

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
«Харьковский политехнический институт»

**ПЬЕЗОБИОСИНТЕЗ:
предпосылки, гипотезы, факты**

Монография

В четырёх томах

Том 3

*Под общей редакцией проф. В. В. Бойко, проф. Е. И. Сокола,
проф. П. Н. Замятина*

Харьков
Підручник НТУ «ХПІ»
2017

УДК 576.32/36
ББК 28.05
П96

Авторский коллектив

В. В. Бойко, Б. Б. Бандурян, Е. А. Булат, А. Г. Гордиенко, В. В. Долгуша, В. И. Жуков, П. Н. Замятин, А. А. Зарудный, В. Ф. Клепиков, Е. М. Климова, В. П. Невзоров, И. В. Поливенок, Е. И. Сокол, Р. С. Томашевский, П. Ф. Щапов

Рецензенты

А. В. Кириленко – доктор технических наук, профессор, член-корреспондент НАН Украины, директор Института электродинамики НАН Украины;

В. А. Бондаренко – академик НАМН Украины, доктор медицинских наук, профессор;

Н. А. Клименко – заведующий кафедрой клинической патологической физиологии, топографической анатомии и оперативной хирургии Харьковской медицинской академии последипломного образования МЗ Украины, доктор медицинских наук, профессор;

В. А. Головки – ректор Харьковской государственной зооветеринарной академии, заслуженный деятель науки и техники Украины, академик НАН Украины, доктор ветеринарных наук, профессор.

Издается по решению Ученого совета НТУ «ХПИ», протокол № 10 от 27.11.2015 г.

Утверждено на заседании Ученого совета ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМНУ», протокол № 2 от 25.01.2016 г.

У роботі розглянуто теоретичні і практичні питання п'єзосинтетичного ефекту в біологічних тканинах (п'єзобіосинтез). Наведено аналітичні матеріали, результати проведених теоретичних і практичних досліджень, надано практичні рекомендації для подальшого наукового пошуку та оптимізації прикладних рішень.

Призначається для спеціалістів та широкого кола читачів.

П96 **Пьезобиосинтез: предпосылки, гипотезы, факты** : моногр. – В 4-х т. – Т. 3 / В. В. Бойко, Б. Б. Бандурян, Е. А. Булат и др. ; под общ. ред. В. В. Бойко, Е. И. Сокола, П. Н. Замятина. – Харьков : Изд-во «Підручник НТУ «ХПІ»», 2017. – 524 с. – На рус. яз.

ISBN 978-617-687-080-7 (полное изд.)

ISBN 978-617-687-084-5 (т. 3)

В работе рассмотрены теоретические и практические вопросы пьезосинтетического эффекта в биологических тканях (пьезобиосинтез). Приведены аналитические материалы, результаты проведенных теоретических и практических исследований, даны практические рекомендации для дальнейшего научного поиска и оптимизации прикладных решений.

Предназначается для специалистов, а также широкого круга читателей.

УДК 576.32/36
ББК 28.05

ISBN 978-617-687-080-7 (полное изд.)

ISBN 978-617-687-084-5 (т. 3)

© Авторский коллектив, 2017

© Изд-во «Підручник НТУ «ХПІ»», 2017

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АД – альдолаза
АДФ – аденозиндифосфат
АКТГ – адренкортикотропинный гормон
АлТ – аланиновая аминотрансфераза
АМФ – аденозинмонофосфат
АОС – антиоксидантная система
АПБ – ацилпереносающий белок
АсТ – аспарагиновая аминотрансфераза
АТФ – аденозинтрифосфат
АФК – активные формы кислорода
АХЭ – ацетилхолинэстераза
АЦ – аденилатциклаза
БХЛ – биохемиллюминесценция
ВЭМ – внутренняя эластическая мембрана
ГАГ – гликозаминогликаны
ГБДГ – гидроксibuтират дегидрогеназа
ГДФ – гуанозиндифосфат
ГК – гипертонический криогемолиз
ГМК – гладкомышечные клетки
ГП – глутатионпероксидаза
ГТФ – гуанозинтрифосфат
ГДФ – гуанозиндифосфат
ГМФ – гуанозинмонофосфат
ДДСNa – додецилсульфат натрия
ДЛП – дислипопротеинемия
ДОФА – дигидроксифенилаланин
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ДУИ – диффузное утолщение интимы
ДФГ – дифосфоглицерат
ДЦКД – дициклогексилкарбодиимид
ЖКМ – жидкокристаллические материалы
ИК – ионные каналы
ИМФ – инозин монофосфат (инозиновая кислота)
ИН – инсулин
ИХЛ – индуцированная хемиллюминесценция

КЛ – кардиолипин
КРР – колоректальный рак
КТ – кальцитонин
КФК – креатинфосфокиназа
ЛАП – лейцинаминопептидаза
ЛГ – лютеинизирующий гормон
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
ЛЖК – лиотропные жидкие кристаллы
ЛП – липопротеиды
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПЛ – липопротеиновая липаза
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности
ЛППП – липопротеины промежуточной плотности
ЛТ – лютеотропный гормон
ЛФХ – лизофосфатидилхолин
ЛФЭА – лизофосфатидилэтаноламин
МАО – моноаминоксидаза
МДА – малоновый диальдегид
МДГ – малатдегидрогеназа
МДГ_{мт} – митохондриальная малатдегидрогеназа
МДГ_{цит} – цитоплазматическая малатдегидрогеназа
МТДТ – механика твердого деформируемого тела
МЭГИ – мышечно-эластическая гиперплазия интимы
НАДН – никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НЖК – нематические жидкие кристаллы
ОВП – окислительно-восстановительные процессы
ОСФ – оксидазы смешанной функции
ПВК – пировиноградная кислота
ПГ – прогестерон
ПГЕ₁, ПГЕ₂ – простагландины
ПД – потенциал действия
ПДК – переносчик дикарбоксилатов
ПЛ – пролактин
ПОЛ – перикисное окисление липидов
ПП – потенциал покоя

ППР – пластохинон-пластоцианин (цитохром С-553)-оксидоредуктаза
ПТ – пептидные трубки
РНК – рибонуклеиновая кислота
РС – ритмические структуры
РЦ – реакционный центр
СДГ – сукцинатдегидрогеназа
СЖК – смектические жидкие кристаллы
СМ – сфингомиелин
СРО – свободнорадикальное окисление
СТГ – соматотропный гормон
СХЛ – спонтанная хемилюминесценция
ТГ – триглицериды
ТЗ – трийодтиронин
Т4 – тироксин
ТС – тестостерон
ТТГ – тиреотропный гормон
ТТК – тетродотоксин
ТФИ – трифосфоинозитид
УДФ – уридиндифосфат
УДФГ – уридиндифосфат глюкозы
УТФ – уридинтрифосфат
УМФ – уридинмонофосфат
УЦР – убихинон-цитохром С (С₂)-оксидоредуктаза
ФАДН – флавинадениндинуклеотид
ФАДФ – флавинадениндинуклеотидфосфат
ФК – фосфатидная кислота
ФЕП – фосфоенолпируват
ФИ – фосфатидилинозитол
ФЛ – фосфолипиды
ФМН – флавинмононуклеотид
ФС – фосфатидилсерин
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
ФФК – фосфофруктокиназа
ФХ – фосфатидилхолин
ФЭА – фосфатидилэтаноламин
ХЖК – холестерический жидкий кристалл
ХМ – хиломикроны

ХС – холестерин
ХЭ – холинэстераза
цАМФ – циклический аденозинмонофосфат
ЦТК – цикл трикарбоновых кислот
ЦМФ – цитидинмонофосфат
ЦТФ – цитидинтрифосфат
ЦДФ – цитидиндифосфат
ЦХО – цитохромоксидаза
ЩУК – щавелево-уксусная кислота
ЩФ – щелочная фосфатаза
ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭК – эндотелиальные клетки
ЭМИ – электромагнитные излучения
ЭМП – электромагнитное поле
ЭНВ – электрически нейтральные вещества
ЭНС – эндотелиальное напряжение сдвига
ЭП – электропорация
ЭПР – электронный парамагнитный резонанс
ЭПС – эндоплазматическая сеть
ЭР – эндоплазматический ретикулум
ЯМР – ядерно-магнитный резонанс
 α -ГБДГ – α -гидроксibuтиратдегидрогеназа
g-ГТ – глутаматтрансаминаза
СоА – кофермент А

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА АТЕРОСКЛЕРОЗА

В последние десятилетия наблюдается тенденция к старению населения, особенно этот демографический сдвиг выражен в экономически развитых странах. Средняя продолжительность жизни людей увеличилась, возросла доля пожилых и старых лиц среди населения многих стран мира. Это требует перестройки практической медицинской помощи и изменения акцентов фундаментальных исследований, поскольку в пожилом и старческом возрасте заболевания не только учащаются, но и протекают с определенными особенностями. При этом одновременно с раскрытием глубинных механизмов старения важно изучать заболевания, которые чаще всего наблюдаются в пожилом и старческом возрасте, в первую очередь атеросклероз.

Из многочисленной группы болезней органов кровообращения наиболее тесную связь с нарушениями обмена липопротеидов имеют атеросклероз и развивающиеся на его фоне ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда и инсульт головного мозга. Общеизвестно, что эти заболевания являются наиболее распространенными и главной причиной смерти людей в экономически развитых странах. К исключительно важным особенностям, присущим атеросклеротическим поражениям в коронарных и мозговых артериях, относится предрасположенность к внезапной смерти, наступающей так быстро, что провести эффективное лечение чаще всего не представляется возможным. Согласно определению исследовательской группы ВОЗ (1962) и отечественных ученых А. Н. Климова, В. А. Нагорнева (1983), атеросклероз рассматривается как хроническое очаговое поражение крупных и средних артерий, характеризующееся отложением и накоплением во внутренней оболочке артерий плазменных липопротеидов низкой и очень низкой плотности, и реактивное разрастание соединительной ткани с образованием фиброзных бляшек в сосудистой стенке.

Длительное время одной из ведущих и распространенных теорий атеросклероза являлась выдвинутая Н. Н. Аничковым и С. С. Халатовым (1913) инфильтрационно-гиперпластическая теория, согласно которой

в результате нарушения липидного, в частности холестерина обмена, внутренняя оболочка артерий инфильтрируется липидами плазмы крови, давая начало формированию липидных пятен и полосок. При этом липоидоз рассматривался как инициальная стадия атеросклеротического процесса, на месте которой развиваются все последующие стадии (Н. Н. Аничков, С. С. Халатов, 1913; Н. Н. Аничков, 1917; Л. М. Денисенко, В. А. Зализняк, 1966). Уже более 80 лет общепризнано, что ведущим этиологическим фактором атеросклероза являются нарушения холестерина обмена. Отправным пунктом для возникновения холестериновой теории атерогенеза явился, как известно, экспериментальный холестеринный атеросклероз (Н. Н. Аничков, 1947), а вернее, холестероз артерий, получаемый у кроликов при кормлении их дозой 1 г/кг массы животного, что значительно превышает суточную его потребность для данного вида животных. Авторами отмечено, что скармливание в течение длительного времени кроликов больших доз холестерина приводит к развитию у всех гиперхолестеринемии и массивному отложению холестерина и его эстеров в интиму аорты. Это рассматривалось авторами как экспериментальный атеросклероз, приближающийся к атеросклерозу человека, поскольку было показано, что липиды во внутренней оболочке артерий при этом заболевании в основном представлены холестерином и холестеринэстерами. Однако для получения холестериноза артерий у других животных, особенно всеядных (собаки, крысы) одного введения холестерина оказалось недостаточно. У человека облигатная связь между экзогенным холестерином, гиперхолестеринемией, с одной стороны, и выраженностью атеросклероза – с другой, отсутствует.

Позднее Н. Н. Аничков сформировал основные положения возникновения и развития атеросклероза, получившие свое окончательное воплощение в инфильтрационно-комбинационной теории. В соответствии с ней инфильтрация сосудистой стенки липидами, особенно холестерином (ХС), является ведущим моментом возникновения липоидоза и последующего формирования атеросклеротической бляшки в интима артерий. Повышенное артериальное давление, предшествующие изменения клеточных элементов и соединительно-тканной стромы сосудистой стенки автор рассматривал как факторы, благоприятствующие развитию патологического процесса (Н. Н. Аничков, 1956). Главные принципы этой теории сохранили свою актуальность до настоящего времени. Последние достижения в области изучения атеросклероза еще раз подчеркнули пато-

логическую роль факторов, выделенных Н. Н. Аничковым, среди которых доминирующими остаются нарушения липидного обмена. Другие варианты этой теории решающее значение отводят не экзогенному холестерину, а эндогенным нарушениям его синтеза и ассимиляции или увеличению отношения холестерин/фосфолипиды. Ряд авторов ведущим фактором риска в развитии атеросклероза считает низкий уровень холестерина липопротеидов высокой плотности крови (Е. Н. Герасимова, 1977; Е. И. Чазов, 1985; Т. Е. Cazob, I. A. Koschinsky, 1976). По мнению некоторых исследователей, согласно инфильтрационной теории происходит нарушение прохождения липопротеинов через сосудистую стенку, задержка их во внутренней оболочке с последующим высвобождением липидов, преимущественно холестерина. Сосудистые изменения стенки при этом рассматриваются как вторичные (И. В. Амброзас, 1974; И. М. Ганджа, Н. Х. Фуркало, 1976; Е. Г. Зота, 1986; С. Velican, M. Angheliesen, 1977). Другие авторы полагают, что липиды откладываются в неизмененную интиму (Н. Н. Аничков, 1947; В. Т. Лямцев., 1972; I. B. Modrok, R. O. Langer, 1980; R. W. Wissler, D. Vesselinovitch, G. S. Getz, 1976). Согласно инфильтрационно-пластической теории Н. Н. Аничкова (1947), происходит нарушение прохождения липопротеинов через сосудистую стенку, задержка их во внутренней оболочке с последующим высвобождением липидов, преимущественно холестерина. Причины этого явления: 1) изменение состава крови (гиперхолестеринемия), увеличение количества некоторых липопротеинов, 2) нарушения проницаемости самой артериальной стенки. Общеизвестно, что атерогенез сопутствует старости, как тень человеку. Не случайно выдающийся отечественный патолог И. В. Давыдовский (1967) рассматривал атеросклероз как проблему возраста, полагая, что возраст самый мощный патогенный фактор атерогенеза. Создатель же инфильтрационно-пластической теории атеросклероза Н. Н. Аничков (1965) подчеркивал, что возрастные особенности строения сосудистой стенки имеют важное значение в развитии атеросклеротических поражений. Но прогрессирующее развитие этой патологии зависит, видимо, не столько от возрастных особенностей строения и обмена сосудистой стенки, сколько от изменяющегося гомеостаза стареющего организма. По мнению многих авторов, липоидоз обнаруживается уже в раннем детском возрасте (М. Ф. Абдуллаходжаева, Л. А. Пак, 1986; Д. П. Дробкова, С. Г. Аптекарь, А. М. Вихерт, 1982; И. П. Дробкова, 1983). С возрастом площадь липоидоза увеличивается, в отдельных случаях отмечается переход липидных

пятен в атеросклеротическую бляшку. Это позволяет рассматривать липоидоз и атеросклероз как стадии одного процесса (А. М. Вихерт, И. П. Дробкова, 1985; В. Г. Силютин, Т. А. Федорина, 1980; I. P. Strong, 1983). В то же время возможность регрессии липидных пятен как у детей, так и у взрослых отмечают многочисленные исследователи (В. С. Жданов, А. М. Вихерт, Г. Е. Саранкин, 1973; D. Sinapius, 1978). В связи с этим некоторые авторы рассматривают липидные пятна как очаги «спонтанного липоидоза», не имеющего отношения к атеросклерозу (В. Х. Анестиади, В. А. Нагорнев, 1982; Г. Г. Непряхин, 1970). Это мнение подтверждает ряд исследований, в которых не обнаружено зависимости между выраженностью липоидоза и наличием или отсутствием ритмических структур, фиброзных бляшек, при этом последние могут локализоваться в местах, отличных от расположения липидных пятен и по времени опережать их (А. М. Вихерт, В. С. Жданов, Ю. Г. Осис, 1983; А. М. Вихерт, 1977).

Связь нарушений липидного обмена с развитием атеросклероза подтверждается многими исследованиями. В то же время в ряде работ показано, что между уровнем холестерина и частотой липоидоза, а также площадью долипидных изменений корреляционная связь отсутствует (А. М. Вихерт, В. С. Жданов, 1976; А. М. Вихерт, В. С. Жданов, Е. Е. Матова, С. Г. Аптекарь, 1981). Однако следует отметить, что решающая патогенетическая роль в развитии атерогенеза отводится нарушениям липидного обмена (А. М. Клиорин, 1981; Ю. А. Князев, Т. Н. Туркина, С. Е. Лебедева, 1983; Е. Я. Маграчева, 1980; Т. А. Фролова, Ф. Н. Гильямирова, Л. В. Катричева, 1984; S. R. Sprivasen, R. R. Frerichs, G. S. Berenson, 1978).

Распространению «липидной теории» атеросклероза, по-видимому, способствовало два обстоятельства: возможность создания экспериментальной модели, формально отождествляющей атеросклероз с единственным патогенетическим фактором – экзогенной гиперхолестеринемией (что делает эту модель удобной для изучения), и доступность исследования в клинических условиях липидов крови как возможных факторов развития атеросклероза по аналогии с экспериментальной моделью. Это способствовало детальному изучению обмена различных липидов, однако значение его нарушения для атерогенеза остается во многом неясным. Несмотря на появление за последние 50–60 лет огромного количества исследований, все же не удалось разработать не только универсальной, но даже более или менее приемлемой теории атеросклероза. Следует отметить, что накоплен огромный фактический материал, факты, проти-

воречащие положению о главенствующей роли нарушений липидного обмена в происхождении атеросклеротических поражений. В настоящее время более изучен гистогенез атеросклероза, то есть характер наблюдаемых морфологических изменений, время и последовательность их развития, тогда как этиология и патогенез этого заболевания остаются не вполне выясненными. В настоящее время считается общепризнанным, что развитие атерогенеза связано с накоплением в артериальной стенке плазменных апо-В-липопротеидов, главным образом липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) (А. Н. Климов, А. В. Попов, 1976; А. Н. Климов, Н. Т. Никульчева, 1984).

Правда, благодаря успехам биохимии, положение Н. Н. Аничкова «без холестерина нет атеросклероза» не только подтверждено, но и расширено, и в настоящее время может быть охарактеризовано следующим образом: без атерогенных липопротеидов нет атеросклероза (А. Н. Климов, А. В. Попов, 1976).

I. Page, A. Lewis (1954) считали, что отложение ЛП в интиме происходит как в результате их увеличенного содержания в крови, так и вследствие изменений артериальной стенки в виде нарушенной проницаемости, утолщения интимального слоя и ряда других причин. Убедительные доказательства о роли ЛП в развитии экспериментального атеросклероза получены в опытах, в которых у кроликов вызывали атеросклеротические поражения введением ЛПНП и ЛПОНП от гиперхолестеринемических животных доноров (А. Н. Климов, Н. Т. Никульчева, 1984).

В последние годы проделана большая работа по уточнению метаболических превращений ЛП и путей их транспорта в сосудистую стенку, в связи с чем высказан ряд интересных соображений о патогенезе атеросклероза. А. Н. Климов, В. А. Нагорнев (1984) сформулировали основные положения о проникновении внутрь сосудистой стенки ЛП в виде интактных частиц через межэндотелиальные щели либо путем пиноцитоза. Исследованиями этих авторов и их сотрудниками отмечена иммунологическая идентичность аполипопротеидов, сходство жирнокислотного спектра эфиров холестерина (ХС), фосфолипидов (ФЛ), триглицеридов (ТГ) в составе ЛП плазмы крови и аорты человека. Кроме того, внутривенное введение кроликам ЛП с двойной радиоактивной меткой в липидной и белковой частях и перфузия ими аорты вызывает появление в ней ЛП, в которых отношение радиоактивности липид/белок такое же, как в исходных частицах. Однако не все липопротеидные комплексы проходят

через стенки артерий одинаково. Если ЛПВП (самые маленькие частицы) проникают, не задерживаясь, сквозь внутренний, средний, наружный слой, а хиломикроны (ХМ) вообще не способны войти в стенку, то ЛПНП (ЛПОНП в меньшей степени) могут задерживаться внутренней эластической мембраной, которая обладает барьерной функцией по отношению к частицам такого размера.

Поступление ЛПНП и ЛПОНП в интиму целой частицы могут провоцировать адреналин, норадреналин II, серотонин, брадикинин. И гистамин путем активации пиноцитоза в эндотелиальных клетках либо вызывая сокращение последних и тем самым увеличивая межэндотелиальные каналы (Т. Shimamoto, 1977). Существует мнение о том, что липопротеидные комплексы частично деградируют перед входением в сосудистую стенку, на что указывает, в частности, разная скорость поступления в нее свободного ХС и его эфиров (S. Dayton, S. Hashimoto, 1970). Эти авторы подчеркивают также возможность физико-химического обмена ХС между ЛП и мембранами эндотелиальных клеток. Последующие работы показали очевидность протекания таких процессов как между разными классами ЛП, так и между ЛП и тканями (F. Bell, 1976). Характерной особенностью физико-химического обмена ХС является то, что количество его никогда не меняется. В то же время атеросклеротические поражения характеризуются массивными отложениями липидов и особенно ХС.

Возможная роль ЛП, богатых ТГ (ЛПОНП и ХМ), в атерогенезе объясняется появлением большого количества эпидемиологических и клинических данных, показывающих роль повышенных уровней ТГ и ЛПОНП (D. Zilversmit, 1973) как фактора риска клинических проявлений атеросклероза (Ж. Л. Лобановская, Г. И. Силонова, И. С. Селицер, 1980; З. З. Кучинскепе, 1985). Авторы считают, что избыточное образование ЛП, богатых ТГ, при высокой активности липопротеиновой липазы (ЛПЛ) сопровождается локальным увеличением количества ЛПНП и липопротеидов промежуточной плотности (ЛППП) в различных участках эндотелиальной поверхности сосудов. Часть их проникает в сосудистую стенку посредством пиноцитоза, фильтрации, свободной диффузии. Предполагается, что моно- и диацилглицериды, жирные кислоты, ХС, образующиеся при ферментативном гидролизе липидов, входящих в ХМ и ЛПОНП, поступают в эндотелиальную мембрану и перемещаются внутри ее в результате диффузии. Далее с внутренней поверхности эндотелия, обращенной к подлежащим тканям, липиды переходят на их клеточные мембраны.

Возражения против взгляда D. Zilvermit (1973) заключаются в следующем: ХМ не обладают атерогенностью, так как они не способны проникать в эндотелиальную мембрану. Дистрофические изменения в сосудистой стенке, при которых можно ожидать снижения активности ЛПЛ, сопровождаются усилением атерогенеза, в то время как по вышеуказанным соображениям должно быть уменьшение атеросклеротических поражений. И наконец, повышение артериального давления, не влияя существенно на липолитическую способность артерий, вместе с тем приводит к акселерации атеросклероза.

Принимая высказанные возражения, необходимо все же указать на то, что они относятся преимущественно к атерогенности ХМ. Атерогенность ЛПОНП подтверждена большинством исследований, что делает возможным участие данного механизма в сложной цепи развития атеросклеротических бляшек.

ЛПОНП и ЛПНП, циркулирующие в крови больных ишемической болезнью сердца, инфарктом миокарда, инфарктом головного мозга, обладают повышенной антигенной активностью (А. Д. Денисенко, 1985) в отличие от здоровых людей, у которых, тем не менее, ЛП крови иммунохимически гетерогенны. Наличие в крови ЛППП особенно тесно коррелирует с ишемической болезнью сердца. А. Н. Климов (1974) полагает, что аутоантигенные свойства ЛП связаны с измененной их конформацией при перегрузке липидами в случае гиперлипопротеидемии (ГЛП), с образованием новых апопротеинов или ЛППП на пути трансформации ЛПОНП в ЛПНП. Этот автор, развивая аутоиммунную теорию патогенеза атеросклероза, высказывает предположения о существовании следующей цепи: накопление в крови ЛПОНП и ЛПНП, обладающих аутоантигенностью, – образование аутоантител к ним – формирование комплексов ЛП антигена – иммунологическое повреждение эндотелия и прохождение аутоиммунных комплексов в сосудистую стенку – инициация или усиление последними атеросклеротических поражений – образование вторичных аутоантигенов в тканях и взаимодействие с ними структур сосудистой стенки, ведущее к усилению процесса.

Имеются также данные об обнаружении аутоиммунных ГЛП, которые могут вызывать атеросклеротические поражения (А. Н. Климов, А. Д. Денисенко, Ю. Н. Зубжицкий и др., 1978). Возникновение их объясняется двояко: в одном случае антитела конкурируют с ЛП за места свя-

зывания на поверхности липопротеидных частиц, что ведет к подавлению липолиза и накоплению ЛП в крови; второй тип аутоиммунных ГЛП связан с тем, что антитела изменяют молекулу ЛПЛ или угнетают биосинтез фермента. Иммунозависимые нарушения в обмене ЛП встречаются не только при атеросклерозе артерий, но и в случае таких заболеваний, как нефроз, ревматоидный артрит и др., причем эти изменения в липопротеидном спектре крови соответствуют наблюдаемым при I, IV, V типах ГЛП.

Таким образом, в приведенных точках зрения на этиологию атеросклероза центральное место отводится повышенному поступлению из крови липидов и липопротеидов. Однако было бы неверно думать, что в них не учитывается возможная роль сосудистой стенки. Все исследователи признают, что особенности артерий, связанные со структурой, характером обмена и, наконец, с более высоким артериальным давлением, воздействующим на их стенки, по сравнению с венами, создают важные предпосылки, определяющие локализацию и тяжесть атеросклеротических поражений.

Эти обстоятельства учитывал и Н. Н. Аничков, который, наряду с липидной инфильтрацией, придавал значение состоянию сосудистой стенки, уровню давления крови и некоторым другим факторам в развитии атеросклероза (инфильтрационно-комбинационная теория).

Литературные данные убедительно показывают, что нельзя исключить важного значения в атерогенезе состояния соединительной ткани. Деполимеризация гликозаминогликанов (ГАГ), входящих в состав сосудистой стенки, изменяет ее проницаемость и приводит к усиленному проникновению из плазмы в интиму липопротеидов (ЛП) и фибриногена (В. Х. Анестиади, С. Руссу, 1973; В. Х. Анестиади, В. А. Нагорнев, 1982; В. Х. Анестиади, В. А. Нагорнев, 1983; К. Н. Арнеут, 1971; С. С. Кабасьян, 1968).

Многие исследователи в своих работах о развитии атеросклеротического процесса придают большое значение деструкции эластических структур, создающей благоприятный фон для возникновения и прогрессирования липоидоза (В. Х. Анестиади, Е. Г. Зота, 1970; В. Х. Анестиади, Е. Г. Зота, 1970; А. М. Вихтер, В. С. Жданов, Е. Е. Матова, 1970; С. Velican, D. Velican, 1976). Параллельно с процессами деструкции эластической ткани идут процессы новообразования эластических волокон. Несколько позже в процесс вовлекаются коллагеновые волокна (Л. В. Касаткина, Н. М. Черначенко, 1970), при этом синтез коллагена в

пораженной сосудистой стенке идет интенсивно и значительно превышает распад (J. V. Modrac, R. O. Langer, 1980).

Представления о первичных изменениях стенок артерий как этиологическом факторе патогенеза атеросклероза в наиболее рафинированном виде отражены в «мутагенной моноклональной» теории E. Benditt (1973). Автор обратил внимание на известный факт, что атеросклеротические бляшки представляют собой изолированные участки, клеточную основу которых составляют размножающиеся гладкомышечные клетки. В связи с этим возникло предположение, что каждое атеросклеротическое поражение происходит из одной клетки – прародительницы. Для доказательства такого предположения использовано измерение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, представленной двумя лизоформами, образование которых у женщин обусловлено генами, расположенными в разных X-хромосомах. Автор обнаружил, что если в нормальной артериальной стенке присутствовали клетки и с одним, и с другим изоферментом, то в атеромах выявляется один из них, но никогда не определяются оба вместе. Эти результаты позволили высказать мнение о том, что атеросклеротические поражения являются опухолевидными образованиями и вызывают их вирусы или химические агенты. В свете этого появилась возможность интерпретировать данные о получении атеросклеротических признаков у цыплят, которых инфицировали онкогенными вирусами герпеса. Мутация одной гладкомышечной клетки и ее пролиферация приводят к формированию фиброзной бляшки. При этом митогенными факторами могут быть гиперхолестеринемическая сыворотка, макрофаги, митогены калликреинкининовой системы, тромбоциты (G. R. Campbell, J. H. Campbell, 1980; Guido Majno, Isabelle Coris, Thomas Land, 1985; R. Ross, J. A. Glomset, 1976). С деятельностью этих клеток связан морфогенез уже ранних атеросклеротических поражений (Ч. Каваллеро, 1981; В. Н. Смирнов, В. С. Репин, 1985; М. I. Karnovsky, 1981; R. Ross, A. Vogel, 1978). Доказано, что ГМК обладают выраженной пролиферативной активностью, способны мигрировать из меди в интиму, синтезировать макромолекулы эластина, коллагена, гликозаминогликанов, накапливать липиды (А. М. Вихерт, 1987; К. Kawaguchi, 1985).

Большое значение в атерогенезе имеет нарушение целостности эндотелиальной выстилки сосудов (А. М. Вихерт, В. Н. Розина, 1981; В. Н. Розина, 1982; W. H. Hauss, 1976; R. Ross, J. A. Clomset, 1976). Факторами, вызывающими повреждение эндотелия, могут быть адреналин,

норадреналин, ангиотензин, аутоиммунный комплекс, антиген-антитело, ЛПНП, ЛПОНП, различные токсины, гипоксия, механическая травма. (В. В. Долгов, Р. М. Махмудов, 1984; В. В. Долгов, 1983; А. Н. Климов, Т. А. Синицина, В. А. Нагорнев, 1975; Р. М. Махмудов, В. В. Долгов, Т. А. Войно-Ясенецкая и др., 1984; I. Bjorn, 1984; A. L. Robertson, P. A. Klairalloh, 1973). Повреждение эндотелия приводит к снижению его роли функционального барьера и нарушению гомеостаза сосудистой стенки.

