ՀՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ
Հ.Խ. ԲՈՒՆԻԱԹՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

Ղազարյան Արամ Պետրոսի

# *Հիպոթալամուսի նոր՝ պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի ազդեցությունը կենսաթաղանթների լիպիդային բաղադրամասերի փոխանակության վրա թոք-սրտային անբավարարության ժամանակ*

Գ.00.04 - Կենսաքիմիա

Կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

Երևան - 2002

ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМ. Г.Х. БУНИАТЯНА
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК РА

Казарян Арам Петросович

# *Влияние нового гипоталамического пролин-богатого полипептида на метаболизм липидных компонентов биомембран при легочно-сердечной недостаточности*

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

03.00.04 - Биохимия

Ереван - 2002

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի Հ.Խ. Բունիաթյանի անվան Կենսաքիմիայի ինստիտուտում

Գիտական ղեկավար՝ կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆ., ՀՀ ԳԱԱ ակադեմիկոս Ա.Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆ., ՀՀ ԳԱԱ ակադեմիկոս Կ.Գ. ՂԱՐԱԳՅՈԶՅԱՆ
կ.գ.թ. Է.Ա. ՄԱՆԹԱՇՅԱՆ

Առաջատար կազմակերպություն՝ Երևանի պետական բժշկական համալսարանի կենսաքիմիայի ամբիոն

Պաշտպանությունը կայանալու է 25 հունիսի 2002թ., ժ. 12$^{00}$-ին ՀՀ ԳԱԱ Կենսաքիմիայի ինստիտուտի (375014 Երևան, Պ.Սևակի փ.5/1) թիվ 042 մասնագիտական խորհրդում: Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Կենսաքիմիայի ինստիտուտի գրադարանում: Սեղմագիրն առաքված է 24 մայիսի 2002թ.

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր Ա.Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

Тема диссертации утверждена в Институте биохимии им. Г.Х. Буниатяна Национальной Академии Наук РА

Научный руководитель: доктор биологических наук, проф., академик НАН РА ГАЛОЯН А.А.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, проф., академик НАН РА КАРАГЕЗЯН К.Г.
к.б.н. МАНТАШЯН Э.А.

Ведущая организация: Кафедра биохимии Ереванского государственного медицинского университета

Защита состоится 25 июня 2002г. в 12$^{00}$ часов на заседании специализированного совета 042 Института биохимии НАН РА (375014, Ереван, ул. П.Севака 5/1). С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биохимии НАН РА.
Автореферат разослан 24 мая 2002г.

Ученый секретарь специализированного совета,
Доктор биологических наук, профессор СИМОНЯН А.А.

1900-2002

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

За последние два десятилетия как в нашей стране, так и за рубежом, все большее внимание уделяется проблеме лечения заболеваний легких, бронхов и их осложнений. Актуальность проблемы определяется в первую очередь тем, что в большинстве развитых странах мира, в том числе в СНГ, наблюдается повсеместный рост заболеваемости хроническими неспецифическими заболеваниями легких (ХНЗЛ) (Путов Н.В., 1980; Путов Н.В., Федосеев Г.Б., 1984; Шишмарев Ю.Н., Яковлев В.А., Куренкова И.Г., 1990; Бутаров И.В., Матковский С.К., Бутарова В.Г., 1991; Яковлев В.А., Куренкова И.Г., 1993; Timms R.M., Khaja F.U., et al, 1985; Nakos J., Pneumatikos J. et al, 1997; Millar K.J., Dargaville P.A., 2000; Smit J.J., de Vries A.J., Gu Y.J., van Oeveren W., 2000).

Развитие заболевания приводит к изменениям функций большинства органов и систем. Одним из наиболее частых и весьма серьезных осложнений заболеваний легких и бронхов является развитие хронического легочного сердца (Palevsky H.I., Fishman A.P., 1990; Ershov A.I., EvstaГev I.A., 1996; Wang C.,Du M., et al, 1998; Missov E.D., De Marco T., 2000). Однако в современных представлениях о механизмах нарушения правого отдела сердца в этих условиях остается много неясного (Зинченко В.А., Светышева Ж.А. и др., 1988; Гамбашидзе Р., Кикнадзе М. и др., 1990; Яковлев В.А., Куреникова И.Г., 1993; Takakura M., Harada T., et al, 1999; Lutai A.V., Shutemova E.A., et al, 2000; Swidnicka-Szuszkowska B., 2000). Проведенные в этом направлении (Трубников Г.В., Чеганов В.Ф.,1989; Бекбасарова Ч.Б., 1989; Кац Л.Г., Казакова А.П., 1990; Французова С.Б., Аршинникова Л.Л., Антоненко Л.И., 1992; Rich S., Dantzker D.A., et al, 1987; Patrick D.A., Moore E.E., Fullerton D.A., Banett C.C., 1999; Millar K.J., Dargaville P.A., 2000; Jaber J., Kinova S., et al, 2000) исследования позволили установить, что легочно-сердечная недостаточность обусловлена повышением давления в легочном стволе в результате патологических изменений в легких и сосудах малого круга кровообращения. Первичная гипертония малого круга развивается при заболеваниях легких, бронхов и плевры. При этом повышение давления в легочном стволе в начале компенсируется гипертрофией правого желудочка сердца, в дальнейшем, начинают постепенно появляться симптомы недостаточности по правожелудочковому типу, сочетаясь с нарастающей легочной недостаточностью.

В связи с вышеизложенным вопрос своевременного и эффективного лечения больных с легочно-сердечной недостаточностью является современной важной проблемой. Несовершенство существующих методов лечения легочно-сердечной недостаточности требует поиска новых лекарственных средств для рациональной терапии.

При изучении фундаментальных нейрохимических механизмов образования и биохимических механизмов действия сигнальных молекул нейроэндокринной иммунной системы мозга, А.А. Галояном и сотр. была открыта новая семья иммуномодуляторов, продуцируемых магноцеллюлярными ядрами гипоталамуса животных [Galoyan A.A., Aprikyan V.S., Markossian K.A., Gurvits B.Ya., 1998; Galoyan A.A., 1997; 2000]. Из нейросекреторных гранул гипоталамо-нейрогипофизарной системы крупного рогатого скота были выделены и идентифицированы кардиотропные белок-гормональные комплексы, ряд новых полипептидов-иммуномодуляторов, первичные структуры которых удалось полностью расшифровать и произвести их химический синтез [Galoyan A.A., 1997; 2000]. Эти полипептиды образуются процессингом из С-концевого гликопротеина нейрофизина II, состоящего из 39-аминокислотных остатков. Они являются пролин-богатыми полипептидами (ПБП) [Galoyan A.A., 1997; Markossian K.A., Gurvits B.Ya. and Galoyan A.A., 2000]. Было установлено, что один из этих полипептидов содержит 15 аминокислотных остатков (ALA-GLY-ALA-PRO-GLU-PRO-ALA-GLU-PRO-ALA-GLN-PRO-GLY-VAL-TYR) и обладает мощным антимикробным и нейропротективным действием [Априкян В.С., Галоян А.А., 2000]. ПБП оказывает влияние на интерлейкин-2 зависимые функции лимфоцитов in vitro [Davtyan T.K, Muradyan E.B, Avanessian L.A, Alexsanyan Yu.T, Petrossyan H.H., Galoyan A.A., 1998]. С помощью моноклональных антител удалось показать, что ПБП из нейрогипофиза выделяется в общий кровоток и накапливается в значительном количестве в мембранах лимфоцитов лимфатических узлов, в тучных клетках, вероятно, и на мембранах эритроцитов [Galoyan A.A., Bedian V., 2001]. Установлено, что ПБП наряду с иммуномодулирующим и антимикробным действием, обладает также мощным нейропротекторным свойством [Galoyan A.A., Kipriyan T.K, Sarkissian J.S, Sarkissian E.J, Grigorian Y.Kh., Andreasian A. S., Chavushyan E. A., 2000; Galoyan A.A., Terio N. et al., 2000; Galoyan A.A, Sarkissian J.S, Kipriyan T.K, Sarkissian E.J, Grigorian Y.Kh., Sulkhanyan R.M., Khachatrian T.S., 2000]. ПБП обладает свойством стабилизировать клеточные мембраны, по-видимому, путем



предотвращения образования реактивных радикалов. При перерезке спинного мозга и при местном нанесении различных змеиных ядов [Galoyan A.A., Kipriyan T.K, Sarkissian J.S, Sarkissian E.J, Grigorian Y.Kh., Andreasian A. S., Chavushyan E. A., 2000; Galoyan A.A, Sarkissian J.S, Kipriyan T.K, Sarkissian E.J, Grigorian Y.Kh., Sulkhanyan R.M., Khachatrian T.S., 2000], наблюдается заметное восстановление электрических потенциалов и морфологической картины пораженных интер- и мотонейронов спинного мозга [Galoyan A.A, Sarkissian J.S, Kipriyan T.K, Sarkissian E.J. et al., 2001]. Указанные факты свидетельствуют о том, что ПБП оказывает весьма широкое воздействие на метаболизм мембранных липидов, на обмен углеводов и белков [Gevorkian G.A., Marukhyan G.L., Arakelyan L.N., Galoyan A.A., 2001]. В условиях in vitro как в норме, так и при краш-синдроме ПБП резко повышает утилизацию $^{14}$C-глюкозы во всех тканях и особенно в мозге [Gevorkian G.A., Marukhyan G.L., Arakelyan L.N., Galoyan A.A., 2001]. Эти данные показывают, что ПБП не опустошает резервы гликогена, но способствует утилизации глюкозы, и может, видимо, образоваться из других источников путем гликонеогенеза.

Худавердяном Д.Н., Галояном А.А. и др. (2002) исследовано влияние ПБП (галармина) на сократительную активность изолированного сердца лягушки. Установлено, что галармин оказывает влияние на функциональную активность изолированного сердца, что в целом проявляется в виде отрицательного хронотропного и менее выраженного положительного инотропного эффуктов. Наиболее выраженные изменения наблюдаются при концентрации $10^{-11}$ М и $10^{-13}$ М.

Все вышеизложенное свидетельствует о возможной эффективности применения ПБП, как регулятора метаболизма при легочно-сердечной недостаточности.

Как известно, мембранные липиды, в частности, фосфолипиды, играют важную роль в жизнедеятельности организма (Карагезян К.Г., 1972; Климов А.Н., 1981, 1984; Климов А.Н., Никульчева Н.Г., 1984; Кребс Е.М., 1981; Казарян П.А., Элоян Д.В., 1985; Казарян П.А., Карагезян К.Г., 1986, 1998).

Многообразие функциональных назначений ФЛ послужило основанием для исследования эффективности ПБП в регуляции и коррекции метаболизма мембранных липидов и деятельности фосфоинозитидной сигнальной системы при легочно-сердечной недостаточности (у кроликов в условиях in vivo и у больных - in vitro).

В доступной нам литературе не обнаружены работы по изучению эффективности ПБП и его влияния на состояние

компонентов биомембран, в частности, на метаболизм мембранных липидов, в том числе и индивидуальных ФЛ при легочно-сердечной недостаточности.

*Цель и задачи исследования.*

Целью настоящей работы является изучение перестройки метаболизма ФЛ при легочно-сердечной недостаточности и возможности его коррекции гипоталамическим ПБП.

Для достижения поставленной цели необходимо решение следующих задач:

1. Изучить качественные и количественные изменения ФЛ ткани правого отдела сердца, легких, эритроцитов и лимфоцитов крови кроликов при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП.
2. Исследовать интенсивность процессов расщепления мембранных фосфатидов-глицеридов путем определения активности фосфолипазы $A_2$ в ткани правого отдела сердца, легких, эритроцитов и лимфоцитов крови при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП.
3. Изучить активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) ткани правого отдела сердца, легких, эритроцитов и лимфоцитов крови при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП.
4. Провести сравнительное изучение активности ферментных систем начальных этапов фосфатидогенеза - глицерокиназы (ГК) и глицерофосфатдегидрогеназы (ГФД) и уровня некоторых метаболитов липидов - глицерофосфата (ГФ) и фосфатидных кислот (ФК) как промежуточных продуктов биосинтеза фосфатидов при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП.
5. Охарактеризовать состояние компонентов фосфоинозитидной сигнальной системы в ткани правого отдела сердца и легких при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП.
6. Изучить влияние (in vitro) ПБП на спектр ФЛ, активность фосфолипазы $A_2$ и интенсивность ПОЛ эритроцитов и лимфоцитов крови больных легочным сердцем.
7. Провести сравнительный анализ показателей липидных компонентов мембран ткани правого отдела сердца, легких, эритроцитов и лимфоцитов крови экспериментальных животных с некоторыми биохимическими показателями крови больных легочным сердцем для выяснения диагностической и патогенетической значимости обоснованных в эксперименте показателей метаболизма липидов.



*Научная новизна работы.*

Впервые проведено комплексное углубленное изучение количественного и качественного состава ФЛ, интенсивности начальных этапов биосинтеза и распада мембранных глицеролипидов и процессов ПОЛ, а также компонентов фосфоинозитидной сигнальной системы в ткани правого отдела сердца, легких, эритроцитов и лимфоцитов крови при легочно-сердечной недостаточности в эксперименте, до и после применения гипоталамического ПБП. Исследовано также корригирующее влияние указанного иммуноактивного полипептида на метаболизм мембранных липидов эритроцитов и лимфоцитов крови больных легочно-сердечной недостаточностью (in vitro). Показано, что развитие легочного сердца сопровождается существенным нарушением метаболизма мембранных ФЛ как в ткани правого отдела сердца, легких, эритроцитах и лимфоцитах подопытных животных, так и в крови больных. Впервые установлено, что после применения гипоталамического ПБП наблюдается определенная нормализация спектра ФЛ, активности ГК, ГФД, фосфолипазы $A_2$ и ПОЛ, уровеня ГФ и компонентов фосфоинозитидной сигнальной системы как в ткани правого отдела сердца и легких, так и в мембранах эритроцитов и лимфоцитов крови, что указывает на усиление процессов фосфатидогенеза и подавление расщепления мембранных ФЛ при легочно-сердечной недостаточности. ПБП оказывает явно выраженное корригирующее действие (in vitro) на метаболизм мембранных липидов эритроцитов и лимфоцитов крови больных легочно-сердечной недостаточностью. Это позволило с принципиально новых позиций подойти к оценке роли гипоталамического ПБП как регулятора метаболизма мембранных липидов.

*Практическая ценность работы.*

Совокупность экспериментальных данных, полученных при развитии легечно-сердечной недостаточности, дают теоретические представления о патогенетически обусловленных изменениях метаболизма мембранных липидов. Выявленный мембраностабилизирующий эффект ПБП является обоснованием для его дальнейшего применения, с целью разработки методов коррекции нарушенных метаболических

процессов в качестве существенного дополнения к традиционной медикаментозной терапии больных легочным сердцем. Доказана целесообразность применения некоторых показателей метаболизма мембранных липидов в качестве тестов для оценки эффективности проводимого лечения больных легечно-сердечной недостаточностью.

Включение результатов проводимых исследований в курсы обучения ВУЗ-ов, НИЗ и специализированных медицинских центров делает возможным более профессиональный подход медперсонала при диагностике и лечении больных легочной патологией.

*Реализация результатов работы.*

Полученные данные представлены на юбилейной научной конференции, посвященной 50-летию Республиканского гематологического центра МЗ РА (Ереван, 1998); Международном симпозиуме «Диагностическая медицина» (Ереван, 1999); Конференции молодых ученых НАН РА «Сборник статей молодых научных сотрудников» (Ереван, 1999); Международной конференции «Биохимические и молекулярно-биологические аспекты иммунной системы мозга» (Ереван, Цахкадзор, 2001); на Международном симпозиуме по нейрохимии (Buenos Aires, 2001).

*Публикации.*

По теме диссертации опубликованы 9 работ в журналах, сборниках научных трудов, материалах международных симпозиумов.

*Объем и структура работы.*

Диссертация изложена на 120 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследований, двух глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список использованной литературы включает 228 источников, из них 100 отечественных и 128 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 5 таблицами и 17 рисунками.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальные исследования проводились на 62 кроликах-самцах массой 2-2,5 кг.

Легочное сердце вызывали путем воспроизведения хронического воспалительного бронхолегочного процесса



введением инородного тела в просвет трахеи по методике Г.А. Русанова и соавт. (1973), принятой во Всесоюзном научно-исследовательском институте пульмонологии (Ленинград).

Для выполнения исследований и проведения морфологического контроля кроликов (опытных и контрольных) забивали одновременно (по одному из каждой группы) через 5-6 месяцев после операции.

Исследовались ткань правого отдела сердца, легких, а также эритроциты и лимфоциты крови. В опытах использованы гомогенаты, супернатанты и микросомальная фракция.

Гипоталамический ПБП вводили внутрибрюшинно из расчета 25 мкг/кг массы кролика через 5-6 месяцев после воспроизведения заболевания ежедневно в течении 3 дней.

Одновременно проводили исследования (in vitro) указанных показателей в крови 20 больных легочным сердцем в пульмонологическом отделении Научно-медицинского центра городской клинической больницы скорой медицинской помощи. Контролем служили данные, полученные у 22 практически здоровых лиц.

Биохимическое обследование крови выполнялось при поступлении больных в стационар до начала лечения. Данные сопоставлялись с другими лабораторными тестами (СОЭ, количество лейкоцитов). Все больные подвергались клинико-лабораторному и инструментальному обследованию.

Активность фосфолипазы $A_2$, процессов ПОЛ, содержание фракций фосфолипидов и метаболитов липидов определяли в эритроцитах и лимфоцитах крови кроликов и больных легочно-сердечной недостаточностью.

Общие липиды экстрагировали из ацетоновых порошков тканей и крови (Карагезян К.Г., 1972).

Фракционирование индивидуальных ФЛ осуществляли методом тонкослойной хроматографии [Хроматогр., Шталь] в модификации Казаряна П.А., Элоян Д.В. [1985] на закрепленном слое силикагеля марки ЛС 5/40мк (Чехия).

Определение липидного фосфора проводили по методу В.И.Светашева [1973]. После инкубации пробирки для осаждения силикагеля центрифугировали при 6000 об/мин в течении 5 мин и фотометрировали при 815 нм.

Тканевые липиды (в том числе и диацилглицерины) разделяли методом тонкослойной хроматографии в двух системах растворителей (Freeman C.P., Vest D., 1966): бензол — диэтиловый эфир-этанол-уксусная кислота (50:40:2:0,2) и гексан-эфир-уксусная кислота (Кейтс М., 1975; Прохорова М.И., 1982) в соотношении 85:15:1 (по объему).

Активность ПОЛ (в усл. ед.) в крови и тканях определяли по выходу малонового диальдегида (МДА) (Stocks J., Dormandy T.L., 1971; Ланкин В.З., Гуревич С.М., Бурлакова Е.Б., 1975).

Определение активности фосфолипазы $A_2$ (в усл. ед.) проводили спектрофотометрическим методом [Grassl, Maelering, 1969] в модификации П.А.Казаряна [1986].

Определние активности глицеринкиназы, глицерофосфатдегидрогеназы (реакция окисления L-α-глицерофосфата) и концентрации L-α-глицерофосфата в тканях проводили микроспектрофотометрическим методом по Kennedy (1962) и выражали в мкмолях НАДН/г ткани.

Определение активности ГФД (в реакции восстановления ДОАФ) проводили по методу Beisenherz и соавт. (1955).

Статистическую обработку данных производили с учетом критерия достоверности по Фишеру-Стьюденту.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных наблюдений установлено, что легочное сердце характеризуется существенным нарушением качественного и количественного состава почти всех представителей мембранных фосфолипидов, главным образом фосфатидов-глицеридов кардиомиоцитов ткан правого отдела сердца кроликов (табл. 1). В этих условиях резкое, почти четырехкратное увеличение уровня цитотоксичных лизофосфатидилхолинов сопровождается одновременным резким снижением концентрации фосфатидилхолинов, что свидетельствует об активации процессов деацилирования под действием фосфолипаз класса А ($A_1$ и $A_2$). Легочное сердце приводит также к значительному снижению абсолютного содержания сфингомиелинов, фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилсеринов и кардиолипинов (дифосфатидилглицеринов). Эти изменения разыгрываются на фоне статистически достоверного ($P<0,01$) уменьшения содержания суммарных фосфолипидов ткани правого отдела сердца кроликов.

Аналогичная картина, за исключением сфингомиелинов, имеет место и при изучении относительного содержания индивидуальных фосфолипидов кардиомиоцитов животных.

Итак, полученные экспериментальные данные позволяют говорить о существенных изменениях как абсолютного, так и относительного содержания фосфолипидов кардиомиоцитов



Таблица 1

**АБСОЛЮТНОЕ СОДЕРЖАНИЕ СУММАРНЫХ И ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ФОСФОЛИПИДОВ (В МКГ ЛИПИДНОГО ФОСФОРА НА 1 Г СВЕЖЕЙ ТКАНИ) В ТКАНИ ПРАВОГО ОТДЕЛА СЕРДЦА КРОЛИКОВ В НОРМЕ, ПРИ ЛЕГОЧНО-СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПБП**

| Фракции фосфолипидов | Контроль (n=10) | Опыт (n=9) | После применения БП (n=6) | $P_1$ | $P_2$ | $P_3$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Лизофосфатидилхолины | 10,8 ± 1,0 | 41,0 ± 2,1 | 34,9 ± 1,8 | <0.001 | <0.05 | <0.001 |
| Фосфатидилинозиты | 65,7 ± 3,1 | 71,5 ± 3,2 | 66,0 ± 3,1 | >0.05 | >0.05 | >0.5 |
| Сфингомиелины | 89,5 ± 4,2 | 76,9 ± 3,1 | 79,2 ± 3,7 | <0.05 | >0.05 | <0.05 |
| Фосфатидилхолины | 454,9 ± 28,4 | 276,2 ± 20,0 | 573,0 ± 30,1 | <0.001 | <0.001 | <0.01 |
| Фосфатидилэтаноламины | 238,3 ± 14,2 | 189,4 ± 12,9 | 134,4 ± 11,0 | <0.05 | <0.05 | <0.001 |
| Фосфатидилсерины | 79,1 ± 3,1 | 67,4 ± 2,9 | 120,0 ± 10,8 | <0.05 | <0.01 | <0.01 |
| Кардиолипины | 120,2 ± 11,4 | 56,9 ± 2,3 | 124,8 ± 11,7 | <0.001 | <0.001 | >0.5 |
| Суммарные фосфолипиды | 1058,5 ± 65,4 | 779,3 ± 46,5 | 1132,3 ± 72,2 | <0.01 | <0.01 | >0.05 |

Примечание: $P_1$ — по сравнению данных опыта с контролем, $P_2$ - по сравнению данных после применения ПБП с опытом, $P_3$ - по сравнению данных после применения ПБП с контролем

ткани правого отдела сердца при легочно-сердечной недостаточности.

Изменение в сердечной мышце количественных соотношений фосфолипидных фракций чреваты серьезными нарушениями физико-химических свойств клеточных мембран и их физиологической активности. Последнее в свою очередь сопровождается нарушением функционирования мембраносвязанных ферментных систем, катализирующих процессы трансмембранного переноса электронов, в частности цитохромоксидазы. Результаты изучения качественного и количественного состава фосфолипидов ткани легкого экспериментальных животных свидетельствуют о значительном изменении фосфолипидного спектра, что проявляется резким (десятикратным) увеличением абсолютного содержания лизофосфатидилхолинов с одновременным, многократным уменьшением содержания фосфатидилхолинов, фосфатидилэтаноламинов и фосфатидилглицеринов (наиболее специфичных для ткани легкого фосфолипидов). При этом снижение абсолютного содержания фосфатидилсеринов и сфингомиелинов менее выражено. Изменения же относительного содержания отдельных представителей фосфолипидов ткани легкого кроликов при легочно-сердечной недостаточности имеют разнонаправленный характер, что главным образом проявляется в отношении фосфатидилинозитов, сфингомиелинов и фосфатидилсеринов, уровень которых, наоборот, возрастает. В патологически измененной ткани легкого увеличение процентного содержания лизофосфатидилхолинов более выражено.

Сходная картина, но в менее выраженной форме, наблюдается и в относительном содержании индивидуальных фосфолипидов мембран эритроцитов крови подопытных кроликов. Наиболее выражены повышение процентного содержания фосфатидилинозитов ($P<0,001$) и понижение фосфатидилэтаноламинов и фосфатидилсеринов, по сравнению с нормой. В эритроцитах крови подопытных животных отмечается полное отсутствие статистически достоверных изменений относительного содержания дифосфатидилглицеринов.

Результаты исследований по изучению изменений качественного и количественного состава фосфолипидов ткани правого отдела сердца, легких и эритроцитов, после применения гипоталамического ПБП (protine-rich polypeptide), позволили установить его выраженный корригирующий эффект. В патологически измененном миокарде кроликов имеют место



явно выраженные ($P<0.001$) положительные изменения как абсолютного (см. табл. 1), так и относительного содержания основных классов фосфатидов-глицеридов (фосфатидилхолины и лизофосфатидилхолины) и почти полная нормализация уровня фосфатидилинозитов, сфингомиелинов и кардиолипинов. При этом следует иметь ввиду также локализацию отдельных представителей фосфолипидов в биомембранах. Доказана преимущественная локализация фосфатидилхолина и сфингомиелина в наружном слое мембран (Shlegel R.A., Kember S. et al., 1990), тогда как фосфатидилэтаноламины и фосфатидилсерины — во внутреннем. Нами установлены выраженные сдвиги в содержании фосфатидилхолинов и сфингомиелинов, локализованных в наружном слое мембран.

Кардиолипины, как известно, локализованы преимущественно в митохондриях, и являются основными структурными компонентами мембран кардиомиоцитов, выполняя важную роль в деятельнсти сердечной мышцы. Почти полная нормализация их уровня под действием гипоталамического ПБП является прямым доказательством восстановления функциональной активности этих соединений, а возможно, и деятельности мембран кардиомиоцитов в целом. Об этом, в частности, свидетельствует выраженная тенденция к нормализации уровня лизофосфатидилхолинов — цитоксичных и мембранолитических соединений. Что касается резкого снижения абсолютного содержания фосфатидилэтаноламинов от нормы, то на наш взгляд, оно обусловлено превращением последнего в фосфатидилхолин, а также в фосфатидилсерин — кислое, метаболически более активное соединение. По видимому в кардиомиоцитах подопытных животных под влиянием ПБП происходит активация метилтрансферазной реакции. Не исключается возможность также подавление синтеза фосфатидилэтаноламина по цитидиновому пути.

Более глубокий анализ, проведенный для выявления специфики и степени выраженности сдвигов фосфатидов-глицеридов, позволил констатировать ряд принципиально новых и интересных, на наш взгляд, закономерностей, указывающих на направленность и высокую эффективность действия гипоталамического ПБП. Примечательно, что после его применения коррекция фосфолипидного состава мембран кардиомиоцитов сопровождается одновременной нормализацией уровня суммарных фосфолипидов миокарда.

Результаты проведенных нами исследований также указывают на определенную нормализацию качественного набора и количества фосфолипидов мембран клеток ткани

легкого и эритроцитов подопытных животных после применения ПБП. Особый интерес представляет полная коррекция цитотоксичных лизофосфатидилхолинов, а также определенная нормализация уровня фосфатидилэтаноламинов как в ткани легкого, так и в эритроцитах. В этих условиях отмечается также явно выраженная тенденция к нормализации содержания некоторых других фракций фосфолипидов, в частности, сфингомиелинов, фосфатидилсеринов и дифосфатидилглицеринов (за исключением абсолютного содержания последнего в ткани легкого). Фосфатидилсерин выступает как бы в роли регулирующего фактора в реакциях трансформации его в фосфатидилэтаноламин и фосфатидилхолин под действием фосфатидилсериндекарбоксилазы. Концентрация же фосфатидилинозита в эритроцитарных мембранах и в ткани легкого (абсолютное содержание) возрастает, а его процентное содержание в легких незначительно снижается, не достигая нормальных величин. Как известно, фосфатидилинозиты являются основными компонентами фосфоинозитидного цикла, которая тесно связана с кальциевой системой (Berridge M.J., 1984). Повышение уровня фосфатидилинозита (в данном случае монофосфоинозитидов) в условиях изменения иммунной реакции организма, на наш взгляд, обусловлено активацией биосинтеза этих соединений, направленного на восполнение ди- и трифосфоинозитидов — важнейших компонентов фосфоинозитидной сигнальной системы, трансдукторов внешнего сигнала внутрь (Казарян П.А., Давтян В.Е., Геворкян Г.А., Гевондян Т.А., 1988).

Для более полного представления особенностей патохимических процессов и эффективности применения гипоталамического ПБП при данной патологии, целесообразно было провести анализ клинико-экспериментальных исследований. В связи с этим, в последующих исследованиях возникла необходимость изучения влияния полипептида на метаболизм липидов эритроцитарных мембран больных легочным сердцем. Важность такого подхода объясняется и тем, что изменения отдельных фракций фосфолипидов крови могут служить информативными тестами ранней диагностики и выяснения характера патологических изменений как в ткани правого отдела сердца, так и легкого пациентов страдающих легочно-сердечной недостаточностью. По нашим данным, легочно-сердечная недостаточность характеризуется существенными нарушениями качественного и количественного состава эритроцитов крови больных, причем характер этих



изменений выражен ярче, чем у подопытных животных. Более, чем двукратное уменьшение уровня фосфатидилхолинов сопровождается одновременным резким увеличением концентрации лизофосфатидилхолинов, фосфатидилсеринов, фосфатидных кислот, полиглицерофосфолипидов и менее выражено - фосфатидилинозитов и сфингомиелинов. В этих условиях коэффициент отношения лизофосфатидилхолин/фосфатидилхолин резко, шестикратно возрастает. Наблюдается также снижение процентного содержания фосфатидилэтаноламинов в эритроцитах крови больных.

Таким образом, результаты проведенных нами исследований являются убедительным доказательством нарушения обмена липидов, главным образом мембранных фосфолипидов как у экспериментальных животных, так и пациентов с легочно-сердечной недостаточностью. Однонаправленность изменений почти всех изученных биохимических показателей крови кроликов и пациентов, указывает на удачность выбора экспериментальной модели воспроизведения легочно-сердечной недостаточности и выявляет некоторые молекулярные механизмы патогенеза неспецифических заболеваний легких и их осложнений.

Применение (in vitro) ПБП характеризуется противоположными сдвигами (по сравнению с данными до лечения) изученных показателей крови пациентов, что проявляется нормализацией уровня большинства фракций фосфолипидов. При этом коэффициент отношения лизофосфатидилхолин/фосфатидилхолин значительно снижается и приближается к норме. Исключение составляют фосфатидилэтаноламины и фосфатидилсерины, уровень которых после применения полипептида продолжает оставаться неизменным. Выше изложенное позволяет заключить, что ПБП коррегирует метаболизм мембранных липидов при легочно-сердечной недостаточности не только в ткани правого отдела сердца и легкого, но и в мембранах эритроцитов крови.

В последующих наблюдениях представляло существенный интерес выявление особенностей изменений компонентов фосфоинозитидной сигнальной системы. Как явствуют данные (рис. 1 и 2), развитие легочно-сердечной недостаточности характеризуется статистически достоверным изменением уровня компонентов фосфоинозитидного цикла, в частности, повышением концентрации монофосфоинозитидов ($P<0,05$), фосфатидных кислот ($P<0,001$) и, наоборот, снижением диацилглицеридов ($P<0,001$) как в ткани правого отдела сердца,

так и в легких ((P<0,001), (P<0,05), (P<0,05), соответственно) подопытных кроликов.

После применения гипоталамического ПБП наблюдается определенная нормализация как содержания монофосфоинозитидов, так и фосфатидных кислот и диацилглицеридов — вторичных мессенджеров сигнальной системы. Изменения уровня фосфатидных кислот и диацилглицеридов наиболее выражены в патологически измененной ткани правого отдела сердца.

Полученные данные проливают свет на понимание биохимических механизмов активирующего действия пролинбогатого полипептида в формировании иммуномодулирующей функции организма с вовлечением процессов биосинтеза мембранных фосфолипидов. Нам представляется, что одним из возможных путей формирования иммунологических реакций организма можно считать действие гипоталамического пролинбогатого полипептида на функциональное состояние определенных рецепторов, деятельность фосфолипаз, а, возможно, и на активность протеинкиназных реакций и регуляторных систем транспорта ионов $Ca^{2+}$ через плазматическую мембрану клеток (Nigh Y.M., Sanchez E.R., 1995; Bang H., Muller V. et al., 1995).

Проведенные нами последующие исследования касаются изучения молекулярных механизмов, лежащих в основе количественных и качественных изменений мембранных фосфолипидов при легочно-сердечной недостаточности и после применения гипоталамического ПБП.

Полученные результаты свидетельствуют о глубине нарушений, развивающихся в деятельности ферментных систем начальных этапов биосинтеза фосфолипидов при изученной патологии, главным образом реакции активации свободного глицерина и восстановления дигидроксиацетонфосфата в глицерофосфат (исходный метаболит фосфатидогенеза) под действием ферментов глицеринкиназы и глицерофосфатдегидрогеназы. Развитие легочно-сердечной недостаточности приводит к значительному подавлению активности глицеринкиназы как в миокарде (32 %), так и в легких (94 %), что указывает на уменьшение скорости глицерокиназного пути образования фосфатидов-глицеридов в указанных органах подопытных животных (рис. 3).

Результаты исследований свидетельствуют также о значительном подавлении активности цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы в реакции восстановление дигидроксиацетонфосфата в глицерофосфат, т.е. интенсивности

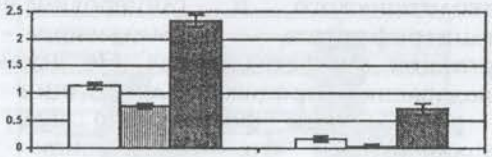



Рис. 1. Уровень отдельных компонентов фосфоинозитидного цикла (в мкг липидного фосфора на 1 г свежей ткани) в ткани правого отдела сердца кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n = 10) - До лечения (n = 9)
- После применения ПБП (n = 6)


Рис. 2. Уровень отдельных компонентов фосфоинозитидного цикла (в мкг липидного фосфора на 1 г свежей ткани) в ткани легкого кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n = 10) - До лечения (n = 9)
- После применения ПБП (n = 6)



а б

Рис. 3. Активность глицеринкиназы (ГК) в ткани правого отдела сердца (а) и легких (б) кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n = 10) - До лечения (n = 9)
- После применения ПБП (n = 6)

гликолитического пути биосинтеза фосфолипидов в патологически измененной ткани правого отдела сердца (55 %) и легких (49 %) экспериментальных животных (рис. 4).
Подавление активности глицеринкиназы и цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы сопровождается одновременным уменьшением количествaглицерофосфата — ключевого метаболита биосинтеза глицеролипидов, как в миокарде (32 %), так и в ткани легкого (93 %) (рис. 5).

Применение гипоталамического ПБП при легочно-сердечной недостаточности характеризуется определенной коррекцией нарушенных процессов фосфатидогенеза, что проявляется резким, более чем двукратным повышением активности глицеринкиназы в ткани правого отдела сердца и многократным — в ткани легкого подопытных животных (см. рис. 4 и 5). При этом активность цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы в миокарде повышается более чем в три раза, а в ткани легкого — всего лишь на 27% (не достигая до нормальных величин). По нашим данным, наиболее существенным является усиление интенсивности глицерокиназного пути образования глицерофосфата, в изученных тканях. После применения ПБП отмечается определенная нормализация уровня глицерофосфата в изученных тканях, причем положительный эффект ярко выражен в ткани правого отдела сердца животных, что находит свое отчетливое отражение и в сдвигах содержания индивидуальных глицерофосфолипидов.

Сопоставление результатов активностей глицеринкиназы и глицерофосфатдегидрогеназы, а также уровня глицерофосфата, позволяет заключить, что нормализация содержания фосфатидов-глицеридов в изученных тканях под действием гипоталамического ПБП обусловлена усилением скорости гликолитического и глицерокиназного путей образования глицерофосфата с последующим вовлечением последнего в реакции фосфатидогенеза. Не исключена также возможность подавления процессов деградации мембранных фосфолипидов (деятельности фосфолипаз) под действием изученного полипептида, что, несомненно, заслуживает дальнейшего обстоятельного изучения. Как известно, специфическая функция фосфолипаз состоит в расщеплении мембранных фосфолипидов и липопротеидов, участии в синтезе простогландинов и других биологически активных веществ, что имеет важное значение при патологии (Вельтищев Ю.Е., 1981).

На наш взгляд, определенный интерес представляет также изучение активности фосфолипазы $A_2$ в ткани правого



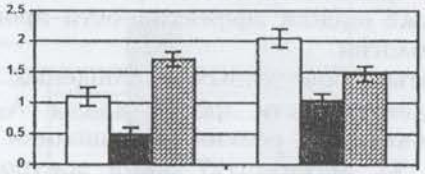



Рис. 4. Активность цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы (ГФД) в реакции восстановления диоксиацетонфосфата (ДОАФ) в глицерофосфат в ткани правого отдела сердца (а) и легких (б) кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (п=10) - До лечения (п=9)
- После применения ПБП (п=6)

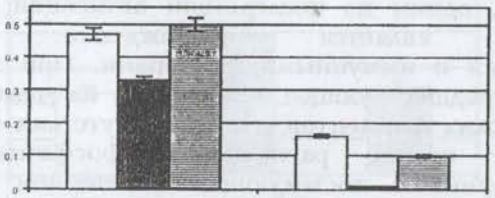



Рис. 5. Уровень глицерофосфата (в мкмоль НАДН/г ткани) в ткани правого отдела сердца (а), легких (б) кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (п=10) - До лечения (п=9)
- После применения ПБП (п=6)

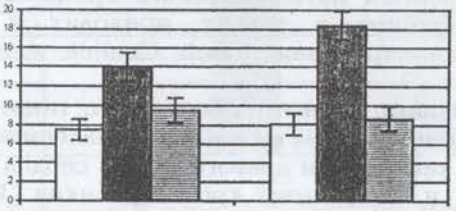



Рис. 6. Активность фосфолипазы $A_2$ в ткани правого отдела сердца (а), и легких (б) кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (п=10) - До лечения (п=9)
- После применения ПБП (п=6)

отдела сердца, легких, эритроцитах и лимфоцитах крови, для выяснения ее физиологической роли и патогенетического значения, а также оценки эффективности проводимого лечения при данной патологии.

Результаты проведенных наблюдений, свидетельствуют об усилении деятельности фосфолипазы $A_2$ в исследуемых тканях, что проявляется резким повышением ее активности в миокарде (86.6 %), легких (127 %), в эритроцитах (53.4 %) и лимфоцитах (73.9 %) кроликов при изученных состояниях организма (рис. 6-8).

Интересные данные получены при изучении активности фосфолипазы $A_2$ в эритроцитах и лимфоцитах пациентов, страдающих легочно-сердечной недостаточностью (рис. 9 и 10). Легочное сердце у больных характеризуется значительным, статистически достоверным повышением активности фосфолипазы $A_2$ как в мембранах эритроцитов (54%), так и в лимфоцитах (26%) крови.

Как известно, одним из последствий активаций деятельности фосфолипаз, является повреждение биомембран гипоксическими и иммунными факторами. При этом важную роль играет предшествующее воздействие на мембраны клеток протеолитических ферментов, что, в присутствии фосфолипазы $A_2$ вызывает полное расщепление фосфатидилхолина и фосфатидилсерина с последующим угнетением дыхательных ферментных систем при патологии (Вельтищев Ю.Е., Юрьева Э.А. и др., 1981), в том числе и при легочно-сердечной недостаточности (Brauns P. et al., 1998). Вместе с тем, фосфолипазы класса А и лизофосфолипиды являются химическими лабилизаторами лизосом. Повышение проницаемости биомембран под действием фосфолипаз сопровождается усилением процессов выброса ряда ферментов лизосом и углублением патологического процесса. Накопление лизофосфатидилхолинов в тканях приводит к подавлению процессов трансацилирования (Casals Cristina, Acebal C., Arche R., 1984).

Согласно нашим данным, применение гипоталамического ПБП сопровождается существенным подавлением активности фосфолипазы $A_2$ как в ткани правого отдела сердца и легких, так и в эритроцитах и лимфоцитах крови кроликов (32.0; 53.0; 14.7, 37.5%, соответственно по сравнению с данными до лечения) (см. рис. 6-8). Интересные данные получены также при изучении деятельности фосфолипазы $A_2$ в крови больных (in vitro) с легочным сердцем. После применения полипептида в эритроцитах крови пациентов наблюдается статистически



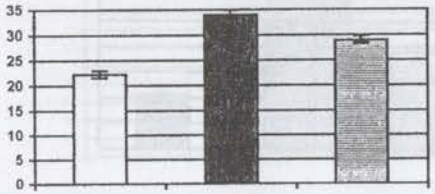



Рис. 7. Активность фосфолипазы $A_2$ в мембранах эритроцитов крови кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n=10) - До лечения (n=9)
- После применения ПБП (n=6)

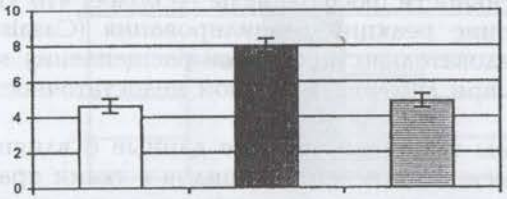



Рис. 8. Активность фосфолипазы $A_2$ в лимфоцитах крови кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n=10) - До лечения (n=9)
- После применения ПБП (n=6)

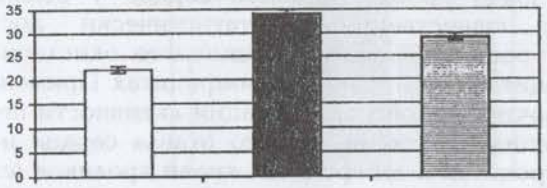



Рис. 9. Активность фосфолипазы $A_2$ в мембранах эритроцитов крови больных в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n=20) - До лечения (n=10)
- После применения ПБП (n=10)

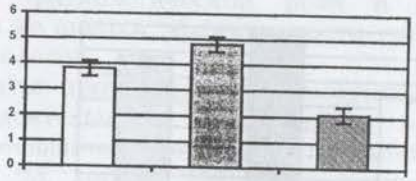


Рис. 10. Активность фосфолипазы $A_2$ в лимфоцитах крови больных в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n=20) - До лечения (n=10)

- После применения ПБП (n=10)

достоверное снижение активности изученного фермента, однако не достигает до нормальных величин, тогда как в лимфоцитах — подавление активности фосфолипазы $A_2$ более, что указывает на резкое подавление реакций деацилирования (Casals Cristina et al., 1984) и, следовательно, процессов расщепления мембранных фосфолипидов при легочно-сердечной недостаточности (рис. 9 и 10).

Получены также интересные данные о влиянии ПБП на уровень перекисного окисления липидов в ткани правого отдела сердца, легких, эритроцитах и лимфоцитах крови животных, а также в эритроцитах и лимфоцитах крови больных с легочно-сердечной недостаточностью (рис. 11-14).

Развитие легочно-сердечной недостаточности у животных характеризуется зачительным повышением интенсивности течения процессов свободнорадикального окисления липидов в миокарде (около 93%), легких (57%), эритроцитах (44%) и лимфоцитах (94%) крови. Легочное сердце у больных также приводит к существенному, статистически достоверному повышению уровня продуктов перекисного окисления липидов как в эритроцитах (30%), так и в лимфоцитах Применение ПБП приводит к почти полной нормализации активности перекисного окисления липидов в ткани правого отдела сердца и легких, а также в эритроцитах и лимфоцитах крови кроликов (см. рис. 11-14). По нашим данным, применение в условиях in vitro гипоталамического полипептида в крови больных с легочно-сердечной недостаточностью также приводит к определенной, менее выраженной нормализации скорости перекисного окисления липидов, что указывает на антиоксидантную активность полипептида (рис. 15 и 16).



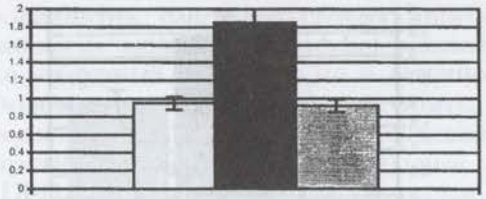


Рис. 11. Активность ПОЛ (в усл. ед.) в ткани правого отдела сердца кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n=10) - До лечения (n=9)

- После применения ПБП (n=6)

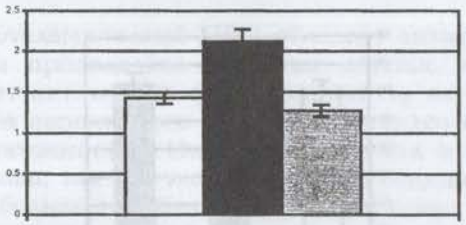


Рис. 12. Активность ПОЛ (в усл. ед.) в ткани легкого кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n=10) - До лечения (n=9)

- После применения ПБП (n=6)

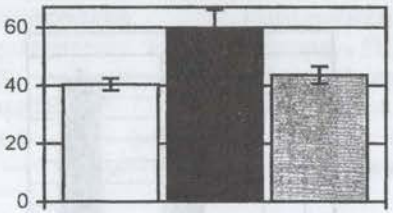


Рис. 13. Активность ПОЛ (в усл. ед.) в эритроцитах крови кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (n=10) - До лечения (n=9)

- После применения ПБП (n=6)

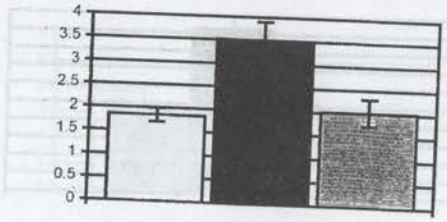



Рис. 14. Активность ПОЛ (в усл. ед.) в лимфоцитах крови кроликов в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП

- Норма (п=10) - До лечения (п=9)

- После применения ПБП (п=6)

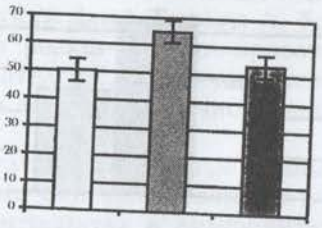



Рис. 15. Уровень продуктов ПОЛ (в усл. ед.) в эритроцитарных мембранах крови больных в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП (in vitro)

- Норма (п=20) - До лечения (п=10)

- После применения ПБП (п=10)

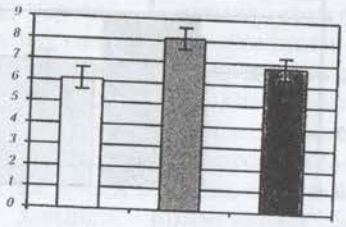



Рис. 16. Уровень продуктов ПОЛ (в усл. ед.) в лимфоцитах крови больных в норме, при легочно-сердечной недостаточности и после применения ПБП (in vitro)

- Норма (п=20) - До лечения (п=10)

- После применения ПБП (п=10)



Полученные нами данные свидетельствуют о том, что пролинбогатый полипептид, благодаря своему многостороннему влиянию на метаболизм может быть эффективным средством лечения не только иммунных, нервных, но и легочно-сердечных заболеваний. Имеются все основания считать, что при патологиях в иммунной, нервной и легочно-сердечной системах запускаются нейрохимические, нейрогуморальные механизмы высвобождения ПБП в общий кровоток, которые оказывают регулирующее, протекторное влияние на эти системы до тех пор, пока хватают резервы на выброс этих нейрогормонов в кровь.

Для объяснения полученных данных немаловажное значение имеет факт о том, что при экспериментальном окислительном стрессе, ПБП защищает мембраны путем увеличения каталазной активности (Aghajanian M.A., Galoyan A.A., 2000).

Итак, гипоталамический ПБП обладает антиоксидантным свойством, что и проявляется в наших опытах, когда он не только ингибирует активность фосфолипазы $A_2$, но и понижает уровень продуктов перекисного окисления липидов при легочно-сердечной недостаточности. Интересно, что как в эритроцитах и лимфоцитах крови, так и в ткани легкого и сердца кроликов, а также в крови больных наблюдается одинаковая картина — понижение образования лизофосфатидилхолинов. В легочной ткани же лизофосфатидилхолины полностью исчезают. Предотвращение накопления $H_2O_2$ само по себе задерживает образование активных радикалов кислорода — основных мембранных ядов, тем самым сохраняя целостность мембран. Этому способствует также поддержание уровня глицерофосфата — ключевого метаболита биосинтеза глицеролипидов, путем повышения активности глицеринкиназы и глицерофосфатдегидрогеназы. Иначе говоря, ПБП принимает активное участие в биосинтезе мембранных липидов в тканях и крови, что и приводит к нормализации содержания монофосфоинозитидов, фосфатидных кислот и диацилглицеридов — вторичных посредников сигнальной системы.

Таким образом, сравнительная оценка количественных изменений фосфатидилхолина, лизофосфатидилхолинов, других классов фосфатидов-глицеридов биомембран, компонентов фосфоинозитидной сигнальной системы, ферментных систем начальных этапов фосфатидогенеза, активности фосфолипазы $A_2$ и перекисного окисления липидов в тканях и крови позволяют заключить, что одним из возможных путей формирования

регуляторных, мембраностабилизирующих эффектов действия гипоталамического ПБП при легочно-сердечной недостаточности является регуляция метаболизма мембранных липидов путем изменения функциональных стероидных рецепторов, мобилизации внутриклеточных регуляторных систем транспорта $Ca^{2+}$ из субклеточных образований под действием фосфолипаз, усиления биосинтеза фосфолипидов, подавления процессов липолиза и переокисления липидов.

## ВЫВОДЫ

1. Легочно-сердечная недостаточность у кроликов характеризуется существенным изменением метаболизма фосфолипидов. При этом наблюдаются:
а) снижение абсолютного содержания суммарных и отдельных представителей фосфолипидов в ткани правого отдела сердца и легкого за исключением лизофосфатидилхолинов, уровень которых резко возрастает;
б) уменьшение относительного содержания фосфатидилхолинов, кардиолипинов и, наоборот, повышение — лизофосфатидилхолинов и фосфатидилинозитов в ткани правого отдела сердца;
в) снижение относительного содержания фосфатидилхолинов, фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилглицеринов и, наоборот, повышение — лизофосфатидилхолинов, фосфатидилинозитов, сфингомиелинов в ткани легкого и мембранах эритроцитов крови;
г) повышение уровня монофосфоинозитидов, фосфатидных кислот и уменьшение концентрации диацилглицерина — вторичного посредника фосфоинозитидной сигнальной системы в миокарде и легкого;
д) значительное подавление активности глицеринкиназы и цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы и уменьшение уровня глицерофосфата в ткани правого отдела сердца и легкого;
е) резкое повышение активности фосфолипазы $A_2$ и процессов переокисления липидов в миокарде, легких, эритроцитах и лимфоцитах, а также в эритроцитах и лимфоцитах крови больных с легочным сердцем.
2. Применение гипоталамического ПБП характеризуется:
а) выраженной тенденцией к нормализации абсолютного содержания суммарных и большинства фракций фосфолипидов в ткани правого отдела сердца и легкого животных; уровень



некоторых фосфатидов-глицеридов почти полностью нормализуется;
б) диаметрально противоположными (по сравнению с таковыми при данной патологии) изменениями в относительном содержании большинства представителей фосфолипидов в миокарде, легких и мембранах эритроцитов крови кроликов.
3. После применения ПБП наблюдается определенная нормализация компонентов фосфоинозитидного цикла (монофосфоинозитида, фосфатидной кислоты и диацилглицерина) в ткани правого отдела сердца и легкого кроликов.
4. Применение гипоталамического ПБП приводит к резкому повышению активности глицеринкиназы и цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы в миокарде и легких; уровень глицерофосфата при этом почти полностью нормализуется.
5. Введение полипептида сопровождается нормализацией активности фосфолипазы $A_2$ и процессов свободнорадикального окисления липидов в миокарде, легких, эритроцитах и лимфоцитах кроликов, а также в эритроцитах и лимфоцитах крови больных (in vitro) с легочно-сердечной недостаточностью (исключение состовляет фосфолипазы $A_2$ в эритроцитах крови пациентов).
6. Полученные данные указывают на целесообразность проведения клинических испытаний гипоталамического ПБП и дальнейшего включения его в комплекс лечебных мероприятий у больных с легочно-сердечной недостаточностью.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Сопоставление результатов экспериментальных исследований в ткани правого отдела сердца и легкого, эритроцитов и лимфоцитов крови кроликов (in vivo) с данными эритроцитов и лимфоцитов крови больных (in vitro) позволяет рекомендовать проведение клинических испытаний гипоталамического ПБП с целью дальнейшего включения его в комплекс лечебных мероприятий у больных с легочно-сердечной недостаточностью.
2. Для выяснения патологических изменений в миокарде и легких, установления степени тяжести заболевания и эффективности действия гипоталамического ПБП при легочно-сердечной недостаточности рекомендуется определение отдельных представителей фосфолипидов, активности фосфолипазы $A_2$ и продуктов перекисного окисления липидов, а также коэффициента лизофосфатидилхолин/фосфатидилхолин.

## Перечень публикаций по теме диссертации


1. *Казарян А.П., Бороян Р.Г.* Биосинтез фосфолипидов в миокарде при легочно-сердечной недостаточности. В кн.: «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Сб. Науч. статей посвящ. 50-л. юбилею РГЦ, стр. 490-498, Ереван, 1998.
2. *Казарян А.П.* Обмен липидов мембран эритроцитов и состояние компонентов фосфоинозитидного цикла у больных с хроническим легочным сердцем. Международный симпозиум «Диагн. медицина», стр. 90, Ереван, 2-5 июня 1999.
3. *Казарян А.П.* Включение глюкозы в липиды миокарда при легочно-сердечной недостаточности. Сборник статей молодых научн. сотрудников, № 1, стр. 111-113, Ереван, 1999.
4. *Казарян А.П.* Состояние процессов энергообеспечения кардиомиоцитов ткани правого отдела сердца при легочно-сердечной недостаточности. Тезисы докладов и сообщений конференции НИЗ им. акад. С.Х. Авдалбекяна МЗ РА, стр. 72, Ереван, 1999.
5. *Казарян А.П. Казарян П.А.* Нарушение обмена глицерофосфата и глицерина в миокарде при легочно-сердечной недостаточности. Биологический журнал Армении, том 53, 1-2, стр. 130-133, 2001.
6. *Galoyan A.A., Ghazaryan A.P.* Role of hypothalamic proline-rich polypeptide in the phosphoinositide cycle regulation at lungs pathology. Neurochemistry, Poster, P7, Buenos Aires, 2001. Internet Submitted Abstract Form № 10179.
7. *Ghazaryan A.P., Ghazaryan P.A., Galoyan A.A.* Role of hypothalamic proline-rich polypeptide in the regulation of phospholipide and carbohydrate metabolism. Neurochemistry, Poster, P26, Buenos Aires, 2001. Internet Submitted Abstract Form № 10178.
8. *Галоян А.А., Казарян А.П., Казарян П.А.* Регуляция метаболизма мембранных липидов обогащенным пролином полипептидом гипоталамуса в норме и при экспериментальной легочно-сердечной недостаточности. Нейрохимия, том 18, № 4, стр. 279-286, 2001.
9. *Ghazaryan P.A., Ghazaryan A.P., Galoyan A.A.* Regulation of membrane phospholipids metabolism by hypothalamic prolin-rich peptide at cardiopulmonary insufficiency. International Conference: BIOCHEMICAL AND MOLECULAR-BIOLOGICAL ASPECTS OF BRAIN IMMUNE SYSTEM. Yerevan-Tsakhkadzor, September 15-19, p. 115-126, 2001.




## Ամփոփում


Աշխատանքը նվիրված է թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների առանձին ֆրակցիաների պարունակության, նրանց կենսասինթեզի, քայքայման և գերօքսիդացման պրոցեսների արագության, ինչպես նաև ֆոսֆոինոզիտիդային ազդանշանային համակարգի բաղադրամասերի փոփոխությունների ուսումնասիրությանը փորձարարական կենդանիների սրտամկանի և թոքերի հյուսվածքներում, էրիթրոցիտներում, լիմֆոցիտներում և հիվանդ մարդկանց արյան նշված բջիջներում թոք-սրտային անբավարարության ժամանակ և հիպոթալամուսի պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի օգտագործումից հետո:

Հաստատված է, որ թոք-սրտային անբավարարությունը բնութագրվում է վերոհիշյալ հյուսվածքային բջիջների առանձին գլիցերոֆոսֆոլիպիդների որակական և քանակական զգալի տեղաշարժերով, ֆոսֆատիդոգենեզի որոշ ֆերմենտային համակարգերի գործունեության ճնշմամբ, լիպիդային գերօքսիդացման և ֆոսֆոլիպազա $A_2$-ի ակտիվության բարձրացմամբ, ինչպես նաև ֆոսֆոինոզիտիդային ցիկլի որոշ բաղադրամասերի մակարդակների փոփոխությամբ:

Հիպոթալամուսի պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի օգտագործումից հետո տեղի է ունենում փորձարարական կենդանիների սրտամկանի և թոքերի բջիջների, արյան էրիթրոցիտների և լիմֆոցիտների ֆոսֆոլիպիդների պարունակության, գլիցերոկինազայի, ցիտոպլազմայի գլիցերոֆոսֆատդեհիդրոգենազայի, ֆոսֆոլիպազա $A_2$-ի, լիպիդային գերօքսիդացման ակտիվության, գլիցերոֆոսֆատի, ֆոսֆատիդային թթվի և դիացիլգլիցերինի մակարդակների որոշակի նորմավորում: Նշված պոլիպեպտիդի օգտագործումը (in vitro պայմաններում) թոք-սրտային անբավարարությամբ տառապող հիվանդ մարդկանց արյան էրիթրոցիտներում և լիմֆոցիտներում բնութագրվում է թաղանթային լիպիդների փոխանակության որոշակի կանոնավորմամբ: Ստացված փաստական տվյալները և դրանց հիման վրա արված եզրակացությունները նոր հեռանկարներ են բացում հիպոթալամուսի պրոլինով հարուստ իմունոակտիվ պոլիպեպտիդի կլինիկական փորձարկման և գործնական բժշկության մեջ նրա ներդրման համար: