, реакцию деацилирования ННЖК с освобождением их большого количества, что в значительной степени констатируется при АД. Основная масса ННЖК вовлекается в реакции свободнорадикального окисления с образованием высоких концентраций продуктов перекисления, обладающих ярко выраженной мембранотоксической, а в далеко зашедших случаях и мембранолитической активностью. На фоне описанных расстройств накопившиеся в мозговой ткани неэстерифицированные НЖК в свою очередь вовлекаются в реакции ацилирования с лизопроизводными различных ФЛ-глицеридов, преимущественно лизофосфатидилхолинами. В результате имеет место замена НЖК на ННЖК - $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{18:3}$ или $C_{20:4}$ с образованием так называемых "патологических разновидностей" ФЛ-глицеридов, что в свою очередь вносит значительный разнораз в реакции клеточного метаболизма. Понижение в результате отмеченных сдвигов содержания свободных НЖК в мозговой ткани приводит к заметному уменьшению при АД коэффициента отношения суммы НЖК к сумме ННЖК. Описанные расстройства в известной степени корректируются при 10-дневном одноразовом (в течение дня) применении Ca^{2+} -дс-РНК, хотя и полученные результаты продолжают статистически достоверно отставать от контрольных (табл.1).

Таблица 1

**Особенности количественных изменений (в мг%) жирных кислот
в мозговой ткани белых крыс в контроле, при аллоксановом диабете и спустя
10 и 20 дней после применения Ca^{2+} -дс-РНК (10^{-12} М ежедневно)**

Показатель	Контроль	Диабет	Ca^{2+} -дс-РНК	Ca^{2+} -дс-РНК
			10 дней	20 дней
Пальмитиновая $C_{16:0}$	27.3±0.69	19.7±0.61 ^x	23.4±0.59 ^x	26.7±0.63
Стеариновая $C_{18:0}$	39.1±0.67	31.9±0.59 ^x	35.6±0.61 ^x	37.8±0.66
Олеиновая $C_{18:1}$	38.3±0.63	30.8±0.61 ^x	34.9±0.60 ^x	35.3±0.59 ^{xx}
Линолевая $C_{18:2}$	3.9±0.09	1.0±0.07 ^x	2.1±0.09 ^x	3.1±0.09 ^{xx}
Линоленовая $C_{18:3}$	6.4±0.23	3.9±0.21 ^x	4.8±0.27 ^x	5.6±0.21 ^x
Арахидоновая $C_{18:4}$	8.9±0.71	19.9±0.73 ^x	13.6±0.69 ^x	10.9±0.70 ^{xx}

Сумма насыщенных жирных кислот $C_{16:0}+C_{18:0}$ (A)	66.4±0.62	51.6±0.60	59.0±0.57	64.5±0.61
Сумма ненасыщен- ных жирных кислот $C_{18:1}+C_{18:2}+$ $+C_{18:3}+C_{20:4}$ (B)	57.5±0.43	55.6±0.57	55.4±0.42	54.9±0.41
Коэффициент A/B	66.4/57.5=1.15	51.6/55.6=0.93	59.0/55.4=1.06	64.5/54.9=1.17

Примечание: n=19; x-P < 0.001; xx-P < 0.01; без обозначений - данные статистически недостоверны.

Примечательно, что изолированное 10-дневное применение ТСН в использованных концентрациях также не приводит к полному восстановлению исходных уровней в мозговой ткани животных с АД (табл. 2).