Исследования многочисленных авторов явились основой для становления гипотезы об атеросклерозе, как «ответной реакции на повреждение» (С. R. Minick, 1976; С. R. Minick, M. B. Stemerman, 1979; С. R. Minick, 1982). Согласно этой теории в ответ на любое повреждение развивается нарушение целостности эндотелия, обнажается субэндотелиальная поверхность, что приводит к усиленному пассажу компонентов крови в сосудистую стенку. В местах деструкции эндотелия происходит адгезия тромбоцитов, распад их с высвобождением особого вещества, которое было названо «тромбоцитарным фактором роста» *platelet derived growth factor*. Этот фактор обладает сильным митогенным действием и вызывает пролиферацию ГМК, которая представляет собой универсальную стереотипную реакцию на повреждение. В местах повреждения эндотелия развивается процесс регенерации, заканчивающийся реэндотелизацией, при этом длительное или рецидивирующее повреждение эндотелия заканчивается выраженным повреждением сосудистой стенки (В. А. Нагорнев, 1988).

Известно, что эндотелиальные клетки обладают способностью селективной транспортировки низкомолекулярных соединений, являясь барьером для высокомолекулярных соединений (Ю. П. Ведерников, В. Г. Шаров, А. А. Анокин, А. М. Вихерт, В. Н. Розина, 1987).

J. L. Goldstein, M. S. Brown (1975) разработали теорию рецепторопосредованного пути захвата и катаболизма ЛП клеточными элементами. Неизменные клетки сосудистой стенки осуществляют захват ЛП, взаимодействующих со специфическими рецепторами, путем «активного» эндоцитоза (Ю. В. Бобрышев, 1984; F. Conctantinides, 1975). Этот путь захвата ЛП завершается их катаболизмом в лизосомах эндотелиальных клеток и не приводит к поступлению и накоплению ЛПНП и ХС в субэндотелиальном слое интимы. В условиях ГХ осуществляется неспецифически эндоцитозный захват ЛП без участия рецепторов. Этот путь захвата ЛП

приводит к накоплению их в эндотелиальных клетках и, как следствие этого, некробиотическим изменениям отдельных участков эндотелиального покрова, способствуя дальнейшему проникновению ЛП в субэндотелиальное пространство (А. Н. Климов, В. А. Нагорнев, 1985; В. А. Нагорнев, Ю. В. Ивановский, А. Г. Виноградова, 1980).

Самым ранним признаком активации неспецифического эндоцитоза является набухание, а затем полное исчезновение гликокаликсааморфного слоя гликопротеидной природы, покрывающего плазмолемму эндотелиальной клетки и способствующего фиксации частиц ЛПНП в области окаймленных везикул в условиях специфического эндоцитоза (А. Н. Климов, 1980; В. А. Нагорнев, Ю. В. Ивановский, А. Г. Виноградов, 1980).

Особую функцию в транспорте ЛП и других макромолекулярных соединений плазмы крови в сосудистую стенку выполняют межклеточные пространства, расширяющиеся при сокращении эндотелиальных клеток, вызванные активацией их адренорецепторов (И. К. Кондаков, Т. А. Войно-Ясенецкая, Э. М. Тарарак, 1989). Раскрытию межэндотелиальных пространств способствует также усиленное прохождение через них моноцитов крови в субэндотелиальный слой – процесс, который наблюдается уже на ранних стадиях атеросклероза (И. К. Кондаков, А. Ф. Яковцова, Н. И. Потапова, 1987).

«Остальные сосудистые концепции», как правило, предполагают, что атеросклеротические поражения возникают в результате накопления ЛП в дефектных участках артерий. R. Ross и соавторы (1977) считают, что повреждения эндотелиального слоя с десквамацией клеток вызываются разными факторами (хронической ГЛП, химическими соединениями, иммунологическими воздействиями, некоторыми метаболитами, инфекционными возбудителями, механическим влиянием повышенного артериального давления). Липопротеиды, ряд гормонов, нейромедиаторы, гистогормоны, тромбоциты и продукты их распада, проникая в участки поврежденного эндотелия, вызывают пролиферацию гладкомышечных клеток интимы, миграцию и пролиферацию таких клеток из меди. Размножившиеся гладкомышечные клетки формируют соединительно-тканый каркас, продуцируя коллаген, эластические волокна, мукополисахариды, что направлено на закрытие дефекта во внутреннем слое сосудистой стенки. Внутриклеточное отложение липидов завершает формирование атеросклеротических поражений. Без сомнения, дефекты в эндотелиальном покрове артерий могут служить входными воротами для крупномолекулярных соединений из тока крови. Показано, что механическое повреждение

эндотелия у животных ускоряет развитие атеросклеротических поражений в этих участках. При таких условиях скорость внедрения ХС в сосуды кроликов с поврежденным эндотелием в 15 раз выше, чем у нормальных животных (П. П. Чаяло, 1990). Бесспорно и то, что сосудистая стенка подвергается на протяжении всей жизни воздействиям механического, химического, иммунологического, инфекционного характера, имеющим патологические последствия в плане развития атеросклеротических бляшек. Однако, как указывает П. П. Чаяло, не следует забывать, что в изложенной выше схеме патогенеза атеросклероза наиболее аргументированными выступают те изменения, которые связаны с атерогенностью и накоплением в сосудистой стенке липидов и липопротеидов.

Таким образом, эта гипотеза во многом перекликается с классическими положениями инфильтрационно-комбинационной теории Н. Н. Аничкова и частично ее дополняет.

Ряд исследователей причину развития атеросклероза видят в биохимических дефектах, возникающих в сосудистой стенке. Одним из них может быть снижение активности лизосомальной холинэстеразы (П. П. Чаяло, 1990). Данный фермент гидролизует эфиры ХС, поступающие в лизосомы в составе ЛПНП с клеточных рецепторов. При ослаблении его активности эфиры ХС накапливаются в лизосомах, постепенно приводят к нарушению внутриклеточного метаболизма и гибели клеток, у больных со сниженной активностью лизосомальной холинэстеразы отмечается высокое содержание эфиров ХС во многих тканях и органах и высокая частота клинических проявлений атерогенеза.

Накопление ЛПНП в сосудах может быть и следствием дефектов в рецепторах, с помощью которых совершается утилизация этих липопротеидных частиц тканями (П. В. Сергеев, Н. Я. Шимановский, 1967).

Определенная роль принадлежит перекисям липидов в развитии атеросклероза (Н. П. Таранова, 1988). С одной стороны, окисленные липиды и продукты их деструкции могут накапливаться в сосудах при интенсификации липопероксидации *in situ* и, вступая в реакции с аминокруппами белков, приводят к возникновению прочных липидно-белковых комплексов, способствуя накоплению ЛПНП и ЛПОНП в интиме сосудов. С другой стороны, сами ЛП сравнительно легко подвергаются аутоокислению и изменяют состав липидов и апопротеинов, что влияет на конформацию липопротеидных частиц, и может вызывать появление аутоантигенных свойств у них. Далее происходят процессы, ведущие к атеросклерозу

в соответствии с аутоиммунной теорией. Эта теория неоднозначно разделяется исследователями, занятыми изучением механизмов формирования патогенеза атеросклероза. В известной мере это объясняется тем обстоятельством, что накопление перекисей липидов в поврежденной стенке можно связать с вторичными изменениями в ней как следствие атеросклеротического процесса.

В последние годы внимание исследователей привлекает изучение иммунологических нарушений в патогенезе атеросклероза. Можно считать доказанным существование в крови, стенках аорты и коронарных артерий человека иммунных комплексов ЛПОИП-IgG (А. Н. Климов, 1986). А. Н. Климов, В. А. Нагорнев, Ю. Н. Зубжицкий, А. Д. Денисенко, (1980) выдвинули аутоиммунную теорию атеросклероза, согласно которой патогенез представляет собой следующие этапы: а) образование в результате экзо- или эндогенной сенсibilизации аутоантител против апо-β-содержащих липопротеидов; б) формирование циркулирующего в крови иммунного комплекса ЛП-антитело в избытке антигена; в) повышение сосудистой проницаемости как результат общих проявлений иммунокомплексной болезни, а также локальные повреждения артериальной стенки вследствие фиксации в ней иммунного комплекса ЛП-антитело; г) неконтролируемый захват макрофагальными клетками артериальной стенки иммунного комплекса ЛП-антитело и трансформация этих клеток в пенистые клетки; д) развитие очагового атеросклеротического повреждения артериальной стенки, разрушение клеток и волокон, продукты распада которых попадают по ходу оттока лимфы в региональные лимфатические узлы; е) образование на этих сосудистых антигенах антител, их фиксация на измененных сосудистых структурах, новое локальное повреждение артериальной стенки и дальнейшее прогрессирование атеросклеротического процесса (А. Н. Климов, В. А. Нагорнев, А. Д. Денисенко, 1989).

В результате анализа данных литературы о причинах развития атеросклеротического процесса складывается мнение о том, что все исследователи придают исключительное значение тем или иным формам нарушений состава, структуры, свойств и содержания липопротеидных комплексов, особенно ЛПНП и ЛПОИП.

Целый ряд исследователей отмечают большое значение наследственных факторов в развитии атеросклероза (Н. А. Белоконь, 1984; А. И. Клиорин, 1981; А. А. Николаева, Г. Г. Кармакулов, Э. Н. Майер, 1988). В настоящее время накоплено много информации о природе наследственных дефектов

в системе апобелков, ферментов, рецепторов клеток, обуславливающих ускоренное развитие атеросклероза (А. Гехт, 1984).

В результате многочисленных эпидемиологических исследований сложились представления о существовании рискфакторов атеросклероза. Так, известно, что в популяции людей с выраженными гипертонией, ожирением, курением, ГХ, сахарным диабетом, длительным стрессом частота клинических проявлений атеросклероза значительно возрастает (Л. Т. Малая, И. К. Кондаков, С. А. Лазарев и др., 1986; Т. О. Шопилова, 1985; Г. В. Яновский, В. П. Чмир, 1985; С. Н. Frith, J. F. Memyrthy, A. F. Alexander, 1974; I. L. Gainer, 1987; M. D. Haust, 1977). Помимо этих факторов, к ним причисляют возраст, принадлежность к мужскому полу, недостаточную физическую активность, особенности личности и поведения, генетические факторы, подагру, жесткость питьевой воды и др. При этом наиболее тесная связь отмечается между развитием атеросклероза и такими факторами риска, как повышенное содержание липидов и липопротеидов в сыворотке крови, артериальная гипертензия, курение, ожирение. Комбинация этих факторов увеличивает в 48 раз вероятность атеросклеротических заболеваний сердечно-сосудистой и центральной нервной системы и смертности от них (Л. Т. Малая, И. К. Кондаков, С. А. Лазарев и др., 1986).

В последние годы предпринимаются попытки выявить возможное влияние некоторых факторов риска у матерей, таких как артериальная гипертония, сахарный диабет, ожирение, эмоциогенный стресс, токсические вещества, физическое перенапряжение, биологическое воздействие и др. на развитие ранних предатеросклеротических изменений у детей (Л. А. Пак, 1987; А. А. Султаналиев, 1985). Л. А. Пак (1987) в своем исследовании не установила влияния этих факторов на частоту и степень выраженности ритмических структур (РС), очагового отека интимы, липоидоза аорты у детей. В исследованиях А. А. Султаналиева (1985) артериальная гипертония у матерей обусловила несколько большую частоту и выраженность диффузного утолщения интимы (ДУИ) коронарных артерий у плодов. Имеются сведения о морфологических изменениях в сосудистой системе плода (коронарных, пупочных артериях и сосудах плаценты) в случаях курения сигарет беременной, что создает благоприятную основу дальнейшего ускоренного развития атеросклероза (I. Asmussen, 1980; В. А. Caplan, R. C. Gerrity, 1974).

Обобщая приведенные литературные сведения, следует указать на то, что взгляд на атеросклероз как многопричинное заболевание отражает

существующие теоретические представления как результат клинических и эпидемиологических исследований, экспериментальных работ.

В развитии атеросклероза особое значение придается возрастному фактору. В это понятие вкладывается, во-первых, представление о возрасте как времени, в течение которого разворачивается атеросклеротический процесс, т. е. атеросклеротические поражения являются следствием хронического воздействия ведущих факторов риска на сосудистую стенку на протяжении многих десятилетий. Морфогенез атеросклероза дает веские доказательства в пользу такой точки зрения, что, начиная с липидной инфильтрации, интимы сосудов поражаются в первые десятилетия жизни, атеросклеротические поражения прогрессируют по мере увеличения возраста, проходя стадии фиброзной бляшки, осложненной бляшки с изъязвлениями, кальцинозом и тромботическими отложениями; увеличивается также площадь поражения (Г. Г. Автандилов, 1970). Именно с такой позиции большинство исследователей оценивают значение возраста в этиологии и патогенезе атеросклероза. Так, в настоящее время не вызывает сомнения, что атеросклероз закладывается и проходит стадию становления в детском и юношеском возрасте. Многими авторами большое внимание уделяется изучению факторов риска и ранних проявлений атеросклеротического процесса у детей (Р. М. Махмудов, В. В. Долгов, Т. А. Войно-Ясенецкая и др., 1984; К. Пиорала, 1985; Е. М. Сперанская, Е. Б. Тузанкина, 1970; I. Blieden, N. Neufeld, 1977; A. Drash, 1972).

Изучение сосудистой стенки в плане возрастной перестройки выявило у новорожденных и младенцев первых месяцев жизни диффузное утолщение интимы коронарных артерий (А. А. Султаналиева, В. С. Жданов, 1985), ритмические структуры и очаговый отек интимы аорт (В. Н. Розина, 1982; А. М. Вихерт, В. Н. Розина, 1983; М. С. Абдуллаходжаева, Л. А. Пак, 1986). При этом одними авторами эти изменения рассматриваются как физиологические явления (В. П. Алексеев, В. А. Арунов, В. С. Жданов, 1989), другие связывают эти изменения с развитием атеросклероза (С. Velican, D. Velican, 1976). Происхождение и значение этих изменений, связь их с развитием атеросклероза остается весьма актуальной проблемой.

Очаговый отек интимы обнаруживается в аортах у детей, начиная с 3-месячного возраста (Л. А. Пак, 1987) и расценивается как одна из морфологических форм долипидной стадии атеросклероза (А. М. Вихерт, В. Н. Розина, 1983). Макроскопически очаговый отек интимы выглядит как желатиновое образование округлой или овальной формы, не контра-

стирующее с окружающей интимой. Основными проявлениями очагового отека интимы является фокальное скопление в ней серозного и серозно-фибринозного экссудата вследствие повышенной проницаемости эндотелия для белков плазмы (В. Н. Розина, 1982). При этом отечная жидкость, содержащая только альбумины и глобулины, лишь разъединяет гладкомышечные клетки (ГМК) и эластические волокна, не изменяя их структуры. Липиды в таких очагах не определяются. Эта стадия является динамичным атеросклеротичным изменением и может претерпевать обратное развитие (И. К. Кондаков, 1982). В случаях повторного выраженного отека интимы, достигающего внутренней эластической мембраны, наблюдаются дистрофические и деструктивные изменения эластических волокон (Л. А. Пак, 1987; В. Н. Розина, 1980). В таких зонах развивается пролиферация гладкомышечных клеток, которые впоследствии подвергаются жировому метаморфозу, отмечается гиперпластический процесс, возникающий за счет новообразования соединительной ткани. Гистохимическими методами в очагах пролиферации выявляется накопление кислых гликозаминогликанов, КГАГ-позитивного материала, новообразования аргирофильных ретикулярных волокон (В. Н. Розина, 1980, 1982). Указанные морфологические изменения свидетельствуют об организации очагового отека интимы. Исследование эндотелия над участками очагового отека интимы выявляет его изменения: появляются крупные полигональные эндотелиальные клетки. Линии границ отдельных ЭК в этих местах становятся двухконтурными с единичными стигматами (А. М. Вихерт, В. Н. Розина, 1983; В. Н. Розина, 1982).

К первичным изменениям сосудистой стенки, связанным с развитием атеросклеротических изменений, относятся ритмические структуры (РС) аорты. Встречаются РС чаще всего в области дуги аорты и по ходу устьев парных межреберных и поясничных артерий. Возникновению РС способствуют гемодинамические, гормональные и ряд других факторов (Н. Н. Аничков, 1947; А. М. Вихерт, В. С. Жданов, Е. Е. Матова, С. Г. Аптекарь, 1981; В. Н. Резина, 1982). Установлена связь частоты встречаемости РС с увеличением возраста. Макроскопически РС выглядят как образования лентовидной формы, растянутые вдоль длинника сосуда, представленные рядом параллельных валиков, расположенных под прямым углом к длиннику сосуда. До 3 лет РС слабо различимы, макроскопически не возвышаются над интимой (А. М. Вихерт, В. С. Жданов, Ю. Г. Осис, 1988). Одним из микроскопических признаков РС является повреждение внутренней эластической мембраны (ВЭМ), разрывы, гра-

нулярный распад эластических волокон с одновременным избыточным новообразованием соединительной ткани, пролиферацией ГМК в интимае аорты, накоплением кислых ГАГ в интимае, в результате чего отмечается утолщение последней в 36 раз по сравнению с нормой (А. М. Вихерт, 1985). Ожирение части РС Л. А. Пак (1986) отмечает с 5-месячного возраста. В. М. Розина – с 10-летнего. Микроскопически при этом можно видеть ГМК с мелкокапельным ожирением цитоплазмы вплоть до образования «пенистых» клеток (А. М. Вихерт, 1987; А. М. Вихерт, В. Н. Розина, 1983). При этом накопление липидов является вторичным процессом по отношению к деструкции эластической ткани и пролиферации ГМК. В ряде исследований показано отсутствие зависимости между выраженностью липоидоза и наличием или отсутствием РС (А. М. Вихерт, В. С. Жданов, Ю. Г. Осис, 1988). В дальнейшем отмечается склерозирование РС с формированием единых возвышающихся лентовидной формы фиброзных бляшек. Отсутствие в таких бляшках липидов позволяет предположить нелипоидный путь формирования фиброзных бляшек в аорте на основе РС.

В то же время, по данным других авторов, не выявлено прямой зависимости между частотой РС и развитием атеросклероза (В. П. Алексеев, В. А. Арунов, 1989; W. V. Strong, 1978). Высказывается предположение, что причиной развития РС может быть ротация аорты в процессе ее роста (Fenimura Acira, Cho Fekanori, Saito Iasuyki, 1986). При электронномикроскопическом исследовании РС отмечается утолщение, разрыхление, фенестрация ВЭМ, миграция ГМК через фенестры ВЭМ из медиа в интиму. ГМК отличаются полиморфизмом, хаотичным расположением. В цитоплазме обнаруживаются гиперплазия эндоплазматической сети (ЭПС), скопление липидных капель (M. D. Haust, 1979). Исследование эндотелия над РС выявило заметное возрастание полиморфизма ЭК, размеры и формы которых варьируются, клеточные границы местами утолщены, как бы размыты (А. М. Вихерт, В. Н. Розина, 1983; В. Н. Розина, 1982).

Аналогом РС является мышечно-эластическая гиперплазия интимы (МЭГИ) коронарных артерий, описанная в зарубежной литературе как диффузное утолщение интимы (ДУИ) (D. Velican, C. Velican, 1979). В последние годы в работах отечественных и зарубежных авторов приводятся данные, подтверждающие причастность ДУИ коронарных артерий к атеросклеротическому процессу (А. М. Вихерт, В. С. Жданов, 1970; А. А. Султаналиев, В. С. Жданов, 1985; Н. С. Gill, 1981; D. Velican, C. Velican, 1979). По данным этих авторов, ДУИ встречается в 76 % слу-

чаев до 1 года, мнение других авторов сводится к тому, что ДУИ является физиологическим процессом, отражающим возрастную перестройку сосудистой стенки в ответ на действия гемодинамических факторов как результат ишемии сосудистой стенки, изменений условий метаболизма и нейрогуморальных влияний (Н. Н. Аничков, 1947; А. М. Брусилковский, Н. П. Барсуков, 1984; I. L. Gainer, 1987; G. Conada, 1969). В происхождении ДУИ, по мнению ряда авторов, весьма важным является повреждение пластических структур, в частности ВЭМ, заключающееся в расщеплении, фрагментации, сегментарном лизисе (В. Х. Анестиади, Е. Г. Зота, 1970; А. М. Вихерт, В. С. Жданов, Е. Е. Матова, С. Г. Аптекарь, 1981). Другие авторы, наоборот, рассматривают деструктивные изменения эластических структур сосудистой стенки как вторичные по отношению к липоидозу (Н. Н. Аничков, 1947; В. Т. Лямцев, 1972). Самые ранние изменения ВЭМ отмечаются на 4-м месяце внутриутробной жизни в передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии. Важным моментом в генезе ДУИ считается повреждение эндотелия и последующий репаративный процесс, включающий регенерацию эндотелия (В. Н. Розина, 1982; В. Н. Розина, А. М. Вихерт, 1983).

Ряд авторов в своих исследованиях высказывают предположение о генетической предрасположенности к ДУИ коронарных артерий, заключающейся в особенностях анатомического строения венечных артерий и обуславливающейся склонностью к развитию атеросклероза (А. М. Вихерт, В. С. Жданов, Е. Е. Матова, С. Г. Матова, 1981).

Гистологически ДУИ имеет вид отдельных возвышающихся подушкообразных утолщений, выступающих в просвет сосуда, иногда с тенденцией к слиянию между собой (А. А. Султаналиев, 1985; А. А. Султаналиев, В. С. Жданов, 1985). Структурные компоненты ДУИ включают: модифицированные пролиферирующие ГМК, фибробласты, эластические и коллагеновые волокна, кислые и нейтральные ГАГ (А. А. Султаналиев, 1985).

К атеросклеротическим изменениям относятся также липидные пятна и полосы. С возрастом в артериальной стенке накапливаются липиды всех классов, преимущественно ХС и его эфиры. При развитии атеросклероза происходит резкое увеличение содержания этих липидных фракций в участках поражения артерий. Липидные пятна и полосы обнаруживаются у детей, начиная с 3,5-месячного возраста (Л. А. Пак, 1987), в 10-летнем возрасте встречаются в 92 %, в старшем возрасте – 100 % случаев (А. М. Вихерт, И. П. Дробкова, 1985). Увеличение площади липоидоза с возрастом дает возможность ряду авторов расценивать его как

потенциальный предшественник атеросклероза (И. П. Дробкова, 1983; А. М. Вихерт, И. П. Дробкова, 1985; В. Г. Селютин, Т. А. Федорина, 1980). По мнению ряда исследователей, часть липидных пятен может трансформироваться в фиброзные бляшки, в то же время не все авторы считают возможным отождествлять атеросклероз и липоидоз интимы артерии в детском возрасте (А. П. Авцын, 1972; В. Х. Анестиади, В. А. Нагорнев, 1982). В ряде исследований показано, что липидные пятна у детей неоднородны по клеточному составу и зависят от возраста детей. Липидные пятна так называемого «ювенального типа» характеризуются внутриклеточным накоплением липидов. Особенностью липидных пятен «промежуточного типа», характерных для детей более старшего возраста, является разрушение значительного числа пенистых клеток с выходом и накоплением жира в межклеточном пространстве. Липидные пятна промежуточного типа могут играть определенную роль в формировании атеросклеротических изменений. Интима в области липидных пятен утолщена, процессы новообразования эластических волокон сочетаются с эластолизом, расщеплением ВЭМ, нарастанием количества коллагеновых волокон, пролиферацией и миграцией ГМК, накоплением кислых ГАГ и липидов (Л. А. Пак, 1987). Указанные процессы свидетельствуют о процессе организации и возможности перехода отдельных липидных пятен в липидно-фиброзные бляшки (М. D. Haust, 1978).

При электронно-микроскопическом исследовании липидных пятен выявляются пенистые клетки гладкомышечного происхождения, отмечается миграция ГМК из меди в интиму. Интима в области липидных пятен характеризуется сглаженностью микрорельефа, увеличением размеров участков выбухания цитоплазмы, покрывающих ядра эндотелия (И. К. Кондаков, 1982; Л. А. Пак, 1987). Изменения эндотелия в области липидных пятен и полосок отличаются полиморфизмом ЭК, выражающимся в вариабельности размеров (от крупных и гигантских до появления полей, состоящих из мелких ЭК). Границы ЭК истончены, прерывисты, характеризуются наличием стигмат, стомат (В. М. Розина, 1982).

Одним из наиболее активно изучаемых в последнее десятилетие факторов риска развития атеросклероза является нарушение липидного обмена в детском и юношеском возрасте (А. С. Сметнев, И. В. Неверов, 1973).

Можно считать установленным, что показателем атерогенности является не столько тотальное значение ХС, сколько содержание в крови ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП. Следует отметить, что ХС-ЛПВН не только не способствует развитию атеросклероза, но является антиатерогенным фактором.

ХС-ЛНВП обладает способностью поглощать ХС с клеточных мембран и тем самым способствует регрессии атеросклеротических изменений (Е. Н. Чазов, 1985; А. Н. Климов, И. Т. Никульчева, 1984). Из показателей в системе ЛП, считающимися наиболее точными предвестниками развивающихся атерогенных нарушений, являются повышение отношений апо-В/апо-А-I, увеличение содержания ХС-ЛПНП и их основного белка апо-В и снижение уровня ХС-ЛПВП и их основного белка апо-А-1 (Е. Н. Чазов, А. Н. Климов, 1980). По мнению ряда ученых, у детей с высоким уровнем липидов в сыворотке крови вероятность возникновения в будущем коронарной болезни значительно выше, чем при нормальном содержании липидов в крови (Е. Н. Чазов, А. Н. Климов, 1980; Е. Я. Маграчева, 1980).

Не вполне ясно, какое влияние на уровень липидов и ЛП крови новорожденного оказывают условия протекания беременности. Ряд исследователей считает, что стресс, связанный с патологией беременности и родов, может сопровождаться ГХ у плода (Н. R. Cress, R. M. Shaher, R. Laffin, 1977). Установлено, что наличие у матери сахарного диабета способно увеличить концентрацию ТГ в пуповинной крови. Подавляющая часть дислипидемий у плода связана с различными отклонениями от нормального протекания беременности и родов, в их числе асфиксия, переносенность, поздний токсикоз, гипертония у матери (D. S. Fredickson, G. L. Breslow, 1973). Данные других авторов подтверждают, что на уровень ХС и ТГ крови плода сахарный диабет матери и другие перинатальные факторы не влияют (Cuido Majno, Isabelle Joris, Thomas Lend, 1985). Вопрос о возможности выявления ГХ при исследовании пуповинной крови новорожденного в плане ранней диагностики предрасположенности к атеросклерозу является спорным, так как у большинства детей с повышенным содержанием ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП при рождении эти показатели нормализуются. Верность этого положения подкрепляется еще и тем, что в периоде новорожденности они бывают вызваны переходящими явлениями, а не наследственными нарушениями липидного обмена (А. М. Капорин, 1981).

Таким образом, до настоящего времени нет четкого представления о причинах и механизмах возникновения ранних изменений в сосудистой стенке у детей, их связи с развитием атеросклероза в последующем. В связи с этим наиболее радикальными являются взгляды тех авторов, которые отождествляют возрастные и атеросклеротические изменения стенки.

Е. Bierman et al (1979) основной акцент в проблеме «атеросклероз и возраст» делает на тех факторах риска, возникновение и прогрессирование которых имеет тесную связь с возрастом (ГЛП, ожирение, гипертензия, гипергликемия). Авторы считают, что перечисленные факторы инициируют атеросклеротические поражения, вызывая повреждения эндотелия, отложение ЛП, угнетая активность лизосомальных липолитических ферментов и т. д. с помощью тех механизмов, которые укладываются в рамки ведущих теорий атерогенеза, описанных выше.

Возраст выступает как фактор риска из-за постепенного формирования в течение жизни метаболического, функционального и структурного фона в сосудистой стенке, который обуславливает сравнительно легкую возможность не только усиления атеросклеротического процесса, но и возникновения новых его очагов в различных органах и системах (Д. Ф. Чеботарев, 1977).

Известно, что гормональные нарушения играют важную роль в атерогенезе и им придается большое значение в развитии атеросклероза. Принято считать, что сахарный диабет способствует его развитию, так как в клинике сахарный диабет часто сочетается с выраженным атеросклерозом, и при диабете имеются нарушения липидного обмена.

Однако изучение аорты и венечных артерий лиц, умерших от «чистого диабета», то есть без сочетания с гипертонической болезнью или другими заболеваниями, влияющими на течение атеросклероза, показало, что до 50 лет выраженность атеросклероза при диабете или находится в пределах, имеющих место у практически здоровых лиц, погибших от случайных причин, или лишь незначительно превосходит таковые. После 50 лет атеросклероз при диабете по своей тяжести не отличался от такового у лиц, умерших от атеросклероза и не страдающих диабетом. Это позволяет предположить, что у лиц молодого возраста диабет оказывает определенное влияние на течение атеросклероза, а в пожилом возрасте само возникновение диабета может быть обусловлено атеросклерозом сосудов, питающих поджелудочную железу, то есть диабет может быть вторичным по отношению к атеросклерозу. Вместе с тем имеются прямые доказательства связи между площадью предатеросклеротических изменений и уровнем иммунореактивного инсулина, кортизола (И. К. Кондаков, 1982).

Практически все состояния дисбаланса гормонального статуса организма сопровождаются изменением спектра липидов и липопротеидов крови, но клинически значимыми дислипидемиями (ДЛП) являются

при таких эндокринных заболеваниях, как сахарный диабет, гипотиреоз, при нарушении баланса половых гормонов, в случаях гипофизарно-гипоталамической недостаточности. Нарушение липопротеидного обмена при сахарном диабете представляет особый интерес, во-первых, в связи с широким распространением данного заболевания среди населения, во-вторых, с учетом того, что у больных с этой патологией характерна высокая частота сердечно-сосудистых заболеваний и ДЛП. Р. У. Стаут (1985) отмечает, что вторичная ДЛП при инсулинзависимом диабете в молодом возрасте – обычное явление.

Изменения в спектре ЛП обнаруживаются при диабете у лиц среднего возраста (40–59 лет) в 30–45 % случаев. Закономерна зависимость степени нарушений метаболизма липидов и липопротеидов при диабете от степени ожирения (П. П. Чаяло, 1990). Причины возникновения ДЛП при сахарном диабете связаны с этиологией и патогенезом основного заболевания, то есть относительной или абсолютной инсулиновой недостаточностью. Выявляемые при диабете нарушения и последовательность развития обмена веществ свидетельствуют об их взаимосвязи от недостатка инсулина, ибо в первую очередь нарушается углеводный обмен, в котором непосредственно участвует инсулин.

При этом замедляется переход глюкозы в ткани, т. е. понижается ассимиляция глюкозы; активность гексокиназы, глюкокиназы, нарушается фосфорилирование глюкозы, синтез гликогена в печени, мышцах и жировой ткани; понижается окисление глюкозы как аэробным, так и анаэробным путем; нарушается синтез жира из углеводов, понижается количество АТФ в связи с понижением окисления глюкозы, следствием чего является снижение синтеза белков. В результате этих изменений сахар в крови задерживается и возникает гипергликемия.

Развивающаяся при диабете инсулиновая недостаточность приводит к усилению специфических и общеметаболических эффектов гормонов-антагонистов инсулина. Причем указанное влияние наблюдается при обычных концентрациях этих гормонов глюкокортикоидов, катехоламинов, глюкагона, гормона роста (СТГ). Антиинсулиновый эффект с ТГ связан, в первую очередь, с увеличением липолиза и повышением количества свободных жирных кислот в крови, с развитием резистентности к инсулину и уменьшением способности ткани утилизировать глюкозу. Подобным образом отмена или снижение влияния инсулина на метаболические процессы при диабете отражаются на гормональных эффектах глюкокорти-

коидов, катехоламинов, глюкагона. Кроме того, усиливается распад белков, стимулируется гликогенолиз и глюконеогенез в разных тканях.

Поступление свободных жирных кислот в кровь и печень в больших количествах приводит к увеличенному образованию триглицеридов в гепатоцитах. Этому благоприятствует способность печени фосфорилировать глицерин и синтезировать альфаглицерофосфат, нужный для синтеза ТГ. Наряду с ТГ, при диабете в печени отмечается увеличение биосинтеза ХС и фосфолипидов (ФЛ).

Таким образом, создаются условия для формирования в гепатоцитах увеличенного количества липопротеидных комплексов и их выброса в кровь, следствием чего является ГЛП преимущественно за счет ЛПОНП. Продолжая анализ изменений в обмене веществ при сахарном диабете у человека, надо указать, что усиленный распад белков и жиров необходим не только для образования глюкозы и повышения уровня сахара в крови в целях лучшего проникновения его в ткани, но и в еще большей степени для освобождения заключенной в структуре этих веществ энергии: поскольку окисление глюкозы нарушено, она уже не может полностью удовлетворить запросы тканей в энергетическом материале.

При распаде белков и жиров образуются жирные кислоты с более или менее длинной цепочкой углеродных атомов. На конечном этапе окисления жирных кислот, имеющих четное число углеродных атомов, образуется масляная кислота, переходящая затем в β -оксимасляную и ацетоуксусную кислоты. Эти кислоты вместе с ацетоном, в который превращается ацетоуксусная кислота, называются кетоновыми телами.

У здорового человека кетоновые тела окисляются до углекислоты и воды, проходя через образования двууглеродных остатков, которые, как и двууглеродные остатки углеводного обмена, окисляются в цикле Кребса. Одни авторы полагают, что на этапе конденсации двууглеродного остатка со щавелево-уксусной кислотой необходим инсулин. Другое предположение о причине накопления двууглеродных остатков при диабете состоит в том, что в связи с нарушением окисления глюкозы уменьшается концентрация щавелево-уксусной кислоты (П. П. Чаяло, 1990).

Следовательно, при диабете, с одной стороны, повышается распад жиров и белков, что ведет к повышенному образованию кетоновых тел, распадающихся только до двууглеродных остатков, с другой – двууглеродные остатки сами могут быть источником кетоновых тел, т. е. соединяясь попарно, превращаются снова в ацетоуксусную кислоту.

Повышенное количество двууглеродных остатков при диабете ведет к повышенному синтезу ХС, который, как установлено, легко образуется при введении животному меченой уксусной кислоты – метка обнаруживается при этом к ХС. Этим объясняется то, что при декомпенсированном диабете в любом возрасте часто повышается содержание ХС в крови.

Уровень ХС в крови определяется вкладом разных классов ЛП – ЛПНП, ЛПОНП и ЛПВП. В связи с тем, что для диабета характерны высокая частота атеросклеротических поражений сосудов и увеличенное содержание в крови ЛПНП и ЛПОНП, большой интерес представляют сведения о факторах антириска развития атеросклероза, к которым относится уровень ЛПВП и ХС-ЛПВП.

Эти данные немногочисленны и противоречивы. Интересными данными являются определение увеличенного содержания ХС-ЛПВП у детей с инсулинзависимым диабетом и его корреляция с повышенным содержанием гликозилированного гемоглобина, что может служить прогностическим критерием развития атеросклеротических поражений.

Наибольшие отклонения от нормы в содержании ХС-ЛПВП и высокие средние значения ТГ и коэффициента атерогенности определяются при инсулиннезависимом типе диабета в сочетании с ишемической болезнью сердца (С. В. Кудрякова и соавторы, 1984). Атерогенные показатели липидного спектра крови (общий ХС, ХС-ЛПНП) находятся в прямой зависимости от уровня инсулина, в то время как антиатерогенный показатель (ХС-ЛПВП) – в отрицательной (Е. Н. Герасимова, 1980; Ю. И. Сумцов и соавторы, 1982).

Высокий уровень инсулина в крови способствует активации биосинтеза ТГ и, следовательно, ЛПОНП. Активность же липопротеиновой липазы ЛПЛ-фермента, расщепляющего ЛПОНП, не изменяется. В случае же абсолютного увеличения активности ЛПЛ отмечается относительная ее недостаточность, ведущая к замедлению катаболизма ТГ (П. Зингер и соавторы, 1978).

Биосинтез ХС усиливается при гиперинсулинемии за счет непосредственного влияния инсулина на ключевой фермент холистериногеназа-3-гидрокси-3-метилглутарил-Ко-А-редуктазу. Таким образом, можно представить некоторые молекулярные механизмы развития ГЛП при сахарном диабете.

В свою очередь, возникающие нарушения липопротеидного спектра крови способны выступить в качестве фактора риска возникновения или

прогрессирования поражений центральной и сердечно-сосудистой систем. При этом, естественно, не следует недооценивать и другие патологические явления, характерные для диабета, – повреждения эндотелиальной поверхности сосудистой стенки и нарушение метаболизма ее внутренних слоев, гиперкоагуляцию, усиление процессов перекисного окисления липидов и др.

Однако многие вопросы взаимосвязи атеросклероза и диабета, в частности, вопрос о влиянии на развитие атеросклероза противодиабетической терапии, требуют дополнительных исследований. В имеющейся литературе нет прямых доказательств о влиянии инсулина – гормона поджелудочной железы – на патогенетические звенья развития атерогенеза.

Все это в полной мере позволяет отнести диабет к факторам риска атеросклероза сосудов. По мнению многих авторов, высокое содержание в крови стероидных гормонов, АКТГ, тироксина, катехоламинов является атерогенным фактором (П. П. Чаяло, 1990; Е. Ф. Конопля, Г. Л. Лукша, 1987). Изучение вопросов взаимосвязи половых гормонов с состоянием обмена липидов и липопротеидов обязано известным фактам различий в частоте сердечно-сосудистых заболеваний у мужчин и женщин.

Литературные данные показывают, что в молодом возрасте у женщин наблюдается более редкое развитие атеросклероза, чем у мужчин такого возраста; с увеличением возраста, особенно после наступления менопаузы, эти различия сглаживаются. Возрастная динамика в атеросклеротических проявлениях согласуется с половыми особенностями изменений содержания липидов и липопротеидов в крови в онтогенезе: более медленное нарастание уровня ХС и ЛПНП до 40–50 лет у женщин по сравнению с мужчинами (А. Л. Мясников, 1965; Л. А. Мясников, 1969; Р. У. Стаут, 1985).

По наблюдениям П. П. Чаяло (1990), абсолютное число ЛПНП и ЛПОНП самое высокое в пожилом возрасте у мужчин и женщин и статистически значимо по сравнению с молодым возрастом. Анализ уровня липопротеидов показал, что самое высокое содержание ЛПНП наблюдается у старых женщин сравнительно с молодыми лицами этого пола и с мужчинами аналогичной возрастной группы.

Р. У. Стаут (1985), обобщая исследования о влиянии эстрогенов на липиды и липопротеиды крови, приходит к заключению о более выраженном их воздействии на метаболизм ЛПОНП.

Влиянию андрогенов на липиды и липопротеиды крови посвящено немного исследований, и выводы их неоднозначны. Л. А. Мясников

(1969) считает, что андрогены эффективны при ГЛП лишь в случае их дефицита в организме. Показано нормализующее влияние андрогенов на уровень ТГ. Гиперхолестеринемический эффект андрогенов выявляется главным образом у лиц с повышенным уровнем ХС в крови и не отмечается при нормальном его содержании (Л. Т. Малая, 1982). Влияние мужских половых гормонов на обмен ЛП осуществляется и путем непосредственного их воздействия на образование белковых компонентов липопротеидных частиц. А. Solyom и соавторы (1971) выявили уменьшение включения радиоактивной метки в апо-А из ткани печени собак после введения метилтестостерона. Одновременно наблюдалось снижение уровня апо-А, липопротеидов и липидов (общего ХС, ТГ, ФЛ) в крови. Возможно, подобный механизм лежит в основе уменьшения количества апо-А и ЛПВП у людей, получающих андрогенные препараты (Е. Н. Герасимова, 1980). Существенным вкладом в наши представления об участии половых гормонов в развитии нарушений метаболизма липидов и липопротеидов явились результаты эпидемиологических исследований, показавшие, что формирование ДЛП находится в тесной взаимосвязи с уровнем многих гормонов как стероидной (тестостерон, эстрадиол, кортикостерон), так и белковой природы (инсулин, гормон роста и т. д.) (И. П. Смирнова, 1985).

Изменения физиологических концентраций гормонов отражаются на характере обмена ЛП и виде ДЛП. Так, снижение уровня тестостерона и эстрадиола в плазме крови коррелирует со снижением количества ХС-ЛПВП и повышением уровня ТГ в крови, т. е. с двумя существенными факторами риска развития атеросклеротических поражений сосудов и ишемической болезнью сердца и головного мозга.

Второе место после сахарного диабета по частоте ДЛП занимает гипотиреоз. Исследование состава ЛП показывает, что в ЛПОНП увеличено содержание ТГ и ХС. Гиперхолестеринемия в крови больных с гипофункцией щитовидной железы связана главным образом со снижением катаболизма ХС и ЛПНП (Р. У. Стаут, 1985).

По мнению многих авторов, факторами риска дислипидемий являются артериальная гипертензия, хронические заболевания печени, желчнокаменная болезнь, хронические заболевания органов дыхания, мочеполовой системы и др. (А. С. Алексеенко, Д. М. Бельченко, В. С. Валков и др., 1978; Т. К. Гаскина, А. В. Долгов, С. А. Курилович, 1987; Ю. М. Федерер, Г. Г. Устинов, 1984; И. В. Шалянина, М. Я. Малихова,

Н. И. Александрова и др., 1983; Ж. Л. Лабановская, Г. И. Силонова, И. С. Селицер, 1980).

Анализ литературы показывает, что, несмотря на появление за последние 50–70 лет огромного количества исследований, все же не удалось разработать не только универсальной, но даже более или менее приемлемой теории атеросклероза.

В настоящее время более изучен гистогенез атерогенеза, т. е. характер морфологических изменений, время и последовательность их развития, тогда как этиология и патогенез этого заболевания остаются не вполне выясненными. Принято считать, что атеросклероз – полиэтиологическое заболевание. Целый ряд эндогенных и экзогенных факторов способствует возникновению и развитию процесса атерогенеза. Однако сколько-нибудь убедительных доказательств того, что каждый из этих факторов в отдельности приводит к развитию атеросклероза, нет. Это, скорее всего, «риск-факторы» в развитии атеросклероза, способствующие его прогрессированию или возникновению клинических проявлений.

Ведущими «риск-факторами» в настоящее время считаются: гиперхолестеринемия, дисбаланс гормонального статуса, артериальная гипертензия, ожирение и гипокинезия, эмоциогенный и токсический стресс, курение, метаболически неадаптированное питание, нарушение равновесия свертывающей и антисвертывающей систем крови, социальные и генетические факторы и др., то есть по праву их можно разделить на две группы – эндогенные и экзогенные.

В настоящее время среди приоритетных проблем клинической медицины атеросклероз прочно удерживает лидирующее положение, что имеет не только медицинское, но и социально-экономическое значение. Многие аспекты патогенеза, клинических форм, диагностики, течения, прогноза, этапности оказания медицинской помощи и профилактики атерогенеза изучены недостаточно.

До настоящего времени не получили должного освещения вопросы взаимодействия нервной и других функциональных систем: иммунной, гормональной, оксидантной и антиоксидантной, ферментативной, микроэлементного статуса, микросомального окисления, рецепторного аппарата клетки, внутриклеточной медиации, нейромедиаторов, фосфолипидов, простагландинов, лейкотриенов в динамике формирования атерогенеза, позволяющего подойти к данной проблеме с позиции единства общих закономерностей структурно-метаболических нарушений, участвующих в формировании атеросклероза.

Такие фундаментальные исследования, как состояние окислительно-восстановительных процессов (ОВП), окислительного фосфорилирования, биоэнергетики, лежащие в основе функционирования и обмена веществ в клеточных структурах, не нашли должного отражения в отечественной и мировой литературе.

Практически отсутствуют исследования, позволяющие оценить взаимосвязь окислительного фосфорилирования и процессов биоэнергетики, формирующих развитие свободнорадикальной патологии при заболеваниях атеросклерозом. Поэтому, несомненно, что одним из самых приоритетных направлений при изучении патогенеза атеросклероза является выяснение таких процессов обмена веществ в организме, как состояние ОВП, биоэнергетики, окислительного фосфорилирования, которым принадлежит ведущая роль в развитии свободнорадикальной патологии и механизмов ее регуляции.

Известно, что ЦНС играет ведущую роль в регуляции всех органов, систем и функций организма. Все они являются подсистемами ЦНС и обеспечивают гомеостатическую и приспособительную функцию организма посредством гормонов, гистогормонов, ферментов, нейротрансмиттеров, рецепторного аппарата и др.

В литературе имеются единичные работы, посвященные нарушениям биогенных аминов и их предшественников, выполняющих роль нейромедиаторов и нейрогормонов при атеросклерозе (Е. Г. Дубенко, 1989; Л. В. Палюх, 1990; Р. М. Махмудов, 1984; Т. Р. Пчелинцева и соавторы, 1989).

Вместе с тем не обнаружено работ, посвященных комплексному изучению нарушения синтеза биогенных моноаминов (адреналина, норадреналина, серотонина, триптофана, ДОФА, дофамина, гистамина), микросомального окисления, биоэнергетики, ОВП и изучению нейромедиаторных аминокислот (глутаминовой, аспарагиновой, гамма-аминомасляной), внутриклеточных нейротрансмиттеров (цАМФ, цГМФ), углеводного и белкового обмена, состояния клеточных мембран, тогда как известна их ключевая роль в формировании атерогенеза.

В обширной литературе представлены сведения о роли, которую играют предшественники арахидоновой кислоты в стабилизации клеточных мембран, нарушение структуры которых является неотъемлемой частью свободнорадикальной патологии. Вместе с тем имеются единичные работы (В. А. Визер, 1990; Е. Г. Дубенко, 1990; Е. Г. Дубенко, 1993), которые

раскрывают роль и значение простагландинов в формировании патологических механизмов атерогенеза.

Исходя из выше изложенного, становится очевидным, что для изучения патогенетических механизмов атерогенеза необходимо исходить из позиций целостности и единства всех органов, систем и функций организма. Отсутствие полисистемного изучения различных звеньев гомеостаза и метаболизма в динамике формирования атерогенеза свидетельствуют о необходимости изучения и уточнения многих аспектов данной проблемы.

Все это явилось основанием для постановки на опытных животных экспериментальной модели развития атеросклероза.

,

-

Из данных литературы общеизвестно, что ведущим этиологическим фактором атерогенеза является нарушение холестерина обмена. Отправным пунктом для возникновения холестериновой теории атеросклероза, как сказано выше, явился экспериментальный холестериновый атеросклероз, получаемый у кроликов при кормлении их в суточной дозе 0,5–1,0 г/кг массы животного холестерином.

Эта теория подверглась некоторым модификациям, однако суть ее осталась прежней – атеросклероз является следствием нарушения метаболизма липидного, в частности, холестерина обмена (Н. Н. Аничков, А. Н. Климов, 1976). Г. Е. Данилов, А. Д. Ибатов (1991) разработали экспериментальную модель атерогенеза, вызванную введением ацетилхолина в ретикулярную формацию среднего мозга кроликов. Авторы показали возможность развития атерогенеза и нарушение липидного обмена с помощью введения ацетилхолина.

Г. Х. Божко, П. В. Волошин и др. (1991) установили нормализацию липидного обмена при модельном атеросклерозе в случае введения экспериментально животным протамина. Ряд авторов установили развитие атерогенеза у опытных животных при пероральном поступлении в организм синтетических поверхностно-активных веществ (О. И. Волощенко, И. А. Медяник, В. Н. Чекаль, 1974; Е. Д. Можаяев, 1976; Е. А. Можаяев и др., 1967).

М. В. Кривоносовым (1990) разработана новая экспериментальная модель атеросклероза под влиянием анионных детергентов (сульфанола и

алкилсульфатов) в условиях ингаляционного воздействия на белых крыс, дозами веществ из расчета 10 мг/м^3 с 8-часовой экспозицией затравки в течение подострого опыта.

Е. А. Можаяевым и соавторами (1967) использована экспериментальная модель атеросклероза в условиях перорального поступления поверхностно-активных веществ внутрижелудочно белым крысам и кроликам в дозах 1/10; 1/50; 1/100 от среднесмертельной дозы. Авторами доказано, что поверхностно-активные вещества в испытанных дозах вызывают гиперхолестеринемию, нарушают липидный обмен, стимулируют свободно радикальную патологию, обладают мембранотропным действием и атерогенным эффектом в значительно большей степени, чем под влиянием холестериновой диеты лабораторных животных. На модели мозговой ишемии Е. Б. Бурлакова (1984), М. В. Биленко (1980) установили, что одним из главных механизмов повреждения органов и тканей является активация свободнорадикального перекисного окисления липидов и нарушение липидного обмена у кроликов. О. Н. Воскресенский (1969, 1973), изучая экспериментальный триглицеридный атеросклероз на кроликах, установил роль токоферольной недостаточности в формировании атерогенеза и возможность использования данной модели для изучения патогенетических механизмов свободнорадикальной патологии.

В нашей работе использованы холестериновая модель атеросклероза на половозрелых кроликах (самцы). Для этого в обычный рацион кормления данного вида животных добавлялось ежедневно избыточное содержание холестерина из расчета 1 г/кг массы животного. Длительность эксперимента составляла 2,5 месяца. Группа кроликов, не получившая холестерин, служила контролем. Как в опытной, так и в контрольной группах насчитывалось по 12 животных. Общеизвестным является тот факт, что сочетание нескольких «факторов риска» способствуют потенцирующему развитию атерогенеза. В этой связи нами применялась и сочетанная модель развития атеросклероза на белых крысах популяции Вистар (самцы массой $180\text{--}220 \text{ г}$). Животным в течение 2,5 месяцев (опытная группа) внутрижелудочно, утром натощак, с помощью зонда вводился неионогенный поверхностно-активный препарат – полиоксиэтиленоксипропилен-триол молекулярной массы 3000. Вводимая доза составляла $0,5 \text{ г/кг}$ массы животного. Это соединение представляет собой маслянистую, прозрачную жидкость, хорошо растворимую в воде и органических растворителях, широко используется для получения поверхностно-активных веществ (ПАВ), моющих средств, эмульгаторов, флотореагентов и др. По данным

многих авторов, это вещество обладает мембранотропным действием, способно модулировать в эксперименте на животных свободнорадикальную патологию (В. И. Жуков, Г. А. Логинова, В. В. Перепадя, И. В. Никитина, 1994; Б. И. Григоров, 1994). На фоне поступления ПАВ в организм, белые крысы подвергались ежедневно эмоциогенному воздействию звукового раздражителя. Для этого опытная группа помещалась в металлическую клетку, где на животных ежедневно испытывали звуковой сигнал в виде звонка продолжительностью 1 мин, силой звукового давления 80 дБ.

Выбор такой модели атерогенеза также был обусловлен участием звукового сигнала в качестве факторов риска, непосредственно имеющих отношение к механическим напряжениям биологических тканей, индуцирующим пьезоэффект в них. Механические напряжения биологических тканей, а также вызываемые ими деформации возникали под действием звуковых колебаний, а также сил поверхностно-активного натяжения. С некоторой поправкой эти воздействия являются причиной рассматриваемого в данной монографии пьезоэффекта в биологических тканях (в данном случае с участием пьезоэлектрика холестерина и его производных). Поэтому возникающие метаболические и энергетические изменения в какой-то степени могут характеризовать пути реализации пьезоэффекта в развитии экспериментально воспроизведенного атеросклероза.

Интактные животные служили контролем. Как в опытной, так и в контрольной группах насчитывалось по 15–20 белых крыс популяции Вистар. Оценка функционального состояния организма белых крыс и кроликов породы шиншилла осуществлялась в динамике. В экспериментальной части работы основное внимание уделено комплексному изучению таких основополагающих механизмов обмена веществ, как состояние окислительно-восстановительных процессов, окислительного фосфорилирования, биоэнергетики, участвующих в формировании свободнорадикальной патологии и тех нейрогуморальных систем, которые обеспечивают гомеостатическую функцию при длительном воздействии на организм факторов риска атерогенеза, для этого был использован широкий спектр биохимических, биофизических, радиоиммунных методов исследования. После снятия фоновых показателей у животных наблюдение за их функциональным состоянием осуществлялось по следующей программе:

- динамика массы животных и общее состояние;
- содержание лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, лейкоформула крови;

- состояние оксидантной и антиоксидантной систем (SH группы, глутатион, гаптоглобин, глутатионпероксидаза, пероксидаза, каталаза, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, биохемилюминесценция;
- витамин «С»;
- динамика фона микроэлементов (K, Na, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe);
- микросомальное окисление (O-деметилаза, НАДФН цитохром С редуктаза, НАДН-цитохром С редуктаза, потребление кислорода микросомами печени, цитохром P₄₅₀ и B₅;
- фракции фосфолипидов эритроцитов и гепатоцитов (ФХ, ФС, ФИ, КЛ, ФЭА, ЛФЭА, ЛФХ, СМ);
- кинетические характеристики рецепторов печени и головного мозга (α_1 , α_2 , β -адренорецепторы, серотониновые – C₁ и C₂-рецепторы, дофаминовые – D₁, D₂-рецепторы, глюкокортикоидные II-го типа рецепторы;
- оценка состояния нейтромедиаторов (адреналин, норадреналин, серотонин, триптофан, Дофа, дофамин, ГАМК, глутамат, таурин, α -аминомасляная кислота, глутамин, аспарагин, глутаминовая кислота, глицин;
- метаболизм предшественников арахидоновой кислоты (ПГЕ₂, ПГЕ, ПГФ_{2a}, 6-кето-ПГФ_{1a}, лейкотриены C₄ и B₄);
- внутриклеточная медиация (цАМФ, цГМФ, АЦ, ГЦ, фосфодиэстераза, ⁴⁵⁺Ca²⁺);
- динамика ферментативной активности (КФК, ФФК, ЛДГ, АД, СДГ, МАО, Г-6-ФДГ, γ -ГТ, ШФ, ЛАП, каталаза, пероксилаза; ГК, аденилатциклаза, фосфодиэстераза, гуанилатциклаза, АсТ, АлТ, глутатионпероксидаза, Ca²⁺ и Mg²⁺ АТФазы, α -ГБДГ, α -ГФДГ, МДГ, НАДН₂;
- аминокислотный обмен (спектр заменимых и незаменимых аминокислот);
- гормональный статус (АКТГ, T₃T₄, ТТГ, ПГ, ЛТ, ФСГ, ТС, СТГ, инсулин, кальцитонин, глюкагон;
- гистохимические и морфологические изменения структурно – функциональных единиц внутренних органов.

Для обоснования механизма формирования атерогенеза в эксперименте, выявления наиболее повреждаемых органов систем и функций организма использован широкий спектр различных методов исследования. Оценка функционального состояния велась по следующим тестам:

- динамике массы тела и общему состоянию животных (О. Н. Елизарова, 1971);
- состоянию белой и красной крови (В. С. Предтеченский, 1964, Г. В. Дервиз и А. И. Воробьев, 1959);
- динамике окислительно-восстановительных процессов.

Известно, что многие атерогенные «факторы риска» способны нарушать в организме окислительно-восстановительные процессы (ОВП) (Л. А. Бондаренко, В. И. Жуков, Н. А. Сидоренко, 1988). О нарушении ОВП можно судить по количеству углекислого газа, выделяемого за единицу времени организмом (П. А. Чайка, 1965). Однако газообмен не дает возможности понять сущность изменений в ходе внутриклеточного окисления. Качественную сторону ОВП более полно характеризуют исследования активности ферментов церулоплазмينا, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), малатдегидрогеназы (МДГ), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), пероксидазы, каталазы, цитохромоксидазы (ЦХО) и др. (У. Мак-Мюррей, 1980; Н. Н. Алексеева, 1991).

Активность сывороточной ЛДГ определялась общепринятым методом. Об активности фермента судили по количеству образовавшейся пирииноградной кислоты. Последняя определялась колориметрически с помощью 2, 4-динитрофенилгидразина.

Малатдегидрогеназа яблочной кислоты оценивалась с помощью оптического теста Варбурга по общепринятой методике (М. Д. Подильчак, 1967).

Большая роль в поддержании постоянства внутренней среды организма принадлежит каталазе, она ускоряет разложение перекиси водорода на воду и молекулярный кислород, тем самым предохраняет живые существа от действия перекисей (F. Rabie et al., 1972; A. Lehninger, 1974).

Каталаза защищает гемоглобин от окислительных превращений под влиянием перекиси водорода, образующейся при обмене веществ в эритроцитах (А. С. Смит, 1976). Она, как и гемоглобин, цитохром С, в качестве простетической группы содержит гематин и является сильным антиоксидантом. Определение активности каталазы крови проводили по Баху и Зубковой (М. Д. Подильчак, 1976).

Определение активности пероксидазы основано на скорости реакции окисления индигокармина в слабокислой среде в присутствии пероксидазы в крови. Мерой активности пероксидазы являлось время, необходимое для окисления индигокармина (В. С. Асатиани, 1969).

Активность глутатионпероксидазы, гексокиназы, альдолазы определяли общепринятыми методами (В. С. Асатиани, 1969; М. Д. Подильчак, 1976).

Участие витамина С в жизненно важных функциях органов и тканей послужило критерием для определения его содержания в надпочечниках (S. A. Poulet et al., 1989). Аскорбиновая кислота принимает участие в вы-

работке секретов, гормонов, ферментов, процессах гликогенообразования, является сильным комплексообразователем и антиоксидантом. Имеет связь со многими основными функциями живого организма (K. Dabroweki, 1991). Содержание витамина С определялось по Т. W. Birchu с соавторами. Результаты выражались в мкмоль/л. По данным ряда авторов (Л. А. Бондаренко, В. И. Жуков, М. А. Сидоренко, 1988; Г. М. Красовский, В. И. Жуков, Л. А. Бондаренко и соавторы, 1988; О. В. Зайцева, В. М. Жуков, Л. А. Бондаренко и соавторы, 1990), ПАВ способны снижать в организме экспериментальных животных содержание SH-групп, гемоглобина, глутатиона, витамина С и накапливать малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, перекиси, гидроперекиси, свободные радикалы. Это дало возможность включить в программу исследований тесты, позволяющие судить о состоянии оксидантной и антиоксидантной системы при изучении холестерина и сочетанного атерогенеза на кроликах и белых крысах (М. В. Кения, А. И. Лукаш, Е. П. Гуськов, 1983; D. Hill, Z. G. Whit, G. H. R. Rabis, 1989; L. King, A. I. Arpi, 1992). Известно, что антиоксидантная система поддерживается в организме на известном уровне соотношением сульфгидрильных (-SH) и дисульфидных (-S-S-) групп в белках и особенно в белках-ферментах (Г. Н. Бахишев, 1971; В. И. Кулинский, 1990; Е. Б. Меньшиков, Н. К. Зенков, 1993). Со свободными SH-группами связаны каталитические свойства многих ферментов, таких как β -амилаза, карбоксилаза, холинэстераза, глутатионпероксидаза, сукцинатдегидрогеназа и др. (В. К. Кухта и соавторы, 1993; Е. М. Tappel, 1982).

Сульфгидрильные группы служат активным началом коэнзима-А, участвующего во многих процессах межклеточного обмена. Серосодержащие ферменты утрачивают каталитическую активность при блокировании сульфгидрильных групп (M. E. Murbhy et al., 1989). Таким образом, определение содержания сульфгидрильных групп белков и других серосодержащих соединений очень важно для выяснения вредных влияний на живой организм свободных радикалов, перекисей, гидроперекисей (В. А. Барабой, 1991; В. А. Барабой и соавторы, 1991).

Содержание SH-групп в крови определялось методом амперометрического титрования (В. С. Асатиани, 1969). Комплексо-образующий белок гаптоглобин, обладающий высокими антиоксидантными свойствами, определялся по О. Г. Архиповой и соавт. (1988).

Известно, что при химических, эмоциогенных воздействиях в организме могут обнаруживаться некоторые нейрогуморальные и вегетативные

сдвиги. К методам, применяемым при изучении метаболических процессов, происходящих в организме при воздействии неблагоприятных факторов, относится оценка ферментативного статуса, в частности высоко специфичными являются динамические сдвиги холинэстеразы и ацетилхолинэстеразы.

Вместе с тем, эти ферменты тесно связаны с окислительно-восстановительными процессами. По мнению многих авторов, холинэстераза синтезируется преимущественно в печени и адекватно отражает ее структурно-функциональное состояние. Уменьшение активности холинэстеразы в крови может свидетельствовать о наступившей патологии печени (Н. А. Толоконцев, 1991; И. М. Трахтенберг и соавторы, 1991). Активность этого фермента определялась электрометрическим измерением уменьшения величины рН после инкубации пробы с ацетилхолинхлоридом при 25 °С в течение 1 ч. При расчете учитывалась поправка на уменьшение рН вследствие неспецифического гидролиза субстрата, что может произойти во время инкубации (В. С. Асатиани, 1969).

Активность аланиновой (АлТ) и аспарагиновой (АсТ) аминотрансфераз, катализирующих перенос аминокислоты от какой-либо аминокислоты к кетокислоте, определялась общепринятым методом (М. И. Прохорова, 1982).

Сукцинатдегидрогеназа (СДГ), ключевой маркерный фермент, определялся по общепринятой методике, основанной на измерении падения оптической плотности при 600 мкм 2,6-дихлорфенолиндифенола, восстанавливающегося при окислении сукцината. Активность выражалась в микромолях субстрата, окисленного за 1 мин ферментом, содержащимся в грамме ткани (М. И. Прохорова, 1982).

Щелочная фосфатаза (ЩФ) определялась по количеству неорганического фосфата ортофосфорной кислоты, освобожденного ферментативным гидролизом β-глицерофосфата. Активность фермента выражалась в условных единицах экстинции (М. Д. Подельчак, 1967).

Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ) оценивалась спектрофотометрическим методом по образованию НАДФН₂ при 340–366 мкм (Н. П. Мешкова, С. Е. Северин, 1979). Активность выражалась в микромолях (мг/белка) за 1 ч.

Измерение активности Са²⁺- и Mg²⁺-зависимой АТФазы проводилось по общепринятым методикам. АТФазная активность рассчитывалась в микромолях фосфора за 1 мин, на мг/белка (Н. П. Мешкова, С. Е. Северин, 1979).

Активность креатинфосфокиназы (КФК) в сыворотке крови изучалась по Миллеру. За единицу активности КФК принята ферментативная активность 1 мл сыворотки (М. Д. Подильчак, 1967).

Ферментативная активность фосфофруктокиназы (ФФК) оценивалась по расщеплению фруктозо-1,6-дифосфата, который образуется из фруктозо-6-фосфата под действием ФФК с последующим определением триоз. Активность выражалась в микромолях (мг/белка) 1 час (Н. П. Мешкова, С. Е. Северин, 1979).

Активность таких ферментов, как креатинфосфокиназа (КФК), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), глутатионпероксидаза (ГП), фосфофруктокиназа (ФФК), глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ), щелочная фосфатаза (ЩФ), глутаматтрансаминаза (g-ГТ), аспарагиновая (АсТ) и аланиновая (АлТ) аминотрансфераза, α -гидроксibuтиратдегидрогеназа (α -ГБДГ), лейцинаминопептидаза (ЛАП), Ca^{2+} и Mg^{2+} , АТФаза, альдолаза (АД), гексокиназа (ГК) и содержание общих липидов в сыворотке крови определялись унифицированными клиническими методами по прилагаемым инструкциям с последующей оценкой на полуавтоматическом анализаторе ФП-901 фирмы Labssystem (Финляндия). Результаты активности ферментов выражались в мкат/л, общие липиды в г/л.

Известна важная роль трипептида глутатиона в антирадикальной защите организма (Т. Г. Курченко, А. Т. Пакулев, 1991; D. I. Reed. 1990). Он имеет важное значение в обеспечении окислительно-восстановительных процессов и поддержании гомеостатической антиоксидантной функции в организме (А. Aksues, L. R. Naa, 1981; E. Beuler, 1989), являясь сильным антиоксидантом, непосредственно обезвреживая перекиси, гидроперекиси, свободные радикалы (Л. Н. Шишкина, Н. В. Полякова, Ю. П. Таран, 1994). Результаты выражались в ммоль/л.

Накопление в организме экспериментальных животных диеновых конъюгатов и малонового диальдегида (МДА) в печени и сыворотке крови регистрировалось многими авторами при различных атерогенных факторах воздействия: интоксикация, эмоциогенный стресс, лучевое поражение, инфекционные заболевания и т. д. (С. К. Добрина, Ю. А. Владимиров, 1971; D. A. Barder, P. Bernheim, 1967 и др.).

Поскольку диеновые конъюгаты и МДА появляются на стадии образования свободных радикалов, то их наличие в избыточном количестве будет свидетельствовать о накоплении в тканях организма перекисей, гидроперекисей – соединений, которые оказывают повреждающее действие

на клетку (А. М. Журавлев, А. И. Журавлева, 1975; С. D. Noyes, L. T. Buck, P. W. Hochachka, 1990; G. W. Winstou, R. T. Digiulio, 1991).

В качестве промежуточного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) по общепринятым методам определялись диеновые конъюгаты – молекулы жирных кислот, содержащие сопряженные двойные связи и один из конечных продуктов ПОЛ – малоновый диальдегид. Результаты выражались в наномолях (Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков, 1972).

Оценка состояния перекисного окисления липидов осуществлялась и методом биохемилюминесценции (БХЛ) органов и тканей экспериментальных и контрольных животных в сравнении. За последнее время число работ, посвященных этому вопросу, резко возросло. Сверхслабое свечение биологических объектов может рассматриваться как один из методов изучения молекулярной энергетики биохимических реакций, происходящих в организме (М. Т. Дмитриев и соавторы, 1977; А. П. Товмасын и соавторы, 1978; Н. Н. Алексеева, 1991; В. А. Барабой, 1991).

В основу метода БХЛ положена регистрация электромагнитных излучений оптического диапазона различных биологических объектов. Регистрация БХЛ определялась на медицинском биохемилюминометре БХЛМЦ1-01. Интенсивность сверхслабого свечения органов и тканей регистрировалась с помощью фотоэлектронного умножителя и выражалась в количестве импульсов за единицу времени.

Для более полного изучения особенностей механизма атерогенеза в случае холестериновой и сочетанной модели на кроликах и белых крысах дополнительно изучалось состояние биомембран клеток, активность мембраносвязанных ферментов, микросомальное окисление, оксидантная и антиоксидантная системы, фосфолипиды, нейромедиаторы, рецепторное связывание, фонд микроэлементов, аминокислотный спектр сыворотки крови, гормональный статус, процессы биоэнергетики, окислительного фосфорилирования.

Изучение фосфолипидного состава эритроцитов и печени проводили при помощи следующих технологий. Для анализа на липиды использовались эритроциты, отмытые от плазмы раствором хлористого натрия при 3–4-кратном центрифугировании.

Печень гомогенизировали в ручном гомогенизаторе. Экстракцию липидов проводили по М. Китте (1975). Выпаривание их осуществлялось в потоке сухого азота. Образцы анализировались методом двухмерной хроматографии (V. E. Vashovsky, T. A. Terekkiove, 1979).

Определение фосфолипидов осуществлялось по неорганическому фосфору (R. M. Brouckkuse, 1974). Идентификацию фосфолипидов вели по стандартным обнаружителям (Ю. Кирхнер, 1981). Оценивалось процентное содержание фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина, сфингомиелина, фосфатидилинозитола, кардиолипина, фосфатидной кислоты, фосфатидилхолина, лизофосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилхолина. Общие липиды в сыворотке крови оценивались общепринятыми методами (М. Д. Подильчак, 1967).

Изучение микросомального окисления имеет большое значение в раскрытии механизма биологического действия, кинетики, токсикодинамики экзогенных и эндогенных химических соединений (А. А. Elskus, I. I. Stegeman, 1989; I. I. Stegeman, P. I. Klopper-Sams, 1987).

Состояние микросомального окисления оценивалось у экспериментальных животных по дыхательной и ферментативной активности, содержанию цитохромов P_{450} и B_5 . Мембраны эндоплазматического ретикулула выделяли по методу S. A. Komoth, K. A. Narayn (1972). Содержание белка суспензии микросом определяли модифицированным методом Лоури (Р. П. Марцышаускас и соавторы, 1981).

Потребления кислорода суспензией регистрировали с помощью закрытого платинового кислородного электрода Кларка (S. L. Clark, 1964) на полярографе «ПА-3» (Венгрия). НАДФН-цитохром-С-редуктазную и НАДН-цитохром-С-редуктазную активности регистрировали на двухлучевом спектрофотометре Specord при длине волны 550 нм по методу L. Ernster et al. (1962).

Определение цитохромов B_5 и P_{450} проводили в суспензии микросом по методу T. Omura, R. Sato (1964). При этом измерение цитохромов B_5 основывалось на определении разницы в поглощении окисленной и восстановленной форм гемопротеида, а цитохрома P_{450} – на измерении величины поглощения комплекса восстановленного цитохрома P_{450} с окисью углерода. Содержание цитохромов определялось с помощью двухлучевого регистрирующего спектрофотометра Specord (Германия).

Для определения скорости реакции окислительного деметилирования суспензию микросом добавляли в среду инкубации, иницируя ее внесением НАДФН. Терминировали реакцию ТХУ кислотой, обрабатывали щелочью, осаждали белок центрифугированием и определяли *p*-нитрофенол спектрофотометрически при длине волны 436 нм на спектрофотометре СФ-46.

Известна важная роль биогенных моноаминов и их предшественников в регуляции различных органов, систем и функций организма. Они выступают не только как нейротрансмиттеры, но, по данным Ю. А. Владимирова и соавторов (1976), являются сильными оксидантами, участвуют в стабилизации мембран клеток.

В печени и головном мозге определялось содержание адреналина, норадреналина, ДОФА, дофамина, серотонина, триптофана, тирозина. Исследования выполнялись по методу V. Endo, V. Ogura (1975). Для связывания биогенных моноаминов и их предшественников была использована карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) фирмы Reanal. Окисление катехоламинов и ДОФА производили методом, описанным G. Slabo et al. (1983).

Спектрофотометрическое определение уровней биогенных моноаминов и их предшественников осуществлялось на спектрофлуориметре МРГ-4 «Хитачи» Япония, после колоночной хроматографии. Количественные их уровни оценивались по калибровочным кривым.

Нейромедиаторные аминокислоты – γ -аминомасляная кислота (ГАМК) определялась по E. Cormana, V. Vomes, V. Frolin (1980), глутаминовая кислота – по E. Vernt, H. V. Bergmeyer (1970); α -кетоглутаровая – по H. V. Bergmeyer (1970); пировиноградная – по Н. Д. Ещенко (1982).

Нарушение белкового обмена оценивалось по спектру аминокислот (цистеиновая, таурин, аспарагиновая, треонин, серин, пролин, глицин, аланин, валин, цистин, метионин, тирозин, фенилаланин, лейцин, изолейцин, лизин, гистидин, аргинин, орнитин, глутамин) методом ионообменной хроматографии на ионитах с последующим анализом их на автоматическом анализаторе Т-339 (Чехия) общепринятым методом (А. А. Зорькин, Б. И. Курцер, А. П. Довганьский, 1985).

Хлориды, мочевины, креатинин и белок в моче опытных животных исследовались общепринятыми методами (В. С. Асатиани, 1969).

Содержание микроэлементов (Na, K, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe) в органах и тканях определялось атомно-абсорбционным методом (М. Е. Bruyke, 1982; С. D. Christion, 1972). При этом органы и ткани подвергались предварительному озолению и экстрагированию по Е. А. Лойко (1967) и Г. О. Бабенко (1968).

Активность аденилат- и гуанилатциклазной системы определялась на препаратах мембран синапсом печени и мозга. Состояние цикладного каскада оценивалось по уровням цАМФ, цГМФ, аденилатциклазы, гуанилатциклазы, фосфодиэстеразы и поглощению ионов $^{45}\text{Ca}^{2+}$ мембранными

фракциями (В. Д. Романенко, 1975; Г. М. Кравцов, Г. Г. Ряпский, С. Н. Орлов, 1982), для определения которых использовался набор радиоизотопных реактивов и стандартные методики Ria Kit (Чехия, Великобритания, США).

Состояние гормонального статуса у белых крыс и кроликов оценивалось по содержанию в сыворотке крови трийодтиронина (T_3), тироксина (T_4), тиреотропного гормона (ТТГ), глюкагона, инсулина, кальцитонина, лютеотропного (ЛТ), фолликулотропного (ФТ), соматотропного (СТ) гормонов, пролактина (ПЛ), тестостерона (ТС), прогестерона (ПГ) и глюкозы с помощью наборов реактивов фирмы Amersham International (Великобритания) по методу В. Samuelson, S. Dahlen (1987) и прилагаемых инструкций.

Гистогормоны: простаглицлин-6-кето ПГF α , простаглицлины: ПGE, ПGE $_1$, ПGE $_2$, ПGF $_2$ и лейкотриены: C $_4$, B $_4$ изучались с помощью наборов реактивов фирмы Amersham International (Великобритания) по прилагаемым инструкциям.

Параметры рецепторного связывания в печени и различных структурах головного мозга изучались методом радиолигандного связывания (П. В. Сергеев, Н. Л. Шимановский, 1987). Исследовались параметры связывания и количества мест связывания α , α_2 , β_1 -адрено, C $_1$ -, C $_2$ -серотониновых, D $_2$ -дофаминовых и глюкокортикоидных II рецепторов по общепринятым методикам (M. Beato et al., 1972; S. S. Peroutka, S. H. Snyder, 1979).

По окончании эксперимента внутренние органы животных (печень, почки, сердце, надпочечники, головной мозг, селезенка, легкие, ЖКТ) подвергались гистологическому исследованию.

Ткани фиксировались 10 % нейтральным формалином, обезвоживались в спиртах и заливались в парафин. Срезы парафиновых блоков окрашивались в гематоксилин-эозине для обычного изучения. Выраженность обмена нуклеиновых кислот (РНК, ДНК) изучалась на препаратах, окрашенных галлоцианином по Эйнарсону (1951).

По мнению Э. Пирса (1962), этот краситель в виде лака пропорционально связывается с молекулами РНК и ДНК и может использоваться при количественной цитоспектрофотометрической оценке. Для определения содержания липидов проводилась окраска суданом IV. Морфологические измерения проведены с помощью окуляр-микрометра ОИ-18. При фиксации, проводке, окраске серийных срезов руководствовались классическими методами (О. В. Волков, Ю. К. Елецкий, 1982; А. Хэм, Д. Кормак, 1982).

Гистохимическому исследованию подверглись печень, почки, селезенка, головной мозг, надпочечники. Органы замораживались в жидком азоте при температуре -196°C . После этого материал переносился в криостат, при температуре -18°C готовились срезы толщиной 10 мкм. В этих срезах определялись ЛДГ, СДГ, МДГ, МАО, Г-6-ФДГ, α -ГФДГ, НАДН₂, НАДФ.

В гистохимических реакциях выявления дегидрогеназ акцепторами электронов от окисляемого субстрата служат соли тетразолия, которые при восстановлении приобретают другую окраску (М. Диксон, Э. Уэбб, 1966).

Оценка ферментативного статуса основывалась на подсчете количества гранул продукта реакции и оценивалась в баллах по методу Astaldi Verge (1957), в другом случае ферментативная активность оценивалась цитофотометрически и выражалась в единицах оптической плотности (В. В. Соколовский и соавторы, 1975).

При выявлении МАО в качестве субстрата был использован солянокислый триптамин, в качестве акцептора водорода – нитросиний тетразолий.

Исследования последних лет о роли и значении катехоламинов и их предшественников для дифференциации и специфической регуляции функций организма становятся все более определенными и интересными в проблеме атеросклероза. Система катехоламинов выделяется среди других гормональных систем своим участием в развитии организмов на различных этапах их эволюции, в формировании и развитии функций всех отделов нервной системы, в регуляции всех видов обмена.

Важное значение имеют изменения содержания катехоламинов в различных отделах головного мозга, а также в различных отделах вегетативной нервной системы человека и животных.

Как медиаторы симпатической нервной системы они передают регуляторные влияния центральных и периферических частей нервной системы. Их роль в реализации физиологических и патологических процессов многообразна. Биогенные моноамины тесно связаны со всеми гормональными системами организма.

Изменения их содержания и метаболизма, под влиянием различных факторов в нервной системе или в своеобразном нервном ганглии, каким является мозговой слой надпочечников, отражаются на функциональном состоянии, биосинтезе, секреции и активности всех остальных гормонов.

Являясь одним из активных факторов биосинтеза тканевых белков, катехоламины регулируют восстановительные и регенераторные процессы и, тем самым, процессы роста и развития живых организмов (С. В. Андреев, И. Д. Кобкова, 1970).

Обмен катехоламинов в организме их предшественников изменяется под влиянием различных факторов внешней среды, в том числе и атерогенных (А. Н. Климов, 1976; А. С. Алексеенко, Ф. И. Бельченко, 1978).

Проблема адаптации организма человека и животных к условиям их существования и жизнедеятельности не может быть представлена в полной мере без участия в этом биогенных моноаминов.

Участие катехоламинов в адаптационных процессах организма осуществляется многообразными путями и затрагивает почти все элементарные и сложнейшие физиологические функции, и не ограничивается медиацией нервных импульсов. Значительную роль катехоламины играют в механизмах регуляции гемодинамики и сосудистого тонуса. Их действие осуществляется через многочисленные сосудистые рецепторы, что подтверждается угнетением адренергических рецепторов в кровеносных сосудах (С. В. Андреев, И. Д. Кобкова, 1970).

Артериальные и венозные стенки кровеносных сосудов содержат различные катехоламины, непосредственно влияющие на метаболизм и тонус. Это положение имеет значение для понимания механизмов регуляции региональной гемодинамики как в физиологических, так и патологических условиях формирования атеросклероза артерий.

В последние годы, благодаря интенсивному исследованию биологической активности катехоламинов, стали известны факты различного влияния адреналина и норадреналина на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы и кровотоков.

Многими авторами показано изменение метаболизма и содержания катехоламинов в органах и тканях при развитии сердечно-сосудистых заболеваний, эндокринных поражениях, интоксикациях, инфекционных процессах, эмоциональном стрессе и т. д. (С. В. Андреев, И. Д. Кобкова, Л. Т. Малая, 1986; И. К. Кондаков, Т. А. Войно-Ясенецкая, Э. М. Тарарак, 1980).

С. В. Андреева, И. Д. Кобкова (1970) показывают активное влияние катехоламинов и их предшественников на тканевой и клеточный обмен веществ, тесную связь моноаминов с ферментативными процессами в стволовой части головного мозга, печени, щитовидной железе.

Оказывая влияние на ферментативные системы организма, обуславливающие окислительно-восстановительные процессы в нем, катехоламины взаимодействуют с тканевыми белками, регулируют потребление кислорода тканями, ингибируя его использование в зависимости от их концентрации и степени абсорбции клеточными белками.

Регулирующая роль биогенных моноаминов не ограничивается обменом и потреблением кислорода в ткани, а реализуется также в их активности по отношению к различным видам обмена белков.

Так, по данным этих авторов, норадреналин в дозе 75 мкг/кг у кроликов увеличивает содержание фосфора нуклеиновых кислот печени и сердца за счет повышения количества ДНК.

Изотопным методом было показано, что большие дозы адреналина у крыс, наряду с диффузным жировым перерождением сердечной мышцы, в первые 2 суток ускоряют включение меченого метионина как в белке, так и в соединительной ткани сердечной мышцы. Симпатолитин устраняет стимулирующее действие адреналина на биосинтез белков патологического миокарда.

В опытах на крысах различие в действии норадреналина и адреналина на углеводный обмен состоит в том, что гликолитическое влияние первого значительно слабее по сравнению со вторым. В небольших количествах норадреналин, уменьшая кровенаполнение сосудов скелетных мышц, увеличивает в них содержание гликогена, усиливая поступление в них глюкозы из печени.

Подкожные трехкратные инъекции крысам 29 мг/кг норадреналина понижали концентрацию гликогена в миокарде в среднем на 53 %. Введение адреналина вызывало уменьшение запасов гликогена в сердце на 81 %, что приводило к гибели животных.

Следовательно, норадреналин, стимулируя деятельность сердца, экономнее расходует гликоген по сравнению с адреналином. Особенность влияния адреналина на углеводный обмен у крыс объясняется тем, что он снижает активность гликогенсинтетазы скелетной мышцы и увеличивает активность этого фермента в миокарде.

В этой связи понижается содержание гликогена в скелетных мышцах, а уровень его в сердце почти не меняется. Одновременно адреналин повышает активность фосфоорилазы и глюкозо-6-фосфатазы, кратковременно понижая содержание уридинфосфорной кислоты, глюкозы в скелетной и сердечной мышцах. Адреналин усиливает гликолиз и гликогенолиз,

понижает уровень гликогена и повышает содержание молочной кислоты, оказывает тормозящее действие на активность инсулина.

Регулирующее действие моноаминов на углеводный обмен связано с их липолитическим эффектом. Адреналин, увеличивая потребление кислорода, влияет не только на углеводный обмен, но также и на жировой, мобилизуя жирные кислоты из жировой ткани. Это имеет большое значение, так как свободные жирные кислоты обеспечивают более половины энергетических затрат организма.

При разрыве их двойных связей образуются диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, перекиси, гидроперекиси, свободные радикалы, которые способны оказывать повреждающее действие на биологические мембраны. Однократное внутримышечное введение адреналина кроликам в дозе 0,7–2,1 мг/кг увеличивает содержание в крови свободных жирных кислот на 200 %, общих липидов, эфиров жирных кислот, триглицерина больше, чем на 150 % в первые 6–12 часов после инъекции.

Количество неорганических фосфатов при этом уменьшалось, а липидного фосфора увеличивалось. Полностью исчезали γ -липопротеиды. Катехоламины увеличивают окисление жирной кислоты пальмитита – C_{14} в изолированном сердце кролика на 48–53 %. При этом поглощение миокардом кислорода и свободных жирных кислот увеличивалось вдвое.

Действие катехоламинов на жировой обмен связано с повышением активности липазы. Ингибиторы МАО способны повышать содержание норадреналина, который также обладает жиромобилизующей активностью.

Предшественник норадреналина ДОФА, несмотря на его липолитическую активность, снижает уровень норадреналина и тем самым тормозит мобилизацию свободных жирных кислот через симпатическую иннервацию жировой ткани.

Изменения концентрации катехоламинов в организме экспериментальных животных изменяет содержание и секрецию гормонов, альбуминов, глобулинов (Г. К. Ватуева и соавторы, 1965; С. В. Андреев, И. Д. Кобкова, 1970).

Затрагивая интимные стороны метаболизма белков, жиров и углеводов, катехоламины, несомненно, выполняют также значительную регулируемую функцию в обмене и переносе через клеточную мембрану электролитов (С. В. Андреев, И. Д. Кобкова, 1970).

Значение катехоламинов в осуществлении авторегуляторных процессов видно из их непосредственного участия в биосинтезе белков, обмене

жиров, углеводов, гормонов, электролитов. В результате активности моноаминов осуществляется механизм, предохраняющий организм от утомления, обеспечиваются функции нервной и сердечно-сосудистой систем и др.

Концентрация катехоламинов, поддерживая и воздействуя на многие важнейшие физиологические процессы, регулируется активностью самых различных ферментативных систем, которые являются фундаментом всех обменных этапов катехоламинов. Например, ингибция декарбоксилаз вызывает пятикратное увеличение концентрации ДОФА в надпочечниках.

Активность декарбоксилаз может являться ключом для управления биосинтезом катехоламинов в надпочечниках. При многих заболеваниях активность ферментативных систем, от которых зависят процессы деаминации и метилирования катехоламинов, подавляется или извращается, расстраивая обмен катехоламинов в организме. Результатом этого является развитие длительной или временной гипотензии.

Нарушение обмена катехоламинов наблюдается при заболеваниях сердечно-сосудистой, центральной нервной системы, печени, почек, надпочечников и др. Повышенное содержание катехоламинов может вызвать значительное нарушение многих физиологических функций.

Исследования показывают, что катехоламины играют существенную роль в формировании адаптационных реакций, направленных на сохранение постоянства внутренней среды и обеспечение гомеостатической функции организма. В этой связи представляло большой интерес изучение обмена биогенных моноаминов и их предшественников при холестериновой и сочетанной модели атерогенеза.

Результаты исследований показали, что внутрижелудочное поступление холестерина кроликам в дозе 1 г/кг массы животных приводило к нарушению обмена биогенных моноаминов в печени и головном мозге. Содержание ДОФА, норадреналина увеличивалось в головном мозге, в печени отмечался повышенный уровень дофамина и снижение его в головном мозге.

Не изменялось количество адреналина в головном мозге, а ДОФА, норадреналина и адреналина – в печени. В некоторой степени сходная динамика обмена моноаминов и их предшественников обнаружена в условиях сочетанной модели атерогенеза, проведенной на белых крысах. Опыт показал увеличение содержания в головном мозге ДОФА, норадреналина, адреналина и снижение дофамина. В печени отмечалось только повышенное количество адреналина, тогда как дофамин, ДОФА, норадреналин не изменялись (табл. 7.1).

Таблица 7.1

Состояние биогенных моноаминов при модельном атерогенезе $\left(\frac{M \pm m}{p} \right)$, мкг/г ткани

Модель атерогенеза	Мозг					Печень						
	дофа	дофамин	норадреналин	адреналин	дофа	дофамин	норадреналин	адреналин				
животные												
Токсический стресс 0,5 г/кг ПАВ + звуковой стресс 80 дБ на XI белых крысах	2,72 + 0,14* $p < 0,05$	2,80 + 0,30* $p < 0,05$	1,13 + 0,17* $p < 0,05$	0,22 ± 0,009* $p < 0,05$	3,56 + 0,48 $p > 0,05$	2,09 + 0,45 $p > 0,05$	0,81 + 0,22 $p > 0,05$	0,02 + 0,0001 $p > 0,05$				
контроль	2,02–0,12	3,45–0,54	0,77–0,22	0,11–0,002	4,01–0,31	1,76–0,16	0,81–0,10	0,15–0,002				
Холестериновая модель на кроликах (1 г/кг)	2,60 + 0,16* $p < 0,05$	3,15 ± 0,24* $p < 0,05$	1,40 + 0,19* $p < 0,05$	0,13 + 0,007 $p > 0,05$	4,15 + 0,33 $p > 0,05$	2,60 + 0,20* $p < 0,05$	0,85 + 0,17 $p > 0,05$	0,21 ± 0,09 $p > 0,05$				
контроль	1,70 ± 0,25	4,05 ± 0,36	0,80 + 0,17	0,14 + 0,008	3,90 ± 0,26	1,85 + 0,22	0,90 + 0,13	0,20 + 0,006				

Примечание: * – Различия достоверные; $p < 0,05$.

Определение динамики обмена в печени и головном мозге серотонина, триптофана обнаружило их идентичность. В случае холестериновой и сочетанной моделей атерогенеза в головном мозге и печени повышался уровень серотонина. Уровень триптофана снижался в печени и не изменялся в головном мозге (табл. 7.2).

Анализ полученных данных свидетельствовал о сходном механизме обмена биогенных моноаминов и их предшественников в условиях холестериновой и сочетанной моделей атерогенеза. Более значимыми были изменения метаболизма ДОФА, дофамина, норадреналина, адреналина в головном мозге, а в печени – триптофана и серотонина.

Эти сведения позволяют судить о возможном влиянии холестериновой и сочетанной модели атерогенеза на углеводный, жировой и белковый обмен в организме экспериментальных животных.

Т а б л и ц а 7.2

Динамика серотонина и триптофана у экспериментальных животных

при модельном атерогенезе (мгк/г ткани), $\left(\frac{M \pm m}{p}\right)$

Модель атерогенеза	Мозг		Печень	
	триптофан	серотонин	триптофан	серотонин
животные				
Токсический стресс 0,5 г/кг ПАВ + 80 дБ звуковой стресс на белых крысах	5,43 ± 0,72 <i>p</i> > 0,05	5,28 ± 0,65 <i>p</i> < 0,05	7,46 ± 2,65 <i>p</i> < 0,05	7,24 ± 1,53 <i>p</i> < 0,01
контроль	5,95 + 0,89	2,68 + 0,70	14,00 ± 2,53	3,03 ± 0,76
Холестериновая модель на кроликах (1 г/кг)	5,20 + 0,44 <i>p</i> > 0,05	4,79 + 0,32 <i>p</i> < 0,05	8,0 + 0,27 <i>p</i> < 0,05	6,95 + 0,83 <i>p</i> < 0,05
контроль	4,56 ± 0,63	3,08 + 0,54	12,5 + 0,96	4,20 ± 0,42

Предыдущие исследования показали возможность гликолитической и жиромобилизующей способности испытуемых моделей атерогенеза и влияние их на процессы переноса электронов через клеточные мембраны (С. В. Андреев, И. Д. Кобкова, 1970).

В этих условиях представляет значительный интерес исследование механизмов, обеспечивающих уравнивание организма со средой, его адаптацию и компенсацию. К ним, в частности, относится система глутамат-ГАМК.

Глутаминовая кислота является непосредственным предшественником гамма-аминомасляной кислоты в процессе биосинтеза, который осуществляется путем декарбоксилирования при участии глутаматдекарбоксилазы.

Эти нейромедиаторные кислоты выполняют важную функцию в переаминировании и тесно связаны с обменом α -кетоглутарата, глутамина, могут выступать в качестве предшественников в синтезе пролина, орнитина, цитруллина, аргинина и других метаболитов. ГАМК и глутамат имеют существенное значение в углеводном и аминокислотном обмене сердца, головного мозга, печени и других периферических внутренних органов. Являясь нейромедиаторами, они несут различную функциональную нагрузку в центральной нервной системе: с ГАМК-эргическими влияниями связывают эффекты торможения, с глутаматом – возбуждения.

М. В. Комиссаров (1986), С. А. Дамбинова (1989), раскрывая механизм чувствительности синаптических мембран, показали взаимовлияние нейромедиаторных систем друг на друга, наличие многих точек соприкосновения ГАМК-эргической системы с серотонином, норадреналином, адреналином, дофаминэргической системой, что может приводить к усилению или ослаблению суммарного эффекта в процессе уравнивания организма со средой.

Следует отметить, что предшественником глутамата является α -кетоглутарат, который занимает важное место среди промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты, α -кетоглутарат превращается в глутамат в реакциях переаминирования в митохондриях под действием глутаматдегидрогеназы.

Этот фермент является единственной специфической дегидрогеназой этой аминокислоты, которая занимает ключевое положение в метаболизме аминокислот, катализируя превращение аминного азота α -аминогруппы в аммонийный азот и наоборот. Коферментами глутаматдегидрогеназы могут служить как НАД⁺, так и НАДФ⁺.

Когда в качестве кофермента используется НАДФ⁺, образующийся НАДФН служит донором водорода в дальнейших синтезах. Равновесие реакции, катализируемой ферментом, смещено скорее в сторону восстановительного синтеза глутамата, чем в сторону дезаминирования.

Однако равновесие смещается в сторону образования аммиака в том случае, когда НАДН удаляется в результате переноса электронов и протонов в дыхательной цепи: (L-глутамат + НАД⁺ ↔ α-кетоглутарат + NH₄⁺ + НАДН).

Для завершения цикла взаимных превращений глутамата и α-кетоглутарата, образующийся в цитоплазме глутамат должен попасть в митохондрии, α-кетоглутарат, необходимый для удаления аминокислот различных аминокислот в реакциях переаминирования, в цитоплазму (Я. Мусин, О. Новакова, К. Кунц, 1984). α-кетоглутарат, проходя через митохондриальную мембрану, обменивается с малатом, а глутамат с фосфатом. Перенос малата может быть сопряжен с переносом фосфата.

Исследование глутаминовой и γ-аминомасляной кислот в печени и головном мозге экспериментальных животных выявило значительную активацию системы глутамат – ГАМК. Во всех группах животных, как при холестериновой, так и при сочетанной моделях атерогенеза, обнаружено увеличение уровня глутамата и ГАМК (табл. 7.3).

Т а б л и ц а 7 . 3

Влияние моделей атерогенеза на состояние глутамат-ГАМК-эргической системы опытных животных (Ммоль/г ткани), $M \pm m$

Модель атерогенеза	Мозг		Печень	
	глутамат	ГАМК	глутамат	ГАМК
животные				
Токсический стресс 0,5 г/кг ПАВ + 80 дБ звуковой стресс на белых крысах	1,95 ± 0,16* <i>p</i> < 0,05	46,34 ± 6,9* <i>p</i> < 0,02	5,05 ± 0,29* <i>p</i> > 0,05	78,9 ± 6,6 <i>p</i> < 0,01
контроль	0,86 ± 0,11	30,06 ± 2,05	2,41 ± 0,07	24,9 ± 2,4
Холестериновая модель на кроликах (1 г/кг)	1,89 ± 0,24* <i>p</i> < 0,05	36,4 ± 2,3* <i>p</i> < 0,05	5,20 ± 0,48* <i>p</i> < 0,05	67,53 ± 4,4* <i>p</i> < 0,05
контроль	1,15 ± 0,20	28,40 ± 1,60	3,95 ± 0,30	37,80 ± 3,55

Примечание: * – различия достоверные; *p* < 0,05.

Поскольку глутамат и γ-аминомасляная кислота связаны между собой как метаболическая система, то соотношение в мозге коэффициента ГАМК/глутамат в контрольных группах составляет 9,5 и 10,3 соответственно для холестериновой и сочетанной модели атерогенеза. У подопытных животных этот показатель выше и находится в пределах 12,98 для

холестериновой и 15,6 для сочетанной модели атеросклероза, что указывает на преобладание процессов торможения над возбуждением.

Таким образом, можно полагать, что в процессе формирования атерогенеза в экспериментальных условиях значительная роль принадлежит активации ГАМК-эргической системы, которая восполняет, как это указано выше, функциональную недостаточность тормозных медиаторных систем и противостоит активации систем возбуждения моноаминов и адренергических систем регуляции метаболических процессов.

Аналогичная динамика наблюдалась и при активации серотонинэргических систем. Данные опытов показывают, что в механизмах формирования атерогенеза происходит метаболическая перестройка нейромедиаторных систем возбуждения и торможения, которые, как известно, направлены на обеспечение гомеостатической функции организма.

Изучение нейромедиаторных аминокислот таурина, аспарагина, глутамина, глицина в сыворотке крови экспериментальных животных при сочетанном модельном атеросклерозе показало снижение содержания глицина, глутамина, аспарагина. Концентрация таурина не изменялась сравнительно с контролем. Обнаруженные сдвиги свидетельствуют о снижении количества как тормозных нейромедиаторных аминокислот (аспарагин), так и тех, которые стимулируют возбуждающие процессы в организме (глутамин, глицин) (табл. 7.4).

Т а б л и ц а 7 . 4

Динамика нейромедиаторных аминокислот в плазме крови белых крыс при сочетанном модельном атеросклерозе (нмоль/мл), $\left(\frac{M \pm m}{p} \right)$

Аминокислота	Опыт	Контроль
Таурин	24,72 ± 1,19 <i>p</i> < 0,05	20,8 ± 2,09
Аспарагин	13,43 ± 0,87 <i>p</i> < 0,05	17,34 ± 0,54
Глутамин	312,43 ± 14,5 <i>p</i> < 0,05	378,1 ± 12,03
Глицин	41,83 ± 2,17 <i>p</i> < 0,05	51,96 ± 1,83

Анализ пула нейромедиаторных аминокислот, биогенных моноаминов их предшественников позволяет сделать вывод о глубоких нарушениях

метаболических процессов, происходящих в организме экспериментальных животных при формировании модельного атерогенеза на кроликах и белых крысах.

- - -

.

Фосфолипиды представляют собой обширное семейство фосфорсодержащих природных липидов. Особенности структуры и функции ЦНС, сердечно-сосудистой системы в значительной мере обусловлены огромным разнообразием ее липидных компонентов, своеобразием их свойств, локализации и метаболизма.

Они являются главными компонентами клеточных мембран и непосредственно участвуют в главных метаболических процессах живой клетки, поскольку большинство свойств мембран связано с присутствием в них полярных липидов (А. Б. Степанов, Ю. М. Краснопольский, В. И. Швец, 1991).

Фосфолипиды делятся на две группы в зависимости от входящего в их состав спирта: глицерофосфатиды и сфингофосфатиды. Глицерофосфатиды рассматриваются как производные фосфатидной кислоты (ФК), которая состоит из глицерина, двух молекул жирной кислоты и фосфорной кислоты.

К ним относятся фосфатидная кислота (ФК), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭА), фосфатидилсерил (ФС), фосфатидилинозит (ФИ), кардиолипин (КП), дифосфоинозитид (ДФИ), трифосфоинозитид (ТФИ), фосфатидилэтанол (ФЭ) и лизоформы глицерофосфатидов (ЛФХ, ЛФЭА, ЛФЭ, ЛФС).

Сфингофосфатиды представлены сфингомиелином, построенным из длинноцепочного ненасыщенного аминок спирта сфингозина, жирной кислоты, связанной с ним не эфирной, а кислотнo-амидной связью и фосфорилхолином (Н. П. Таранова, 1988).

Важнейшая функция фосфолипидов в различных органах и тканях – структурная, поскольку они являются необходимой основой всех клеточных мембран. Состав индивидуальных фосфолипидов и их расположение в мембранах в значительной мере определяют барьерные свойства

мембран, их проницаемость для различных веществ, а также функциональные возможности. Более того, фосфолипиды сами активно участвуют в специфических функциях различных мембран. В плазматических мембранах они тесно связаны с АТФазами и участвуют в реакциях активного транспорта ионов.

В митохондриях они представляют необходимые компоненты систем транспорта электронов и окислительного фосфорилирования. Микросомальная система транспорта электронов и НАДФ·Н-зависимые ферменты, обеспечивающие превращение жирных кислот и экзогенных химических веществ, также требуют присутствия фосфолипидов (Г. А. Грибанов, 1975).

Эти аспекты структурной и функциональной роли присущи фосфолипидам всех тканей организма. Однако фосфолипиды ЦНС выполняют еще ряд специфических функций: способствуя транспорту Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , они участвуют в аксональном проведении потенциала действия (G. R. Moore, V. Fraugott., M. Faroog et al, 1984), обеспечивают работу натриевого насоса, связаны с процессом синаптической передачи нервного импульса, участвуя в освобождении ацетилхолинэстеразы (АХЭ) из синаптических пузырьков, оказывают влияние на уровень свободного холина, доступного для синтеза АХЭ (H. Hattory, J. N. Kanfer, 1985).

Е. М. Крепс (1982) установил участие ФХ, ФИ и других фосфолипидов в секреции и захвате норадреналина, серотонина, а также в рецепции этих нейромедиаторов.

Некоторые фосфолипиды опосредуют взаимодействие нейрональных мембран с эндогенными ксенобиотиками (R. Raulli, G. Calderini, F. T. Grews, 1985).

По данным многих авторов, ФС, ФИ участвуют в связывании медиаторов с холино- и адренорецепторами клеточной мембраны и трансдукции сигнала, а продукты их распада диацилглицерол- и инозитолфосфаты, образующиеся в ответ на активацию рецептора, действуют как вторичные мессенджеры (R. H. Michel, 1975; M. Berridge, 1984).

Известно, что синтез фосфолипидов происходит из глицерина, жирных кислот и азотистых оснований через образование фосфатидной кислоты и при участии производных холина, этаноламина и диглицеридов (N. G. Bazan, 1993).

Особенно интенсивно эти процессы происходят в печени, сердце, головном мозге. Показано, что практически все фосфолипиды синтезируются главным образом в микросомальной фракции эндоплазматической сети клетки.

В нервной ткани могут происходить и взаимопревращения $\text{ФС} \rightarrow \text{ФЭ} \rightarrow \text{ФХ}$ через декарбоксилирование серина и метилирование этаноламина (G. Porcellati, G. Arienti, 1983). Фосфолипиды всех клеточных структур могут подвергаться замене путем переноса целых интактных молекул.

Вместе с тем, каждая мембрана имеет способность частичного обновления отдельных компонентов *in situ* путем замены азотистых оснований, что обеспечивает взаимопревращения ФХ , ФЭ , ФС , а также путем замены жирных кислот в мембранных фосфолипидах (Н. П. Таранова, 1988).

Хотя ткани могут синтезировать все необходимые фосфолипиды, существует источник их поступления из кровотока и включение в мембраны без предварительной дегградации и перестройки. Наиболее интенсивный обмен фосфолипидов осуществляется в митохондриях и микросомах.

Фосфолипиды выполняют важную роль в функционировании мембраносвязанных ферментов митохондрии и эндоплазматической сети, в переносе электронов в дыхательной цепи, а также в проявлении АТФазной активности (И. С. Чекман, 1991).

По мнению О. Н. Воскресенского, А. П. Левицкого (1970), недостаток неэстерифицированных жирных кислот приводит к антиоксидантной недостаточности и развитию мышечной дистрофии. Обмен фосфолипидов требует высокого уровня окислительных процессов.

При явлении тканевой гипоксии уменьшается содержание общего уровня неэстерифицированных жирных кислот вплоть до полного исчезновения пальмитиновой, олеиновой и линолевой, что указывает на усиленное их потребление тканями (Е. И. Чазов, 1977).

Е. А. Абидов (1979), Е. И. Чазов (1977) показали увеличение содержания жирных кислот при гипоксических состояниях, диабете, тиреотоксикозе за счет их извлечения из крови и снижение триглицеридов на фоне их столь высокого поглощения. Изменение обмена фосфолипидов тесным образом связано с состоянием рецепторного аппарата клетки и его нейромедиаторными системами.

В настоящее время внимание исследователей привлечено к изучению регуляторной мембраны в клеточном метаболизме. Характерной особенностью внутриклеточных мембран является их способность к структурным переходам, которые, по мнению ряда авторов, выполняют функцию триггерного механизма в переключении клетки из одного метаболического состояния в другое (С. В. Конев, С. Л. Аксенцев, Г. А. Черницкий, 1970; I. P. Changeux, I. Thory, Y. Tung, I. Kittel, 1967).

По мнению этих авторов, мембрану следует рассматривать как двойной модификатор передачи информации от сигнального вещества в клетку.

С одной стороны, состояние мембраны определяет активность и чувствительность рецептора к действию гормона или иного синглетного вещества, с другой – структурная подвижность мембраны определяет эффективность перестройки клеточного метаболизма в ответ на связывание биологически активного вещества.

Один из важнейших путей регуляции клеточного метаболизма мембранами – управление работой мембраносвязанных ферментов.

В модельных экспериментах показано, что на активность мембраносвязанных ферментов может влиять: 1) вязкость липидной компоненты; 2) концентрация липида – специфического эффектора данного фермента; 3) наличие окисленных продуктов в липидах, в частности, их гидроперекисей (Е. Б. Бурлакова, М. И. Джалябова, Е. М. Молочкина, 1976). Состав липидов и скорость их окислительных превращений взаимосвязаны.

Повышение АОА и соответственно уменьшение скорости окислительных реакций приводит к тому, что липиды становятся более легко окисляемыми. Это, в свою очередь, вызывает ускорение использования антиоксидантов, постепенное понижение АОА липидов и возвращение ее к норме.

Такого рода взаимосвязь между изменениями АОА и состава липидов может рассматриваться, с одной стороны, как физико-химическая система регуляции, обуславливающая протекание окислительных реакций в липидах на постоянном уровне, с другой – как одна из систем обновления состава липидов мембран (Е. Б. Бурлакова, Г. В. Архипова, А. Н. Голощанов и др., 1982).

При изучении процесса окисления отдельных фракций фосфолипидов, выделенных из печени мышей, Б. Б. Бурлакова и соавторы (1982) установили, что наиболее легко окисляются фракции фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина, в составе которых много полиненасыщенных жирных кислот.

Липиды, содержащие в своем составе жирные насыщенные кислоты (сфингомиелин и фосфатидилхолин), оказались более устойчивыми соединениями.

В случае повышения АОА наблюдается увеличение общего количества липидов и относительного количества легко окисляемых фракций – фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина, а при понижении АОА – уве-

личение содержания сфингомиелина и фосфатидилхолина (С. А. Аристархова, Г. В. Архипова, Е. Б. Бурлакова и др., 1976).

Изменение состава липидов мембран, в свою очередь, влечет за собой изменение микровязкости липидной компоненты, липид-белковых взаимодействий и условий для структурных переходов в мембранах. Комплекс изменений оказывает воздействие на скорость реакций с участием мембраносвязанных ферментов.

При возрастании АОА увеличивается активность тех ферментов, для которых необходимо жидкое состояние липидов мембран, и в качестве аллостерических эффекторов выступают легко окисляемые липиды.

В то же время активность ферментов, требующих более жесткого состояния мембраны, и трудно окисляемых липидов в качестве эффекторов уменьшается. Е. Б. Бурлакова и соавторы (1982) доказали изменение активности ферментов глюкозо-6-фосфатазы, Ca^{2+} и Mg^{2+} АТФазы, аденилатциклазы, фосфодиэстеразы, ДНК и РНКполимераз, цитохрома P_{450} , от состава липидов мембран и их структурной вязкости.

Система регуляции клеточного метаболизма окислительными реакциями в липидах взаимосвязана с другими регуляторными системами, в частности, с системой регуляции метаболизма циклическими нуклеотидами. Эта взаимосвязь обусловлена, с одной стороны, зависимостью активности аденилатциклазы от концентрации фосфатидилэтаноламина как эффектора и структурного состояния липидов плазматических мембран, а также липидзависимостью рецепторов аденилатциклазы, с другой – влиянием системы циклических нуклеотидов на синтез липидов.

Из литературных данных известно, что чувствительность аденилатциклазы к гормонам зависит от концентрации того или другого фосфолипидэфектора. Как указывалось выше, аденилатциклаза и фосфодиэстераза являются липидзависимыми ферментами (L. Birnbaumer, 1973; С. Vublitz, 1973г.).

Е. Б. Бурлакова и соавторы (1982) обнаружили, что обе системы работают взаимосвязано при действии ряда биологически активных препаратов.

Следовательно, оказалось возможным влиять на окислительные процессы в липидах, а изменяя скорость окислительных реакций, изменять и концентрацию циклических нуклеотидов и, таким образом, влиять на чувствительность клеток к действию гормонов.

С этих позиций ингибиторы-антиоксиданты могут рассматриваться как активные модификаторы гормоночувствительности клеток. Весь комплекс обнаруженных авторами взаимосвязей позволил утверждать, что в ответе клетки на действие гормонов посредниками выступают не только циклические нуклеотиды, но и мембранная система клеток вообще и мембранные липиды, в частности.

Анализ изучения фракций фосфолипидов печени и эритроцитов белых крыс и кроликов в условиях модельного атерогенеза обнаружил динамические изменения со стороны фосфолипидного обмена.

У групп животных с холестериновой моделью атеросклероза наблюдалось повышение в печени фракций ФХ, ЛФЭА, ЛФХ, КЛ и снижение СМ, ФИ. Не изменялись уровни ФЭА, ФС.

При комбинированной модели атерогенеза были обнаружены сходные изменения со стороны фракций фосфолипидов и их уровней. Воздействие на белых крыс атерогенными ПАВ и эмоциогенным стрессом привело к снижению в печени СМ, ФИ и повышению ЛФЭА, ЛФХ. Обмен ФЭА, ФХ, ФС, КЛ не изменялся (табл. 7.5).

Повышение содержания лизоформ фосфолипидов и нарушение их обмена и других фосфолипидов может свидетельствовать о глубоких структурно-метаболических нарушениях и стимуляции в организме экспериментальных животных свободнорадикального перекисного окисления липидов.

Сходные изменения обнаружены со стороны фракций лизоформ фосфолипидов в эритроцитах. Как при холестериновой, так и сочетанной модели атерогенеза у белых крыс и кроликов наблюдалось повышение ЛФХ и СМ.

Не изменялся в эритроцитах обмен во всех случаях ФЭА, ФХ, ФС (табл. 7.6).

По мнению многих авторов, нарушение структуры липидной части биомембран изменяет скорость свободнорадикального перекисного окисления липидов (Н. М. Эмануэль, 1970; Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков, 1972).

Перекисное окисление липидов протекает и в физиологических условиях, оно необходимо для транспорта электронов в цепи дыхательных ферментов, синтеза белков, жиров, углеводов, нуклеотидов, простагландинов, дифференцировки клеток, фагоцитоза, метаболизма, ксенобиотиков и др. (С. К. Добрина, Ю. А. Владимиров, 1971; А. И. Журавлев, А. И. Журавлева, 1975; Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков, 1972).

Таблица 7.5

Влияние экспериментальных моделей атеросклероза на содержание фосфолипидов гепатоцитов
(длительность воздействия 2,5 месяца)

Модель атерогенеза, животные	Показатели $\frac{M \pm m}{p}, \%$									
	ФЭА	ФХ	СМ	ФС	ЛФЭА	ЛФХ	ФИ	КЛ		
Звуковой стресс + токсический атерогенным ПАВ (полиоксидиленоксипропиленгликоль) на белых крысах	24,4 ± 1,3 <i>p</i> > 0,05	39,7 ± 1,6 <i>p</i> > 0,05	12,8 ± 1,1* <i>p</i> < 0,05	10,3 ± 1,4 <i>p</i> > 0,05	6,2 ± 0,7* <i>p</i> < 0,05	6,5 ± 0,9* <i>p</i> < 0,05	4,1 ± 0,05 <i>p</i> < 0,05	0,7 ± 0,2 <i>p</i> > 0,05		
контрольная группа	23,3 ± 2,1	39,3 ± 3,1	16,0 ± 0,9	9,0 ± 1,2	1,3 ± 0,6	1,0 ± 0,4	7,7 ± 0,9	0,5 ± 0,1		
Холестериновая модель на кроликах (1 г/кг массы животного)	25,1 ± 2,6 <i>p</i> > 0,05	42,3 ± 1,7* <i>p</i> < 0,05	12,7 ± 0,8* <i>p</i> < 0,05	10,5 ± 1,6 <i>p</i> > 0,05	5,1 ± 0,8* <i>p</i> < 0,05	6,0 ± 1,1* <i>p</i> < 0,05	5,2 ± 0,3* <i>p</i> < 0,05	0,68 ± 0,03* <i>p</i> < 0,05		
контрольная группа	24,5 ± 1,8	37,4 ± 2,2	15,5 ± 1,3	9,3 ± 0,9	2,7 ± 0,4	1,5 ± 0,6	6,8 ± 0,5	0,4 ± 0,08		

Т а б л и ц а 7.6

Влияние экспериментальных моделей атеросклероза на содержание фосфолипидов эритроцитов (длительность воздействия 2,5 месяца)

Модель атерогенеза, животные	Показатели $\frac{M \pm m}{p}$, %				
	ФЭА	ФХ	СМ	ФС	ЛФХ
Токсический атерогенным ПАВ 0,5 г/кг массы животного + звук 80 дБ на белых крысах	20,6 ± 1,3 $p > 0,05$	45,2 ± 1,7 $p > 0,05$	15,8 ± 0,6* $p < 0,05$	11,3 ± 1,2 $p > 0,05$	5,8 ± 0,6* $p < 0,05$
контроль	21,3 ± 1,4	47,6 ± 2,3	13,1 ± 0,7	10,8 ± 0,8	3,7 ± 0,5
Холестериновая модель на кроликах (1 г/кг массы)	19,7 ± 1,5 $p > 0,05$	44,2 ± 2,4 $p > 0,05$	16,2 ± 1,3* $p < 0,05$	12,6 ± 1,5 $p > 0,05$	6,9 ± 0,8* $p < 0,05$
контроль	22,5 ± 1,5	48,8 ± 1,9	12,8 ± 0,9	11,2 ± 0,9	3,8 ± 0,9

Регуляция липидного состава биологических мембран и активности мембраносвязанных ферментов осуществляется при участии перекисного окисления липидов.

Изменение состава и вязкости липидов мембран под влиянием перекисного окисления липидов влияет на активность мембраносвязанных ферментов, регулирующих процессы энергообеспечения клеток, транспорт катионов (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} АТФазы), синтез нуклеиновых кислот (ДНК-полимеразы), чувствительность к гуморальным влияниям аденилатциклазы (АЦ), холинэстеразы, моноаминоксидазы.

Перекисное окисление липидов активируют прооксиданты, подавляет антиоксиданты. Прооксиданты легко окисляются, индуцируют образование свободных радикалов (ретинол, эргокальциферол, нафтохинон), являются восстановителями (НАДФН, НАДН, липоевая кислота, аскорбиновая кислота в низких концентрациях), соединениями, образующимися в процессе обмена веществ; это свободнорадикальные продукты различного происхождения (эндоперекиси простагландинов, продукты метаболизма адреналинов и др.).

Интенсификация перекисного окисления липидов влечет за собой повреждение белковых и липидных комплексов мембран.

Оксидантам и прооксидантам противопоставлена антиоксидантная система, к которой относится целый ряд биологически активных соединений

(SH-группы, глутатион, гаптоглобин, Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} и т. д., α -токоферол, витамин С, селен, пероксидаза, каталаза, глутатионпероксидаза, фосфолипиды, белок).

Интенсификация перекисного окисления липидов влечет за собой повреждение белковых и липидных компонентов мембран. При этом изменяются физико-химические свойства липидной фазы мембран и активности белков, обеспечивающих рецепцию различных воздействий, нарушается конформация липопротеидных комплексов, трансмембранный перенос ионов (М. Т. Дмитриев и соавторы, 1977; А. П. Товмасын и соавторы, 1978).

Продукты перекисного окисления липидов – перекиси, гидроперекиси, свободные радикалы, малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты оказывают повреждающее действие на мембраны, способствуют образованию пор в гидрофобном слое биомембран, что обуславливает неконтролируемый ток катионов.

Считают, что длительная активация свободнорадикального окисления неизбежно приводит к изменениям в составе липидов мембран, их проницаемости, что проявляется в нарушении функции структурных единиц (Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков, 1972).

В качестве причин, способствующих активации свободнорадикального окисления в тканях организма, называют гипокинезию, на фоне избыточного и несбалансированного пищевого рациона, когда избыток поступающих в организм жиров и углеводов не успевает окисляться в русле ферментативного биологического окисления, поступление токсических химических веществ, физическое напряжение, эмоциогенный стресс и многие другие факторы, которые являются «риск-факторами» атерогенеза.

Оценку свободнорадикального перекисного окисления липидов проводили по уровню накопления в организме экспериментальных животных диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, перекисей гидроперекисей, свободных радикалов и интенсивности сверхслабого свечения биологических объектов (кровь, головной мозг, надпочечники, сердце, печень, селезенка).

Результаты опытов показали, что у групп животных, подвергавшихся воздействию холестериновой и сочетанной модели атерогенеза, наблюдалось повышение интенсивности биохемилюминесценции крови, головного мозга, надпочечников, сердца, печени, селезенки сравнительно с контрольной группой животных (табл. 7.7).

Интенсивность БХЛ органов и тканей экспериментальных животных (имп. сек. №) при модельном атеросклерозе

Биологические объекты	Модель атерогенеза, доза, вид животных					
	холестериновая модель на кроликах (1 г/кг)		звуковой стресс 1 х (80 дБ), белые крысы		токсический стресс атерогенным ПАВ (полиокспропиленгликолю 0,5 г/кг), белые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт	опыт	цистеин
Кровь	870 ± 30,4	980,6 ± 55,3* <i>p</i> < 0,05	834,3 ± 26,90	977,2 ± 63,80* <i>p</i> < 0,05	860,4 ± 40,5 <i>p</i> > 0,05	
Почки	776,0 ± 25,3	980,4 ± 27,6* <i>p</i> < 0,05	790,8 ± 31,6	1030,7 ± 41,5* <i>p</i> < 0,05	750,9 ± 27,3 <i>p</i> > 0,05	
Головной мозг	620,3 ± 29,7	960,3 ± 28,5* <i>p</i> < 0,05	575,2 ± 39,60	852,7 ± 64,1* <i>p</i> < 0,05	520,8 ± 40,2 <i>p</i> > 0,05	
Надпочечники	510,2 ± 26,8	857,4 ± 39,2* <i>p</i> < 0,05	480,5 ± 33,6	804,3 ± 57,6* <i>p</i> < 0,05	520,6 ± 29,8 <i>p</i> > 0,05	
Сердце	790,5 ± 40,3	1100,6 ± 53,8* <i>p</i> < 0,05	780,92 ± 34,2	1003,2 ± 74,5* <i>p</i> < 0,05	720,6 ± 40,5 <i>p</i> > 0,05	
Печень	850,6 ± 37,4	1230,2 ± 68,7* <i>p</i> < 0,05	835,5 ± 27,2	1150,8 ± 60,7* <i>p</i> < 0,05	720,5 ± 33,4 <i>p</i> > 0,05	
Селезенка	710,2 ± 41,5	1128,4 ± 42,3* <i>p</i> < 0,05	690,4 ± 40,8	990,6 ± 58,4* <i>p</i> < 0,05	710,8 ± 26,8 <i>p</i> > 0,05	

Повышение уровня сверхслабого свечения сопровождалось накоплением промежуточных и конечных продуктов ПОЛ-диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и общих липидов в сыворотке крови опытных животных (табл. 7.8).

Т а б л и ц а 7 . 8

Содержание продуктов перекисного окисления у экспериментальных животных в сыворотке крови при модельном атерогенезе в нмолях/мл, $\frac{M \pm m}{p}$

Показатели	Модель атерогенеза, доза, вид животных			
	холестериновая модель на кроликах (1 г/кг)		звуковой стресс 1 x (80 дБ), белые крысы	токсический стресс атерогенным ПАВ (полиоксипропилен-лентриол 0,5 г/кг), белые крысы
	контроль	опыт	контроль	опыт
Диеновые конъюгаты	2,50 ± 0,26	4,80 ± 0,32* <i>p</i> < 0,05	2,67 ± 0,32	5,16 ± 0,37* <i>p</i> < 0,05
Малоновый диальдегид	1,15 ± 0,21	2,05 ± 0,08* <i>p</i> < 0,05	0,94 ± 0,12	2,16 ± 0,31* <i>p</i> < 0,05
Общие липиды (г/л)	4,20 ± 0,07	5,60 ± 0,08* <i>p</i> < 0,05	4,45 ± 0,043	5,88 ± 0,063* <i>p</i> < 0,05

Изменение состава липидов мембран, их окислительности и структуры липидной фазы может влиять не только на чувствительность клеток к гормональной регуляции, но и на иммунный ответ клетки, поскольку известна зависимость скорости взаимодействия антиген-антитело от состояния липидной фазы мембран.

Выходя за рамки исследований, приведенных в данном разделе, необходимо указать на чрезвычайно важный, следующий из приводимых данных, вывод, касающийся канцерогенеза. Как нами будет показано в дальнейшем, опухолевая трансформация клеток существенно зависит от пьезоэффектов, возникающих в мембранах, преимущественно, липидов и их производных. Однако возникновение пьезоэффекта возможно лишь в жидкокристаллической фазе этих веществ. Если же метаболические пути запасаения энергии опухолью связаны с пьезобиосинтезом, то понятна иммуносупрессия организма при карциномах, обусловленная снижением

скорости реакции антиген-антитело при измененной липидной фазе биомембран.

Многие авторы показали, что скорость окислительных реакций в липидах мембран, взаимосвязанная с составом липидов, со структурой мембраны, с ее чувствительностью к действию сигнальных веществ и повреждающих факторов и с ее функциональной активностью, имеет важное значение для регуляторной и информационной роли мембраны в клеточном метаболизме (С. А. Аристархова, Г. В. Архипова, Е. Б. Бурлакова, 1976; Е. Б. Бурлакова, М. И. Джалябова, Е. М. Моложкина, 1976; С. В. Конев, С. Л. Аксенцев, Г. А. Черницкий, 1970).

Анализ метаболических процессов фосфолипидов и свободнорадикального перекисного окисления липидов свидетельствует о глубоких структурно-метаболических нарушениях обменных процессов, происходящих у групп животных при холестериновой и сочетанной модели атерогенеза. Обнаруженные изменения структурных компонентов биомембран могут обеспечить глубокие нарушения обменных процессов, затрагивая липидный, белковый и углеводный.

-

Биохимические механизмы микросомального окисления представляют собой совокупность двух взаимосвязанных и взаимообусловленных процессов. С одной стороны, это молекулярные механизмы повреждающего действия чужеродных или токсических веществ, а с другой – процессы, связанные с молекулярными механизмами, компенсирующими повреждающее действие, направленные на сохранение и поддержание гомеостаза. И те, и другие процессы с полным основанием могут быть отнесены к общим механизмам, обеспечивающим постоянство внутренней среды организма.

Изучение молекулярных механизмов микросомального окисления позволяют прогнозировать особенности метаболизма в условиях воздействия на организм факторов риска атерогенеза (С. Н. Толиков, М. В. Саночкин, Л. А. Тиунов, 1986). Молекулярные механизмы поддержания гомеостаза при модельном атерогенезе можно разделить на два типа. Первый включает молекулярные механизмы, связанные с функционированием монооксигеназных систем гладкого эндоплазматического ретикулума и сопряженные с ними реакции конъюгации.

Эти механизмы функционируют при действии на организм преимущественно липотропных соединений. Второй тип биотрансформации экзо- и эндотоксинов объединяет молекулярные механизмы, локализованные в цитоплазме митохондрии, пероксисом и лизосом. В этом случае механизмы функционируют преимущественно при действии на организм водорастворимых соединений. Нами исследовались монооксигеназные ферменты гладкого эндоплазматического ретикулума, выделяемого при дифференциальном центрифугировании в виде фракций микросом.

С современных позиций в условиях воздействия на организм факторов атерогенеза, для оценки резервных возможностей, степени устойчивости его к неблагоприятному воздействию наиболее адекватными являются методы изучения модифицирующего действия экзо- и эндотоксинов на уровне микросомальной оксидазной системы с параллельным исследованием возможного неблагоприятного эффекта на уровне мембрано-структурированных ферментов (Г. И. Сидоренко, 1989).

В процессах защиты организма от экзо- и эндотоксинов – неблагоприятных атерогенных факторов, принимают участие печень, почки, легкие, кожа, селезенка, надпочечники, клетки иммунокомпетентной системы и другие органы (Н. Я. Головенко, 1981). Однако главные ферментные системы, участвующие в ОВП и поддержании гомеостатической функции организма, локализованы в гепатоцитах, где в результате окислительно-восстановительных реакций и процессов конъюгации чужеродное эндогенное или экзогенное вещество модифицируется и элиминируется экскреторными системами.

Эти ферментные системы локализованы в митохондриях, микросомах или гиалоплазме; детоксикация эндотоксинов может происходить по типу химического окисления, восстановления, гидролитического превращения или путем конъюгации. Главной лабораторией, осуществляющей эти процессы, является эндоплазматическая сеть клеток печени, количество рибонуклеиновых кислот, фосфолипидов и белков. Основными функциональными системами микросомальной мембраны являются ферменты.

В состав микросомальных ферментов, наряду с монооксигеназными системами, входят эстеразы (глюкозо-6-фосфатаза, Mg-зависимые нуклеозидфосфатазы, неспецифические эстеразы), ферменты синтеза белков, липидов, фосфолипидов, гликопротеидов, желчных кислот, а также энзимы, катализирующие реакции конъюгации.

Из их числа в механизмах детоксикации преимущественно участвуют оксидазы со смешанными функциями и ферменты, обеспечивающие процессы конъюгации (С. Н. Голиков, И. В. Саноцкий, Л. А. Тиунов, 1986).

Оксидазы со смешанными функциями участвуют в метаболизме липотропных ядов, катализируя реакции их *C*-гидроксилирования, в алифатической цепи, ароматическом и ациклических кольцах, алкильных боковых цепях; *N*-гидроксилирования, *O*-дезалкилирования, *S*-дезалкилирования, *N*-дезалкилирования, окислительного дезаминирования, десульфирования и эпоксифирования.

Помимо окислительных превращений, эти ферменты катализируют реакции восстановления нитро- и азотсоединений; реакции восстановительного дегалогенирования. Химизм этих реакций подробно рассмотрен в работах (О. Парк, 1973; К. М. Лакина и Ю. Ф. Крылова, 1981).

В результате этих реакций ксенобиотики приобретают реактивные группы OH , NH_2 , COOH , SH . Образующиеся таким путем метаболиты легко вступают в реакцию конъюгации с образованием малотоксичных соединений, которые выводятся из организма с мочой, желчью, потом и т. д.

Оксидазы со смешанными функциями, катализирующие реакции биотрансформации липотропных ксенобиотиков, а также эндогенных стероидов, ненасыщенных жирных кислот и простагландинов, представляют собой полиферментный комплекс. Этот полиферментный комплекс локализован на гладком эндоплазматическом ретикулуме и связан с двумя внемитохондриальными цепями переноса электронов.

Общим окислительным звеном этих зависимых от НАДФН и НАДН путем транспорта электронов является цитохром P_{450} (А. И. Арчиков, 1971). Помимо цитохрома P_{450} , в состав этого комплекса входит цитохром B_5 , НАДФН-цитохром P_{450} -редуктаза и НАДН-цитохром B_5 -редуктаза (Д. И. Метелица, 1962). Цитохром P_{450} является важнейшим компонентом микросомальной монооксигеназной системы, ответственным за активацию молекулярного кислорода и связывание субстрата.

Данный флавопротеид связан с фракцией поверхностных мембранных белков эндоплазматической сети. Конформационные изменения мембран сопровождаются изменением активности ферментов. Это показано в опытах с аммонийным сульфатом, который в малых дозах стимулировал, а в больших ингибировал активность НАДФН-цитохром P_{450} -редуктазы вследствие конформационных изменений белков мембраны микросом.

НАДФН-цитохром P_{450} -редуктаза содержит флавинадениндинуклеотид (ФАД) и флавинаденинмононуклеотид (ФМН); этот фермент способен передавать электроны не только на цитохром P_{450} , но и на другие акцепторы.

Цитохром B_5 представляет собой гемопроteid, который в отличие от цитохрома P_{450} , расположенного в глубоких слоях мембран эндоплазматической сети, локализован на их поверхности.

Цитохром B_5 способен получать электроны не только от восстановленной формы НАДФ, но и от НАДН, участвуя в функционировании НАДН-зависимой цепи транспорта электронов.

В состав этой цепи входит также фермент НАДН-цитохром B_5 -редуктаза. Этот энзим, так же как и цитохром B_5 , не фиксирован строго на определенных участках мембран эндоплазматической сети и способен менять свою локализацию.

Ведущую роль в метаболизме эндо- и экзотоксинов выполняют НАДФН-зависимые реакции. НАДН-зависимые реакции составляют около 10–30 % от общей активности монооксигеназных систем (С. Л. Голиков, Л. В. Саноцкий, Л. А. Тиунов, 1986).

Важной при функционировании микросомальных монооксигеназ является связь ферментных систем с мембранами эндоплазматической сети. Особенно важное значение имеют фосфолипиды микросом, которые поддерживают каталитическую активность монооксигеназной системы и участвуют в прикреплении ее компонентов к мембранам гладкой эндоплазматической сети (В. В. Ляхович, И. Б. Цирлов, 1981).

Фосфолипиды влияют на конформационные изменения молекулы цитохрома P_{450} и ее стабилизацию (Д. И. Метелица, 1982). Активность микросомальных монооксигеназ, катализирующих процессы биотрансформации в первой фазе детоксикации эндо- и экзотоксинов, участвующих в реакциях конъюгации и составляющих вторую фазу детоксикации, не является строго постоянной.

По мнению многих авторов, она зависит от «факторов риска» атерогенеза (С. Н. Голиков, И. В. Саноцкий, Л. А. Тиунов, 1986; G. Paulson, 1979), однако наиболее выраженное действие на функционирование биохимических систем, ответственных за процессы детоксикации, оказывают химические вещества, которые можно разделить на две группы: индукторов и ингибиторов микросомальных монооксигеназ.

В литературе накопилось много данных, убедительно свидетельствующих, что табачный дым, барбитураты, углеводороды, бензин, спирты, кетоны, альдегиды, дифенилы, алкоголь, пестициды, анальгетики и т. д. увеличивают активность микросомальных монооксигеназ.

При этом отмечается пролиферация эндоплазматического ретикулула в гепатоцитах, увеличивается масса печени и содержание в ней липидов (A. Parkinson, L. Robertson, L. Safe, S. Sale, 1980; J. Solly, 1980; M. Vodcnik, C. Elcombe, J. Lech, 1981; A. Harman, D. Frewin, B. Pricstly, 1981; А. Ф. Лещинский, Т. А. Золотарева, Н. Я. Головенко, 1980; К. М. Лакин, Ю. Ф. Крылов, 1981; В. В. Ляхович, И. Б. Цырлов., 1981; Л. А. Тиунов, 1981).

Вместе с тем, отмечено, что индуцирующее влияние на монооксигеназную ферментативную активность микросом проявляется в зависимости от дозы вредного воздействия (А. И. Арчаков, 1975; В. В. Ляхович, И. Б. Цырлов, 1981; Д. И. Метелица, 1982).

К ингибиторам микросомальных монооксигеназ относятся многочисленные соединения различной природы: фенолы, хинолоны, антиоксиданты, гидразины, оксигенированные стероиды, лактоны, эфиры, изоцианаты, производные пиридина, имидазол, бензофлавоны, серосодержащие соединения, производные олефинов, алеины и др. (B. Festa, P. Jenner, 1981).

Таким образом, зная состояние активности оксигеназ смешанной функции можно с помощью средств профилактики и лечения влиять на процессы метаболизма, происходящие в печени, предохраняя ее от вредного воздействия эндо- и экзотоксинов.

В этой связи нами проведено изучение влияния моделей атерогенеза на две микросомальные электронно-транспортные цепи: НАДФН-связывающая система с цитохромом P_{450} в качестве конечного звена и НАДН-система, связанная с цитохромом B_5 в качестве акцепторов электронов. Исследованию подвергались такие параметры микросомального окисления, как дыхательная активность, содержание цитохромов B_5 , P_{450} , активность редуктаз.

Наиболее полно и объективно активность системы микросомального окисления может быть оценена по скорости метаболизма, что отражает активность как начальных (НАДФН, НАДН-редуктаз), так и терминальных (цитохромы) участков.

В качестве субстрата микросомальной P_{450} -зависимой системы использован P -нитроанизол-ксенобиотик, подвергающийся окислительному

деметилированию с образованием *P*-нитрофенола, который обладает характерным спектром поглощения в щелочной среде.

Изучение влияния моделей атерогенеза на экспериментальных животных показало увеличение активности *O*-деметилазы, НАДФН-цитохром-*C*-редуктазы, НАДН-цитохром-*C*-редуктазы микросом печени опытных животных сравнительно с контрольной группой (табл. 7.9).

Т а б л и ц а 7.9

O-деметилазная (нмоли *p*-нитрофенола/мин мг белка) и НАДН-, НАДФН-цитохром-*C*-редуктазная (нмоли цитохрома *C*/мин мг белка) активности микросом печени $\left(\frac{M \pm m}{p} \right)$

Показатели	Модель атерогенеза, доза, вид животных			
	холестериновая модель на кроликах (1 г/кг)		звуковой стресс 1 х (80 дБ) + токсический стресс атерогенным ПАВ (полиоксипропилен триол 0,5 г/кг), белые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
<i>O</i> -деметилаза	6,73 ± 0,52	12,7 ± 0,53* <i>p</i> < 0,05	6,69 ± 0,64	13,56 ± 1,82* <i>p</i> < 0,05
НАДФН-цитохром- <i>C</i> -редуктаза	210,2 ± 13,4	280,2 ± 16,4* <i>p</i> < 0,05	202,0 ± 24,3	269,30 ± 11,4* <i>p</i> < 0,05
НАДН-цитохром- <i>C</i> -редуктаза	968,2 ± 50,4	1260,4 ± 28,5* <i>p</i> < 0,05	955,10 ± 182,3	1365,0 ± 103,2* <i>p</i> < 0,05

Более сильное влияние на ферментативную активность микросом оказывала сочетанная модель атерогенеза, включающая в себя элементы влияния на пьезоактивность мембран.

Воздействие на животных холестериновой и сочетанной модели атерогенеза приводило к усилению скорости эндогенного дыхания, скорости окисления НАДФН, скорости окисления НАДФН в присутствии ЭДТА и скорости перекисного окисления липидов (табл. 7.10).

Холестериновая и сочетанная модели атерогенеза проявили однотипное влияние на содержание цитохром *P*₄₅₀ и *B*₅. Действия их проявилось в повышении содержания в печени цитохромов *P*₄₅₀. Количество цитохромов *B*₅ не изменялось (табл. 7.11).

Т а б л и ц а 7.10

Потребление кислорода микросомами печени при воздействии
 модельного атеросклероза $\left(\frac{M \pm m}{p} \right)$

Показатели	Модель атерогенеза, доза, вид животных			
	холестериновая модель на кроликах (1 г/кг)		звуковой стресс 1 х (80 дБ) + токсический стресс атерогенным ПАВ (полиоксипропилентриол 0,5 г/кг), белые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Скорость эндогенного дыхания	1,50 ± 0,40	1,75 ± 0,26* <i>p</i> < 0,05	1,40 ± 0,35	2,84 ± 0,33* <i>p</i> < 0,05
Скорость окисления НАДФН	2,70 ± 0,33	6,90 ± 0,42* <i>p</i> < 0,05	3,32 ± 0,41	8,90 ± 1,24* <i>p</i> < 0,05
Скорость окисления НАДФН в присутствии ЭДТА	2,58 ± 0,37	5,84 ± 0,31* <i>p</i> < 0,05	2,91 ± 0,52	6,06 ± 0,42 <i>p</i> < 0,05
Скорость перекисного окисления липидов	0,53 ± 0,08	1,80 ± 0,24* <i>p</i> < 0,05	0,42 ± 0,11	2,91 ± 0,60* <i>p</i> < 0,05

Следует отметить, что холестерин и сочетанная модели атерогенеза выступают в роли индукторов активности микросомального окисления. В настоящее время стало очевидно, что под воздействием химических веществ-индукторов, а также механических влияний, индуцирующих появление пьезоэффекта, лежит активация генома с последующим синтезом микросомального белка и гена (И. Б. Цырлов и др., 1977).

Предполагается, что поступление вещества-индуктора приводит к активации аденилатциклазы и увеличению концентрации внутриклеточного цАМФ.

В свою очередь, это приводит к повышению активности цАМФ зависимых протеинкиназ, усилению интенсивности фосфорилирования кислых белков клеточного ядра, усилению синтеза ядра (С. Н. Голиков, И. В. Саноцкий, Л. А. Тиунов, 1986).

Т а б л и ц а 7.11

Влияние моделей атерогенеза на содержание микросомальных цитохромов

$$\left(\frac{M \pm m}{p} \right) \text{ в нмолях/мг белка}$$

Показатели	Модель атерогенеза, доза, вид животных			
	холестериновая модель на кроликах (1 г/кг)		звуковой стресс 1 х (80 дБ) + токсический стресс атерогенным ПАВ (полиоксипропилентриол 0,5 г/кг), белые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Цитохром В ₅	0,615 ± 0,16	0,627 ± 0,18 <i>p</i> > 0,05	0,620 ± 0,104	0,630 ± 0,114 <i>p</i> > 0,05
Цитохром Р ₄₅₀	1,05 ± 0,08	1,479 ± 0,07 <i>p</i> < 0,05	0,952 ± 0,212	1,536 ± 0,114 <i>p</i> < 0,05

Таким образом, данные проведенных исследований свидетельствуют о том, что как одна, так и другая модели атерогенеза увеличивают все параметры микросомального окисления, кроме содержания цитохрома В₅. Это позволяет утверждать, что в комплексе обнаруженных изменений имеют место усиление свободнорадикального перекисного окисления липидов у опытных групп животных и метаболические нарушения основных гомеостатических констант организма.

Эти данные хорошо согласуются с нарушением содержания фракций фосфолипидов в гепатоцитах, ускорением свободнорадикального перекисного окисления липидов и накоплением в организме экспериментальных животных свободных радикалов, перекисей, гидроперекисей, диеновых конъюгатов и малонового диальдегида.

Предыдущие исследования показали, что при модельном атерогенезе наблюдаются глубокие структурно-функциональные изменения со стороны фракций фосфолипидов, активности микросомальной монооксигеназной системы, ПОЛ, содержания нейромедиаторов. Эти результаты позволили

нам судить о стимуляции в организме под влиянием холестериновой и сочетанной модели атерогенеза свободнорадикального перекисного окисления липидов, которому противопоставлена антиоксидантная система.

Она представлена в организме комплексом биологически активных соединений, которые выполняют важную функцию в процессах торможения жидкофазного спонтанного цепного свободнорадикального перекисного окисления (углеводородов, жиров).

В настоящее время накопилось достаточно много сведений о том, что химические соединения, эмоциогенный стресс, «факторы риска» атерогенеза способны накапливать в различных органах и тканях перекиси, гидроперекиси, свободные радикалы, соединения, которые оказывают повреждающее действие на клетку и ее структурные компоненты (Е. Б. Бурлакова, 1967; Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков, 1972; О. Н. Воскресенский, 1974; А. И. Журавлев, 1974; А. И. Журавлев, 1975; В. И. Калмыкова, Л. Г. Гукасян, А. А. Дмитровский, 1971). Стимулятором ПОЛ в организме противопоставлена система антиокислителей, или тушителей возбужденных электронных состояний (Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков, 1972).

Следует отметить, что свободнорадикальный процесс окисления (СРО) протекает в норме во всех органах и тканях организма и является важным звеном метаболизма. Низкие концентрации перекисей, гидроперекисей просто необходимы для организма и являются одним из типов нормальных обменных процессов (А. И. Журавлев, 1974).

Многие авторы показали, что как ускорение СРО, а также резкое его торможение приводят к патологии (А. И. Журавлев, 1968; Е. Б. Бурлаков, Е. М. Молочкина, Н. П. Пальмина, Л. В. Слекухина, 1976; Т. А. Девяткина, 1978; О. Н. Воскресенский, 1973).

Отношение количества природных ингибиторов к концентрации свободных радикалов при стационарном состоянии животного организма является величиной постоянной. При каком-либо неспецифическом воздействии происходит изменение этого соотношения, что приводит к торможению или ускорению размножения клеток (Е. Б. Бурлакова, 1967).

Следует сказать, что продукты СРО в норме участвуют в регулировании проницаемости мембран, скорости роста организмов, пролиферации клеток, регулировании состава липидов мембран (Е. Б. Бурлакова, 1968; Е. Б. Бурлакова, А. В. Алесенко, Е. М. Молочкина, Н. П. Пальмина, Н. Г. Хракова, 1975; Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков, 1972; А. И. Журавлев, 1968; А. И. Журавлев, А. И. Журавлева, 1977).

Некоторые количества перекисей оказываются необходимыми для функционирования АТФазы в митохондриях (Г. Д. Миронова, Г. В. Сирота, 1977).

Продукты перекисного окисления липидов имеют два типа биологического действия. Промежуточные продукты СРО липидов (гидроперекиси) в малых концентрациях оказывают физиологическое действие, определяемое обратимой инактивацией ферментов, обратимым изменением проницаемости мембран и обратимым гидрофильно-гидрофобным превращением жирнокислотных остатков глицерофосфатов.

Конечные продукты ПОЛ оказывают токсическое действие за счет сшивок биополимеров необратимой инактивации ферментов, нарушения митоза, необратимых повреждений мембран и лизиса клеток (Ю. П. Козлов, Б. Н. Тарусов, 1961). Резкая и длительная активация свободнорадикального окисления в тканях живого организма неизбежно приводит к изменениям с характерными симптомами, дающими возможность выделить данное состояние как самостоятельную группу свободнорадикальной патологии (Б. Н. Тарусов, 1954; 1962).

Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. (1972) считают, что длительная активация свободнорадикального окисления неизбежно приводит к изменениям в составе липидов мембраны, их проницаемости, что проявляется в нарушении функции структурных единиц. В качестве причин, способствующих активации СРО в тканях организма, называют гипокинезию на фоне избыточного и несбалансированного пищевого рациона, когда избыток поступающих в организм жиров и углеводов не успевает окисляться в русле ферментативного биохимического окисления; курение, гиперхолестеринемия, поступление токсических химических веществ, физическое напряжение, эмоциогенный стресс и многие другие факторы.

К наиболее характерным симптомам свободнорадикальной патологии следует отнести: вялость, ослабление реакций на внешние раздражители, повышение хрупкости кровеносных сосудов, анемию, расстройство желудочно-кишечного тракта, аритмию дыхания, лейкопению, преобладание дистрофических процессов над регенераторными, торможение роста и потерю веса, снижение воспроизводительной функции, преждевременное старение и т. д. (О. Н. Воскресенский, 1974; Е. Б. Бурлакова, Е. М. Молочкина, П. П. Пальмина, Л. В. Слепухина, 1976; А. И. Журавлев, А. И. Журавлева, 1977; В. И. Калмыкова, Л. Г. Гукасян, А. А. Дмитровский, 1971; А. И. Журавлев, 1982). Свободнорадикальные патологии могут выступать

как самостоятельные ведущие патологии, например авитаминоз Е (А. И. Журавлев, Б. Н. Тарусов, 1962), или как сопутствующие заболевания, вызываемые другими патологиями, например авитаминозом С, физиологическое напряжение, гипокинезия, эмоциогенный стресс, эндо- и экзотоксическое вредное воздействие на организм, курение, алкоголизм.

Считают, что продуктам свободнорадикального перекисного окисления липидов в организме противопоставлена антиоксидантная система, которая ингибирует СРО и разрушает перекисные соединения (А. И. Журавлев, 1982). К биоантиокислителям относятся вещества биогенного происхождения, способные при химических взаимодействиях тормозить свободнорадикальное окисление независимо от механизма их действия, но без необратимой инактивации ферментных и генетических систем.

В нормальных физиологических концентрациях биоантиокислители необходимы для осуществления ферментативного биологического окисления (дыхания, гликолиза) и, как правило, либо стимулируют, либо нормализуют его (А. И. Журавлев, 1968; Е. Б. Бурлакова, 1968). Различают собственно биоантиокислители, например: токоферол, убихинон, SH-соединения, адреналин, микроэлемент селен и синергисты, т. е. вещества, которые сами или слабо, или вообще не тормозят СРО, но заметно усиливают действие истинных биоантиокислителей, например аскорбиновая и лимонная кислота (Н. М. Эммануэль, Л. П. Липчина, 1958).

По механизму действия среди веществ, тормозящих СРО, различают: а) антирадикальные ингибиторы, в первую очередь, фенолы; б) антиокислители, разрушающие перекиси, серосодержащие соединения; в) вещества, связывающие катализаторы, – ионы металлов переменной валентности; г) тушители – вещества, безизлучательно инактивирующие синглетный кислород, токоферолы, каротиноиды. По химической природе вещества, способные тормозить СРО, относятся к большому количеству различных типов соединений и важнейшие из них следующие: фенолы – токоферолы, эвгенол и его производные; полифенолы – конидендрин, пирокатехин, производные галловой кислоты; флавоноиды – рутин, кварцетин; некоторые стероидные гормоны: лецитин, кефалин; серосодержащие соединения – глутатион, цистеин, SH-группы; некоторые органические кислоты: аскорбиновая, лимонная, никотиновая, бензойная, дегидрокофеиновая кислоты; такие соединения, как билирубин, убихинон, адреналин, селен (Е. Б. Бурлакова, А. В. Алексенко, Е. М. Молочкина, Н. П. Пальмина,

Н. Г. Храпова, 1975; А. И. Журавлев, 1968; А. И. Журавлев, 1975; А. И. Журавлев, 1982). По мнению этих авторов, биоантиокислители – это соединения, тормозящие свободнорадикальное окисление и защищающие от деструктивного действия, биологические, в первую очередь, белковые структуры и нуклеиновые кислоты. Экспериментально показано влияние биоантиокислителей на активность некоторых мембранных липидзависимых ферментов. На активность мембранных ферментов сходно влияет как мягкое удаление липидов, так и накопление в мембранах перекисей (Е. Б. Бурлакова, 1977). Показана специфичность и обратимость потери активности ферментов в мембранах при мягкой экстракции из них липидов, т. е. при исключении липид-белкового взаимодействия без разрушения белкового каркаса мембран. Эффект обратим, активность каждого данного фермента восстанавливается при возвращении в систему строго определенного специфичного фосфолипида – эффектора (А. Nason, L. R. Lenian, 1956; S. Fleischer, G. Beierley, H. Klouwen, D. B. Slautterback, 1962).

Во многих работах показано снижение активности ферментов при образовании в мембранах липидных перекисей, добавление антиоксидантов приводит к обратимости ферментативной активности (Г. Д. Миронова, Г. В. Сирота, 1977; Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков, 1972; Е. Б. Бурлакова, 1977). С возрастом у животных обнаруживается снижение концентрации тканевых липидов и сочетается, как правило, с токоферольной недостаточностью (О. Н. Воскресенский, 1973).

Положение об активации свободнорадикального окисления как первопричине повреждений, определяющих старение, нашло широкое распространение. Оно подтверждается тем, что продукты СРО, несомненно, участвуют в таком сопутствующем старению процессе, как атерогенез, (В. И. Калмыкова, 1970; В. И. Калмыкова, Л. Г. Гукасян, А. А. Дмитриевский, 1971; А. И. Журавлев, 1973; О. Н. Воскресенский, 1973). В. И. Калмыкова (1970) обнаружила снижение суммарной концентрации липидов сыворотки крови у людей при коронарном атеросклерозе, а О. Н. Воскресенский (1973), изучая модельный триглицеридный атеросклероз у кроликов, обнаружил снижение в органах и тканях индивидуального биоантиокислителя – токоферола. При этом индуцирование всех типов атеросклероза в доклинической стадии, т. е. до появления морфологических признаков атеросклероза, сопровождалось активацией СРО, о чем свидетельствует усиление биохемиллюминесценции сыворотки крови и увеличение содер-

жания перекисей в липидах крови (В. И. Калмыкова, 1970; О. Н. Воскресенский, 1969).

Дальнейшее развитие атеросклероза через 1, 2 и 3 стадию по А. Л. Мясникову приводило к дальнейшему снижению и суммарной активности концентрации липидов (В. И. Калмыкова, 1972), и содержания токоферола (О. Н. Воскресенский, 1973). Однако если содержание липидных перекисей продолжало повышаться, то интенсивность биохемилюминесценции сыворотки крови с появлением в стенке аорты морфологических признаков атеросклероза на 80-е сутки скормливания кроликам холестерина снизилась до нормального уровня (А. И. Журавлев, Г. В. Маргулис, С. Х. Кубли, 1974), а у больных людей с хроническими формами атеросклероза БХЛ была в 1,52 раза ниже нормы (Г. В. Маргулис, А. И. Журавлев, 1971).

Расхождение данных по ослаблению биохемилюминесценции и одновременному повышению уровня липидных перекисей делает необходимым привлечение дополнительных тестов для решения вопроса об активации или торможении СРО при развитии атеросклероза. Таким тестом является окисляемость тканевых липидов, определяемых их ненасыщенностью (С. А. Аристархова, Е. Б. Бурлакова, Н. Г. Храпова, 1974). По данным всех исследователей, ненасыщенность липидов при атеросклерозе понижается за счет увеличения содержания холестерина и ненасыщенных жирных кислот (М. В. Бавина, 1965; М. Г. Крицман, М. В. Бавина, 1970). На основании однонаправленного снижения двух показателей – биохемилюминесценции и ненасыщенности липидов – было сделано заключение, что развитие атеросклероза сопровождается понижением интенсивности СРО (А. И. Журавлев, 1973). Увеличение содержания перекисей в экстрагированных липидах можно отнести за счет их большей стабильности и степени сохранности в более ненасыщенных липидах во время выделения.

Приведенные результаты позволяют сделать ряд выводов.

1. Вероятнее всего, холестерин не может быть патогенетическим агентом, непосредственно повреждающим стенки кровеносных сосудов, о чем свидетельствуют следующие факты: при введении с диетой избытка триглицеридов атеросклероз у кроликов развивался при повышении содержания эндогенного холестерина в крови всего в 2 раза выше нормы (О. Н. Воскресенский, 1969); к 80-м суткам скормливания холестерина наблюдалось снижение биохемилюминесценции сыворотки крови кроликов, хотя введение холестерина, по Аничкову, продолжалось непрерывно, и он насыщал кровь (А. И. Журавлев, 1982).

2. Имеется достаточно клинических наблюдений, которые показывают, что сама по себе эндогенная холестеринемия оказывается недостаточным условием для появления поражения стенок кровеносных сосудов (С. М. Лайтес, Н. Н. Лаптева, 1967). Однако избыток экзогенного вводимого в организм с рационом холестерина может являться химическим стрессорным фактором, усиливающим СРО липидов. Об этом свидетельствует резкое увеличение биохемилюминесценции сыворотки крови в первые 55 суток скармливания холестерина кроликам (А. М. Журавлев, Б. Н. Тарусов, 1962). Способность активировать СРО в тканях животных является, очевидно, одним из общих свойств экзогенных стероидов при введении их в избытке (В. Б. Спиричев, А. К. Газдаров, А. Н. Саприн, В. А. Беляков, 1974). Патологическим фактором, вероятнее всего, является повышенное содержание активных продуктов СРО – свободных радикалов, окисленных жирных кислот и т. д., содержание которых повышается при стрессорных ситуациях (физическая нагрузка, гипоксия, гипокинезия, эмоциогенный и токсический стресс и т. д.), на начальных этапах атерогенеза.

3. Повышение содержания холестерина и ненасыщенных липидов, очевидно, является защитной реакцией от активации СРО. Их защитное действие при возникновении и начале развития атеросклероза определяется их действием на СРО как замедлителей (А. И. Журавлев, 1968).

Исходя из общей концепции пьезобиосинтеза, обнаруженного нами в тканях животного происхождения, а также известных пьезоэлектрических свойств холестерина, его производных и некоторых липидов, можно предположить следующую логическую цепочку таких изменений. Ткани аорты, артерий при определенных условиях испытывают структурный и, прежде всего, энергетический голод, что требует «включения» альтернативных источников преобразования энергии.

Ткань концентрирует в себе пьезоэлектрики (в частности, холестерин и его производные), происходит активация пьезозависимого протонного генератора $\Delta\mu\text{H}^+$ с вытекающими из этого последствиями – повышением энергообеспеченности гебернирующей ткани, активацией биосинтетических процессов, торможением свободнорадикального окисления.

4. Наиболее действенным средством профилактики и лечения ПОЛ будут, очевидно, биоантиокислители как средства эффективно тормозящие развитие СРО. Эксперименты показали лечебное и профилактическое действие и нормализацию, по критериям свободнорадикального окисления, при атеросклерозе таких факторов, обладающих антиокислительным

действием, как токоферол (О. Н. Воскресенский, 1969), сероводородные ванны (Г. В. Маргулис, А. И. Журавлев, 1971), углекислые ванны (А. И. Журавлев, Г. В. Маргулис, С. Х. Кубли, 1971), никотиновая кислота, ретинол, токоферол (В. И. Калмыков, 1978), ионол и селенит натрия (Т. А. Девяткина, 1977; 1978).

Указанный критерий повышения или понижения суммарной АОА не исчерпывает всей суммы наблюдаемых изменений; в каждом случае специфическими являются величина амплитуды изменений АОА и ее кинетика.

Тем не менее, общим почти для всех частных случаев остается стимулирующее действие повышенной в физиологических пределах АОА. Эта стимуляция проявляется в повышении функциональной активности, ускорении роста организмов, пролиферации тканей и темпа деления клеток.

Снижение АОА приводит к противоположным изменениям с классическими симптомами преждевременного старения, включая развитие дистрофических процессов и атерогенеза.

Интенсификация СРО липидов в условиях модельного атерогенеза, обнаруженная нами по увеличению интенсивности потребления кислорода микросомами гепатоцитов, подтверждается исследованиями по накоплению в организме экспериментальных животных диеновых конъюгатов, перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов, малонового диальдегида в органах и тканях и повышением интенсивности биохемилюминесценции биологических объектов.

Стимуляция ПОЛ подтверждается изменением фракций фосфолипидов, появлением в их спектре лизоформ – лизофосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилсерина и как следствие тому снижением сфингомиелина, фосфатидилинозигла.

Известно, что продукт СРО липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид появляются на стадии накопления в организме свободных радикалов, которые оказывают повреждающее действие на клетку (А. И. Журавлев, 1960).

Исследованиями установлено, что при холестериневой и сочетанной модели атерогенеза в сыворотке крови наблюдалось повышение МДА и диенов, более значимые величины накоплений продуктов ПОЛ наблюдались у животных при сочетанной модели атерогенеза.

Следует отметить прямую связь между уровнем свободнорадикального окисления липидных систем в организме и интенсивностью биохемилюминесценции его биологических субстратов (А. И. Журавлев, 1968).

Изменение интенсивности БХЛ крови и внутренних органов может рассматриваться как интегральная реакция организма, позволяющая судить о характере молекулярных и электронных нарушений биологических структур под влиянием холестериновой и сочетанной модели атеросклероза, что, в некоторой степени, можно экстраполировать и на возникающие механические напряжения в тканях, сопровождающиеся возникновением пьезоэффекта в биологических мембранах, появление ионных токов в клеточных и тканевых жидкостях, в свою очередь, обуславливающих развитие электронегативного поля с характерным свечением.

Исследования БХЛ проводились на отечественном приборе ХЛМЦ1-01. Объектами наблюдения служила нативная кровь, разведенная физиологическим раствором в 100 раз, а также внутренние органы (печень, головной мозг, надпочечники, сердце, почки, селезенка).

Органы предварительно подвергались гомогенизации. Определялась спонтанная БХЛ и индуцированная 0,5 %-м раствором перекиси водорода. Оценка результатов осуществлялась по интенсивности и кинетике протекания реакции сверхслабого свечения до и после добавления индукента.

Как показали результаты экспериментов, интенсивность БХЛ крови и внутренних органов животных повышалась во всех наблюдениях, что объяснялось исходным состоянием и самой методикой исследования. Хемилюминограммы опытных и контрольных животных отличались по интенсивности и кинетике протекания реакции.

Рассматривая хемилюминесценцию как отражение интенсивности перекисного окисления липидов в организме, следует думать, что изменяется стабильное соотношение продуктов ПОЛ и антиоксидантной системы в опытных группах (белые крысы, кролики).

Добавление к исследуемым биологическим объектам цистеина в дозе 2 мг/пробу (антиоксидант) приводило к снижению интенсивности биофлуоресценции до уровня контрольной группы. Все это свидетельствовало о развитии в организме животных с модельным холестеринowym и модельным сочетанным атеросклерозом развившейся свободнорадикальной патологии (А. М. Журавлев, 1982; Е. Б. Бурлакова, Н. М. Эмануэль, 1982; Я. И. Серкиз и соавторы, 1989).

Как в случае первой, так и второй модели атерогенеза в организме опытных животных наблюдалось снижение содержания лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина (табл. 7.12).

Т а б л и ц а 7.12

Состояние белой и красной крови при модельном атеросклерозе $\left(\frac{M \pm m}{p} \right)$

Модель атерогенеза	Показатели		
	эритроциты (т/л)	лейкоциты (г/л)	гемоглобин (ммоль/л)
Холестериновая модель	4,1 ± 0,18* <i>p</i> < 0,05	6,2 ± 0,25* <i>p</i> < 0,05	9,4 ± 0,51* <i>p</i> < 0,05
Контроль	5,1 ± 0,27	7,9 ± 0,43	11,2 ± 0,38
Сочетанная модель (белые крысы)	3,3 ± 0,14* <i>p</i> < 0,05	4,2 ± 0,55* <i>p</i> < 0,05	6,80 ± 0,22* <i>p</i> < 0,05
Контроль	4,7 ± 0,38	8,7 ± 0,64	10,80 ± 0,47

Одним из ведущих процессов в снижении содержания белой и красной крови следует считать накопление в организме экспериментальных животных перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов, диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, которые нарушают структуры биологических мембран, снижают их резистентность к воздействию эндо- и экзотоксинов.

Е. Б. Бурлаковой (1965, 1967, 1968), Е. Б. Бурлаковой и соавторами (1968) показана большая роль серосодержащих соединений в разрушении липидных перекисей. Важное значение в этих превращениях принадлежит SH-группам, глутатиону, витамину С, Е, адреналину, гаптоглобину, пероксидазе, каталазе, глутатионпероксидазе (А. И. Журавлев, 1982).

Изменения в содержании антиокислителей в органах и тканях было сходным в условиях двух моделей атерогенеза. Длительное вскармливание кроликов холестерином и воздействие на белых крыс полиоксиэтиленоксипропилентриолом в дозе 0,5 г/кг массы в сочетании с эмоциогенным стрессом приводило к снижению содержания SH-групп, гаптоглобина, повышению глутатиона, витамина С и снижению активности ферментов глутатионпероксидазы, каталазы, пероксидазы в органах и тканях (табл. 7.13).

Следует отметить, что сочетанная модель атеросклероза оказывала более заметное влияние на состояние антиоксидантной системы.

Экспериментально показано влияние биоантиокислителей на активность мембранных липидзависимых ферментов, на активность которых сходно влияет как мягкое удаление липидов, так и накопление в мембранах перекисей (А. И. Журавлев, 1982).

Т а б л и ц а 7 . 1 3

Состояние антиоксидантной системы при модельном атеросклерозе $\left(\frac{M \pm m}{p}\right)$

Показатели	Модель атерогенеза, доза, вид животных			
	холестериновая модель на кроликах (1 г/кг)		звуковой стресс 1 х (80 дБ) + токсический стресс атерогенным ПАВ (полиоксипропилентриол 0,5 г/кг), белые крысы	
	контроль	опыт	контроль	опыт
SH-группы (мг %)	60,4 ± 1,72	54,5 ± 2,3* <i>p</i> < 0,05	58,2 ± 3,24	52,3 ± 10,3* <i>p</i> < 0,05
Глутатион (мг %)	4,96 ± 0,9	6,80 ± 0,50* <i>p</i> < 0,05	5,22 ± 0,95	6,97 ± 0,82* <i>p</i> < 0,05
Витамин С, надпочечники (мг %)	18,6 ± 0,7	24,2 ± 1,5* <i>p</i> < 0,05	20,1 ± 0,8	23,08 ± 1,36 <i>p</i> < 0,05
Гаптоглобин (г/л)	1,54 ± 0,03	1,10 ± 0,2* <i>p</i> < 0,05	1,3 ± 0,09	1,17 ± 0,15 <i>p</i> < 0,05
Глутатион-пероксидаза	60,30 ± 1,70	48,2 ± 1,9* <i>p</i> < 0,05	57,62 ± 2,47	42,33 ± 1,56* <i>p</i> < 0,01

В этой связи нами проведено исследование ряда биохимических и гистохимических показателей, отражающих состояние антиоксидантной системы и окислительно-восстановительных процессов, представленных ферментной системой.

В работе определялась активность ферментов каталазы, пероксидазы, глутатионпероксидазы, Ca^{2+} и Mg^{2+} АТФазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, альдолазы, гексокиназы, холинэстеразы, ацетилхолинэстеразы, аденилатциклазы, гуанилатциклазы, креатинфосфокиназы, фосфофруктокиназы, щелочной фосфатазы, аланиновой (АЛТ) и аспарагиновой (АСТ) аминотрансферазы, γ -глутаматдегидрогеназы, α -гидроксипутиратдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, церулоплазмина, моноаминоксидазы, малатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, α -глицерофосфатдегидрогеназы, лейцинаминопептидазы, НАДН₂.

Известно, что ферментные системы тесно связаны с мембранами структурно-кооперативным взаимодействием, исключительную роль в котором играют липиды.

К настоящему времени накоплен богатый материал по липидзависимым ферментам, из которого стало понятно, что многообразие путей влияния липидов на активность ферментов не может рассматриваться в строгих рамках взаимоотношения только этих структур, так как они тесно связаны и с другими функциональными единицами регуляторных метаболических процессов – нервной, эндокринной системой, рецепторным аппаратом и т. д.

Многие авторы полагают, что изменение состава липидов приводит к изменению структуры белковой молекулы, влияя естественно на ее каталитическую активность за счет изменения соотношения липид/белок (R. Coleman, 1973; L. S. Grinna, 1975).

Так, в работе N. M. Green, D. A. Thorley-Lawson, L. M. D. Hardwicke, I. I. Toms (1975) изучалась контролируемая делипидизация Ca^{2+} -АТФазы. Показано, что при концентрации фосфолипидов, равной 30 моль/моль белка, активность фермента не изменяется, при снижении концентрации липидов до 10 моль/моль белка происходит полная потеря активности. При концентрации от 10 до 5 моль/моль белка сохраняется возможность реактивации фермента добавлением липидов, концентрация ниже 5 моль/моль белка приводит к необратимой инактивации. Авторы приходят к выводу, что концентрация фосфолипидов, равная 30 моль/моль белка, обеспечивает для белка среду, сохраняющую конфигурацию Ca^{2+} -АТФазы из саркоплазматического ретикулума в форме, в которой она имеет возможность связывать Ca^{2+} . Мы же добавим к этому, что, по-видимому, фосфолипиды, обнаруживающие пьезоэлектрические свойства, выполняют определенную функцию в энергетическом обеспечении активации и работы Ca^{2+} -АТФазы, а, возможно, и других АТФаз.

Аналогичные данные получены и при изучении дыхательной активности митохондрий.

Полное, но обратимое угнетение активности наблюдается при удалении 70 % фосфолипидов, удаление более 90 % фосфолипидов делает его необратимым (P. Swanljung, L. Frigeri, K. Ohlson, L. Ernster, 1973).

В работе Е. Б. Бурлаковой, М. И. Джалябова, В. О. Гвахария и соавторы (1982) было показано изменение активности Mg^{2+} , Ca^{2+} , N^+ , K^+ АТФазы от вязкости липидной компоненты. Авторы полагают, что вяз-

кость липидной компоненты обуславливает определенное структурное состояние субъединиц фермента, который имеет свой особый центр для связывания липидов – их аллостерических эффекторов.

Известно, что аллостерические взаимодействия – это взаимодействия двух или более пространственно разделенных активных центров, опосредованные через конформационные изменения в молекуле фермента. В настоящее время аллостерические взаимодействия обнаруживают у белков, обладающих четвертичной структурой.

Утверждение, что липиды выступают в качестве аллостерических эффекторов, базируется на данных о том, что способность реактивировать или реингибировать фермент связана с определенными фосфолипидами. Обнаружено, что фосфолипиды увеличивают константу распада фермент-субстратного комплекса (Е. Б. Бурлакова, М. И. Джалябова, В. О. Гвахария и соавторы 1982).

Следует отметить, что вязкость липидной составляющей биологической мембраны отражает ее фазовое состояние и в том числе определяет ее поведение как жидкокристаллического состояния вещества, способного к возникновению пьезоэффекта.

При определенных температурных, упругих, осмотических константах в биологической мембране в силу возникающих конформационных преобразований возникает пьезоэффект, заключающийся в поляризации молекул, появлении на их краях потенциала с возможностью деполяризации (по достижении некоторого критического значения) и перемене знаков «+» на «-».

Практически это проявляется распадом фосфолипидов на составляющие блоки, участвующие в метаболизме «включением» и «выключением» ферментных систем, переменной проницаемости мембран для тех или иных ионов цитозоля клетки и стромы.

Фосфорные остатки являются важной составляющей для синтеза энергоемких молекул, участвующих в обеспечении клетки свободной энергией для выполнения различных видов работы, а также противодействия неизбежно наступающей энтропии, характеризующей исход любого свободнопротекающего химического процесса.

При изучении влияния различных жирных кислот (стеариновой, олеиновой, линолевой и линоленовой) на активность пируватоксидазы было обнаружено, что наибольший реактивирующий эффект наблюдается у олеиновой кислоты.

Для глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатазы, НАДН-цитохром-С-оксидазы обнаружен наибольший реактивирующий эффект у лецитина (Б. И. Курганов, 1975). Аналогичные данные получены для моноаминоксидазы, Ca^{2+} , Mg^{2+} АТФазы, цитохрома P_{450} , РНК-полимеразы, ДНК-полимеразы и т. д.

Приведенные данные позволяют заключить, что фосфолипиды служат специфическими аллостерическими эффекторами активности ферментов. По мнению Е. Б. Бурлаковой, М. И. Джалябова, В. О. Гвахария и соавторы (1982), по аналогии с липидзависимыми ферментами можно говорить о пероксилипидзависимых ферментах. При этом пути влияния перекисей липидов и фосфолипидов на активность ферментов одинакова. Перекиси липидов могут непосредственно воздействовать на каталитические центры фермента, изменять ригидность мембраны, выступать в роли ингибиторов или аллостерических активаторов ферментативной активности. В последние годы появляются исследования, авторы которых придерживаются более общей точки зрения, что регуляция ферментативной активности липидами может осуществляться одновременно по различным механизмам: за счет изменения и вязкости липидной компоненты, и отношения липид-белок, и заряда липидов мембраны, и концентрации липидо-эффектора и т. д. (Е. Б. Бурлакова, А. В. Алесенко, Е. М. Молочкина, 1975; Е. Б. Бурлакова, М. И. Джалябова, В. О. Гвахария, 1982).

Обнаружение липидозависимых ферментов, установление основных закономерностей влияния липидов на их активность позволяют надеяться в будущем на возможность, во-первых, влиять на активность того или иного фермента с помощью направленного изменения состава липидов мембран, во-вторых, объяснять многообразие явлений в клеточном метаболизме при различных патологических состояниях изменением состава и свойств липидов мембран в этих клетках.

Изучение влияния моделей атерогенеза показало изменение динамики целого ряда липидозависимых ферментов. Так, в органах и тканях наблюдалось снижение активности каталазы, пероксидазы, Ca^{2+} , Mg^{2+} АТФазы, церулоплазмина, Г-6-ФДГ и повышение ФФК, АД, ГК (табл. 7.14). Во всех опытных группах в сыворотке крови отмечалось снижение ЛАП, ЛДГ, МДГ, ХЭ, КФК, ЦХО, α -ГБДГ и увеличение активности АсТ, АлТ, γ -ГТ, ЩФ (табл. 7.15).

Анализ ферментативного статуса свидетельствует, что исследуемые модели атерогенеза стимулируют свободнорадикальное перекисное окис-

ление липидов и приводят к накоплению в организме экспериментальных животных перекисей, гидроперекисей, свободных радикалов МДА, диеновых конъюгатов, изменению фракций фосфолипидов мембран, истощению антиоксидантной системы и, как следствие, нарушению структуры мембран.

Т а б л и ц а 7 . 1 4

Динамика активности ферментов при модельном атерогенезе ($M \pm m$)

Тесты Ткани	Вид модели, вид животных			
	холестериновая модель атерогенеза 1 г/кг массы кроликов		комбинированная модель атерогенеза на белых крысах (0,5 г/кг ПАВ) + эмоциогенный стресс (80 дБх1)	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Каталаза крови (каталазное число)	0,9 ± 0,02	0,50 ± 0,03*	0,85 ± 0,008	0,63 ± 0,005*
Церулоплазмин (ед. экстин.)	124,2 ± 4,5	97,2 ± 3,6*	115,6 ± 4,9	88,5 ± 8,4*
Пероксидаза крови (с)	5,6 ± 0,12	7,8 ± 0,26*	4,9 ± 0,3	6,0 ± 0,15*
Mg ² АТФаза, печень (мкм/мг белка 1 ч)	53,4 ± 1,1	30,11 ± 2,6*	50,6 ± 2,1	40,2 ± 0,9*
Ca ² АТФаза, печень (мкм/мг белка 1 ч)	42,4 ± 0,8	28,4 ± 1,3*	39,8 ± 1,5	33,4 ± 1,0*
Г-6-ФДГ, сыворотка (мкат/л)	2,30 ± 0,26	0,79 ± 0,013*	1,80 ± 0,3	1,2 ± 0,07*
ФФК, кровь (мкмоль/г белка 1 ч)	12,1 ± 0,4	15,3 ± 0,7*	14,5 ± 0,8	18,3 ± 0,5*
АД, кровь (мкмоль/г белка 1 ч)	16,2 ± 0,5	27,4 ± 1,3*	24,6 ± 1,3	30,5 ± 1,6*
ГК, кровь (мк. моль/г белка 1 ч)	14,2 ± 1,5	18,9 ± 0,9*	19,3 ± 2,6	27,2 ± 2,2*

Примечание: * – различия достоверные; $p < 0,05$.

Т а б л и ц а 7.15

Изменение динамики активности ферментов
при модельном атерогенезе ($M \pm m$)

Тесты (мкат.л)	Вид модели, вид животных			
	холестериновая модель атерогенеза 1 г/кг массы кроликов		комбинированная модель атерогенеза на белых крысах (0,5 г/кг ПАВ) + эмоциогенный стресс (80дБx1)	
	опыт	контроль	опыт	контроль
ЛДГ	26,3 ± 1,4*	43,2 ± 1,8	40,4 ± 1,5*	57,3 ± 2,6
МДГ	12,4 ± 0,9*	17,4 ± 2,3	26,5 ± 0,9*	33,1 ± 1,4
КФК	47,4 ± 1,8*	65,4 ± 2,7	40,8 ± 1,3*	60,2 ± 3,7
АсТ	1,1 ± 0,08*	0,46 ± 0,03	1,40 ± 0,3*	0,59 ± 0,04
АлТ	1,06 ± 0,03*	0,67 ± 0,01	1,32 ± 0,08*	0,73 ± 0,02
γ -ГТ	0,17 ± 0,01*	0,063 ± 0,02	0,09 ± 0,02*	0,160 ± 0,009
α -ГБДГ	12,40 ± 1,3*	16,4 ± 1,11	11,4 ± 0,7*	17,8 ± 1,2
щ. ф	8,97 ± 0,05*	5,4 ± 0,8	7,6 ± 0,8*	4,7 ± 0,5
ЛАП (ммоль/л)	82,3 ± 3,1*	69,6 ± 2,8	85,2 ± 3,7*	73,4 ± 4,6
ХЭ (ммоль/л)	120,3 ± 4,8*	158,4 ± 1,72	109,2 ± 3,6*	147,9 ± 5,6
ЦХО (усл. ед.)	8,3 ± 0,9*	16,40 ± 1,2	11,3 ± 0,7*	15,4 ± 0,44
АХЭ(АРН) (гол. мозг)	1,002 ± 0,016*	1,40 ± 0,1	1,0 ± 0,020*	1,45 ± 0,03

Примечание: * – различия достоверные, $p < 0,05$.

Известно, что многие биохимические реакции протекают с участием ферментов, локализованных в различных структурно-функциональных единицах клетки. Исследованиями установлено изменение динамики активности ферментов эндоплазматической сети, митохондрии, лизосом, цитоплазматической мембраны.

Среди этих структурно-функциональных единиц внутриклеточных систем нарушалась динамика, а в большей мере – активность *O*-деметилазы, НАДН-цитохром-*C*-редуктазы, НАДФН-цитохром-*C*-редуктазы, щелочной фосфатазы, холинэстеразы, ацетилхолинэстеразы, фосфодиэстеразы, глутаматтрансферазы, Ca^{2+} и Mg^{2+} АТФазы, лейцинаминопептидазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, α-гидроксibuтиратдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, фосфофруктокиназы, альдолазы, гексокиназы, креатинфосфокиназы, аденилатциклазы, гуанилатциклазы, моноаминоксидазы, цитохромоксидазы, аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз, сукцинатдегидрогеназы, НАДН-дегидрогеназы.

Значительное количество биохимических реакций протекает с участием ферментов, локализованных в мембранах эндоплазматической сети (ретикулума, цитомембраны). Ферментативные системы этих мембран, как уже упоминалось выше, катализируют окисление НАДН и НАДФН.

Они интимно связаны с процессом гидроксирования собственных и экзогенных соединений. Весьма важную функцию в биохимической «специализации» цитомембран выполняют особые «транспортные» АТФазы, снабжающие энергией осмотические процессы и активирующиеся ионами Mg^{2+} , Ca^{2+} , N^+ , K^+ .

В эндоплазматической сети протекают также синтез гликозамингликанов, ряд реакций обмена углеводов, синтез триглицеридов, фосфолипидов. Наконец, хорошо известно, что многоэтапный процесс синтеза белка протекает в рибосомах, которые плотно прикреплены к эндоплазматическому ретикулуму.

Количество ферментов, связанных с микросомами шероховатого ретикулума, очень велико; в основном они представлены оксидоредуктазами, трансферазами, гидролазами. Наряду с дыхательной цепью митохондрий, сопряженной с синтезом АТФ, клетки располагают свободноокисляющей системой переноса электронов, которая не связана с фосфорилированием и локализована в мембранах эндоплазматического ретикулума (ЭР).

В предыдущих исследованиях нами изучены ферменты ЭР печеночных клеток. Терминальный переносчик дыхательной цепи ЭР цитохром P_{450} , взаимодействуя с кислородом, катализирует включение одного из атомов кислородной молекулы в различные субстраты, осуществляя, таким образом, их гидроксирование (другой атом молекулы кислорода восстанавливается при этом до воды).

Основной в этих процессах является гидроксидирующая микросомальная система, которая метаболизирует эндо- и экзогенные токсины. Основной дыхательной системой микросом, которая связана с гидроксированием, является НАДФН-зависимая цепь переноса электронов.

В качестве начального участка этой цепи служит НАДФН-специфический флавопротеид цитохром B_5 , который переносит электроны на кислород и непосредственно участвует в гидроксировании. По мнению Ю. А. Владимирова и А. И. Арчакова (1972), цитохром B_5 не взаимодействует с кислородом, предполагается, что он переносит электроны в цитохром – P_{450} -оксигеназную систему микросом или цитохром-оксигеназную систему митохондрии.

Результаты исследований показали сходные действия на организм кроликов и белых крыс модельного холестеринаного и модельного сочетанного атеросклероза. Как одна, так и другая модели атерогенеза стимулировали все параметры микросомального окисления, не влияли только на содержание цитохрома B_5 .

Дыхательная цепь эндоплазматического ретикулума и тесно связанные с ней ферменты являются основными энзиматическими системами, ответственными за метаболизм многих физиологически активных соединений, в частности, экзогенного холестерина, ПАВ и их метаболитов.

Оценка ферментативной активности Mg^{2+} и Ca^{2+} зависимых АТФаз свидетельствовала о резком ее снижении в печени опытных групп животных и о ее высокой чувствительности к моделям атерогенеза. Это высокоспециализированные структуры, которые не содержат «посторонних» белков, и единственная функция которых состоит в том, чтобы выделять и накапливать массивные количества ионов для инициирования процессов мышечного сокращения. Изолированные пузырьки СР аккумулируют Ca^{2+} из внешней среды за счет использования химической энергии гидролиза АТФ. При этом концентрация Ca^{2+} внутри пузырька СР может превышать его концентрацию во внешней среде в 3000 раз и более (М. Makinose, 1972).

Активное поглощение Ca^{2+} является следствием ряда реакций, одна из них – образование фосфорилированного интермедиата, как и в случае Na^+ , K^+ , Mg^{2+} АТФазы (G. Inesi, 1970).

Эти ферменты участвуют в синтезе АТФ из АДФ и неорганического фосфата и в гидролизе АТФ. Изменение их активности может свидетельствовать о нарушении окислительного фосфорилирования. По мнению ряда авторов, фосфолипиды являются неотъемлемой частью поддержания ферментативной активности этих транспортных АТФаз (Л. А. Пирузян, В. И. Ковалев, Э. Ф. Ловрецкая и соавторы, 1974). Нарушение микросомального окисления, баланса фракций фосфолипидов, продуктов перекисного окисления липидов и снижение антиоксидантной систем следует считать главными пусковыми механизмами в нарушении активности мембранных транспортных АТФаз. Естественно, что в обеспечении таких универсальных реакций нельзя не учитывать пьезоэлектрические свойства органических веществ. Однако этот фактор еще предстоит изучить.

Следует полагать, что в ходе перекисного окисления фосфолипидов в мембранах образуются, накапливаются и разрушаются различные его

продукты, часть которых способна взаимодействовать с внутриклеточными компонентами или трансформироваться ферментными системами клетки. В литературе описаны самые разнообразные эффекты влияния перекисного окисления липидов на мембранные ферменты – от активации до солубилизирующего действия, с перемещением фермента в водную фазу, до полного ингибирования каталитической активности (С. А. Аристархова, Е. Б. Бурлакова, Н. Г. Храпова, 1975; Е. Т. Денисов, 1973).

В. Е. Каган, Ю. В. Архипенко, Ю. П. Козлов (1982) показали, что на ранних стадиях автоокисления липидов происходит некоторая активация фермента, сменяемая впоследствии ингибированием. Модифицирующее действие перекисного окисления на Ca^{2+} АТФазу в мембранах саркоплазматического ретикулула носит фазовый характер и включает активацию фермента на начальных стадиях процесса и его ингибирование на более поздних этапах (Fe^{2+} +аскорбат) зависимой индукции.

По мнению этих авторов, характер временной зависимости изменения активности фермента в ходе перекисного окисления липидов позволяет предположить, что эффект активации Ca^{2+} АТФазы имеет в своей основе действие промежуточных молекулярных продуктов реакции гидроперекисей фосфолипидов, обладающих детергентными свойствами (И. С. Ажгихин, 1978), а более позднее ингибирование фермента обусловлено, главным образом, изменениями, возникающими при накоплении конечных продуктов перекисного окисления липидов.

Следует отметить, что используемый в сочетанной модели полиоксипропиленгликоль относится к детергентам, обладает мембранотропным действием, способен в процессе метаболизма трансформироваться через накопление углеводов, альдегидов, кетонов, спиртов в организме (В. Г. Башук, В. И. Жуков, Л. А. Бондаренко и др., 1995). Авторы показали, что как сам детергент, так и его метаболиты способны стимулировать ферменты внутриклеточных структур: эндоплазматической сети, митохондрии, лизосом, цитоплазматической мембраны.

В. Е. Каган, Ю. В. Архипенко, Ю. П. Козлов (1982) обнаружили активацию Ca^{2+} АТФазы саркоплазматического ретикулула при добавлении в его суспензию окисленного фосфатидилэтаноламина, обогащенного гидроперекисями. Следует отметить, что активирующее действие низких концентраций детергентов на Ca^{2+} АТФазу хорошо известно из литературы (С. А. Аристархова, Г. В. Архипова, Е. Б. Бурлакова и соавторы, 1976; В. Б. Ритов, 1977).

Авторы доказали, что гидроперекиси фосфолипидов имитируют эффект активации Ca^{2+} АТФазы детергентами, однако увеличение концентрации вводимой гидроперекиси фосфатидилэтаноламина не приводит к ингибированию фермента. Это указывает, что если в основе эффекта активации Ca^{2+} АТФазы может лежать появление в мембране гидроперекисей фосфолипидов, то их никак нельзя считать ответственными за инактивацию фермента.

Рассматривая вопрос влияния поверхностно-активных веществ на биологические мембраны, необходимо выделить три принципиально отличающихся механизма.

Первый состоит в изменении конфигурации мембраны и ее составляющих под действием сил поверхностного натяжения; второй – в возникновении активных центров (местах концентрации векторов силовых возмущений); третий – в биохимических превращениях и взаимодействиях самого поверхностно-активного вещества с другими веществами мембраны. Первые два, с нашей точки зрения, могут иметь отношение к возникновению пьезоэффекта в жидкокристаллических структурах мембран, а также связанными с ним синтетическими процессами.

В экспериментальной части работы обнаружено нарушение содержания SH-групп, глутатиона и других биологических антиоксидантов в условиях моделирования атерогенеза. Известно, что индукция перекисного окисления липидов может сопровождаться окислением SH-групп мембранных белков (E. D. Wills, 1969). Основными субстратами перекисного окисления в мембранах являются наиболее ненасыщенные фосфолипиды (B. E. Каган, O. A. Азизова, Ю. В. Архипенко и соавторы, 1977).

Если справедливо предположение об образовании «перекисных кластеров» в результате латеральной диффузии модифицированных в ходе автоокисления молекул фосфолипидов, то следует ожидать, что в состав таких кластеров должны входить окисленные полиеновые фосфолипиды. Остальные участки липидного бислоя мембраны и микроокружения интегральных белков в мембране должны «обедняться» непредельными фосфолипидами.

Естественно, что по мере вовлечения в процесс перекисного окисления все большего количества фосфолипидов, состав микроокружения Ca^{2+} АТФазы может претерпеть столь существенные изменения, что остающиеся около АТФазы насыщенные фосфолипиды не смогут обеспечить функционально-активную конформацию фермента. В результате

Ca^{2+} АТФаза окажется погруженной как бы в более жесткую матрицу, следствием чего наблюдается снижение активности фермента.

Таким образом, убедительно доказано, что эффект инактивации Ca^{2+} АТФазы при перекисном окислении липидов в значительной мере обусловлен недостатком «жидких» полиеновых фосфолипидов в микроокружении фермента. Об этом убедительно свидетельствует изменение соотношения фракций фосфолипидов в условиях модельного атерогенеза, когда наблюдалось повышение содержания «жестких» фракций фосфолипидов на фоне накопления в организме конечного продукта ПОЛ малонового диальдегида ($p < 0,05$).

«Жесткость» мембраны регламентирует возможность развития в ней пьезоэффекта тем, что возмущающий силовой механический фактор должен преодолеть некоторую пороговую величину, тем самым вызвать деформацию ее структурных элементов. При малых значениях силового воздействия деформация не наступит, при больших – произойдет разрушение структурной целостности составляющих. Поэтому для возникновения пьезоэффекта мембрана должна быть в некоторых ограничениях собственной упругости. Регуляция же этой «упругости-жесткости» определяет критический порог для силового воздействия, что достигается изменчивостью метаболизма структурных элементов, а также поддержанием физиологических констант (температурных, концентрационных и др.).

Совокупность полученных нами результатов позволяет заключить, что обеднение липидного микроокружения Ca^{2+} АТФазы высоконепредельными липидами является одним из очень существенных, но не единственным механизмом ингибирования Ca^{2+} , Mg^{2+} АТФаз, да и других мембраносвязанных липидозависимых ферментов. Характерными для перекисного окисления липидов являются диальдегиды – бифункциональные реагенты, взаимодействие которых со свободными аминогруппами приводит к образованию шиффовых оснований, и соответственно – внутри- и межмолекулярных сшивок.

В. Е. Каган, Ю. В. Архипенко, Ю. П. Козлов (1982) считают, что снижение активности Ca^{2+} АТФазы при перекисном окислении липидов вызвано обратимым ингибированием фермента, а также его необратимой инактивацией. В основе первого эффекта, считают авторы, лежит обеднение микроокружения фермента полиеновыми фосфолипидами и восполнение их дефицита за счет экзогенных добавок, что приводит к реактивации фермента. Основными механизмами необратимой инактивации Ca^{2+}

АТФазы при перекисном окислении липидов является: 1) образование межмолекулярных сшивок за счет взаимодействия со вторичными продуктами; 2) денатурация фермента за счет нарушения гидрофобных, белок-липидных взаимодействий.

Следует еще раз подчеркнуть, что разнообразие продуктов перекисного окисления липидов, а также процессов, развивающихся в результате индукции автоокисления в мембране (например, перераспределение липидов), обуславливает широкий спектр эффектов перекисного окисления липидов на мембраносвязанные белки и ферменты: от их полного ингибирования до существенной активации, от солубилизации в водную фазу до фиксации в мембране и образования межмолекулярных сшивок (В. Е. Каган, О. А. Азизова, Ю. В. Архипенко и соавторы, 1977; В. Б. Ритов, 1977; В. Е. Каган, Ю. В. Архипенко, Ю. П. Козлов, 1982).

Снижение активности мембраносвязанных липидозависимых ферментов тесно коррелирует с состоянием структурно-функциональных единиц клеточных мембран эндоплазматической сети, митохондрий, лизосом, плазматической и ядерной мембраны. Исследования показали, как при холестериновой, так и сочетанной модели атерогенеза, сходный механизм и динамику нарушения ферментативного статуса.

В органах и тканях экспериментальных животных с помощью биохимических и гистохимических методов отмечалось нарушение динамики активности пероксидазы, каталазы, церулоплазмина, Mg^{2+} и Ca^{2+} АТФазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, креатинфосфокиназы, α -гидроксибутиратдегидрогеназы, лейцинаминопептидазы, холинэстеразы, цитохромоксидазы, ацетилхолинэстеразы, сукцинатдегидрогеназы, α -глицерофосфатдегидрогеназы, НАДН-дегидрогеназы, моноаминоксидазы и повышение уровней фосфофруктокиназы, альдолазы, гексокиназы, γ -глутаматтрансферазы, щелочной фосфатазы, аланиновой и аспарагиновой аминотрансферазы (табл. 7.16). Изменение ферментативной активности широкого спектра оксидоредуктаз, трансфераз, гидролаз, лигаз, лиаз дает основание судить о глубоких нарушениях в организме опытных животных окислительно-восстановительных процессов и метаболизма основных энергетических и пластических химических материалов (белки, жиры, углеводы).

Наблюдаемое нарушение биоэнергетических процессов под воздействием холестериновой и сочетанной модели атерогенеза является общебиологической реакцией организма экспериментальных животных на

стимуляцию свободнорадикальной патологии, в основе которой лежит дезинтеграция структурно-функциональных единиц клетки.

Т а б л и ц а 7.16

Динамика активности гистохимических ферментов
в головном мозге (баллы), $M \pm m$

Тесты	Вид модели, вид животных			
	холестериновая модель атерогенеза 1 г/кг массы кроликов		комбинированная модель атерогенеза на белых крысах (0,5 г/кг ПАВ) + эмоциогенный стресс (80 дБх1)	
	контроль	опыт	контроль	опыт
ЛДГ	4,80 ± 0,5	4,53 ± 0,22*	4,96 ± 0,35	2,6 ± 0,15*
СДГ	4,4 ± 0,17	2,4 ± 0,43*	4,2 ± 0,18	2,6 ± 0,33*
МДГ	2,6 ± 0,17	1,3 ± 0,2*	3,5 ± 0,14	2,2 ± 0,30*
Г-6-ФДГ	2,4 ± 0,25	1,6 ± 0,15*	3,3 ± 0,22	2,3 ± 0,16*
НАДН-д	2,9 ± 0,13	1,4 ± 0,18*	3,0 ± 0,23	1,8 ± 0,14
МАО	3,5 ± 0,26	2,4 ± 0,23*	4,1 ± 0,26	2,7 ± 0,22*
α ГФДГ	2,8 ± 0,21	1,7 ± 0,3*	3,8 ± 0,24	2,5 ± 0,28*

Примечание: * – различия достоверные, $p < 0,05$.

Эти процессы преимущественно связаны с митохондриальным структурно-метаболическим комплексом. Во внутренней мембране митохондрии локализованы основные ферментные комплексы, осуществляющие окисление субстратов, перенос электронов по дыхательной цепи и сопряженный с ним механизм аккумуляции энергии.

В состав этих ферментных комплексов входит ряд последовательных, контролируемых ими реакций, с помощью которых организм использует энергию связей органических молекул для синтеза макроэргических соединений типа АТФ. Молекулярной основой этих процессов является ступенчатое окисление углерода органических молекул до CO_2 и перенос водорода (протоны плюс электроны) к кислороду с образованием молекул воды. В упрощенном виде энергия, получаемая при клеточном дыхании, является, в какой-то мере, энергией реакции водорода с кислородом.

Митохондрии являются относительно автономными органеллами, чьи структуры приспособлены для осуществления такой основной функ-

ции, как превращение энергии окисления в энергию резервных макроэргических связей. Аэробное фосфорилирование и образование макроэргических связей протекают на внутренней мембране.

Образование CO_2 связано с окислением субстратов в цикле лимонной кислоты внутри митохондрии (в их матриксе), а последовательность реакций переноса водорода и электронов (дыхательная цепь) локализована на внутренней митохондриальной мембране. Эта цепь включает НАДН-дегидрогеназы, FADH-дегидрогеназы (флавопротеида), негемовые железосодержащие белки, кофермент Q (убихинон, гидрохинон, хинон) и цитохромы B_5 , C_1 , C , α и α_3 .

Энергия, выделяющаяся в ходе переноса водорода и электронов в дыхательной цепи, используется для образования АТФ в ходе аэробного фосфорилирования. Для образования одной молекулы АТФ из АДФ и фосфата необходима энергия, соответствующая изменению потенциала, равного 0,15 В.

Окисление одной молекулы НАДН (через флавопротеиды) обеспечивает в среднем синтез трех молекул АТФ, в то время как окисление сукцината (не включающее НАДН) дает энергию для образования двух молекул АТФ. Реакции дыхательной цепи сопряжены с реакцией аэробного фосфорилирования.

Образующиеся внутри митохондрии молекулы АТФ переносятся наружу, обмениваясь на молекулы АДФ, находящиеся вне митохондрии.

Многие эндо- и экзогенные химические соединения нарушают функционирование митохондриальной электронно-транспортной цепи и прерывают окислительные процессы, служащие основным источником энергии в организме (С. Н. Голиков, И. В. Саноцкий, Л. А. Тиунов, 1986). Исследование ферментативной активности митохондриальных энзимов в условиях изучения модельного атерогенеза обнаружило снижение активности в головном мозге сукцинатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, моноаминоксидазы, НАДН-дегидрогеназы и цитохромоксидазы.

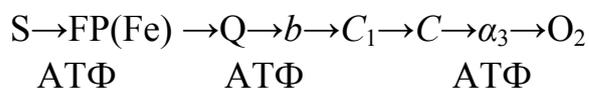
Следует сказать, что из всех переносчиков электронов только цитохром α_3 (цитохромоксидаза) способен непосредственно переносить электроны на кислород, выполняя роль терминальной оксидазы дыхательной цепи митохондрии. Через это звено должны пройти электроны, получаемые при окислении самых различных органических молекул, используемых в митохондриях для регенерации энергии. Изучение влияния модельного атерогенеза показывает, что это звено несколько подавляется снижением

активности цитохромоксидазы и тем самым способствует торможению аэробных окислительных процессов.

Вместе с тем обнаружено нарушение функционирования дыхательной цепи и в других ее звеньях. Так, в опытных группах животных снижалась активность НАДН-дегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, моноаминоксидазы, малатдегидрогеназы и аденилатциклазы. Известно, что функционирование митохондриальной дыхательной цепи сопряжено с окислительным фосфорилированием.

Окисление молекулы НАДН одним атомом кислорода в митохондриях сопряжено с образованием трех молекул АТФ. Установлено, что по пути продвижения электронов от НАДН к кислороду по митохондриальной цепи существует три пункта сопряжения дыхания и фосфорилирования.

Так, одна молекула АТФ образуется при фосфорилировании АДФ во время продвижения пар электронов от НАДН к убихинону. Вторая молекула АТФ образуется, когда цитохром *b* восстанавливает цитохром *C*, и третья молекула АТФ образуется на терминальном участке, когда происходит окисление цитохрома *a*₃ молекулярным кислородом. Общая схема митохондриальной системы млекопитающих имеет следующий вид (М. Диксон, Э. Уэбб, 1982).



где *S* – субстрат; *FP(Fe)* – флавопротеид, специфичный к определенному субстрату и связанный с негемовым железом; *Q* – убихинон; *b*, *C*₁, *C*, *a*₃ – цитохромы.

Процессы дыхания и фосфорилирования связаны между собой через электрохимический потенциал ионов водорода на митохондриальной мембране (Я. Мусил, О. Новакова, К. Кунц, 1984).

Результаты опытов показывают, что испытываемые модели атерогенеза способны нарушать окислительное фосфорилирование и синтез макроэргических соединений типа АТФ. Анализ показывает нарушение в организме экспериментальных животных функционирования митохондриального структурно-метаболического комплекса, которое приводит к снижению биоэнергетических процессов.

Следует сказать, что в основе обнаруженных изменений могут быть повреждение структуры мембран митохондрии в результате стимуляции СРО липидов, изменение фонда фосфолипидов и активность, прежде всего,

биоэнергетических ферментов гексокиназы, фосфофруктокиназы, креатинфосфокиназы, Ca^{2+} , Mg^{2+} АТФазы и др.

Биологические мембраны относятся к числу главных структурных элементов клетки, ответственных за ее целостность и гетерогенность. Они осуществляют регуляцию метаболизма путем объединения групп энзимов в единые ферментные ансамбли и через системы сопряженного переноса ионов.

Несмотря на определенные функциональные различия, все биологические мембраны животных клеток построены по единому плану и представляют собой белково-фосфолипидные комплексы, имеющие мозаичную структуру, в которой молекулы структурного белка погружены в липидную мембрану. Химические эндо- и экзогенные факторы повреждают биологические мембраны, взаимодействуя с составляющими их компонентами.

Активные формы кислорода, перекись водорода, органические перекиси и другие окислители, взаимодействуя с липидами биомембран, образуют перекиси липидов, что сопровождается структурными изменениями и приводит к нарушению проницаемости.

Известны химические вещества, способные повреждать структуру биомембран за счет связывания входящего в их состав холестерина. Повреждение биомембран может наступить и в том случае, когда под воздействием химических веществ активируются или ингибируются эндогенные фосфолипазы (А. А. Покровский, 1976).

Повреждение биомембран сопровождается нарушением процессов сопряженного переноса ионов и ионного равновесия. Обнаруженные изменения структурно-функциональных единиц биомембран у экспериментальных животных в условиях модельного атерогенеза свидетельствуют о глубоких нарушениях ОВП, антиоксидантной системы, микросомального окисления и биоэнергетического гомеостаза.

-

Одним из замечательных открытий биохимии и физиологии последних 30-ти лет, безусловно, следует считать выяснение биологической роли аденозин 3', 5'-монофосфата, или, как принято называть, циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и гуанозин 3', 5'-монофосфата (цГМФ). Было установлено, что цАМФ играет ключевую роль в регуляции химических процессов в живом мире от бактерий до человека.

Первоначально была установлена роль цАМФ как внутриклеточного медиатора действия различных биогенных аминов и полипептидных гормонов. В последующем была выдвинута концепция вторичного посредника, согласно которой биогенные амины, гормоны (первые посредники) изменяют концентрацию цАМФ, цГМФ внутри клеток, что приводит к изменению скоростей различных процессов в клетках (Л. А. Пирузян, В. И. Ковалев, Э. Ф. Лаврецкая и соавторы, 1974).

Циклический аденозинмонофосфат синтезируется из АТФ с участием фермента аденилатциклазы. В большинстве клеток аденилатциклаза локализована в плазматических мембранах. В нервных клетках Mg-содержащий фермент (АЦ) обнаруживается также в митохондриях и микросомах и является мембраносвязанным ферментом. Ферментом, гидролизующим цАМФ до 5'-АТФ, является циклонуклеотидфосфодиэстераза (3', 5' – цАМФ-фосфодиэстераза). Это единственная ферментативная реакция, приводящая к дезактивации цАМФ. Наибольшая цАМФ-фосфодиэстеразная активность обнаружена в коре головного мозга.

В настоящее время установлено, что цАМФ может регулировать суммарную ферментативную активность клеток эффекторов по двум основным механизмам: 1) изменять активность уже синтезированных клетками ферментов; 2) повышать или понижать скорость синтеза ферментов. Особенно велика роль цАМФ в регулировании активности протеинкиназы.

В настоящее время предполагается одновременное существование в одной клетке нескольких протеинкиназ, активируемых различными циклическими нуклеотидами, и катализирующих фосфорилирование различных белков. Сейчас хорошо известно, что действие большого числа гормонов и биологически активных веществ осуществляется с участием цАМФ.

Общеизвестно, что «первичным» рецептором действия гормонов является аденилатциклаза, активация которой в мембранах приводит к накоплению цАМФ и активации протеинкиназы. Особо значимым цАМФ является в процессах липолиза, транскрипции генов, синтеза РНК, ДНК, белка (Л. А. Пирузян, В. И. Ковалев, Э. Ф. Лаврецкая и соавторы, 1974).

Многообразие эффектов цАМФ дает возможность рассматривать его в организме в качестве универсального регулятора биологических процессов. Такое значение цАМФ и влияние на его концентрацию в клетке эндо- и экзотоксинов позволяет сделать вывод, что ферменты, участвующие в синтезе и распаде цАМФ, являются точкой приложения действия

большинства ксенобиотиков. ЦАМФ может проявлять регуляторные функции на любом метаболическом уровне, в которых участвуют различные белки: регуляторные белки ядер, ферменты, белки мембран.

Внутриклеточная медиация выполняет важную функцию в энергетическом обеспечении клеток всех типов. О состоянии данной системы у экспериментальных животных судили по активности аденилатциклазы, гуанилатциклазы, фосфодиэстеразы, содержанию в органах и тканях циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) и поглощению $^{45}\text{Ca}^{2+}$ мембранами синапсом печени и головного мозга.

Энергетическими компонентами аденилатциклазной системы являются аденозинмонофосфат (АМФ), аденозиндифосфат (АДФ), аденозинтрифосфат (АТФ), неорганический фосфор и магний. АТФ, обладая высоким энергетическим потенциалом, выполняет функцию переносчика химической энергии. При различных патологических процессах нарушается обмен макроэргических фосфатов, снижается содержание АТФ в клетках. Предыдущие исследования показали нарушение у опытных групп животных дыхания и окислительного фосфорилирования. АТФ, АДФ, АМФ, неорганический фосфат представляют систему «аденилатного контроля» метаболического состояния клетки (И. Г. Кукес, 1979; Б. И. Чазов, 1977; Мецлер Дабуоэ, 1980; М. С. Чекман, 1982).

Образование макроэргических фосфорных соединений осуществляется в реакциях окисления субстратов в цикле Кребса и сопряженного с ними окислительного фосфорилирования. Как показали исследования, эти процессы были снижены у всех экспериментальных животных. Вместе с тем, наблюдалась активизация окислительного фосфорилирования в пентозном цикле Эмбдена – Мейергофа – Парнаса, который в этих процессах выполняет вспомогательную функцию.

Об активизации гликолитического пути судили по увеличению активности гексокиназы, фосфофруктокиназы, альдолазы. Эти данные свидетельствуют о гипоксическом состоянии внутренних органов и тканей и адекватной реакции метаболизма, направленного на обеспечение гомеостаза в изменившихся условиях воздействия модельного атерогенеза. Изучение энергетического обмена при формировании механизма атерогенеза является актуальной проблемой биохимии, фармакологии и практической медицины.

Недостаток кислорода сопровождается резким снижением содержания макроэргических фосфатов (А. Хехт, 1975). Так, А. Хехт (1975) отметил,

что дозированное нарушение кровотока при ишемическом состоянии сопровождается снижением синтеза АТФ, АДФ в зоне гипоксии, а значительная активация 5-нуклеотидазы и угнетение аденозиндезаминазы способствуют образованию и накоплению в ткани аденозина.

Происходит также активация другого пути превращения АТФ, идущего с образованием цАМФ. Это, вероятно, является причиной выраженной активации Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулула. По мнению многих авторов (В. Г. Кукес, 1979; Е. Н. Чазов, 1977; А. Хехт, 1975), гипоксия миокарда приводит к разрушению АТФ, АДФ, АМФ и накоплению аденозина внутри миокардиоцитов. При аноксии с нормальным коронарным кровотоком возможности для покрытия энергетических потребностей сердца тем больше, чем ниже потребность миокарда в АТФ и чем выше скорость выработки энергии анаэробным путем (Л. Г. Опи, 1988).

Наиболее уязвимым местом являются компоненты дыхательной цепи, изменения которых приводят к снижению интенсивности аэробного окисления, разобщению дыхания и окислительного фосфорилирования. Одновременно с нарушением синтеза АТФ в митохондриях и накоплением восстановленных форм компонентов дыхательной цепи в ишемизированной ткани происходит мобилизация аварийных компенсаторных механизмов энергообеспечения, в частности гликолиза (И. С. Чекман, 1991).

Аналогичная динамика энергообеспечения опытных животных обнаружена при модельном холестериневом и сочетанном атеросклерозе. Вместе с тем, гликолиз не всегда может обеспечить производство энергии для выполнения значительной работы, особенно в условиях ишемии, когда вслед за активацией происходит его ингибирование накопившимися метаболитами, вызывающими закисление внутриклеточной среды. Критическим фактором при ишемии и гипоксии, определяющим степень повреждения внутриклеточных структур, является уменьшение содержания макроэргических фосфатов.

Это приводит к прогрессирующему снижению способности саркоплазматического ретикулула и митохондрии поглощать Ca^{2+} , накоплению кальция в миоплазме, контрактуре миофибрилл, нарушению непроницаемости сарколеммы, уменьшению ионных градиентов K^+ и Na^+ , утрате возбудимости и, следовательно, к сердечной недостаточности (В. И. Капелько, 1981; Ф. З. Меерсон, 1972; Ф. З. Меерсон, 1984).

Эти авторы считают, что снижение АТФ является следствием нарушения окислительного фосфорилирования.

И. В. Сидоренков, К. Д. Бакулин наблюдали снижение АТФ, АДФ и суммарного содержания адениловых нуклеотидов в миокарде при экспериментальном атеросклерозе. Л. И. Ольбинская и П. Ф. Литвицкая (1986) отметили, что в ишемизированных участках миокарда через 10 мин после наложения лигатуры содержание цАМФ повышается на 30 %, а уровень цГМФ – на 80 %.

На 120-й минуте эксперимента количество указанных циклических нуклеотидов уменьшается. Такая динамика изменения цАМФ и цГМФ обусловлена своеобразной адренергической и холинэргической реакцией нервной системы на ишемию миокарда. Хотя нельзя исключить влияние тиреоидных гормонов, простагландинов, глюкагона и других биологически активных веществ.

По мнению этих авторов, снижение концентрации АТФ при ишемии миокарда обусловлено дефицитом кислорода и уменьшением PO_2 , а также повреждением структур митохондрии. Уже в первые минуты после ишемии в миокарде накапливаются свободные жирные кислоты, Ацил-КоА, который оказывает повреждающее действие на мембраны и ферменты клеток миокарда и митохондрии.

Так, активность ключевого фермента аэробной продукции макроэргических фосфатов сукцинатдегидрогеназы в участках ишемии миокарда снижается. В. Б. Коровкин (1982) показал, что реакция лизосом в ответ на взаимодействие химических веществ зависит в определенной мере не только от стабильности мембраны, но и от состояния системы цАМФ и цГМФ.

При этом они оказывают противоположное действие на мембраны: цГМФ вызывает лабильзацию лизосомальной мембраны и способствует высвобождению лизосомальных ферментов, цАМФ, напротив, стабилизирует мембрану лизосом. Такой же стабилизирующий эффект оказывают факторы, увеличивающие скорость синтеза цАМФ, либо тормозящие распад этого циклического мононуклеотида. Так действуют простагландины E и E_1 , а также ингибиторы фосфодиэстераз.

Многие авторы обнаружили изменения динамики активности ферментов и нуклеотидов циклазного каскада при заболеваниях почек, сердца, печени, головного мозга, алкогольной интоксикации и др. (В. Н. Капелько, 1981; Ф. З. Меерсон, 1984; Л. Г. Опи, 1988; И. В. Сидоренков, Н. Д. Бакулин, 1972; И. С. Чекман, 1982; А. И. Черкес, 1976).

Все авторы были единодушны в том, что при гипоксических и ишемических состояниях тканей происходит значительное уменьшение

содержания АТФ и суммарного количества адениловых нуклеотидов при одновременном увеличении концентрации АМФ, что, вероятно, связано с угнетением окислительного фосфорилирования.

Исследование процессов внутриклеточной медиации опытных и контрольных групп животных в условиях модельного атерогенеза показало изменение практически всех звеньев этой нейромедиаторной системы. Так, при сочетанной и холестериневой модели атеросклероза в плазме крови наблюдалось повышение содержания цАМФ и снижение уровня цГМФ (табл. 7.17).

Т а б л и ц а 7 . 1 7

Содержание цАМФ и цГМФ в плазме
в условиях модельного атерогенеза (нмоль/мл), $\frac{M \pm m}{p}$

Модель атерогенеза	цАМФ	цГМФ
Токсический стресс 0,5 г/кг ПАВ + звуковой стресс 80 дБ x 1 на белых крысах	164,51 ± 21,10 $p < 0,05$	5,80 ± 0,25 $p < 0,05$
Контроль	115,13 ± 12,46	9,10 ± 0,86
Холестериновая модель на кроликах (1 г/кг массы)	170,4 ± 15,6 $p < 0,05$	7,9 ± 0,55 $p < 0,05$
Контроль	136,2 ± 8,7	12,4 ± 0,65

В печени, почках, селезенке опытных животных отмечался пониженный уровень цАМФ (табл. 7.18). Активность аденилатциклазы в головном мозге была снижена, в печени повышена (табл. 7.19). В коре головного мозга опытных экспериментальных животных определялось снижение активности аденилатциклазы и содержания цАМФ. Вместе с тем повышались активность гуанилатциклазы, фосфодиэстеразы и содержание цГМФ (табл. 7.20).

Анализ показывает наличие глубоких нарушений внутриклеточного метаболизма в условиях формирования модельного атерогенеза на экспериментальных животных. Предыдущие исследования показали, что в условиях формирования модельного атерогенеза нарушается структура биомембран, окислительное фосфорилирование, внутриклеточная медиация и др. В этой связи представляет большой интерес изучение состояния кальциевого внутриклеточного обмена.

Т а б л и ц а 7.18

Содержание цАМФ в органах и тканях в условиях модельного атерогенеза

(нмоль/1 г ткани), $\frac{M \pm m}{p}$

Модель атерогенеза, животные	Органы		
	печень	почки	селезенка
Токсический стресс 0,5 г/кг ПАВ + звуковой стресс 80 дБ х 1 на белых крысах	78,25 ± 5,76* <i>p</i> < 0,05	117,83 ± 20,4* <i>p</i> < 0,05	153,74 ± 18,89 <i>p</i> > 0,05
Контроль	170,12 ± 12,01	210,35 ± 17,4	188,24 ± 14,85
Холестериновая модель на кроликах (1 г/кг массы)	122,40 ± 9,2 <i>p</i> < 0,05	185,30 ± 9,4 <i>p</i> < 0,05	175,20 ± 5,8 <i>p</i> < 0,05
Контроль	160,25 ± 7,3	230,84 ± 12,9	210,20 ± 15,40

Функциональная роль поступления ионов Ca^{2+} из внеклеточной среды внутрь клетки во время ее активности не во всех случаях одинаково очевидна. В одних структурах такое поступление прямо связано с запуском определенной клеточной функции, и роль этих ионов в качестве посредников между поверхностной мембраной и соответствующим эффекторным аппаратом клетки вполне ясна.

К таким структурам относятся синаптические окончания нервных клеток, выделяющие в ответ на приход нервного импульса накопленное в них медиаторное вещество, и мышечные клетки, отвечающие на деполяризацию поверхностной мембраны сокращением.

Важная роль ионов Ca^{2+} в осуществлении мышечного сокращения была определена еще в прошлом столетии Рингером (1883) при изучении им значения различных составляющих крови в поддержании сократительной способности изолированного сердца лягушки.

Последовавшая потом длительная серия исследований, подробное освещение которой выходит за рамки этой работы, привела к прочному утверждению положения о том, что во всех типах мышечных волокон внутриклеточный уровень свободного кальция является первичным регулятором цикла сокращение-расслабление (Ebashi, 1980), хотя детали такой регуляции, в частности роль в ней поступления ионов Ca^{2+} через поверхностную мембрану во время возбуждения, для различных типов мышечных волокон могут существенно отличаться.

Влияние моделей атеросклероза на активность аденилатциклазы
в препаратах мембран синапсом печени и мозга
(pmol/c AMФ/мг белка/мин), $M \pm m$

Модель атерогенеза, животные	Мозг			Печень		
	Аденилатцик- лаза	+Изопротеринол	+NaF	Аденилатцик- лаза	+Изопротеринол	+NaF
Токсический стресс 0,5 г/кг ПАВ+звуковой стресс 80 дБ x 1' на белых крысах	0,58 ± 0,011* $p < 0,05$	0,50 ± 0,002* $p < 0,05$	0,82 ± 0,031* $p < 0,05$	2,57 ± 0,015* $p < 0,05$	3,43 ± 0,05* $p < 0,05$	4,08 ± 0,067* $p < 0,05$
Контроль	1,08 ± 0,013	1,117 ± 0,016	1,79 ± 0,08	1,96 ± 0,008	2,85 ± 0,01	3,07 ± 0,06
Холестериновая модель на кроликах (1 г/кг массы)	0,75 ± 0,09* $p < 0,05$	0,80 ± 0,004* $p < 0,05$	1,20 ± 0,06* $p < 0,05$	2,46 ± 0,04* $p < 0,05$	3,50 ± 0,06* $p < 0,05$	3,80 ± 0,034* $p < 0,05$
Контроль	1,30 ± 0,22	1,23 ± 0,03	1,60 ± 0,05	2,15 ± 0,07	2,90 ± 0,03	3,20 ± 0,076

Т а б л и ц а 7.20

Влияние моделей атерогенеза на состояние внутриклеточной медиации ($M \pm m$) коры головного мозга

Модель атерогенеза	АЦ пмоль цАМФ (мг белка·мин)	цАМФ фмоль/мг ткани	ГЦ пмоль цГМФ (мг белка·мин)	цГМФ/мг ткани	Фосфодиэстераза нмоль/мг белка · мин
Холестериновая (кролик)	67,3 ± 7,1*	322,5 ± 24,0*	1,5 ± 0,16*	94,5 ± 6,1*	12,7 ± 0,43*
Контроль	101,1 ± 9,4	471,2 ± 18,7	0,75 ± 0,06	48,9 ± 2,3	4,95 ± 0,13
Сочетанная (на белых крысах)	58,9 ± 4,3*	167,2 ± 15,8*	1,93 ± 0,17*	81,5 ± 7,6*	8,12 ± 0,34*
Контроль	96,7 ± 5,1	490,2 ± 23,5	0,84 ± 0,02	50,0 ± 2,5	5,2 ± 0,33

Примечание: * – различия достоверные, $p < 0,05$.

Посредническая роль ионов Ca^{2+} в запуске процесса выделения медиатора была обнаружена значительно позднее в классических экспериментах Каца и Миледи (1967) на нервно-мышечных синапсах. Результаты этих опытов были настолько однозначны, что сделанный на их основе вывод сразу же лег в основу современного общего понимания механизма синаптической передачи, хотя и в этом случае детали осуществления ионами Ca^{2+} их сопрягающей роли все еще являются предметом дискуссий.

Вместе с тем, наличие эффективного механизма транспорта ионов Ca^{2+} через поверхностную мембрану было обнаружено и у других соматических клеток, которые не выполняют эффекторной функции. Существенное значение может иметь активация входящими ионами кальция противоположно направленными выходящими токов, открытая (R. W. Meech, 1974) и затем подробно изученная.

Одним из путей дальнейшего выяснения этой стороны функциональной роли кальциевых токов явилось построение моделей мембраны дендритов или сомы клетки, которое качественно показало, что «медленные» кальциевые входящие токи в этих структурах могут иметь существенное значение в определении характера разряда (R. Linas, I. Steienberg, K. Walton, 1981; A. L. F. Gorman, A. Hermann, M. V. Thomas, 1981; С. Л. Миронов, 1983). С другой стороны, накапливалось все больше данных о том, что поступающие в нервную клетку во время активности ионы Ca^{2+} могут

выполнять значительно позднее общую функцию в регуляции ее функционирования.

Внимание к этой стороне вопроса было особенно привлечено после написания биохимических работ по обмену циклических нуклеотидов и обнаружению важной роли ионов Ca^{2+} в регуляции всех звеньев этого обмена (Н. Rasmussen, G. Clayberger, M. C. Guslin, 1979).

Поскольку катализируемое циклическими нуклеотидами фосфорилирование функциональных белков оказалось эффективным регулятором самых различных клеточных процессов, то и возможность участия кальция в таком регулировании приобрела совершенно иное значение.

Возвратное действие ионов Ca^{2+} , поступающих внутрь клетки через поверхностную мембрану во время клеточной активности на ту же мембрану, является наиболее быстро развивающимся функциональным эффектом. Поступающие внутрь клетки ионы Ca^{2+} через кальциевые каналы оказывают и весьма специфическое действие на поверхностную мембрану – активируют в ней калиевые ионные каналы.

Обнаруженное явление оказалось весьма распространенным и было подтверждено для многих клеток, в частности гладкомышечных и сердечных волокон (G. Vassort, 1975). Более того, наличие калиевой проводимости, активируемой ионами Ca^{2+} изнутри клетки, было показано и для невозбудимых клеток эритроцитов (R. Grygorczyk, W. Schwazz, 1983).

Тесная связь функционирования обнаруженных калиевых и кальциевых каналов подтверждается многими исследованиями (R. Meech, 1974; R. Llinas, I. Stecuberg, K. Walton, 1981; G. Vassort, 1975).

П. Г. Костюк, П. А. Дорошенко, А. Я. Цындренко (1980) показали, что повышение содержания свободного кальция внутриклеточно сопровождается отчетливым потенцированием выходящих токов калия. Иными словами, внутриклеточные ионы Ca^{2+} являются в этом случае своего рода кофактором, присутствие которого необходимо для электрического управления воротным механизмом каналов. Очень важной особенностью каналов Са-зависимого калиевого тока, сближающей их с кальциевыми каналами, оказалась их высокая зависимость от внутриклеточного обмена циклических нуклеотидов. Опыты показали, что введение внутрь нейрона каталитической субъединицы цАМФ-зависимой протеинкиназы усиливало выходящие трансмембранные токи без достоверного изменения входящих.

Ж. Е. Peyer, А. В. Cacheli, I. В. Levitan, Н. Reuter (1982) показали, что каталитическая субъединица повышает сродство калиевого канала с внутриклеточным кальцием за счет ее фосфорилирования.