

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1990

Том 36 выпуск 2

**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

1990

Volume 36 issue 2

**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>

Таким образом, препарат амниоцен не оказывал влияния на скорость синтеза РНК в интактных клетках печени, но угнетал скорость транспорта вновь образованной РНК в цитоплазму. Такой характер действия препарата амниоцена на этапы реализации генетической информации позволяет полагать, что биологический эффект амниоцена не вызван прямым его действием на генетический аппарат клетки, а опосредован воздействием на другие регуляторные системы клетки. Учитывая то, что изменения в регуляции скорости транспорта РНК из ядра в цитоплазму (наблюдаемые в эксперименте) могут быть обусловлены мембранными эффектами в регуляции этого процесса, можно ожидать, что амниоцен оказывает мембранотропное действие.

В связи с этим представляло интерес исследовать влияние амниоцена на скорость транспорта предшественников синтеза РНК в клетки печени крыс. Было обнаружено, что через 20 мин после введения  $^{14}\text{C}$ -оротовой кислоты контрольным животным удельная радиоактивность пула меченых предшественников в клетках печени составила  $170\,000 \pm 8000$  имп/мин на 1 мг; у животных, получавших препарат за 24 ч до забоя, она была достоверно выше таковой в контрольной группе ( $220\,000 \pm 9000$  имп/мин на 1 мг). Так как скорость транспорта предшественников в клетки в значительной степени определяется состоянием мембранной системы, полученные результаты могут служить косвенным подтверждением мембранной активности амниоцена.

Таким образом, препарат амниоцен не оказывал влияния на скорость синтеза ДНК и РНК в интактных клетках печени крыс и несколько уменьшал удельную радиоактивность ДНК в регенерирующей печени через 24 ч после операции, но не влиял на скорость восстановления массы регенерирующей печени. Исследуемый препарат угнетал скорость транспорта рРНК, мРНК и тРНК и несколько увеличивал скорость транспорта предшественников синтеза нуклеиновых кислот в клетках печени. Обнаруженные особенности влияния амниоцена на систему реализации генетической информации указывают, что его действие на генетическую систему может быть опосредовано влиянием на мембранный аппарат клетки.

Исследование влияния амниоцена на основные этапы реализации генетической информации позволило выявить отсутствие влияния его на скорость транскрипции в интактных клетках и высказывать предположение о возможном механизме действия этого препарата, связанного с индуцированным изменением мембран клетки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гринчишин В. П., Винарчук М. П., Осипова Л. А. // Цит. и генет.— 1981.— Т. 15, № 2.— С. 21—26.
2. Самарина О. П., Кричевская А. А., Молнер Я. и др. // Молекул. биол.— 1967.— № 1.— С. 129—141.
3. Спирин А. С. // Биохимия.— 1958.— Т. 23.— С. 656—662.
4. Трудюлюбова М. Г. // Современные методы в биохимии.— М., 1977.— С. 313—316.
5. Шабалкин И. П. // Цитология.— 1977.— № 5.— С. 474—477.
6. Blobel G., Potter V. R. // Biochim. biophys. Acta.— 1968.— Vol. 166.— P. 48—57.
7. Burgos H. // Europ. J. clin. Invest.— 1986.— Vol. 16.— P. 486—493.

8. Cukrova V., Hrkal Z. // J. Chromatogr.-Biomed. appl.— 1987.— Vol. 413.— P. 242—246.
9. Higgins G., Anderson R. N. // Arch. Path.— 1931.— Vol. 12.— P. 186—220.
10. McLachlan R. J., Healy D. L., Robertson D. M. et al. // Biochem. biophys. Res. Commun.— 1986.— Vol. 140, N 2.— P. 485—490.
11. Palmier R. D. // Biochemistry (Wash.).— 1974.— Vol. 103.— P. 611—617.

## EFFECT OF AMNIOGEN ON METABOLISM OF NUCLEIC ACIDS IN RAT LIVER CELLS

A. I. Bozhkov, V. G. Gopkalov, A. I. Sklyar, T. M. Shereshevskaya, M. K. Asadova

Institute of Biology, State University, Kharkov.

Rates of DNA and RNA synthesis as well as transport of RNA into cytoplasmic structures of rat liver cells were studied after administration of amniogen preparation. The drug did not affect the rate of DNA and RNA synthesis in intact rat liver cells, while specific radioactivity of DNA was decreased in regenerating liver tissue 24 hrs after hepatectomy. Amniogen inhibited the rate of rRNA, mRNA and tRNA transport into cytoplasm but contributed to elevated penetration of nucleic acid precursors into rat liver cells. Effect of the drug on cell membrane system appears to be responsible for its biological action related to realization of genetic information.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 617-089.166-059:615.356]-07:616.151.5

С. Л. Галян, А. Ш. Бышевский, В. М. Шафер, В. С. Соловьев, С. Н. Ибрагимов

## ГЕМОКОАГУЛЯЦИОННЫЕ СДВИГИ ПРИ ОПЕРАЦИОННОЙ ТРАВМЕ И ЭКЗОГЕННОЙ ТРОМБОПЛАСТИНЕМИИ НА ФОНЕ ВИТАМИНИЗАЦИИ

Кафедра биологической химии Тюменского медицинского института

Повреждения тканей, сопровождающиеся тромбопластинемией, вызывают активацию свертывания с последующей гипокоагулемией [4, 14], обусловленной потреблением прокоагулянтов [14] и противосвертывающей реакцией [6, 7]. Эти сдвиги можно ослабить путем назначения антикоагулянтов или дезагрегантов, что не всегда оказывает благоприятное влияние на течение заболевания [5, 18]. Напротив, лечебные дозы некоторых витаминов, не вызывая побочных эффектов, позитивно влияют на гемостаз. Так, витамин А повышает антитромбиновую активность [20] и ускоряет тромболитический [3], витамин Е — содержание гепарина в крови [19], витамины С и Р снижают сосудистую проницаемость, давая гемостатический эффект [9, 12], витамин РР активизирует фибринолиз [1]. Данные об антиоксидантной активности витаминов А, Е, РР и мембранопротекторном действии витаминов Р и С усиливают интерес к изучению их связи с гемокоагуляцией, так как интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояние сосудистой стенки коррелируют со свертывающей активностью крови [11].

В настоящей работе в эксперименте изучали влияние витаминов А, Е, С, Р и РР в разных сочетаниях на интенсивность гемокоагуляционных сдвигов и изменения ПОЛ плазмы и эритроцитов в условиях операционной травмы или экzogенной тромбопластинемии.

Состояние гемокоагуляции до и после лапаротомии у животных, получавших различные сочетания витаминов А, Е, С и Р в течение 12 дней, а также витамин РР в последующие 2 дня (дозы, адекватные лечебным)

Показатель	До лапаротомии (12 крыс в группе)				После лапаротомии (12 крыс в группе)			
	без введения витаминов	на фоне введения витаминов			без введения витаминов	на фоне введения витаминов		
		А и Е	Р и С	А, Е, Р и С		А и Е	Р и С	А, Е, Р и С
АВР, с	39,5±0,7	43,2±1,1*	38,8±0,2	40,8±0,9	18,8±0,6*	56,4±0,6*	32,9±0,4	34,5±0,4
ВР, с	56,5±3,6	61,2±2,9*	64,4±3,6	64,0±3,1*	78,2±3,7*	104±7,9*	86,5±7,8*	104±5,3*
АЧТВ, с	28,3±0,2	28,8±0,1	28,6±0,2	24,2±0,1	18,3±0,3*	28,8±1,1	28,7±0,2	24,2±0,4
ПИ, %	95,9±0,9	105±1,3	101±0,4	98,9±1,0	86,0±1,2*	84,8±1,0*	95,8±0,4	88,5±5,1
АА, %	100±0,9	105±1,3	101±0,4	104±1,0	129±2,4*	118±3,8*	106±2,1	104±1,0
АТ III, %	77±0,7	94±0,4*	74,9±1,0	82±0,7*	59,0±3,1*	139±4,4*	92,0±0,5*	105±3,9*
ФГ, г/л	3,4±0,3	3,6±0,7	2,7±0,2	2,7±0,9	3,7±0,3	5,8±0,5	4,0±0,3	3,7±0,2
ФА, мм <sup>2</sup>	51,4±7,0	34,1±2,1*	27,0±3,4*	41,9±4,5	34,8±4,5*	44,7±2,3*	83,7±6,7*	51,2±5,8
ПДФ, мг%	15,6±2,8	12,1±1,9	13,0±1,3	14,6±1,7	105±4,4*	21,4±2,3*	26,1±2,3*	11,8±0,5
ЭТ, %	0	0	0	0	100,0	33,0	50,0	17,0
Ф XIII, с	52,0±4,6	31,8±1,7*	58,3±4,1	43,2±1,2*	30,0±2,3*	36,8±1,4*	55,4±1,3	44,5±0,8