Таблица 2

Особенности количественных изменений (в мг%) жирных кислот в мозговой ткани белых крыс в контроле, при аллоксановом диабете и спустя 10 и 20 дней после применения тиосульфата натрия (1 мл 10% р-ра ежедневно)

Показатель	Контроль	Диабет	Тиосульфат натрия 10 дней	Тиосульфат натрия 20 дней
Пальмитиновая $C_{16:0}$	23.5±0.67	20.1±0.51 ^x	21.8±0.42 ^{xx}	23.1±0.61
Стеариновая $C_{18:0}$	36.1±0.61	29.7±0.59 ^x	32.0±0.60 ^x	35.9±0.63
Олеиновая $C_{18:1}$	35.9±0.69	31.6±0.63 ^x	33.7±0.51 ^{xx}	35.9±0.61
Линолевая $C_{18:2}$	3.7±0.11	1.1±0.09 ^x	2.9±0.13 ^x	3.6±0.13 ^{xx}
Линоленовая $C_{18:3}$	5.3±0.21	3.7±0.16 ^x	4.9±0.25 ^x	5.1±0.19 ^{xx}
Арахидоновая $C_{18:4}$	8.1±0.81	17.9±0.83 ^x	12.6±0.73 ^{xx}	8.3±0.75
Сумма насыщенных жирных кислот $C_{16:0}+C_{18:0}$ (A)	59.6±0.63	49.8±0.55 ^x	53.8±0.53 ^x	59.0±0.60
Сумма ненасыщенных жирных кислот	53.0±0.48	54.3±0.41 ^{xx}	54.1±0.53	52.2±0.46

$C_{18:1}+C_{18:2}+C_{18:3}+C_{20:4}^{(B)}$				
Коэффициент А/В	59.6/53.0=1.12	49.8/54.3=0.92	53.8/54.1=0.99	59.0/52.2=1.13

Примечание: n=19; x - P < 0.001; xx - P < 0.01; без обозначений - данные статистически недостоверны.

Применение же Ca^{2+} -дс-РНК в сочетании с указанными дозами ТСН при том же 10-дневном сроке сопровождается восстановлением исходных уровней ЖК различных категорий (табл.3).

Таблица 3

Особенности количественных изменений (в мг%) жирных кислот в мозговой ткани белых крыс в контроле, при аллоксановом диабете и спустя 10 и 20 дней после ежедневного одноразового комбинированного применения Ca^{2+} -дс-РНК (10^{-12} М) и тиосульфата натрия (1 мл 10% р-ра)

Показатель	Контроль	Диабет	Ca^{2+} -дс-РНК+ тиосульфат натрия 10 дней	Ca^{2+} -дс-РНК+ тиосульфат натрия 20 дней
Пальмитиновая $C_{16:0}$	25.7±0.55	20.3±0.51 ^x	24.9±0.54	26.9±0.53
Стеариновая $C_{18:0}$	37.3±0.59	30.1±0.55 ^x	35.9±0.59	36.9±0.57
Олеиновая $C_{18:1}$	36.6±0.61	30.1±0.59 ^x	34.8±0.60	36.1±0.59
Линолевая $C_{18:2}$	4.0±0.08	1.9±0.07 ^x	3.5±0.09	3.8±0.09
Линоленовая $C_{18:3}$	5.9±0.22	3.2±0.19 ^x	5.3±0.20	5.7±0.27
Арахидоновая $C_{18:4}$	8.7±0.63	17.4±0.61 ^x	9.3±0.61	8.3±0.61
Сумма насыщенных жирных кислот $C_{16:0}+C_{18:0}$ (А)	63.0±0.57	50.4±0.55	60.8±0.55	63.8±0.56
Сумма ненасыщенных жирных кислот $C_{18:1}+$ $+C_{18:2}+C_{18:3}+C_{20:4}$ (В)	55.2±0.46	52.6±0.47	52.9±0.45	53.9±0.49
Коэффициент А/В	63.0/55.2=1.14	50.4/52.6=0.96	60.8/52.9=1.15	63.8/53.9=1.19

Примечание: n=19; x - P < 0.001; xx - P < 0.01; без обозначений - данные статистически недостоверны.

Полученные результаты свидетельствуют о существовании важной синергической связи между эффектами двух испытанных нами физиологически активных соединений и служат основанием для интерпретации описанных феноменов с точки зрения участия указанных веществ в молекулярно-биологических преобразованиях систем регуляции клеточной активности. Они позволяют также рекомендовать разработанный нами метод комбинированной антиоксидантотерапии в условиях экспериментального АД для клинических испытаний.

Институт молекулярной биологии НАН РА

Литература

1. *Kasahara K., Kikkawa U.* - J. Biochem. Tokyo. 1995. V.117. P.648-653.
2. *Orellana A., Hidalgo P. C., Morales M. N.* - Eur. J. Biochem. 1990. V.190. P.57-61.
3. *Majumdar S., Rossi M. W., Fujiki T.* - J. Biol. Chem. 1991. V. 266. P. 9285-9294.
4. *Nesher M., Boneh A.* - Biochem. Biophys. Acta. 1994. V.1221. P. 66-72.
5. *Osborne T. F.* - Genes Dev. 2001. V. 15. P. 1873-1878.
6. *Osborne T. F.* - J. Biol. Chem. 2000. V. 275. P. 32379-32382.
7. *Faergeman N. J., Knudsen J.* - Biochem. J. 1997. V. 323. (part 1). P. 1-12.
8. *Wiernsperger N. F.* - Diabete Metab. Paris. 1999. V.25. P.110-127.
9. *Kelley D. E., Goodpaster B. H.* - Diabetes Care. 2001. V.24. P.933-941.
10. *Бурлакова Е. Б.* - Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева). 1999. Т. 43. N 5. С. 3-11.
11. *Магакян Ю. А., Каралова Е. М., Аброян Л. О., Захарян Р. А., Карапетян С. А.* - Цитология. 1998. Т.40, N 4. С. 266-274.
12. *Аброян Л. О., Каралова Е. М., Карапетян С. А., Магакян Ю. А.* - Биол. журн. Армении. 1998. Т.40, N 1-2. С.30-38.
13. *Аброян Л. О., Каралова Е. М., Захарян Р. А., Карапетян С. А., Магакян Ю. А.* - Биол. журн. Армении. 1998. N 2. С.140-143.
14. *Аброян Л. О.* Механизмы регуляции процесса восстановления эритрона при острой анемии у крыс и влияние на них Ca_{2+} -дс-РНК. Автореф. канд. дис. Ереван. 1999. 18 с.
15. *Карагезян К. Г., Едоян А. Р., Едоян Л. А., Овсепян Л. М.* - ДНАН Армении. 2003. Т.103. N 3.
16. *Каралова Е. М., Акопян Л. А., Габриэлян Н. А., Канаян А. С., Магакян Ю. А.* - Биол. журн. Армении. 1997. Т.50. N 1-2. С.41-45.
17. *Магакян Ю. А., Каралова Е. М., Акопян Л. А., Габриэлян Н. А., Канаян А. С.* - Биол. журн. Армении. 1997. Т.50. N 1-2. С.46-52.
18. *Акопян Л. А.* - Механизмы регуляции функционирования гепатоцитов и эндокринных панкреатитов крыс при остром панкреатите и влияние на них тиосульфата натрия. Автореф. канд. дис. Ереван. 1999. 20 с.

Ակադեմիկոս Կ.Գ.Ղարազյոզյան, Ա. Ռ. Եդոյան, Շ. Ս. Քառյան, Լ. Ա.Եդոյան

Երկպարուրաձև ՌՆԹ-ի կալցիումական ածանցյալի գերցածր քանակների և նատրիումի թիոսուլֆատի հետ զուգորդված կանոնավորիչ ազդեցության առանձնահատկությունները ալոքսանային շաքարախտով տառապող սպիտակ առնետների գլխուղեղի ճարպաթթուների մետաբոլիզմի վրա

Ցույց է տրված երկպարուրաձև ՌՆԹ-ի կալցիումական ածանցյալի գերցածր քանակների ($10^{-12}M$) և նատրիումի թիոսուլֆատի կանոնավորիչ ազդեցությունը փորձարարական (ալոքսանային) շաքարախտով տառապող սպիտակ առնետների ուղեղային հյուսվածքի հագեցած և չհագեցած ճարպաթթուների փոխանակության կանոնավորման գործում: