

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1986

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1986

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXII

ВЫПУСК 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1986

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

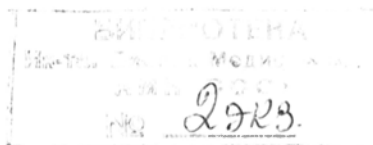
Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА,
В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОК-
ШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РО-
ЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕ-
ВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
ШАПОТ В. С. (Москва)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

43. Weiner T., Sprecher H. — Biochim. biophys. Acta, 1984, vol. 792, p. 293—303.
44. Zilversmit D. B. — J. Lipid Res., 1971, vol. 12, p. 36—42.

Поступила 22.11.84

SPECIFIC CHARACTERISTICS OF THE FATTY ACID COMPOSITION OF PHOSPHATIDYL CHOLINES AND SPHINGOMYELINS IN LOW DENSITY LIPOPROTEINS FROM BLOOD PLASMA OF CHUKOT ABORIGENES

E. N. Gerasimova, M. M. Levacheva, N. V. Petrova, Yu. P. Nikulina, I. N. Ozerova, S. N. Kulakova, F. A. Medvedeva, T. I. Torkhovskaya, I. A. Scherbakova, T. I. Astakhova

All-Union Cardiological Research Centre, Institute of Nutrition, Academy of Medical Sciences of the USSR, N. I. Pirogov II Medical School, Moscow, Institute of Therapy, Siberian Branch of the Academy of Medical Sciences of the USSR, Novosibirsk

Contents of cholesterol, triglycerides, high density lipoproteins (HDL) cholesterol as well

as phospholipid and fatty acid compositions of phosphatidyl cholines and sphingomyelins in low density lipoproteins (LDL) were studied in blood plasma of Chukot aborigenes — Eskimos as compared with Moscow inhabitants. In Eskimos content of HDL cholesterol was higher but concentration of cholesterol and triglycerides was lower in blood plasma. In LDL concentration of sphingomyelins was increased and fatty acid composition of phosphatidyl cholines and sphingomyelins was altered where amount of polyunsaturated fatty acids was elevated (20:5 + 22:5 + 22:6). The specific characteristics of the LDL phospholipids observed in Eskimos might be responsible for the higher liquid properties of the surface monolayer in the lipoproteins; this alteration might be important for the lipoprotein properties and transformation as well as for the properties of membrane-bound enzymes, for synthesis of thromboxane and prostacyclines.

УДК 616.61-008.931:577.152.34]-074

Э. А. Дилакян, Л. А. Локшина, В. Н. Орехович

ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИСТЕИНОВЫХ ПЕПТИДГИДРОЛАЗ ИЗ КОРКОВОГО СЛОЯ ПОЧЕК ЧЕЛОВЕКА

Институт биологической и медицинской химии АМН СССР, Москва

В последние годы появился обширный материал об участии цистеиновых пептидгидролаз в ряде физиологических и патологических состояний [6, 7, 17, 19]. Это вызвало большой интерес к указанным ферментам и привело к открытию ряда новых цистеиновых пептидгидролаз: катепсинов Н, L, Т, М и др. [8, 10, 18]. В то же время цистеиновые ферменты почек человека, за исключением катепсина В, почти не изучены. Тем не менее в настоящее время имеются данные о том, что катепсины В и Н почек активируют неактивный ренин почек и плазмы человека [14, 21, 23]. Полагая, что такого рода процессы могут принимать участие в развитии почечной гипертензии, и учитывая, что изучение ренин-ангиотензиновой системы на протяжении многих лет проводится в нашей лаборатории [5], мы решили исследовать спектр цистеиновых пептидгидролаз в почках человека.

Методика

Ферменты выделяли в частично очищенном состоянии из коркового слоя почек человека. Весь материал получен от доноров, погибших

в результате острой травмы или заболеваний, не связанных с поражением почек. Ткань хранили при -20°C . Корковый слой почек после измельчения, 4-кратного замораживания и оттаивания гомогенизировали и экстрагировали 10^{-3} М раствором ЭДТА (отношение вес/объем 1:2); pH экстракта 5,8—6,2. После центрифугирования (90 мин, 5000 об/мин) pH экстракта доводили до 3,5 добавлением H_2SO_4 . Осадок удаляли центрифугированием, надосадочную жидкость фракционировали сульфатом аммония. Фракцию белков, осаждаемую при 40—70 % насыщения, растворяли в 0,01 М Na-фосфатном буфере pH 6,75, содержащем 10^{-3} М ЭДТА и 0,05 М NaCl. После удаления сульфата аммония на сефадексе Г-50 (фирма «Pharmacia») полученную фракцию белков подвергали гель-фильтрации через сефадекс Г-100 (колонка $2,6 \times 90$ см) при pH 6,75 в указанном выше буфере. Все процедуры проводили при 4°C .

Белок определяли по методу Лоури [13]. Протеолитическую активность исследовали по расщеплению ряда белковых и синтетических субстратов. Большинство опытов проводили в присутствии активаторов цистеиновых пептидгидролаз: дитиотрентола $2 \cdot 10^{-3}$ М (ДТТ) и 10^{-3} М ЭДТА.

Гидролиз гемоглобина (фирма «Reanal», ВНР) проводили при pH 4,1—4,5 в присутствии и в отсутствие ДТТ в течение 1 ч при 37°C . Расщепление азоказеина (фирма «Serva», ФРГ) исследовали при pH 6,3 и 7,2 с добавлением ионов Са и без них. О гидролизе белков судили по приросту в трихлоруксусном фильтрате оптической плотности при 366 нм (для азоказеина) и 280 нм (для гемоглобина).

Активность выражали в единицах оптической плотности на 1 мг фермента за 1 мин.

Активность в отношении гистона определяли при pH 5,8 и 7,2 по описанному методу [3].

В работе использовали следующие субстраты: β -нафтиламиды $N\alpha$ -лейцина (Leu- β -NA), $N\alpha$ -бензонил-DL-аргинина (БАНА), глицил-L-фенилаланина (Gly-Phe- β -NA), p -нитроанилид $N\alpha$ -бензонил-DL-аргинина (БАПА), $N\alpha$ -бензонил-L-аргининамид-HCl, карбобензоксиглутамилтирозин (Z-Gly-Tyr). Все субстраты фирмы «Serva».

Гидролиз Leu- β -NA (0,07 мМ), БАНА (0,15 мМ), при pH 6,0—6,5 и Gly-Phe- β -NA (0,06 мМ) при pH 5,4 проводили в течение 30 мин при 37 °C. Освобождающийся β -нафтиламин после связывания с диметилбензальдегидом определяли спектрофотометрически при 450 нм [9]. Активность выражали в наномолях β -нафтиламина на 1 мг фермента за 1 мин.

Гидролиз 1 мМ БАПА исследовали в течение 2 ч при pH 5,5—6,0 и активность выражали в наномолях p -нитроанилида (А-410) на 1 мг фермента за 1 мин.

Амидазную активность (гидролиз БАА при pH 5,4) определяли с помощью микродиффузионного метода [4].

Во всех названных выше случаях в пробы добавляли ДТТ и ЭДТА ($2 \cdot 10^{-3}$ М и 10^{-3} М соответственно). Гидролиз Z-Gly-Tyr при pH 5,4 исследовали без добавления активаторов цистеиновых пептидгидролаз по методу Райла [20].

Изоэлектрическое фокусирование проводили в колонке ЛКВ № 8101 (Швеция) объемом 110 мл в 1 % растворе амфолинов (pH 3,0—10,0 и 5,0—8,0) в градиенте плотности сахарозы. Опыты проводили в присутствии ЭДТА и

ДТТ (10^{-4} М) при напряжении 200—500 В и температуре 4 °C в течение 43—45 ч. pH измеряли при той же температуре.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены эволюционный профиль и распределение активностей различных цистеиновых пептидгидролаз при гелефильтрации через сефадекс Г-100 белковой фракции (40—70 % насыщения сульфатом аммония) водного экстракта коркового слоя почек человека. В высокомолекулярной зоне (мол. масса белков 130—150 КД) привлекает внимание активность по Gly-Phe- β -NA — субстрату дипептидиламинопептидазы I (катепсин С). В этой же области обнаружена активность по гемоглобину, а также Z-Glu-Tyr — характерному субстрату лизосомной карбоксипептидазы А (катепсин А; на рис. 1 не представлена). В области белков с мол. массой ~100 и ~50—70 КД выявлена активность по азоказени при pH 6,3. Данная тилозависимая казеннолитическая активность увеличивается в присутствии ионов Ca^{2+} (10^{-3} М). Возможно, что эта активность обусловлена действием Ca^{2+} -зависимой нейтральной протенназы [15].

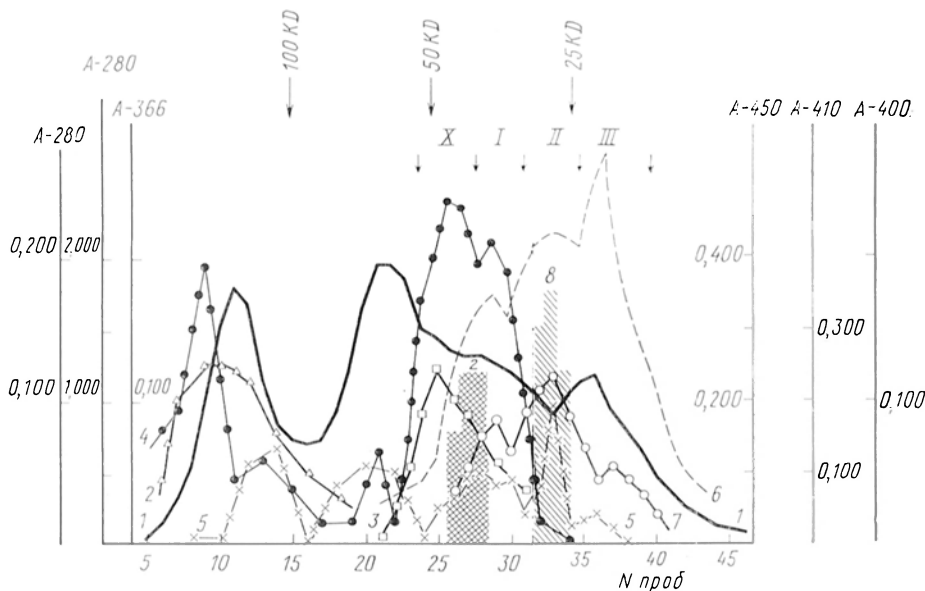


Рис. 1. Гель-фильтрация через сефадекс Г-100 фракции белков, осаждающихся сульфатом аммония при 40—70 % насыщении из водного экстракта коркового слоя почек человека.

Нанесено 170 мг белка; колонка (2,6×90 см) уравновешена 0,01 М Na-фосфатным буфером pH 6,75, содержащим 10^{-3} М ЭДТА и 0,05 М NaCl, скорость элюции 12 мл/ч. 1 — белок (280 нм); 2 — гидролиз Gly-Phe- β -NA (450 нм); 3 — гидролиз БАА (400 нм); 4 — гидролиз гемоглобина в присутствии ДТТ при pH 4,2 (280 нм); 5 — гидролиз азоказени (366 нм); 6 — гидролиз Leu- β -Na (450 нм); 7 — гидролиз БАПА (450 нм); 8 — гидролиз БАПА (410 нм); 9 — гидролиз гемоглобина при pH 3,5 без ДТТ (280 нм).

Распределение белка и активностей пептидгидролаз во фракциях после гель-фильтрации через сефадекс Г-100

Исследуемая фракция	Белок		Гемоглобин		Лизоказеин		БАПА		БАНА		Leu-β-Na	
	общий, мг	выход, %	удельная активность	выход, %	удельная активность	выход, %	удельная активность	выход, %	удельная активность	выход, %	удельная активность	выход, %
Фракция 40—70% насыщения $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	172	100	0,015	100	0,0013	100	0,85	100	2,2	100	4,8	100
Фракция белков после гель-фильтрации:												
фракция X	36,45	21,2	0,054	76	0,001	16	—	—	—	—	—	—
фракция I	19,06	11	0,034	25,5	0,0038	52,9	1,72	22	4,2	21	8,65	19
фракция II	18,32	10,6	0,014	9,9	0,0044	36,6	4,2	52	6,5	44,4	14,0	30,2
фракция III	24,07	13,9	—	—	0,001	8,6	1,23	20	3,2	20,2	16,0	45

Примечание. Активность по гемоглобину и азоказеину выражали в единицах оптической плотности (при 280 и 366 нм соответственно) на 1 мг фермента за 1 мин, активность по БАПА — в наномолях п-нитроанилина (А-410) на 1 мг фермента за 1 мин, активность по БАНА и Leu-β-Na — в наномолях β-нафтиламина на 1 мг фермента за 1 мин.

В зоне белков с мол. массой ~50 КД отмечена амидазная активность по БАА при pH 5,4, которая может быть связана с действием лизосомной карбоксипептидазы В (катепсина В-2). Кроме того, данная фракция белков характеризуется протеолитической активностью по гемоглобину и казеину (см. таблицу). Последняя частично совпадает с протеолитической активностью по расщеплению гемоглобина при pH 3,5, не требующей присутствия тиолов и тормозимой пенстатинном, т. е. активностью катепсина D (мол. масса белков 40 КД; см. рис. 1).

Наиболее детально изучались низкомолекулярные белки, элюирующиеся после катепсина D. На основании распределения активностей по расщеплению казеина, гемоглобина, БАПА, БАНА и Leu-β-Na нами выделены три

фракции — I, II и III (см. рис. 1). Содержание белка и активности этих фракций представлены в таблице (данные одного из опытов). Фракция I составляющая 11% от количества белка, нанесенного на колонку, характеризуется активностями по расщеплению всех перечисленных выше субстратов. Фракция II проявляет наибольшую активность по БАПА (52%) — характерному субстрату катепсина В, и по азоказеину (36,6%) и гистону (последняя не представлена на рис. 1 и в таблице). В отличие от двух названных фракций III почти не гидролизует белковые субстраты. В этой фракции обнаружены максимальная активность по Leu-β-Na и по БАНА (см. таблицу). Соотношение активностей по гидролизу этих субстратов во фракции III составляет 5:1, тогда как во фракции I 2:1

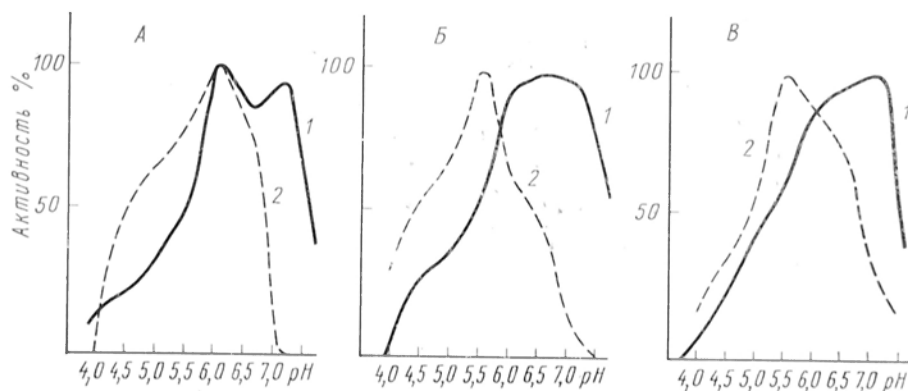


Рис. 2. Зависимость от pH гидролиза Leu-β-Na (1) и БАПА (2) ферментами, содержащимися во фракциях I (А), II (Б) и III (В).

По осям абсцисс — pH; по осям ординат — активность (в %).

С целью изучения ферментов, находящихся во фракциях I—III, был исследован оптимум pH для гидролиза БАПА и Leu-β-NA. Эти субстраты были выбраны, потому что первый из них, согласно данным литературы, гидролизует катепсин В, а второй — катепсин Н, в то время как БАПА и белки расщепляются обоими ферментами [11]. Как видно из рис. 2, А—В, оптимум pH для гидролиза БАПА во всех трех фракциях практически одинаков. Аналогичная картина получена и для гидролиза Leu-β-NA во фракциях II и III; оптимум при pH 7,0—7,1 (см. рис. 2, Б и В). Во фракции I, кроме этого, наблюдается второй оптимум при pH ~6,0 (см. рис. 2, А). Анализ полученных данных позволяет заключить, что во фракциях II и III присутствуют катепсины В и Н; первый гидролизует БАПА с оптимумом в районе pH 5,5, а второй — Leu-β-NA с оптимумом при pH 7,0—7,1. Во фракции II превалирует содержание катепсина В (катепсин В/катепсин Н 1,7:1), тогда как во фракции III отмечено преобладание катепсина Н (катепсин В/катепсин Н 1:2). Во фракции I, кроме указанных ферментов, присутствует одна или несколько протеиназ, гидролизующих как Leu-β-NA, так и БАПА с оптимумом pH 6,0 (см. рис. 2, А). Как видно из таблицы, эта фракция характеризуется наибольшей активностью по отношению к белковым субстратам. При попытке идентифицировать фермент или ферменты, содержащиеся во фракции I, мы обратили внимание на описанные недавно катепсины М, Т и L. Катепсин М, выделенный из печени кролика, расщепляет как исследованные выше синтетические субстраты, так и некоторые белки [18]. Молекулярная масса катепсина М соответствует зоне элюции исследуемой фракции I. Вместе с тем во фракции I может присутствовать и катепсин Т, который обнаружен в почках и печени крысы, имеет мол. массу 35 КД и характеризуется высокой протеолитической активностью [8]. Расщепление белковых субстратов фракцией I может быть также обусловлено действием еще одной цистеиновой протеиназы — катепсина L, который выделен из ряда источников [12, 16, 22, 4]. Однако молекулярная масса описанного катепсина L (23—25 КД) меньше, чем молекулярная масса исследуемой фракции.

Для характеристики катепсинов В и Н и выбора условий для их разделения проведено изоэлектрическое фокусирование указанных ферментов. Показано, что катепсин В существует в виде двух форм с изоэлектрическими точками при pH 5,32 и 5,65; у катепсина Н также обнаружены две формы с изоэлектрическими точками при pH 6,03 и 6,7.

Для дальнейшей очистки катепсинов В и Н использовали хроматографию на КМ-целлюлозе (0,02 M Na-ацетатный буфер pH 5,02, содержащий ЭДТА и ДТТ в концентрации 10^{-4} M). Однако с помощью примененного метода не было достигнуто достаточно полного разделения ферментов.

Таким образом, в корковом слое почек человека нами обнаружены активности следующих цистеиновых пептидгидролаз: дипептидиламинопептидазы I, лизосомных карбоксипептидаз А и В, катепсинов В и Н, а также Ca^{2+} -зависимой нейтральной протеиназы. Выявленную в зоне белков с мол. массой 50—60 КД тиолзависимую протеолитическую активность по расщеплению гемоглобина и казеина мы пока не можем достаточно достоверно соотносить ни с одним из известных ферментов. Возможно, что отмеченная активность обусловлена действием цистеиновой протеиназы, аналогичной описанной нами ранее в почках свиньи [2]. Этот вопрос, а также идентификация ферментов, которые мы сравнивали с катепсинами Т, М и L (фракция I), требуют дальнейшего исследования.

Представленная работа является первым этапом изучения цистеиновых пептидгидролаз почек человека. Интересно отметить, что распределение активностей протеолитических ферментов и спектр цистеиновых пептидгидролаз, выявленные при гель-фильтрации препарата из почек человека, соответствуют таковым, полученным нами ранее при изучении ферментов из почек свиньи [1].

ЛИТЕРАТУРА

1. Дилакян Э. А. — Бюл. exper. биол., 1981, № 3, с. 319—321.
2. Левянт М. И., Орехович В. И., Былинкина В. С. и др. — Биохимия, 1971, т. 36, № 5, с. 926—933.
3. Локшина Л. А., Гуреева Т. А., Лубкова О. И., Орехович В. И. — Там же, 1982, т. 47, № 8, с. 1299—1307.
4. Львов Н. П. — В кн.: Методы современной биохимии. М., 1975, с. 58—61.

5. Орехович В. П., Елисеева Ю. Е., Павлухина Л. В. — Вестн. АМН СССР, 1976, № 9, с. 42—47.
6. Barrett A. J. — In: Proteinases in Mammalian Cells and Tissues / Ed. A. J. Barrett. Amsterdam, 1977, p. 181—208.
7. Ebashi S. — In: Muscular Dystrophy / Ed. S. Ebashi. Tokyo, 1982, p. 265—285.
8. Gohda E., Pilot H. C. — Biochim. biophys. Acta, 1981, vol. 659, p. 114—122.
9. Jarvinen M., Hopsu-Havu V. K. — Acta chem. scand., 1975, vol. B-29, p. 671—676.
10. Kirschke H., Langner J., Riemann S. et al. — In: Proteinases and Tumor Invasion / Ed. P. Strauli et al. New York, 1980, p. 69—79.
11. Kirschke H., Lagner J., Wiederanders B. et al. — Acta biol. med. germ., 1976, Bd 35, s. 285—299.
12. Kirschke H., Langner J., Wiederanders B. et al. — Europ. J. Biochem., 1977, vol. 74, p. 293—301.
13. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. — J. biol. Chem., 1951, vol. 193, p. 265—275.
14. Luetscher J. A., Bialek J. W., Gristis G. — Clin. exp. Hypertens, 1982, Pt A N 11—12, p. 2149—2158.
15. Murachi T. — Trends Biochem. Sci., 1983, vol. 8, p. 167—169.
16. Okitani A., Matsukura U., Kato H., Fjima-ki M. — J. Biochem. (Tokyo), 1980, vol. 87, p. 1133—1143.
17. Ostensen M., Morland B., Husly G., Rekvig O. P. — Clin. exp. Immunol., 1983, vol. 54, p. 397—404.
18. Pontremoli S., Melloni E., Salamino F. et al. — Arch. Biochem., 1982, vol. 214, p. 376—385.
19. Poole A. R., Recklies A. D., Mort J. S. — In: Proteinases and Tumor Invasion / Ed. P. Strauli et al. New York, 1980, p. 81—95.
20. Ryle A. P., Porter R. R. — Biochim. J., 1959, vol. 73, p. 75—86.
21. Slater E. E., Gounaris A. D., Haber E. — Clin. Sci., 1979, vol. 57, Suppl. 5, p. 93s—96s.
22. Stewler G. J., Manganiello V. C. — J. biol. Chem., 1979, vol. 254, p. 11891—11898.
23. Takahashi S., Murakami K., Miyake Y. — J. Biochem. (Tokyo), 1982, vol. 91, p. 419—422.
24. Towatari T., Tanaka K., Yoshikawa D., Katunuma M. — Ibid., 1978, vol. 84, p. 659—671.

Поступила 19.12.84

CHARACTERISTICS OF CYSTEINE PEPTIDE HYDROLASES FROM HUMAN KIDNEY CORTEX

E. A. Dilakjan, L. A. Lokshina,
V. N. Orekhovich

Institute of Biological and Medical Chemistry,
Academy of Medical Sciences of the USSR,
Moscow

Spectrum of cysteine peptide hydrolases was studied in human kidney cortex using a variety of protein and synthetic substrates after the preparation was fractionated on Sephadex G-100 following the precipitation with ammonium sulfate 40-70 %. Activities of dipeptidyl aminopeptidase I, lysosomal carboxypeptidases A and B, cathepsins B and H, as well as the activity of Ca^{+2} -dependent neutral proteinase were detected. A thiol-dependent proteolytic activity, which was apparently stimulated by cathepsin T- and -M like enzymes, was also observed. Besides, the proteinase with molecular mass of 50-60 kDa and high hemoglobin and casein splitting activity was found. This activity cannot be attributed to any of the proteinases so far known. Isoelectrofocusing technique showed that two forms of cathepsin B occurred in human kidney with isoelectric points at pH 5.32 and pH 5.65; two forms of cathepsin H were also detected exhibiting isoelectric points at pH 6.03 and pH 6.7.

УДК 616-008.922.1-008.61-07:616.831-008.931:577.152.143 + 616.831-008.934.663]-02:615.214.32

И. А. Горошинская, А. А. Кричевская, В. С. Шугалей,
К. Б. Шерстнев, Р. М. Баламирзоева

АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ И УРОВЕНЬ γ -АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ГИПЕРОКСИИ. ВЛИЯНИЕ ХЛОРГИЛИНА

Ростовский университет им. М. А. Суслова

Для патологических состояний, сопровождающихся стимуляцией перекисного окисления липидов, характерны качественные изменения каталитических свойств митохондриальной моноаминоксидазы — МАО [амин: кислород-оксидоредуктаза (дезаминирующая) (флавиносодержащая), КФ 1.4.3.4] — ключевого фермента обмена моноаминовых медиаторов. Изменения, проявляющиеся в снижении активности фермента со специфическими субстра-

тами и появлении способности дезаминировать целый ряд веществ, в норме не являющихся субстратами МАО (диамины, полиамины, аммиосола и др.), обнаружены при лучевом поражении, злокачественном росте гипервитаминозе D [2], холодовом стрессе [7], гипоксии [6], экспериментальной гиперхолестеринемии [9], черепно-мозговой травме [1]. При всех изученных состояниях изменяется субстратная специфичность чувствитель-