

В. П. Акопян, А. А. Манукян

ПРОАГРЕГАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА И ЕГО СПОСОБНОСТЬ ВЛИЯТЬ НА ЗАХВАТ МЕЧЕНОЙ ГАМК (^{14}C -ГАМК)

В условиях стресса возникает возбуждение симпатической нервной системы, приводящее к внутрисосудистой агрегации тромбоцитов, что наблюдается также и при внутривенном введении катехоламинов. В свою очередь, катехоламинемия приводит не только к развитию агрегации тромбоцитов, но и к понижению антиагрегантной активности сосудистой стенки, что вызывает смещение равновесия в системе: сосудистая стенка—тромбоциты, приводя к опасности тромбоза [1], который может способствовать снижению активности и содержания антиоксидантных ферментов в тромбоцитах и полиморфноядерных лейкоцитах [7].

Как известно, стресс способствует активации перекисного окисления липидов (ПОЛ), что может привести к повреждению мембран клеток со всеми вытекающими последствиями. Заслуживает внимания тот факт, что предварительное введение витамина Е за день до насыщения организма железом, приводящего к усилению ПОЛ, уменьшает гиперактивность тромбоцитов, биосинтез тромбоспандина и плазменную концентрацию малонового диальдегида (МДА) [9]. В связи с этим возникла необходимость исследовать влияние МДА на агрегацию тромбоцитов, что и явилось целью данного исследования.

Материал и методы

Агрегация тромбоцитов исследовалась классическим нефелометрическим методом [4]. Кровь у доноров забиралась из локтевой вены натошак в день эксперимента в пластмассовую пробирку, стабилизировалась 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Затем проводилось дифференциальное центрифугирование при 1000 об/мин в течение 12 минут. Богатую тромбоцитами плазму (БТП) центрифугировали при 3000 об/мин—в течение 20 минут и получали бедную тромбоцитами плазму. Затем проводили исследование агрегации тромбоцитов на агрегометре „Payton“ (США). В кювету объемом 450 мкл БТП добавляли индуктор агрегации в объеме 50 мкл—АДФ (10^{-6}M) или адреналин (10^{-5}M). Степень агрегации оценивали в процентах падения оптической плотности.

Исследование влияния МДА на захват меченой ГАМК (^{14}C -ГАМК) гомогенатами мозга крыс проводили после получения 10% гомогената на трис-малеатном буфере (рН 7,2). Брали 0,5 мл гомогената, добавляли 0,75 мл трис-малеатного буфера, содержащего 0,15 мкКю (^{14}C -ГАМК) с удельной активностью 0,928 мг/4,86 МБк. Содержание МДА в опытных образцах составляло 10^{-5}M , 10^{-6}M . Инкубацию проводили при 37°C в течение 60 минут.

После инкубации путем центрифугирования отделяли инкубационную среду, к осадку добавляли 3,0 мл холодного буфера (трис-магнатиный), промывали, осадок вновь отделяли центрифугированием. Процедуру повторяли дважды. Высушенный осадок переводили в сцинтилляционные флаконы, добавляли 1 мл диметилсульфоксида (DMSO) и оставляли на 24 часа при 37°C для полного растворения мембран. После этого добавляли 10 мл сцинтиллятора Брея и просчитывали на жидкостном сцинтилляционном спектрометре SL-30. Данные выражали в *имп/мин/мг* свежей ткани [2].

Результаты и обсуждение

Определение влияния МДА на агрегацию тромбоцитов проводилось в плазме крови здоровых доноров-добровольцев. Использовались различные концентрации МДА.

Оказалось, что в больших концентрациях МДА проявляет антиагрегантный эффект. Так, в концентрации 10^{-4} М он понижает агрегацию тромбоцитов, а в более высоких концентрациях этот эффект проявляется намного сильнее. В концентрации 10^{-5} М и 10^{-6} М МДА стимулирует агрегацию, индуцированную аденозиндифосфатом (табл. 1).

Таблица 1
Влияние МДА на агрегацию тромбоцитов

Концентрация МДА	Э ф ф е к т	
	антиагрегантный	проагрегантный
10^{-4} М	$41,6\% \pm 3,0$	—
10^{-5} М	—	$17,58\% \pm 1,99$
10^{-6} М	—	$58,58\% \pm 1,8$

Примечание. $P < 0,05$; $n=10$.

Таким образом, эффект МДА на агрегацию тромбоцитов зависит от его концентрации, причем в больших концентрациях, в частности 10^{-4} М и выше МДА проявляет антиагрегантный, а в меньших концентрациях—проагрегантный эффект. Можно предположить, что антиагрегантный эффект МДА связан с прямым неспецифическим воздействием на мембрану тромбоцитов и изменением ее структурной лабильности. Вполне вероятно, что между этим действием и его антиагрегантным эффектом имеется тесная взаимосвязь. Что касается механизма проагрегантного эффекта МДА, то одним из них может быть связывание МДА с ГАМК-рецептором. Проагрегантный эффект МДА может проявиться в условиях уменьшения антиагрегантного действия ГАМК-ергической системы.

В настоящее время имеются данные, свидетельствующие о наличии на мембранах тромбоцитов ГАМК-В рецепторов [6], а антиагрегационный механизм ГАМК-ергических средств объясняется их влия-

нием на сдвиги в активности аденилатциклазы и цАМФ, играющих ключевую роль в реализации тромбоцитарного ответа.

Известно, что агрегация тромбоцитов, индуцируемая гемоглобином, может полностью блокироваться каталазой или «уборщиками» (скавенджерами) радикалов. Эти данные свидетельствуют о роли нового внеклеточного свободнорадикального вторичного посредника в активации тромбоцитов [8].

При стимуляции ПОЛ в тромбоцитах и накоплении конечных токсических продуктов ПОЛ (содержание МДА повышается в 2,5 раза), отмечается понижение антиоксидантной активности и увеличение как спонтанной, так и адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов [3].

Известно, что МДА локализуется в верхней части бислоя мембраны, где он повышает ее локальную текучесть. Однако высокие концентрации МДА могут вызвать значительное изменение текучести мембраны. Сходные последствия взаимодействия МДА—мембрана отмечались на эритроцитах добровольцев [5].

Таким образом, проагрегантная активность МДА может играть определенную роль в патогенезе цереброваскулярных расстройств при стрессовых состояниях организма, так как именно при этих состояниях отмечается накопление МДА.

С целью выяснения более тонких механизмов действия МДА были проведены серии экспериментов по захвату меченой ГАМК гомогенатами мозга крыс под влиянием МДА. Содержание МДА в опытных образцах составляло 10^{-5} М, 10^{-6} М.

Результаты исследований показали, что при добавлении в опытные образцы различных концентраций МДА отмечается уменьшение излучения. Можно предположить, что ГАМК в концентрациях, близких к физиологическим, связывается с ГАМК-рецепторами, что находит свое отражение в уменьшении степени излучения.

Таблица 2

Влияние МДА на захват меченой ГАМК (14 С—ГАМК)
гомогенатами мозга крыс

Условия опыта	Контроль	МДА 10^{-5} М	МДА 10^{-6} М
Излучение имп/мин/мг	$230 \pm 4,98$	$197 \pm 4,64$ 14,35%	$167 \pm 10,9$ 27,40%

Примечание. $n=10$, $P<0,05$.

Таким образом, выявление факта связывания МДА ГАМК-рецепторов позволит раскрыть более тонкие механизмы действия ГАМК и ее производных при стрессовых повреждениях мозга и поможет по-новому истолковать патогенез цереброваскулярных расстройств.

Кафедра фармакологии Ереванского
медицинского института

Поступила 12/X 1994 г.

ԱՐՅԱՆ ԹԻԹԵՂԻԿՆԵՐԻ ԿՊԶՈՂՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՆՇԱԳՐՎԱԾ ԳԱԿԹ ([¹⁴C]-ԳԱԿԹ)
ՁԱՎԹՄԱՆ ՎՐԱ ՄԱՂՈՆԱՅԻՆ ԵՐԿԱՂԳԵԶԻԳԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Լիպիդների գերօքսիդացման ընթացքում առաջացած գլխավոր արգասիքներից մեկը՝ մալոնային 10^{-5} M և 10^{-6} M խտության պայմաններում նրա պատում է արյան թիթեղիկների կալցոլունակության բարձրացմանը, որը կարող է որոշակի դեր խաղալ օրգանիզմի ստրեսային վիճակների ժամանակ ուղեղանոթային խանգարումների զարգացման պաթոգենեզում, քանզի այդ վիճակներում է կուտակվում մալոնային երկալգեհիդր: Ռադիոիզոտոպային հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ մալոնային երկալգեհիդր 10^{-5} M և 10^{-6} M խտության պայմաններում կապվում է ԳԱԿԹ ընկալիչների հետ:

V. P. Hakopian, A. H. Manoukian

On the Proaggregation Activity of Malone Dialdehyde and its Ability to Influence the Uptake of Labeled GABA (¹⁴C—GABA)

Malone dialdehyde shows proaggregation activity in concentration of 10^{-5} M and 10^{-6} M. This ability of malone dialdehyde can play some role in the pathogenesis of cerebrovascular disorders in stress conditions, for in such cases some accumulation of this substance is observed. Radiolabeled researches show that malone dialdehyde links with the GABA receptors, which is expressed by a decrease of radiation in the control samples.

ЛИТЕРАТУРА

1. Габриелян Э. С., Акопов С. Э. Клетки крови и кровообращение. Ереван, 1985.
2. Симонне Ж., Пелерен Ф.: Руководство по использованию сцинтилляционного метода регистрации излучения. Издательство «Сакле», Франция, 1972 (на русск. яз.).
3. Aksenova V. M., Gogoleva O. I. Gig. Tr. Prof. Zabol., 1992, 25.
4. Born G. V. R. Nature, 1962, 194, 9, 997.
5. Debouzy J. C., Fauvelle F., Vezin H. et al. Biochem. Pharmacol., 1992, 44 (9), 1787.
6. Gentili G., Falli P., Gioli A. et al. J. Pharmacol., 1990, 183, 2, 335.
7. Kumari R., Seth P., Dikshit M., Strimal R. C. Abstracts XIIth International Congress of Pharmacology. Canada, 1994, 72, 1, 143.
8. Luliano L., Violi F., Pedersen J. Z. et al. Arch. Biochem. Biophys., 1992, 209 (8), 220.
9. Pollete A., Blache D. Atherosclerosis, 1992, 96 (2—3), 171.

УДК 616.831—018+616.15

В. П. Акопян, А. С. Канаян, Л. В. Едигарова, К. В. Мелконян,
А. Ж. Кочарян, Н. Р. Мирзоян

ЛОКАЛЬНЫЙ МОЗГОВОЙ КРОВОТОК И МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ТКАНЕЙ МОЗГА В УСЛОВИЯХ ГИПОКИНЕЗИИ

Нарушения мозгового кровообращения, являющиеся ключевой проблемой современной ангионеврологии, тесно переплетаются с цивили-