Примечание. Здесь и в табл. 2 — 4: АВР — активированное время рекальцификации, ВР — время рекальцификации, АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время, ПИ — протромбиновый индекс, АА — антитромбиновая активность, АТ III — антитромбин III, ФГ — фибриноген, ФА — фибринолитическая активность, ЭТ — этаноловый тест, Ф XIII — фактор XIII; звездочка — достоверно различающиеся величины ( $p < 0,05$ ).

## Методика

Нелинейных крыс-самцов (масса 130—150 г, 240 особей) содержали на сбалансированном рационе, в состав которого ежедневно вводили различные сочетания витаминов в дозах, адекватных лечебным (А — 600 МЕ, Е — 0,15 мг, С — 45 мг; Р — 20 мг на 100 г массы). Через 12 дней часть животных подвергали лапаротомии, затем в течение 2 сут вводили витамин РР (125 мг на 100 г массы), а на 3-и сутки брали пробы крови. Части животных на 12-й день опыта вводили в яремную вену взвесь тромбопластина и через 0,5 и 1 ч брали пробы крови. Пробы крови брали также перед лапаротомией или введением тромбопластина. Таким же воздействием подвергали животных, не получавших дополнительно к рациону витаминов (контроль). Отбор проб, инъекции и лапаротомию производили под общим эфирным наркозом. Кровь стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия (1:9). В плазме определяли обычное и активированное время рекальцификации, активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновый индекс, активность антитромбина III и фибринолиза, содержание фибриногена, продукты деградации фибрина (ПДФ), фактора XIII и частоту положительных этаноловых проб. При этом были использованы известные методы [8].

Интенсивность ПОЛ плазмы и эритроцитов оценивали по концентрации диеновых конъюгатов, поглощающих свет при 232 нм ( $A_{232}$ ), и продуктов ПОЛ, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой и поглощающих свет при 540 нм ( $A_{540}$ ) [16, 17], по времени поглощения 25 мм<sup>3</sup> кислорода (период индукции, характеризующий антиоксидантную активность) и по скорости окисления [15]. Два последних приема позволяют существенно дополнить данные, полученные другими методами [15—17].

## Результаты и обсуждение

Как видно из табл. 1, введение витаминов А и Е вызвало небольшое, но достоверное удлинение обычного и активированного времени рекальцификации, повысило содержание антитромбина III, снизило активность фактора XIII и фибринолиза. Введение витаминов Р и С не изменило исследуемых показателей, а сочетание витаминов А, Е, С и Р вызвало те же, но менее выраженные сдвиги, что и витамины А и Е. В то же время витамины существенно изменили интенсивность реакции, вызванной лапаротомией. Так, у контрольных крыс после лапаротомии была выявлена гиперкоагуляция (сокращение активированного времени рекальцификации и частичного тромбопластинового времени) с признаками свершившегося свертывания (снижение протромбинового индекса и содержания антитромбина III, повышения уровня ПДФ и частоты положительной этаноловой пробы) и противосвертывающей реакции (рост общей антитромбиновой активности) при заметном угнетении фибринолиза. Сходные по направленности сдвиги вызвала лапаротомия, выполненная на фоне введения витаминов С и Р.

Признаки свершившегося свертывания после лапаротомии на фоне введения витаминов А и Е

Таблица 2

Состояние гемокоагуляции до и после лапаротомии у животных, получавших различные сочетания витаминов А, Е, С и Р в течение 3 дней, а также витамин РР в последующие 2 дня (дозы, в 2 раза превышающие лечебные)

Показатель	До лапаротомии (12 крыс в группе)				После лапаротомии (12 крыс в группе)			
	без введения витаминов	на фоне введения витаминов			без введения витаминов	на фоне введения витаминов		
		А и Е	Р и С	А, Е, Р и С		А и Е	Р и С	А, Е, Р и С
АВР, с	36,5±0,6	33,5±0,9	39,2±0,6	38,5±0,9	17,5±0,8*	32,0±0,9*	35,9±0,3	26,4±0,8*
ВР, с	68,2±2,8	58,0±1,1*	65,7±5,1	63,2±8,9	77,5±4,3	75,8±7,5	88,6±2,7*	80,0±4,3*
АЧТВ, с	24,4±0,3	25,5±0,9	25,5±0,6	27,0±0,4*	16,0±0,6*	21,5±0,8*	20,2±0,5*	22,0±0,9
ПИ, %	100,2±0,9	106,9±2,9*	95,6±2,7	94,2±2,3*	111,8±1,6*	89,6±0,9*	99,4±3,2	97,8±2,5
АА, %	100±3,0	89,6±3,1*	77,4±2,1*	96,5±3,1	104±3,0	128±3,5*	96,8±1,7	124±2,1*
АТ III, %	82,5±0,8	83,0±0,7	71,0±1,1*	85,0±0,6	76,8±1,5*	95,5±2,1*	78,2±1,4	88,4±0,9*
ФГ, г/л	4,8±0,4	2,4±0,6*	1,2±0,5*	4,6±1,6	3,97±0,4	2,6±0,2*	2,8±0,4*	2,6±0,9*
ФА, мм <sup>2</sup>	39,7±4,7	42,2±0,0*	39,2±6,5	26,2±1,2*	74,7±9,0*	55,8±4,2*	37,0±1,8	25,0±2,2*
ПДФ, мг%	16,2±2,7	25,8±9,3*	32,2±5,3*	26,5±9,6*	36,8±12,4*	16,3±2,8	26,7±3,6*	11,5±3,2*
ЭТ, %	0	0	0	0	83	16,7	50	0
Ф XIII, с	52,0±4,6	48,2±0,8	50,5±0,9	4,7±1,3	32,0±1,4*	34,2±0,3*	50,2±1,8	48,4±1,2*

Гемокоагуляционные сдвиги после внутривенной инъекции тромбопластина (активность 22 с, отбор проб крови через 0,5 ч)

Показатель	Контроль	Введение витаминов		
		А и Е	С и Р	А, Е, С и Р
АВР, с	69,3±0,5	58,3±0,5	71,3±1,3	48,7±0,4*
ВР, с	79,0±5,6	97,2±4,6*	105±11,4*	88,0±7,9*
ЛЧТВ, с	95,7±1,5	68,0±1,1*	122±7,3*	61,4±0,8*
ПИ, %	76,4±1,0	87,0±2,1*	43,0±1,4*	90,4±1,4*
АА, %	100±1,1	91,1±0,9*	104±1,0	89,5±2,0*
АТ III, %	247±3,8	146±5,6*	121±7,3*	100±2,4*
ФГ, г/л	0,9±0,15	1,50±0,26*	1,3±0,1*	1,1±0,17*
ФА, мм <sup>2</sup>	51,4±5,1	43,9±3,9	37,6±5,2*	42,8±2,9
ПДФ, мг%	11,9±0,9	9,7±1,1	10,8±0,9	12,7±0,8
ЭТ, частота, %	83,3	16,6	50,0	0
Ф XIII, с	23,8±0,5	36,0±0,5*	16,8±0,8*	42,8±1,7*

Примечание. Здесь и в табл. 4 в группе было по 8 крыс.

были менее заметными (ниже прирост содержания ПДФ и частота этаноловой пробы). Гипокоагулемия у этих животных нельзя объяснить потреблением факторов свертывания — она обусловлена противосвертывающей реакцией (повышение общей антитромбиновой активности за счет антитромбина III). Сочетание витаминов А, Е, Р и С существенно сгладило сдвиги, вызываемые лапаротомией: противосвертывающая реакция была достаточно интенсивной, а признаки свершившегося свертывания минимальными — содержание ПДФ такое же, как в контроле, частота положительных этаноловых проб ниже, чем в контроле и в других подопытных группах.

Увеличение дозы витаминов в 2 раза и сокращение длительности их введения до 3 дней привели к следующему (табл. 2): витамины А и Е вызвали тенденцию к гиперкоагулемии (небольшое укорочение обычного и активированного времени рекальцификации, увеличение протромбинового индекса) с ускорением непрерывно протекающего внутрисосудистого свертывания (небольшое гипофибриногенемия и повышение содержания ПДФ). Сходные сдвиги вызвала удвоенная доза витаминов С и Р или сочетания витаминов А, Е, С и Р, причем в последнем случае наблюдалось еще и укорочение активированного частичного тромбопластинового времени. Этаноловый тест у всех животных этой серии был отрицательным. Это свидетельствует о компенсированности сдвигов, позволяя говорить об ускорении непрерывно протекающего свертывания [4].

Влияние лапаротомии на гемокоагуляцию, как и в первой серии исследований, было ослаблено предварительным введением витаминов, особенно сочетания витаминов А, Е, С и Р; изменения после лапаротомии были минимальными по сравнению с контролем и опытами с другими сочетаниями витаминов.

Влияние тромбопластинемии на фоне введения витаминов изучали в двух вариантах опытов: инъекции в яремную вену взвеси тромбопластина с относительно малой (22 с) и высокой активностью (14 с). В первом опыте изучен эффект всех сочетаний витаминов, во втором — только комбинации витаминов А, Е, С и Р с отбором проб крови соответственно через 0,5 и 1 ч после инъекции. Через 0,5 ч после инъекции (табл. 3) в контроле выявлена гипокоагулемия потребления (удлинено обычное и активированное время рекальцифика-

ции, частичное тромбопластиновое время, снижение фибриногенемия, содержание фактора XIII, частота положительных этаноловых проб) с признаками противосвертывающей реакции (повышение антитромбиновой активности). Сочетание витаминов С и Р не ослабило гемокоагуляционных сдвигов и, кроме того, сопровождалось угнетением фибринолиза.

На фоне введения витаминов А и Е гипокоагулемия была менее выражена, а небольшая частота положительного этанолового теста свидетельствовала о малой интенсивности внутрисосудистого свертывания. Интенсивность гипокоагулемии на фоне введения сочетания витаминов А, Е, С и Р оказалась минимальной, как и признаки противосвертывающей реакции: менее, чем в контроле, были выражены удлинение активированного времени рекальцификации и частичного тромбопластинового времени, снижение протромбинового индекса, прирост антитромбиновой активности.

Положительный эффект сочетания витаминов А, Е, С и Р выявлен также в опытах с тромбопластином большей активности при отборе проб через 1 ч после инъекции (табл. 4). Здесь по сравнению с контролем гипокоагулемия была совсем мало выражена (близки к исходным значения активированного времени рекальцификации и частичного тромбопластинового времени, общей антитромбиновой активности и активности анти-тромбина III), сглажены и признаки свершившегося свертывания (нормальный уровень ПДФ,

Таблица 4

Гемокоагуляционные сдвиги после внутривенной инъекции взвеси тромбопластина (активность 14 с, отбор проб крови через 1 ч)

Показатель	Контроль	Введение витаминов А, Е, С и Р
АВР, с	70,1±0,6	70,0±2,7
ВР, с	110±0,9	75,3±9,7*
ЛЧТВ, с	56,7±0,9	52,0±1,2
ПИ, %	54,4±1,5	56,9±1,5
АА, %	195,0±3,1	175±3,2*
АТ III, %	67,0±1,5	87,2±2,2*
ФГ, г/л	0,69±0,4	1,29±0,65*
ФА, мм <sup>2</sup>	34,2±6,0	37,6±8,1
ПДФ, мг%	22,5±7,4	6,5±0,3*
ЭТ, %	83,3	50,0*
Ф XIII, с	25,8±0,9	47,7±1,2*

Интенсивность ПОЛ и антиоксидантная активность липидов плазмы (П) и эритроцитов (Э)

Условия опыта	A <sub>232</sub>		A <sub>540</sub>		Время индукции, мин		Скорость окисления, мм <sup>3</sup> /мин	
	П	Э	П	Э	П	Э	П	Э
Интактный контроль	0,18±0,004	0,20±0,01	4,08±0,03	3,23±0,10	44,7±2,4	21,5±0,05	0,65±0,03	1,56±0,45
Оперированные животные	0,25±0,009	0,23±0,06	4,68±0,07	2,66±0,05	19,0±0,37	26,7±1,5	1,31±0,03	1,28±0,08
Животные, оперированные на фоне введения витаминов	0,20±0,03	0,23±0,002	2,24±0,04	2,24±0,13	48,0±5,1	30,1±2,0	0,68±0,08	1,22±0,22
Тромбопластинемия: без предварительного введения витаминов	0,16±0,02	0,18±0,03	2,99±0,02	4,71±0,45	20,6±2,4	26,2±3,6	2,02±0,11	1,30±0,05
после введения витаминов	0,16±0,02	0,14±0,01	4,12±0,11	2,65±0,31	37,6±3,4	24,7±1,9	1,11±0,16	1,38±0,22

Примечание. Для каждого показателя  $n=6$ .

фибриногена, фактора XIII, небольшая частота положительных этаноловых проб). По-видимому, исследуемое сочетание витаминов не только ослабляет влияние тромбопластинемии на свертывание, но и сокращает период восстановления.

О защитном эффекте сочетания витаминов А, Е, С и Р свидетельствуют также результаты заключительного эксперимента: контрольным животным и животным, получавшим в течение 12 дней витамины, вводили в яремную вену по 0,5 мл взвеси тромбопластина (активность 8 с), учитывая частоту гибели животных. В контроле погибли 18 (48,7 %) из 37, в подопытной группе — 16 (38,9 %) из 42 животных. Степень достоверности выявленного отличия оказалась равной 69 %. Обработка результатов методом четырех полей [3] позволила установить (по значениям  $\chi^2$ ), что коэффициент корреляции ( $r$ ) равен 0,106. Это указывает на наличие прямой слабой связи. Динамика коагулограммы и эти данные свидетельствуют о защитном действии сочетания витаминов А, Е, С и Р при экзогенной тромбопластинемии.

Лапаротомия повысила интенсивность ПОЛ плазмы (табл. 5): увеличилось содержание сопряженных диеновых соединений (A<sub>232</sub>) и продуктов ПОЛ, реагировавших с 2-тиобарбитуровой кислотой (A<sub>540</sub>), повысилась скорость ПОЛ плазмы крови и снизилась ее антиоксидантная активность. У животных, которые получали витамины А, Е, С и Р, изменения были незначительными: интенсивность и скорость ПОЛ плазмы крови после лапаротомии не изменились, а количество продуктов ПОЛ, реагировавших с тиобарбитуратом, даже уменьшилось, антиоксидантная активность не изменилась. ПОЛ плазмы крови интенсифицировалась и после инъекции тромбопластина (см. табл. 5), однако на фоне введения витаминов А, Е, Р и С изменения были менее выраженными. Так, антиоксидантная активность в контроле снизилась в 2,26 раза, а на фоне введения витаминов — только в 1,19 раза. В эритроцитах существенных изменений не наблюдалось.

По-видимому, защитное влияние витаминов на гемокоагуляцию в наших экспериментах обусловлено их воздействием на ПОЛ. Такую возможность подтверждают данные литературы: продукция простациклина, активно препятствующего формированию тромбоцитарных агрегатов на эн-

дотелии сосудов, пропорциональна антиоксидантной активности [10].

Существенную роль в сохранении нормальной свертывающей активности крови играет состояние плазматических мембран. Снижение антиоксидантной активности, наблюдающееся при экспериментальных воздействиях, ведет к изменениям структуры и функции мембран [13]. Витамины, являющиеся антиоксидантами (А, Е и РР), способствуют сохранению нормальной скорости ПОЛ, а витамины С и Р, обладая мембранопротекторными свойствами, могут ограничивать выход тканевых факторов свертывания в кровоток, уменьшая за счет этого отрицательное воздействие травмы или экзогенной тромбопластинемии.

Независимо от того, каким путем реализуется защитное влияние витаминов на гемокоагуляцию, целесообразно изучить сочетание А, Е, С и Р в качестве средства, ослабляющего гемокоагуляционные нарушения при состояниях, для которых характерно возникновение тромбопластинемии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев Г. В., Мигалина Л. А. // Система свертывания крови и фибринолиз. — Киев, 1969. — С. 9—10.
2. Бессмертный Б. С. Математическая статистика в клинической, профилактической и экспериментальной медицине. — М., 1967.
3. Бишевский А. Ш. Витамины и гемокоагуляция. — Свердловск, 1978.
4. Бишевский А. Ш., Кожевников В. Н. Свертываемость крови при реакции напряжения. — Свердловск, 1986.
5. Климов В. Н., Конохов С. Г., Ермолаев В. Л. Острый подвздошно-венозный тромбоз. — Свердловск, 1979.
6. Кудряшов Б. А. Биологические проблемы регуляции жидкого состояния крови и ее свертывания. — М., 1975.
7. Кузник Б. И., Михайлов В. Д., Альфонсов В. В. Тромбогеморрагический синдром в онкогинекологии. — Томск, 1983.
8. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / Балуда В. П., Баркаган З. С., Гольдберг Е. Д. и др. — Томск, 1980.
9. Миронова К. А. // Вопросы патологии сердечно-сосудистой системы. — Киев, 1959. — С. 171—175.
10. Мищенко В. П., Гогунская А. И., Грицай Н. Н. и др. // Биоантиоксидант. — Черногоровка, 1986. — С. 49—50.
11. Мищенко В. П., Лобань Г. А., Дубинская Г. М. и др. // Актуальные проблемы гемостаза в клинической практике. — М., 1987. — С. 104.
12. Новаковская А. А., Тихомирова А. Н., Гусева Т. М. // Вопросы питания. — 1963. — № 3. — С. 19—21.
13. Салахов Р. А., Камиллов Ф. Х., Бикбулатов Н. Т. и др. // Биоантиоксидант. — Черногоровка, 1986. — С. 108—109.

14. Скинпетров В. П. Тканевая система свертывания крови и тромбогеморрагический синдром в хирургии.— Саранск, 1978.
15. Ушкалова В. Н., Иоанидис Н. В. // Вопр. мед. химии.— 1986.— № 6.— С. 129—131.
16. Ушкалова В. П., Иоанидис Н. В., Ибрагимова С. Н. и др. // Лаб. дело.— 1987.— № 6.— С. 446—450.
17. Ушкалова В. Н., Кадочникова Г. Д. // Бюл. экспер. биол.— 1987.— № 5.— С. 571—573.
18. Чазов Е. И., Лакин К. М. Антикоагулянты и фибринолитические средства.— М., 1977.
19. Bottigioni E., Facchini G. // Clin. ter.— 1956.— Vol. 10, N 5.— P. 571—578.
20. Kommerel B., Berger H. D. // Klin. Wschr.— 1960.— Bd 38, N 3.— S. 134—137.

Поступила 05.11.88

## HEMOCOAGULATION SHIFTS IN OPERATION TRAUMA AND EXOGENOUS THROMBOPLASTINEMIA AFTER TREATMENT WITH VITAMINS

S. L. Galyan, A. Sh. Byshevsky, V. M. Shafer, V. G. Solov'ev, S. N. Ibragimova

Chair of Biochemistry, Medical School, Tyumen.

Preadministration of vitamins A and E or A, E, C and P before laparotomy or exogenous thromboplastinemia (within 12 days) as well as administration of these vitamins simultaneously with vitamin PP within 2 days after the operation did not alter distinctly blood coagulation, while attenuated considerably the hemocoagulation shifts related to laparotomy or exogenous thromboplastinemia. The vitamin complex studied appears to be suitable for decrease of the postoperation hemocoagulation shifts.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 616.831.31-008.931-02:613.863]-092.9

В. П. Скурыгин, Е. П. Елизарова, Г. С. Куренная, Г. Н. Балденков

## АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИСТЕМА СИНАПТОСОМ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ОСТРОМ СТРЕССОРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Кафедра биохимии Запорожского медицинского института, Институт экспериментальной кардиологии ВКНИИ АМН СССР, Москва

Воздействия стрессорной природы приводят к изменениям в головном мозге обмена ряда нейротрансмиттеров [1, 7, 8, 24, 25], что наряду с другими причинами вызывает изменения рецепторного аппарата нейронов [20, 17] и связанной с ним системы вторичных мессенджеров [6, 21]. Подобные изменения могут оказывать влияние на поведенческие реакции, наблюдаемые после воздействия стрессорных факторов [11, 13]. В связи с ролью синаптической передачи в клеточных механизмах ассоциативного поведения [3, 10] нами в условиях перенесенного острого стресса на синапсах коры головного мозга крыс были изучены система  $\beta$ -адренорецептор — аденилатциклаза и гуанилатциклаза — ферменты, участвующие в регуляции уровней циклических нуклеотидов в нервных окончаниях.

### Методика

Опыты проведены на крысах-самцах линии Вистар. Эмоционально-болевого стресс воспроизводили, как описано в работе [27], в виде невроза тревоги, основу которого состав-

ляет конфликт между выработанным условным рефлексом избегания и безусловным электролевым раздражителем на протяжении 6-часового нахождения животных в специальной клетке. Через 42 ч животных декапитировали, кору мозга гомогенизировали в 0,32 М растворе сахаразы и выделяли фракцию «тяжелых» синапсом и синаптических мембран по методу [5, 18]. Суммарную активность растворимой и мембраносвязанной гуанилатциклазы в синапсах определяли по методу [19]. Активность гуанилатциклазы рассчитывали по разности содержания cGMP между исходным уровнем и после 15-минутной инкубации при 30 °С в среде, содержащей 50 мМ трис-HCl, pH 7,6, 10 мМ MnCl<sub>2</sub>; 10 мМ теофиллин, 1 мМ GTP и 0,1 % тритона X-100. Реакцию начинали внесением 10—30 мкг белка синапсом. После остановки реакции кипячением содержание cGMP определяли радиоиммунологическим методом с помощью наборов фирмы «Amersham». В выбранных пределах временная и концентрационная зависимость активности фермента были линейными. До начала определения активности аденилатциклазы и связывания [<sup>3</sup>H]-дигидроалprenолола ([<sup>3</sup>H]-DHA) синаптические мембраны после выделения хранили в жидком азоте на протяжении 7—10 дней. Активность аденилатциклазы определяли при содержании белка синаптических мембран 10—30 мкг в пробе. Инкубируемая в течение 10 мин при 37 °С смесь объемом 50 мкл содержала: 50 мМ трис-HCl, pH 7,4; 2 мМ MgCl<sub>2</sub>; 0,5 мМ cAMP; 0,5 мМ изобутилметилксантина; 0,1 мМ ATP; [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]-ATP (около 500 000 dpm в пробе); 0,1 мМ GTP; 20 мМ креатинфосфата; 0,2 мкг/мл креатинфосфокиназы. При определении изопротереностимулируемой активности аденилатциклазы в инкубационную смесь добавляли изопротеренол в конечной концентрации 5·10<sup>-5</sup> М. Образовавшийся [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P] cAMP определяли по методу [28], связывание [<sup>3</sup>H]-DHA синаптическими мембранами по методу [12] с некоторыми модификациями. Инкубацию мембран (40—90 мкг белка в пробе) с [<sup>3</sup>H]-DHA проводили в среде общим объемом 500 мкл, содержащей 20 мМ трис-HCl, pH 7,5, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, при 30 °С в течение 30 мин. Неспецифическое связывание определяли в присутствии 1·10<sup>-5</sup> М пропранолола. Реакцию останавливали путем добавления холодного (4 °С) буфера того же состава с последующей фильтрацией через фильтры GF/C («Whatman», Англия). Определение количества участков связывания [<sup>3</sup>H]-DHA и Kd проводили по методу Скэтчарда.

Содержание белка определяли по методу [14] при добавлении дезоксихолата [15]. При статистической обработке данных использовали критерий Стьюдента.

Определение cGMP проводили, используя: наборы «Cyclic GMP RIA kit»; [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]-ATP, [<sup>3</sup>H]-DHA («Amersham», Англия); пропранолол, изопротеренол, ATP, трис-HCl, cAMP, MgCl<sub>2</sub> («Sigma», США); GTP, креатинкиназа, креатинфосфат («Boehringer», ФРГ); изобутилметилксантин («Calbiochem», США). Остальные реактивы производства «Реахим» (ч. д. а.). Сахарозу дополнительно очищали путем перекристаллизации из этанола.

### Результаты и обсуждение

Связывание [<sup>3</sup>H]-DHA синаптическими мембранами коры мозга крыс характеризовалось константой диссоциации, равной 1,1 нМ, что близко к данным, полученным другими авторами [2]. У интактных животных и животных, исследованных к концу 2-х суток после перенесенного стресса, достоверных изменений Kd не обнаружено (1,1 и 1,2 нМ соответственно). Учитывая отсутствие изменений этого показателя (рассчитанного с использованием объединенного белка синаптических мембран от 6 крыс из-за недостаточного количества мембранного материала), в дальнейшем мы ограничились определением только количества участков связывания [<sup>3</sup>H]-DHA при насыщающей концентрации лиганда 3·10<sup>-8</sup> М, как это делали и другие исследователи [23]. Этот показатель в отличие от Kd, является более вариабельным и снижается при хроническом стрессе [29] и вызванным им повышением концентрации агониста [9] либо в случае, если концентрация агониста увеличивается за счет его введения в систему [22].