

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Т. Т. Морфометрия в патологии. М., 1973.
2. Вихрук Т. И., Ткачук Т. А. Архив АГЭ, 1986, 11, с. 45.
3. Зальцман Г. Л., Кучук Г. А., Гургенидзе А. Г. Основы гипербарической физиологии. Л., 1979.
4. Лисовский В. А., Семко В. В. ВМЖ, 1974, 3, с. 62.
5. Мясников А. М. Медицинское обеспечение водолазов, аквалангистов и кессонных рабочих. Л., 1977.
6. Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.
7. Селье Г. На уровне целого организма. М., 1972.
8. Siret D., Rosenstein M. J., Rubin R. P. J. Physiol., 1970, 209, 3, 539.
9. Symington T. In: Adrenal cortex. London, 1991, 3.

УДК 616.127—005.8:599.323—085.357

Р. М. Срапионян, С. К. Габриелян, Ж. Г. Абелян, А. А. Галоян

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ НЕИРОСПЕЦИФИЧЕСКОГО БЕЛОК-ГОРМОНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА У КРЫС

Результаты многолетних исследований [3, 8] открытых нами более чем 25 лет тому назад в магноцеллюлярных ядрах гипоталамуса трех белок-гормональных комплексов (БГК), привели к действительности гипотезы о том, что они являются теми биохимическими системами, которые могут осуществить химическую регуляцию метаболизма и функций мозга и ряда висцеральных органов, в особенности сердца [15]. При диссоциации указанных БГК было установлено, что высокомолекулярные компоненты являются неидентифицированными в настоящее время гликопротеинами [9], а низкомолекулярные, нековалентно связанные с ними соединения,—гликопептидами [5], структурно родственными кардиотропным нейрогормонам «К», «С», «Г», ранее обнаруженным в том же регионе мозга.

Иммунохимическими методами в сочетании с чувствительным радиоиммунологическим анализом (РИА) было выявлено, что в норме подавляющее большинство отмеченных БГК локализуется в мозгу, а их активность в кровяной плазме, как и в висцеральных органах, ничтожно мала [11].

Целью настоящего исследования явилось изучение количественного распределения одного из этих БГК—БНГ (белок-нейрогормон «Г») комплекса в организме крыс в норме и при экспериментальной ишемии миокарда.

Материал и методы

ИМ воспроизводили путем лигирования нисходящей ветви левой коронарной артерии у крыс под легким эфирным наркозом. Эксперименты поставлены на 60 белых беспородных крысах-самцах массой 160—200 г. До моделирования ИМ, через 5 мин после окклюзии и на 4-е сутки у всех животных записывали ЭКГ на аппарате НЕК-3 (электроды игольчатые, крыса не фиксирована) в трех стандартных отведениях.

Через 4 дня животных забивали (под гексеналовым наркозом), брали ткани различных регионов мозга (коры больших полушарий, гипоталамуса, мозжечка, продолговатого мозга) и некоторых висцеральных органов (сердца, легких, печени,

почек, селезенки, поджелудочной железы, скелетной мышцы). Ткани гомогенизировали водой в отношении 1:2 (масса:объем) и центрифугировали при 5000 об/мин. Белок из надосадочной жидкости осаждали сульфатом аммония в пределах 70—100% насыщения. Полученные осадки растворяли в веронал-мединаловом буфере, рН 8,6, и диализовывали против воды в течение 48 ч. Лиофилизированные порошки тканевых экстрактов и сыворотки крови, количество которых колебалось от 0,1 до 0,3% от веса сырой массы, использовали в качестве антигена (БНГ). Антисыворотку к БНГ, выделенному из гипоталамуса [11], получали путем иммунизации кроликов его смесью с полным адъювантом Фрейнда. Иммунизацию осуществляли по ранее разработанной микросхеме [1].

РИА проводили с антисывороткой, реагирующей строго специфично с БНГ. Метод основан на выявлении комплекса БНГ-антитело с помощью хлорамина Т против БНГ, меченного ^{125}J . Йодированный БНГ отделяли гель-фильтрацией через сефадекс G-25 и элюированием 0,05-М фосфатным буфером, содержащим 1% бычий сывороточный альбумин. Эксперименты вели по методу Bolton [14] с нашими модификациями [10]. Радиоактивность препаратов БНГ измеряли на сцинтилляционном счетчике SL-4221 (Франция), рассчитывая величину, характеризующую связь между радиоактивностью и количеством связанного БНГ. Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Оценка специфичности полученной к бычьему БНГ кроличьей сыворотки была проведена по результатам двойной иммунодиффузии в агаровом геле. По выявленной единственной дуге преципитации мы могли судить об антигенной гомогенности БНГ, а по отсутствию таких дуг преципитации при использовании двух других БНГ в качестве антигена—о его достаточно высокой специфичности. Моноспецифичность полученной антисыворотки и одновременно отсутствие ее видовой специфичности была установлена при использовании в качестве антигена экстракта гипоталамической ткани крысы, который также выявил положительную реакцию с антисывороткой к бычьему БНГ. Пригодность иммунной сыворотки для РИ экспериментов оценивалась по ее способности конкурировать с ^{125}J -БНГ за связывание с немеченым антигеном. Так, было показано, что доза немеченого БНГ, ингибирующего 50% связывание ^{125}J -БНГ, составляет примерно 50 нг.

Таблица 2
Содержание БНГ в различных отделах мозга крыс ($M \pm m$, $n=4$)

Регионы мозга	Уровень БНГ, нг/г сырой ткани	
	интактные крысы	крысы с ЭИМ*
Кора больших полушарий	1000±130	7,9±0,3
Гипоталамус	1400±250	20±2,3
Мо жечок	60±3	13±0,7
Продолгов. мозг	50±3	12±0,5

Примечание. Здесь и в табл. 2 *— $p < 0,001$ по сравнению с контролем, ЭИМ—экспериментальный инфаркт миокарда.

Как уже отмечалось, БНГ преимущественно локализован в мозгу. Нейроспецифичность БНГ можно признать хотя бы потому, что его содержание в нервной ткани (табл. 1) на три порядка превышает содержание в других тканях (табл. 2). Однако в различных регионах мозга он распределен неравномерно (табл. 1), высоким содержанием отличается гипоталамус. Исследование субклеточной локализации выявило примерно 70% коронароактивности в синаптических структурах, 30% — в нейросекреторных гранулах и одновременно отсутствие в миелине, митохондриях и клеточных ядрах. Необходимость проведения исследования по изучению содержания БНГ в крови была продиктована полученными ранее [10] данными о механизме выхода этого БГК, связанного с медиатором нервной активности — ареколином. В экспериментах, проведенных на кошках, выяснилось, что внутривенное введение ареколина повышает содержание БНГ в крови, оттекающей из мозга (*V. vertebralis*) с $6,0 \pm 0,60$ до $16,0 \pm 2,85$. Одновременно уменьшается содержание БНГ в спинно-мозговой жидкости (СМЖ) примерно в 4 раза. Можно думать, что этот М-холиномиметик провоцирует выход БНГ из гипоталамуса в общую циркуляцию. Приведенные данные коррелируют с ранее полученным фактом относительно увеличения коронарного оттока при введении этого агента [4], что, по мнению авторов, свидетельствует об участии холинореактивной системы мозга в механизме выделения кардиоактивных нейрогормонов «К», «С» и «Г» из гипоталамуса. Увеличение в *V. vertebralis* содержания БНГ после введения ареколина и значительное его уменьшение в СМЖ позволило допустить, что, по-видимому, ареколин, проникая в СМЖ и оказывая прямое воздействие на нервные клетки, стимулирует выход БНГ в кровь. Таким образом, не исключается возможность выброса этих комплексов в общую циркуляцию аналогично нейрофизиновым комплексам [16] при условиях, стимулирующих выход кардиотропных нейрогормонов. Определяемое количество БНГ в крови равно $4,63 \text{ нг/мл}$. Для сравнения, определяемая величина нейрофизинов, найденная в крови крыс, равна 7 нг/мл [18]. Обнаружение БНГ в крови и, по-видимому, дальнейший целенаправленный транспорт к органам-мишеням, продиктованный экстремальной ситуацией, позволяет предположить его участие в регуляции соответствующих важнейших метаболических процессов. Исходя из этого, становится ясно, что изучение распределения БНГ при различных сердечных патологиях, в частности ИМ, может стать ценным подспорьем для понимания молекулярных механизмов последнего.

В модельных экспериментах у крыс после перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии электрокардиографическая картина соответствовала картине перегородочного инфаркта левого желудочка. У преобладающего большинства животных возникали единичные и множественные желудочковые экстрасистолы, переходящие в некоторых случаях в пароксизмальную тахикардию. На 4-е сутки на фоне описанных явлений (после декапитации животных и забора тканей мозга) в различных регионах наблюдается опустошение БНГ

(табл. 1). Наибольшее понижение уровня БНГ выявляется в коре и гипоталамусе, примерно в 130 и 70 раз соответственно. В мозжечке и продолговатом мозгу уменьшение содержания БНГ происходит значительно слабее (в 5 и 4 раз) по сравнению с отмеченными сдвигами в коре и гипоталамусе. Можно допустить некоторую корреляцию между уровнем содержания БНГ в норме и его выбросом из различных регионов мозга в кровяное русло при ИМ.

Исследование содержания БНГ в сыворотке крови крыс с ИМ показало, что эта сердечная патология сопровождается значительным (примерно в 8 раз) увеличением его в периферической крови (табл. 2). Определение биоактивности (коронарорасширяющей активности) БНГ в крови крыс с ИМ свидетельствовало о наличии истинного гипоталамического, а не иммунореактивного БНГ. Исследование экстрактов сердечной ткани у таких крыс показало, что они обладают высоким коронарорасширяющим действием по сравнению с нормальными крысами. Можно полагать, что сниженная активность БНГ в сердце в норме может при ИМ в значительной степени компенсироваться его увеличением и, одновременно, выведением из гипоталамуса. Заметное повышение БНГ в периферической крови, селезенке, сердце (табл. 2) и одновременное его опустошение в мозгу (табл. 1) может иметь компенсаторное значение. Как известно, инфарцированный миокард продуцирует высокоактивные вещества, в частности, гистамин, серотонин, кинины, вызывающие местные, а после поступления в кровоток—общие обменные сдвиги. Выходу этих соединений способствует повышенная проницаемость капиллярных и клеточных мембран, через которые и другие метаболиты, а также ферменты попадают из поврежденного сердца в кровь и другие ткани, изменяя их состав и свойства [2, 12]. На основании вышесказанного и наших ранних данных [4] об опустошении кардиотропных нейрогормонов в гипоталамусе под действием гистамина можно думать, что при ИМ возникает новый гомеостатический уровень БНГ.

Приведенные в табл. 2 суммированные данные свидетельствуют о характерной последовательности висцеральных органов по содержа-

Таблица 2

Уровень БНГ в различных органах крысы ($M \pm m$, $n=8$)

Ткань	Содержание БНГ, $\mu\text{г}/\text{г}$ сырой ткани	
	неспящие крысы	крысы с ЭИМ
Кровь	$25 \pm 4,63$	$191 \pm 12,9$
Сердце	$0,6 \pm 0,02$	$13,6 \pm 0,4$
Легки	$0,2 \pm 0,01$	$8,9 \pm 0,4$
Почки	0	$10,2 \pm 0,2$
Печень	$0,3 \pm 0,03$	$20,9 \pm 1,3$
Селезенка	$0,3 \pm 0,02$	$49,7 \pm 0,9$
П. жел. железа	$0,3 \pm 0,09$	$5,3 \pm 0,6$
Скелетная мышца	0	$11,8 \pm 0,5$

нию БНГ у крыс с ИМ: селезенка < печень < сердце < скелетная мышца < почки, легкие, поджелудочная железа. Так, в селезенке его содержание примерно в 170 раз превосходит исходную величину. Сравнение уровня БНГ в печени и легких крыс с ЭИМ с интактными животными выявило достоверное различие (примерно в 70 и 45 раз соответственно). В инфарцированном сердце содержание БНГ увеличивается примерно в 20 раз. Таким образом, некроз миокарда, по-видимому, является фактором, влияющим на уровень БНГ. Поэтому определение БНГ может служить маркером повреждения миокарда. Альтернативным, хотя и косвенным, объяснением могут служить полученные ранее [7] данные относительно изменения изоэнзимного спектра лактатдегидрогеназы (ЛДГ) под действием кардиотропного нейrogормона, отдиссоциированного из комплекса БНГ. Как известно, для миокарда характерно в норме высокое содержание ЛДГ₁, несколько меньше — ЛДГ₂ и почти полное отсутствие малоподвижных фракций (ЛДГ₃, ЛДГ₄ и ЛДГ₅), которыми богата печень и скелетная мышца [13, 17]. В результате отношение ЛДГ₂ к ЛДГ₁ в миокарде в норме обычно колеблется от 0,6 до 0,7, а в крови оно составляет приблизительно 1,5, никогда не падая ниже 1,1. При инфаркте миокарда содержимое разрушенных мышечных клеток поступает в кровь, и изоферментный спектр сыворотки крови перестраивается на изоэнзимный спектр миокарда с преобладанием ЛДГ, поэтому ЛДГ₂/ЛДГ₁ становится меньше 0,1.

Результаты наших исследований свидетельствуют о значительном (примерно на 40%) увеличении в норме у 5-дневных, 1, 3 и 6-месячных крыс ЛДГ₂ за счет уменьшения ЛДГ₁ под действием нейrogормона «Г», диссоциированного из БНГ. Можно думать, что при ИМ воздействие БНГ на уровень ЛДГ₂ в сторону увеличения приведет к перестройке изоферментного спектра и в связи с этим к превращению конечного продукта гликолиза в молочную кислоту, что играет большую роль в сохранении жизнеспособности ткани в области инфаркта. Изучение данного показателя в динамике может свидетельствовать о реальном участии БГК в метаболических процессах в этих органах при описанной патологии.

В дальнейших исследованиях, включающих в себя работы клинического профиля, направленные на изучение динамики накопления БНГ при описанной сердечной патологии, мы предполагаем выяснить взаимозависимость между наличием осложнений, исходом заболевания и уровнем БНГ.

Институт биохимии АН Армении

Поступила 26/VI 1990 г.

Ռ. Մ. Մապիոնյան, Ս. Կ. Ղաթիրյան, Ժ. Գ. Արելյան, Ա. Ա. Գալոյան

ԱՊԻՏԱԿՈՒՑ—ՀՈՐՄՈՆԱԿԱԶՄԱԿԻՐԻ ԱՐԴՅՈՒՆԱՎՅՏՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ
ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՀԱՄԵՄՏԱԿԱՆ ԳՆԱՀԱՏԱԿԱՆԸ ԱՌՆՆՆԵՐԻ ՄՈՏ ԿՈՐՄԱՅՈՒՄ ԵՎ
ՄՐՏԱՄԿԱՆԻ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ԻՆՅԱՐԿՑԻ ԴԵՊՔՈՒՄ

Ռադիոիմունային վերլուծության մեթոդով ուսումնասիրվել է ներոսպի-
ցիֆիկ սպիտակուց հորմոնալ կոմպլեքսներից մեկի՝ ՄՆՁ-ի վերաբաշխումը

ստննաների օրգանիզմում սրտամկանի փորձարարական ինֆարկտի զեպրում: Պսակաձև զարկերակի ներքին ձախ ճյուղի փակման 4-րդ օրը նկատվում է ՄՆՋ-ի քանակի խիստ անկում ուղեղում, մասնավորապես ուղեղի մեծ կիսագրեղերի կեղևում և հիպոթալամուսում (130 և 70 անգամ) և ընդհակառակը նրա սարոնակուժյան ավելացում 8 անգամ արյան մեջ և 20—170 անգամ ներքին օրգաններում:

R. M. Srapionan, K. Gabr'elian, J. G. Tselian, A. A. Galoyan

Comparative Evaluation of the Effectivity of Quantitative Maintenance of the Neurospecific Protein-Hormonal Complex in Norm and Experimental Myocardial Ischemia in Rats

The methods of radioimmunochemical analysis (RIA) for the detection of new neurospecific [protein-hormone "G" (PHG) in rat organism with myocardial ischemia has been worked out. Concentration of PHG in various regions of the brain by RIA four days after the occlusion of the coronary artery had a sharp decrease. Particularly, the concentration of PHG much decreased 130- and 70-fold in the cerebral cortex and hypothalamus. At the same time the level of PHG increased about 8-fold in the blood.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абелян Ж. Г., Срапионян Р. М., Галоян А. А. Биол. ж. Армении, 1981, 34, 5, с. 506.
2. Аксенова В. М. Тез. докл. V Всесоюзного биох. съезда. М., 1986, 2, с. 246.
3. Галоян А. А., Срапионян Р. М. ДАН АрмССР, 1966, 42, 4, с. 210.
4. Галоян А. А., Алексанян Р. А., Карапетян Р. О. Вопр. мед. химии, 1972, 18, 3, с. 259.
5. Галоян А. А., Срапионян Р. М., Медведев Ф. А. ДАН АрмССР, 1978, 66, 5, с. 302.
6. Кочеркин И. М., Чукаева И. И., Литвинова С. Н., Лурье Б. Л. Лабор. дело, 1988, 9, с. 15.
7. Симосян А. А., Батикян Г. Г., Срапионян Р. М., Карапетян Р. О. Биол. ж. Армении, 1988, 41, 7, с. 577.
8. Срапионян Р. М., Саакян С. А., Галоян А. А. Вопр. биох. мозга, 1976, 11, с. 97.
9. Срапионян Р. М. Нейрохимия, 1987, 6, 1, с. 109.
10. Срапионян Р. М., Абелян Ж. Г., Галоян А. А. Вопр. мед. химии, 1985, 31, 2, с. 20.
11. Срапионян Р. М., Абелян Ж. Г., Галоян А. А. Укр. биох. ж., 1989, 11, 3, с. 53.
12. Строителев В. В., Пискарева Р. В. Тез. докл. V Всесоюзного биох. съезда. М., 1986, 2, с. 229.
13. Чазов Е. И., Смирнов В. Н., Зыско А. П., Рябыкина Т. В. Кардиология, 1970, 2, с. 5.
14. Bolton A. E., Hunter W. M. Biochem. J., 1973, 133, 2, 559.
15. Galoyan A. A., Srapionan R. M. Neurochem. Res., 1984, 8, 12, 1511.
16. Lang R. E., Hutte W. Acta endocrin., 1980, 94, 34, 6.
17. Sobel B. E., Shell W. E. Circulation, 1972, 45, 2, 471.
18. Wolf G., Kiessig R., Landgraf R. Exp. and Clin. Endocrin., 1984, 83, 3, 251.

УДК 612.115.12+616.153.962.4

Р. Е. Мурадян, Б. Т. Гарибджанян

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОЙ КАНЦЕРОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ФУБРОМЕГАНА

Известно, что некоторые широко применяемые лекарственные препараты являются канцерогенными для человека агентами [1, 3, 4].