

9 89-7 / 2579-7
Государственный комитет СССР по народному образованию

Ордена Дружбы Народов
Университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы

На правах рукописи

ГУЛЯЕВА Наталия Валерьевна

УДК 616.8-092:612.821.34.014.4.+
612.8.015:577.115

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МОЗГЕ
ПРИ АДАПТАЦИИ К СТРЕССУ

14.00.16 - патологическая физиология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Москва - 1989

Работа выполнена в лаборатории экспериментальной патологии и терапии высшей нервной деятельности Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии АН СССР

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Ф.З.Меерсон

доктор биологических наук, профессор В.Б.Спиричев

доктор медицинских наук Е.А.Демуков

Ведущая организация — Первый Московский медицинский институт имени И.М.Сеченова

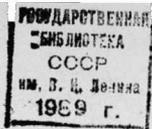
Защита диссертации состоится " _____ 19 г.
в " _____ часов на заседании специализированного совета Д 053.22.01 при Университете дружбы народов имени Патриса Лумумбы (117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, корпус теоретических кафедр медицинского факультета).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы (117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6).

Автореферат разослан " _____ 19 г.

Ученый секретарь
специализированного совета
доктор медицинских наук, профессор

Г.А.Дроздова



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Изучение взаимодействия организма с внешней средой является одной из основных проблем физиологии. Клод Бернар (Bernard, 1878) выделил исследование механизмов приспособления (адаптации) как итоговую, фундаментальную задачу физиологии. За прошедший период проблемы адаптации занимали ведущее место в исследованиях патофизиологов, морфологов, биохимиков, биофизиков, что позволило сформулировать понятие общего адаптационного синдрома (Селье, 1960, 1972) и принципы формирования разнообразных компенсаторно-приспособительных реакций (Слоним, 1964-1979; Меерсон, 1973-1989; Саркисов, 1982-1987; Медведев, 1979-1984). Эти авторы отмечают ключевую роль центральной нервной системы в реализации адаптивных реакций, отмеченную и исследованную еще И.П. Павловым (1938) и А.А. Ухтомским (1954). В связи с этим особенно важным представляется изучение адаптивных изменений в мозге.

Исследование механизмов адаптивных реакций мозга на субклеточном и молекулярном уровне затруднено лабильностью нервной ткани, особенностями ее метаболизма, многоуровневой гетерогенностью мозга. В реакции мозга на стрессорные воздействия важную роль играют нарушения состава и обмена липидных компонентов нейрональных и глиальных мембран и изменения состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) — одного из ключевых естественных механизмов модификации мембранных липидов (Прилипко, 1982; Таранова, 1988). Активация ПОЛ в мозге рассматривается как основной повреждающий мембраны фактор при действии стресса (Меерсон и соавт., 1979), однако роль изменений состояния ПОЛ в мозге при реализации адаптивных реакций до сих пор систематически не исследовалась. Необходимость и актуальность такого исследования обусловлены тем, что стационарность ПОЛ представляет основу поддержания определенного состава, структуры и нормального функционирования мембран, а изменения ПОЛ приводят к модификации этих показателей (Бурлакова, Храпова, 1985). Сочетание разнообразных липидных компонентов обуславливает строение, метаболизм и многообразные функции нервной ткани, обеспечивает возможность адаптивных изменений мембран (Крепс, 1982).

В связи с определяющей ролью ПОЛ в состоянии липидного матрикса мембран приобретает важное значение исследование систем, которые изменяют скорость ПОЛ, влияя на разные стадии

этого процесса, в частности систем антирадикальной защиты. В мозге основным ферментом антирадикальной защиты является супероксиддисмутаза (СОД), осуществляющая дисмутацию супероксидных анион-радикалов и тем самым предотвращающая образование активных форм кислорода, способных инициировать ПОЛ. Низкомолекулярная система антирадикальной защиты включает различные природные антиоксиданты (АО) — токоферолы, аскорбиновую кислоту и др. —, снижающие уровень ПОЛ за счет взаимодействия с радикальными соединениями. Экзогенные АО обладают адаптогенным действием при остром стрессе, что позволяет считать АО одной из стресс-лимитирующих систем (Меерсон, 1981, 1986).

Исследование действия стрессорных факторов на состояние мембран мозга (ПОЛ, липидный состав) и поиск показателей, отражающих развитие общего адаптационного синдрома (ОАС), необходимы для понимания механизмов адаптивных изменений мембран нервной ткани. Эта задача актуальна и для практической медицины, поскольку ряд церебральных патологий развивается в результате действия на организм стрессорных факторов и может быть отнесен к так называемым свободнорадикальным патологиям (Halliwell, Gutteridge, 1984, 1985) — заболеваниям, в патогенезе которых ключевую роль играют изменения процессов ПОЛ. Понимание механизмов адаптивных и патологических изменений мембран мозга при стрессе создает основу для разработки патогенетически направленных средств профилактики и терапии таких заболеваний.

Цель работы и основные задачи исследования. Основная цель работы — комплексное исследование ПОЛ, липидной компоненты мозга и антирадикальной защиты при адаптации к стрессорным воздействиям, сопоставление изменений этих показателей с изменениями вегетативных функций и поведенческих реакций для выяснения роли процессов ПОЛ в мозге при адаптации. Для достижения этой цели были поставлены следующие конкретные задачи: 1. изучить изменения ПОЛ и состояния липидной компоненты мозга крыс в динамике в ранние сроки действия острых стрессорных факторов; 2. выявить различия ПОЛ и липидной компоненты мозга у крыс с различными типологическими особенностями поведения в норме и при остром стрессе; 3. изучить изменения висцеральных функций, поведения, ПОЛ и липидной компоненты мозга в динамике

ке хронического эмоционально-болевого стресса; 4. исследовать некоторые показатели энергетического метаболизма в отделах мозга при хроническом стрессе и сопоставить их с изменениями ПОЛ; 5. изучить изменения ПОЛ, антирадикальной защиты и липидной компоненты мозга в стадии длительного компенсационного действия после его повреждения; 6. исследовать адаптивное действие и влияние на ПОЛ, антирадикальную защиту и липидную компоненту мозга специфических перехватчиков гидроксильных радикалов; 7. на моделях острого и хронического стресса исследовать адаптивное действие синтетического и природных АО по показателям вегетативных функций и поведения, а также влияние АО на ПОЛ, антирадикальную защиту и состояние липидной компоненты мозга в норме и при стрессе.

Научная новизна. В результате комплексного многопланового исследования рассмотрены основные закономерности срочной и длительного адаптации к стрессу на уровне липидной компоненты мембран мозга.

В работе впервые показано, что стадии активации ПОЛ при стрессе предшествует стадия его ингибирования. Стадия ингибирования ПОЛ в мозге, характерная для всех типов стресса, исследованных в работе, сопровождается активацией супероксидперехватывающей активности (СПА), накоплением фосфолипидов, изменением фосфолипидного состава мозга и снижением содержания в нем холестерина. Сформулирована новая концепция, объясняющая причины ингибирования ПОЛ в инициальный период стресса и последующей активации ПОЛ. Впервые показано, что изменения ПОЛ в мозге при остром стрессе и в первую очередь латерализация продуктов ПОЛ в больших полушариях зависят от типологических особенностей поведения животных.

Поэтапно прослежены изменения ПОЛ и липидной компоненты мозга при хроническом эмоционально-болевым стрессе, охарактеризованы стадии развития ОАС. Стадии длительного адаптации к сильному хроническому стрессу соответствует сочетание низкого уровня ПОЛ и высокой СПА с пониженным количеством холестерина и фосфолипидов в мембранах мозга. Данные исследования вегетативных и поведенческих показателей свидетельствуют о "высокой структурной цене" (Меерсон, 1986) адаптации к хроническому стрессу (модель "экспериментального невроза").

Впервые установлено, что через длительное время после повреждения мозга состояние ПОЛ и липидной компоненты мозга

сходны с этими показателями при срочной адаптации.

Полученные в работе данные об адаптогенном действии специфических перехватчиков гидроксильных радикалов позволили выдвинуть гипотезу об участии $\cdot\text{OH}$ -радикалов в развитии постстрессорной свободнорадикальной церебральной патологии.

На моделях острого и хронического стресса впервые показано адаптогенное действие синтетического антиоксиданта фенола на калия, водорастворимого дипептидного природного антиоксиданта карнозина. Разработан и испытан на модели хронического стресса новый комплексный антиоксидантный препарат — сочетание малых доз витамина Е и перехватчика гидроксильных радикалов диметилсульфоксида, обладающий адаптогенным действием.

Впервые показано, что антиоксиданты способны активировать СОД *in vitro* и *in vivo*; это новое свойство антиоксидантов обеспечивает их дополнительное не прямое антиокислительное действие.

Теоретическая значимость и практическая ценность. Теоретическое значение работы определяется существенным углублением представлений о роли ПОД и состояния липидной компоненты мембран мозга в механизмах адаптации к стрессу. Работа вносит вклад в понимание механизмов адаптогенного действия антиоксидантов. Сравнение изменений ПОД и липидной компоненты мозга в различных условиях адаптации и при действии адаптогенов позволило вычленить звенья ПОД и липидного состава мембран, характерные для адаптации, и разработать концепцию о роли ингибирования ПОД как неспецифического фактора адаптации на уровне мембран мозга.

Научно-практическое значение работы прежде всего связано со сформулированными в ней новыми представлениями о механизмах патогенеза постстрессорных состояний мозга и механизмах действия препаратов с адаптогенными свойствами. Эти представления могут быть использованы в клинике для выбора правильной тактики лечения и профилактики свободнорадикальных патологий мозга.

Выявленные закономерности изменений ПОД и липидной компоненты мозга при адаптационных процессах позволяют выделить показатели, которые могут быть использованы для оценки эффективности адаптогенных препаратов или воздействий в эксперименте и клинике.

Исследования в работе перспективные АО на основании полученных данных могут быть предложены для испытания в клинике.

Практическое внедрение работы. Разработанный в настоящем исследовании комплексный препарат — сочетание малых доз витамина Е и диметилсульфоксида — проходит клинические испытания по разрешению Фармакологического Комитета МЗ СССР. На основании полученных в работе результатов получены авторские свидетельства, которые используются в практике научных исследований. Результаты работы вошли в методические указания к выполнению курсовых и дипломных работ для студентов биологического факультета Ростовского государственного университета по теме: "Перекисное окисление липидов в биологических системах" (Изд. РГУ Ростов-на-Дону, 1988), использованы в лекциях, прочитанных слушателям Всесоюзной школы-семинара по применению антиоксидантов в медицине (Черноголовка, 1988) и II Всесоюзной школы "Физико-химическая биология и проблемы регуляции клеточного метаболизма" (Тольятти, 1988), а также по обществу "Знание".

Данные диссертационной работы могут быть использованы в учреждениях АН СССР, АМН СССР, МЗ СССР и других ведомств, в которых разрабатываются проблемы адаптации к стрессу и вопросы профилактики и лечения свободнорадикальных патологий.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту.

Снижение уровня ПОЛ в мозге является неспецифическим компонентом адаптации к действию стрессорных факторов; характер изменения фосфолипидного состава мембран мозга более специфичен для различных адаптивных ситуаций.

Сочетание низких уровней ПОЛ, холестерина, отношения холестерин:фосфолипиды в мембранах мозга и высокого уровня фосфолипидов, их окисляемости и СПА характерно для острочных и долговременных адаптивно-компенсаторных реакций.

Выдвинута и обоснована собственными и литературными данными концепция механизмов изменения ПОЛ при остром стрессе (ингибирование → нормализация → активация), предусматривающая наличие двух параллельно протекающих процессов: ингибирования ПОЛ (за счет выброса "адаптивных" гормонов: пептидных, стероидных, катехоламинов) и активации ПОЛ (за счет усиления радикалообразования), первый из которых доминирует непосредственно после начала стрессорного воздействия, а второй — в последующий период.

"Экспериментальный невроз" — патологическое состояние, возникающее в результате хронического эмоционально-болевого стресса, может быть рассмотрен как модель свободнорадикальной патологии. В ее развитии важную роль играет генерация гидроксильных радикалов. Этап патологической адаптации к хроническому стрессу (адаптации с "высокой структурной ценой") характеризуется рассогласованием механизмов регуляции ПОЛ и липидного состава мембран мозга, которое выражается в снижении содержания фосфолипидов и их окисляемости на фоне ингибирования ПОЛ; последующая активация ПОЛ сопровождается дальнейшим истощением мембранных фосфолипидов.

Адаптогенное действие антиоксидантов при стрессе опосредовано несколькими механизмами и наряду с непосредственным взаимодействием с радикальными продуктами ПОЛ включает непрямые пути ингибирования ПОЛ, в том числе активацию СОД.

Апробация работы. Результаты исследований и положения диссертации доложены и обсуждены на: Всесоюзном симпозиуме "Механизмы пластичности мозга при функциональных и патологических воздействиях" (Махачкала, 1982); VI Всесоюзной конференции по экологической физиологии (Сыктывкар, 1982); IX Всесоюзной конференции по биохимии нервной системы (Ереван, 1983); Всесоюзном симпозиуме "Нейрохимические механизмы регуляции памяти" (Пушино, 1984); XXIII Всесоюзном совещании по проблемам высшей нервной деятельности (Ленинград, 1984); IX Международном симпозиуме "Экспериментальные и клинические неврозы" (Берлин, 1984); III Всесоюзной конференции "Стресс и адаптация" (Кишинев, 1984); Всесоюзной конференции "Физиология, патофизиология и фармакология мозгового кровообращения" (Ереван, 1984); VI Всесоюзной конференции по физиологии вегетативной нервной системы (Дзиджан, 1986); II Всесоюзной конференции "Биоантиоксидант" (Москва, 1986); Научно-практической конференции "Научно-технический прогресс в медицине и фундаментальные проблемы биологии" (Харьков, 1987); Всесоюзном симпозиуме по биохимии липидов (Алма-Ата, 1987); V Всесоюзном совещании по медицинской энзимологии (Махачкала, 1986); X Всесоюзной конференции по биохимии нервной системы (Горький, 1987); III Всесоюзном совещании по транспортным АТФазам (Иркутск, 1987); XII Съезде терапевтов УССР (Ивано-Франковск, 1987); I Болгаро-советском симпозиуме "Свободные радикалы и биостаби-

лизаторы (София, 1987); Всесоюзном симпозиуме "Трансплантация ткани мозга млекопитающих (Пушино, 1988); Всесоюзной конференции "Сравнительная физиология высшей нервной деятельности человека и животных", посвященной 80-летию Л.Г.Воронина (Москва, 1988); X Международном симпозиуме по экспериментальным неврозам (Берлин, 1988); II Всесоюзной конференции по нейронаукам (Киев, 1988); V Всесоюзном съезде геронтологов и геронтологов (Тбилиси, 1988); Международном симпозиуме "Центральная нервная система и пострениционная патология организма" (Москва, 1989); III Всесоюзной конференции "Биоантиоксидант" (Москва, 1989); XXVIII Всесоюзном совещании по проблемам высшей нервной деятельности (Ленинград, 1989); Международной конференции "Регуляция свободнорадикальных реакций" (Варна, 1989), научных конференциях института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии АН СССР, других институтов АН СССР и АМН СССР, Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова, расширенной конференции кафедры патологической физиологии университета дружбы народов им. П.Лумумбы.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 42 основные работы, получено 2 авторских свидетельства.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, главы с изложением материалов и методов; 5 глав с изложением результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на страницах, содержит 36 таблиц и 60 рисунков. Список литературы включает источников, из которых отечественных и зарубежных работ.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объект и методы исследования. В работе использовано 405 белых беспородных крыс-самцов и 160 крыс-самок массой 150-200 г, а также 35 крыс линий Трайона. Животных содержали в условиях вивария в пластмассовых клетках по 5 особей. Умерщвление производили при помощи гильотины, после декапитации быстро выделяли и охлаждали мозг и собирали кровь, из которой затем получали сыворотку.

Моделирование острого стресса создавали иммобилизацией крыс а) в специальной плексигласовой трубе; б) на спине с фиксацией за 4 конечности и хвост или в) электрокожным раздражением в камере с электропроводящим полом при силе тока, по-

даваемого на лапы, 3-4 мА и режиме стимуляции 1-2 удара/10 с.

Хронический стресс воспроизводили в соответствии с принятой моделью "экспериментального невроза" (Айрапетянц, Вейн, 1982). Ежедневно в течение 3 недель применяли систему 2 типов воздействий: астенизирующего - прерывистого белого шума мощностью 80-90 дБ по 7 ч/сутки и эмоционально-болевого - электрокожного раздражения. Крыс помещали в камеру с электропроводящим полом и из 12 подаваемых пачек по 10 ритмических световых вспышек (0,5 Гц) 6 пачек в стохастическом режиме подкрепляли электрокожным раздражением (сила тока 4 мА, время изолированного действия тока 5 с). В результате 3-недельного эмоционально-болевого стресса (ток+свет, затем шум) у животных формировалось стойкое отрицательно-эмоциональное состояние, оцениваемое как неврозоподобное (Айрапетянц, Вейн, 1982).

Регистрацию частоты сердечных сокращений (ЧСС), частоты дыхания (ЧД) и величины артериального давления (АД) проводили методом фотоэлектрической плетизмографии, используя манжетку на корне хвоста животных. Вегетативные показатели измеряли в фоне и при функциональной нагрузке двухчасовой иммобилизацией в плексигласовых трубах.

Поведение животных в открытом поле оценивали за 5 минут наблюдения по величинам латентного периода, вертикальной и горизонтальной активности, количеству груминговых реакций и дефекаций. Другим поведенческим тестом служило поведение крысы в ситуации с криком "жертвы" - тест "эмоционального резонанса", предложенный П.В.Симоновым (1976).

Гомогенизацию ткани мозга проводили в среде, содержащей 0,9% NaCl и 0,001 М ЭДТА, pH 7,4 при помощи стеклянного гомогенизатора с тефлоновым пестиком. Для исследования использовали супернатант, полученный центрифугированием гомогената на холоду при 5 000 об/мин. фракции, обогащенные нейронами и глией, получали по методу, предложенному А.Б.Полежаевым (1977), фракцию синапсом - дифференциальным центрифугированием в градиенте плотности сахарозы или фиколла-400 (Najos, 1975; Hwang et al., 1978).

Состояние ПОД оценивали спектрофотометрически по содержанию в биологическом материале конъюгированных диенов - первичных молекулярных продуктов ПОД (Костик и соавт., 1984); продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК)

(Ohkawa et al., 1979), а также по содержанию конечных продуктов ПОД — флуоресцирующих оснований Шиффа (Fletcher et al., 1973). Активность СОД и СПА определяли спектрофотометрически по степени ингибирования восстановления нитросинего тетразолиевого в системах генерации супероксидного анион-радикала ксантин/ксантиноксидаза (Beachamp, Fridovich, 1971) или феназинметосульфат/НАДН (Nishikimi et al., 1972).

Экстракцию липидов из биологического материала проводили хлороформ-метанольной смесью по методу Фолча (Folch et al., 1957). Липиды разделяли методом тонкослойной хроматографии на пластинах Силуфол (СССР) (Osborn, 1974), определения общих липидов проводили спектрофотометрически по методу И.П. Кайдина (1973), холестерина — по образованию окрашенного продукта с хлорным железом в присутствии серной и уксусной кислот, суммарных и индивидуальных фосфолипидов — по фосфору с молибдатом аммония и аскорбиновой кислотой (Петровский, 1986). Антиокислительную активность липидных экстрактов оценивали по методу А.Н.Кудрина и соавт. (1986), измеряя манометрически потребление кислорода при окислении кумола в присутствии инициатора ПОД азобис-изобутиронитрила.

Активность цитохромоксидазы определяли полярографически, используя закрытый электрод Кларка (Lee et al., 1967). Оценку активности убаин-чувствительной на, К-АТФазы проводили по количеству неорганического фосфата, образующегося при гидролизе АТФ (Hernandes, 1982). Содержание лактата в ткани мозга и крови определяли при помощи стандартного тест-набора Boehringer Mannheim GmbH (ФРГ). Статистическую обработку полученных данных проводили по методу Стьюдента, а при наличии небольших групп животных использовали непараметрический критерий Уилкоксона-Манна-Уитни (Гублер, Генкин, 1973).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ПОД и состояние липидной компоненты мозга при остром стрессе. При исследовании ПОД и показателей липидной компоненты мозга крыс в динамике электрошолевого стресса показано, что эти характеристики изменяются фазно и синхронно (рис. I). Первая фаза — начальное генерализованное ингибирование ПОД в мозге и крови. В представленном на рис. I эксперименте первая временная точка — 15 минут, однако в других экспериментах показано, что уже через 5 минут наблюдается достоверное ингибро-

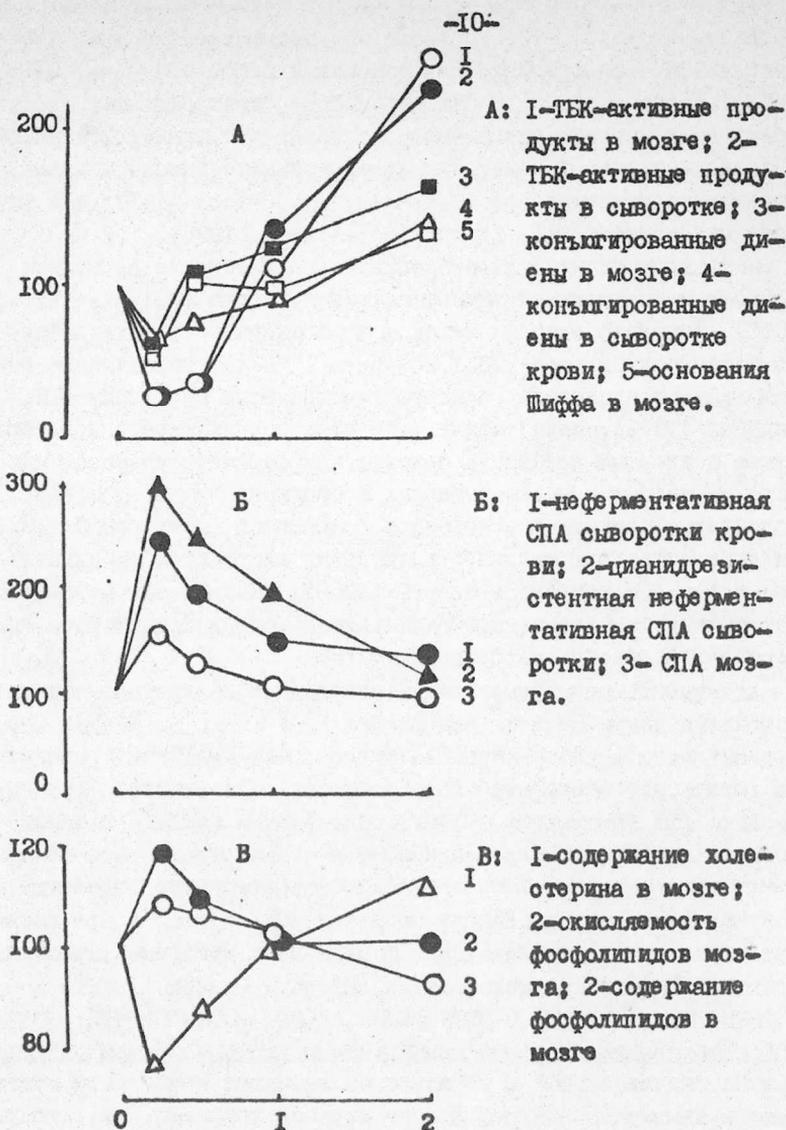


Рис. 1. Изменения ПОЛ, СПА и липидной компоненты мозга крыс в инициальный период электроблевого стресса. По оси ординат - показатели в % от контроля; по оси абсцисс - время действия стресса в ч.

вание ПОЛ. Синхронно с ингибированием ПОЛ повышается СПА мозга и сыворотки крови, накапливаются фосфолипиды, главным образом легкоокисляемые, и снижается содержание холестерина и отношение холестерин:фосфолипиды. Резко увеличивается содержание фосфатидилинозита, фосфатидилсерина, сфингомиелина, фосфатидной кислоты и падает содержание фосфатидилэтанолamina, кардиолипина и фосфатидилхолина. При продолжении стресса все показатели начинают меняться противоположным образом, достигая через 1 час уровней, сравнимых с контрольными. Затем развивается вторая фаза, характеризующаяся активацией ПОЛ, ингибированием СПА, накоплением холестерина и "выгоранием" легкоокисляемых фосфолипидов. Все изменения, формирование которых в данном случае завершается через 2 часа стресса, продолжают сохраняться по крайней мере в течение нескольких часов после его завершения. Расчет линейных корреляций показал, что изменения ПОЛ и связанных с ним параметров липидной компоненты мозга и СПА происходят согласованно (коэффициенты корреляции между различными параметрами в основном лежат в области 0,6-1,0).

Стадия ингибирования ПОЛ в мозге, предшествующая активации ПОЛ при стрессе, продемонстрирована также на моделях иммобилизации и при комбинированном воздействии (ток+иммобилизация). При этом были выявлены следующие основные закономерности. 1) В весенний и осенний периоды длительность инициальной стадии ингибирования ПОЛ больше, чем летом и зимой. 2) У самок ингибирование ПОЛ более выражено и длительно, чем у самцов. 3) Часто истощение фосфолипидов начинается еще на фоне низкого уровня ПОЛ и холестерина в мозге.

По-видимому, выявленная нами инициальная фаза ингибирования ПОЛ при остром стрессе является отражением стадии срочной адаптации (Меерсон, 1986) или, пользуясь терминологией классификации безусловных реакций по П.В.Симонову (1962), стадии превентивного торможения. В связи с этим следовало ожидать, что у животных с различными типологическими особенностями поведения (т.е. различной стратегией адаптации в экстремальной ситуации) эта стадия может реализовываться по-разному. Исследование беспородных крыс-самцов, разделенных в тесте эмоционального резонанса, показало, что у животных, проявляющих феномен эмоционального резонанса, содержание продуктов ПОЛ в

мозге и сыворотке крови и холестерина в мозге было выше, а содержание фосфолипидов ниже, чем у животных, не проявляющих этот феномен. Электрошолевой стресс в течение 5 минут вызывает ингибирование ПОЛ, снижение уровня холестерина, накопление фосфолипидов и повышение СПА у животных обеих групп. У интактных животных обеих групп содержание продуктов ПОЛ выше в левом полушарии (коэффициент асимметрии $K_a = \text{ПОЛ}_L / \text{ПОЛ}_П$ для разных продуктов I, I-1,5). При стрессе у животных, не избегавших крика "жертвы", K_a составлял 0,5-0,8, а в другой группе усиливалась "левая" асимметрия (K_a I,2-2,6). Латерализация параметров липидной компоненты мозга также была неодинакова в разных группах. Различия по уровню ПОЛ и латерализации ПОЛ в мозге обнаружены также у интактных крыс линии Трайона, различных по устойчивости к стрессу. Неспособные к обучению в лабиринте, но устойчивые к стрессу крысы maze-dull (Дмитриева и соавт., 1984) характеризуются низким уровнем ПОЛ в мозге и крови, содержанием холестерина в мозге и преобладанием продуктов ПОЛ в левом полушарии (как и беспородные животные). У неустойчивых к стрессу, но способных к обучению крыс maze-bright уровень ПОЛ в мозге и крови и содержание холестерина в мозге были выше, содержание фосфолипидов ниже, а продукты ПОЛ преобладали в правом полушарии мозга. Таким образом, уровень и латерализация ПОЛ в мозге зависят от типологических особенностей поведения и стрессоустойчивости животных.

В экспериментах, поставленных вместе с Л.С. Бикбулатовой, исследовали влияние электрошолевого стресса, предъявленного беспородным крысам-самкам в условиях выработки условного рефлекса двустороннего избегания и при несочетанном действии света и тока. Независимо от сочетанности стимулов, наблюдали ингибирование ПОЛ в коре и гиппокампе крыс. Наиболее важным отличием животных, получавших сочетания, было накопление холестерина на фоне ингибирования ПОЛ (в группе активного контроля, получавшей несочетанные стимулы, содержание холестерина в мозге возрастало).

Рассматривая вопрос о возможных причинах ингибирования ПОЛ в начальный период стресса, следует обратить внимание на неферментативную СПА, обнаруженную в сыворотке крови и отчасти в мозге и впервые систематически исследованную нами.

На стадии инициального ингибирования ПОЛ при стрессе резко возрастает именно СПА безбелковых экстрактов мозга и сыворотки, хотя отмечается и активация СОД мозга. СПА обладают находящиеся в сыворотке комплексы аминокислот с медью (Brigelius et al ., 1974), катехоламины (Cohen , 1985), стероидные гормоны (Braughler, 1985). Нами показано, что введение крысам нейропептидов АКТГ₄₋₇ и дез-глициларгининвазопрессина вызывает длительное повышение СПА и ингибирование ПОЛ в мозге (по крайней мере в течение недели) и сыворотке крови, однако содержание холестерина в мозге изменяется независимо от ПОЛ, возрастая в периоды, когда эти пептиды оказывают специфические эффекты на обучение (АКТГ — через несколько часов, вазопрессин — через 3-7 дней).

Анализ собственных результатов и данных литературы позволил разработать концепцию, объясняющую наблюдаемые фазные изменения ПОЛ при остром стрессе. Согласно этой концепции (рис. 2), параллельно происходят процессы ингибирования и активации ПОЛ. Причиной снижения ПОЛ является повышение СПА за счет выброса "адаптивных гормонов" и активация ферментов антирадикальной защиты в мозге (Микаэлян и соавт., 1979; Смирнов, 1987). Одновременно начинают развиваться процессы активирования ПОЛ, в частности, за счет радикалообразования в результате вызываемого стрессом нарушения циркуляции и повреждающего действия катехоламинов на сосуды мозга при нарушении функционирования гемато-энцефалического барьера (ГЭБ). Первичное ингибирование ПОЛ сменяется его активацией, которая облегчается происходящей на стадии ингибирования ПОЛ модификации липидной компоненты мембран мозга.

ПОЛ и липидная компонента мозга при хроническом стрессе и в отдаленные сроки после повреждения мозга. Комбинированный хронический эмоционально-болевого стресс (ЭБС) приводит к психо-вегетативным расстройствам, которые дают основание рассматривать состояние животных как невротоподобное (модель "экспериментального невроза") (Айрапетянц, Вейн, 1982). Проведено комплексное изучение поведения, вегетативных показателей и состояния ПОЛ у животных, подвергшихся ЭБС в течение I (С1), 2 (С2) или 3 недель (С3) в сравнении с контрольными (К). В группе С1 обнаруживались язвенные поражения слизистой желудка;

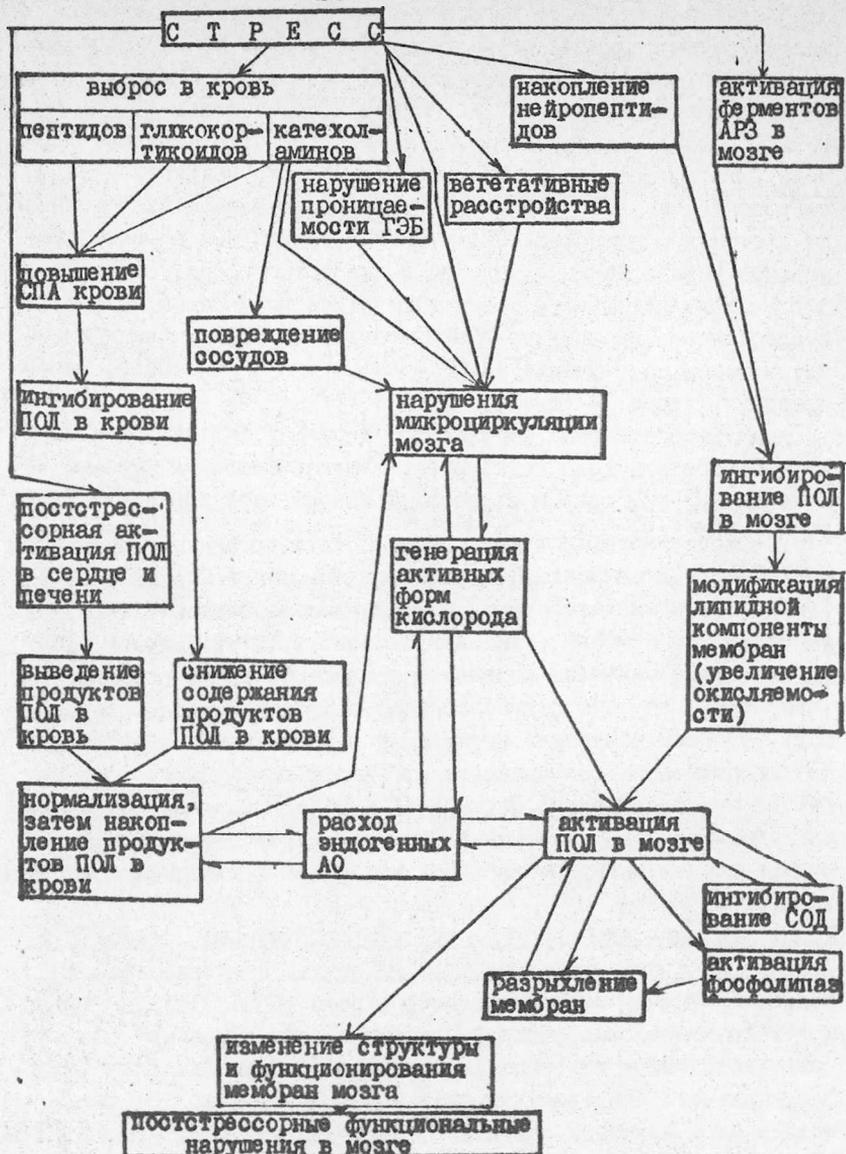


Рис. 2. Механизмы изменения процессов ПОП при остром стрессе.

масса тимуса, селезенки и надпочечников была ниже контрольной. Фоновые значения АД не изменялись через I неделю ЭБС и были достоверно ($p < 0,01$) выше в группе С2 ($137,8 \pm 15,0$ мм рт. ст.) и ниже в группе С3 ($85,0 \pm 11,5$), чем в группе К ($103,0 \pm 9,2$). Реакция АД на функциональную нагрузку иммобилизацией практически отсутствовала в группе К, в группе С1 возрастание АД при иммобилизации было значительно, в группе С2 менее выражено, а в группе С3 АД снижалось. Индекс Хильдебрандта, отражающий согласованность функционирования дыхательной и сердечно-сосудистой систем, в фоне был резко повышен в группе С3, а при иммобилизации наиболее сильно изменялся в группе С1. При исследовании поведения в открытом поле в группе С1 наблюдали увеличение латентного периода в 6 раз, числа дефекаций в 1,6 раза при снижении числа пересеченных квадратов в 2,2 раза. В группе С2 поведенческие показатели приближались к норме, а в группе С3 наблюдали значительное увеличение числа пересеченных квадратов. Фазовые изменения были характерны и для параметров ПОД в мозге и крови. Содержание ТБК-активных продуктов было резко понижено в группах С1 и С2, затем быстро повышалось до контрольного уровня в группе С3. Сходным образом изменялся уровень конъюгированных диенов в мозге. Активность СОД прогрессивно возрастала, уровни холестерина и фосфолипидов в мозге постепенно снижались при продолжении ЭБС, а отношение холестерин:фосфолипиды было выше в группе С3 по сравнению с С2. СПА сыворотки крови резко возрастала, а содержание продуктов ПОД, сниженное в группе С1, затем возросло и к 3-й неделе ЭБС было выше контрольного уровня.

Таким образом, комплексное исследование позволило охарактеризовать 3 стадии развития ОАС при действии хронического ЭБС. Первая стадия (С1) соответствует переходу от срочной к долговременной адаптации (Меероон, 1986) и характеризуется остаточными висцеральными дефектами, преобладанием реакций страха, подавлением ориентировочно-исследовательского поведения, лабильностью АД, что свидетельствует о поиске оптимальных уровней функционирования организма в изменяющихся условиях. Группа С2 соответствует по ряду показателей сформировавшейся долговременной адаптации, когда достигается согласованное функционирование систем организма на новом уровне, хотя

продолжающееся истощение фосфолипидов в мембранах мозга свидетельствует о локальном изнашивании определенных структур. Группа СЗ отражает стадию перехода долговременной адаптации в истощение: начинается срыв вегетативных функций, активация ПОД (в первую очередь в крови), несмотря на высокий уровень СПА, происходят глубокие нарушения липидной компоненты мозга. Выявленные в гомогенатах мозга изменения генерализованы: наблюдаются во фракциях, обогащенных нейронами, глией, и синапсосомах.

В качестве примера долговременных компенсаторно-адаптивных изменений нами рассмотрены показатели ПОД в мозге крыс, которым наносили повреждение мозга в области амигдалы проколом или электрокоагуляцией, а затем части животных в поврежденный участок трансплантировали эмбриональную мозговую ткань (операции проведены И.В.Ермаковой и Н.М.Хоничевой). У крыс, взятых через 10 дней после прокола или через 2 месяца после коагуляции, наблюдается снижение ПОД в мозге и крови, повышение СПА, накопление в мозге легкоокисляемых фосфолипидов, снижение уровня холестерина и отношения холестерин:фосфолипиды. Нейротрансплантация достоверно усиливает эти изменения, что, учитывая данные об усилении компенсаторно-адаптивных реакций при нейротрансплантации (Полежаев, Александрова, 1986), свидетельствует об адаптивной природе наблюдаемых эффектов. Некоторые показатели энергетического метаболизма в мозге крыс при хроническом ЭБС. Данные предыдущего раздела позволяют рассматривать состояние, возникающее в результате хронического ЭБС, как свободнорадикальную церебральную патологию. Патологические изменения мембран мозга сопровождаются накоплением в нем лактата, ингибированием Na, K-АТФазы в коре и гипсокампе, активацией цитохромоксидазы в отделах мозга. Учитывая данные о снижении локального мозгового кровотока при хроническом ЭБС (Левшина, Гуляева, 1984), последний эффект может трактоваться как компенсаторный, направленный на усиление утилизации кислорода при его пониженной доступности в мозге. Полученные данные косвенно подтверждают гипотезу М.Г. Айрапетянца (1980) о важной роли церебральной гипоксии в патогенезе экспериментального невроза. Адаптационные свойства перехватчиков $\cdot\text{OH}$ -радикалов. Вопросы, касающиеся механизмов инициации ПОД в мозге при стрессе, ос-

тактятся малоизученными, несмотря на их важное теоретическое и практическое значение. Анализ данных литературы свидетельствует о возможной роли $\cdot\text{OH}$ -радикала в этих процессах. Поскольку прямое определение $\cdot\text{OH}$ *in vivo* практически невозможно, нами были использованы нетоксические перехватчики $\cdot\text{OH}$, которые вводили животным в дозах, обеспечивающих достаточную для перехвата радикалов концентрацию в тканях. На основании малой токсичности, гомогенности распределения в организме, возможности создания высоких концентраций нами был выбран специфический перехватчик $\cdot\text{OH}$ диметилсульфоксид (ДМСО), который вводили в/б в дозе 1 г/кг перед каждым сеансом ЭБС в течение 3 недель. ДМСО предотвращал поведенческие и вегетативные нарушения при хроническом ЭБС, снижал уровень ПОД и активировал СПА в мозге и сыворотке крови, частично предотвращал истощение фосфолипидов в мозге. В экспериментах *in vitro* было показано, что ДМСО в зависимости от дозы активировал СОД; этим свойствам обладают и другие перехватчики $\cdot\text{OH}$: этанол и маннит. По-видимому, способность активировать СОД вносит вклад в антиокислительное действие ДМСО, наряду с непосредственным взаимодействием с $\cdot\text{OH}$.

Дополнительное подтверждение предположения о том, что адаптогенные эффекты ДМСО обусловлены перехватом $\cdot\text{OH}$, а не иными специфическими свойствами ДМСО, было получено при использовании другого перехватчика $\cdot\text{OH}$ — этанола. В условиях потребления 20%-ного этанола вместо питьевой воды, которое начиналось на фоне хронического стресса, наблюдали предотвращение поведенческих и вегетативных нарушений и гипертрофии сердца, вызываемых ЭБС. В случае предварительной 6-месячной алкоголизации крыс до начала ЭБС этанол оказывал одностороннее со стрессом действие, усугубляя эффекты ЭБС, что соответствует данным литературы о патологическом действии хронической алкоголизации. Адаптогенные эффекты ДМСО и этанола (при кратковременном приеме) свидетельствуют о важной роли $\cdot\text{OH}$ -радикалов в развитии свободнорадикальной постстрессорной мембранной патологии мозга.

Адаптогенные свойства АО при стрессе. Адаптогенные свойства АО связывают с их способностью ограничивать активацию ПОД за счет непосредственного взаимодействия с его продуктами при стрессе (Меерсон, 1981). Тем не менее остается недостаточно

разработанными вопросы, касающиеся применения природных АО, а также возможных альтернативных механизмов действия АО.

Синтетический АО класса пространственно затрудненных фенолов (водорастворимая калиевая соль фенозановой кислоты) был применен нами при хроническом 3-недельном ЭБС по профилактической схеме (в/б 40 мг/кг перед каждым сеансом ЭБС) и терапевтически (начиная с 3 дня после окончания ЭБС 2 дня по 20 и 2 дня по 40 мг/кг). В обоих случаях введение фенозана К устраняло вызванные ЭБС нарушения АД, ЧСС и ЧД, патологические изменения внутренних органов, нормализовало повышенный уровень ПОД, активность цитохромоксидазы и Na,K-АТФазы. В опытах *in vivo* и *in vitro* АО активировал СОД. Эффективное адаптогенное действие фенозана К, выявляемое вскоре после отмены препарата, отс. ствовало при исследовании животных через 2 месяца. Более того, АО вызывал сходные с действием ЭБС нарушения вегетативных показателей, что связано, возможно, с описанным А.Н.Ериным и соавт. (1988) мембранодестабилизирующим действием фенольных АО.

На моделях острого стресса (электро-болевого, иммобилизационного) нами впервые применен *in vivo* природный АО карнозин (β-аланил-L-гистидин), антиокислительные свойства которого *in vitro* были описаны (Болдырев, 1986). Введение карнозина в дозе 20 мг/кг в/б предотвращало вызванные стрессом вегетативные нарушения. Введенный в дозе 0,2-20 мг/кг контрольным или стрессированным крысам, карнозин активировал СОД и СПА, повышал содержание фосфолипидов и их окисляемость и снижал долю холестерина в мембранах мозга (эти изменения зависели от дозы). Карнозин активировал СОД в условиях *in vitro*. В кумольной модели карнозин проявлял антиокислительную активность (это свидетельствует о его возможном действии не только в водорастворимых компартаментах клетки). Выявлена СПА карнозина в присутствии ионов меди и цинка, которая может вносить вклад в антиоксидантные свойства дипептида. На основании низкой токсичности, водорастворимости, возможности стерилизации и длительного хранения, полифункциональности антиоксидантного действия сделан вывод о перспективности карнозина для применения в клинике в качестве АО.

В настоящей работе был разработан и испытан новый комплексный антиоксидантный препарат, включающий мембраностабилизатор

антиоксидантной природы витамин Е и перехватчик $\cdot\text{OH}$ ДМСО. При пероральном применении в малых дозах (витамин Е 2-5 мг/кг, ДМСО 20-50 мг/кг) при хроническом ЭБС по профилактической схеме или терапевтически (в течение 7 дней после отмены ЭБС) наблюдали коррекцию вегетативных, поведенческих показателей и патологий внутренних органов у крыс. АО ингибировал ПОД и повышал СПА в мозге и крови, снижал долю холестерина и способствовал аккумуляции легкоокисляемых фосфолипидов в мембранах мозга. Эти эффекты в одинаковой степени проявлялись в нейронах, глии, синапсоммах и гомогенатах больших полушарий.

Введение малых доз витамина Е и ДМСО в комплексную терапию при инфаркте миокарда, церебральных инсультах и посттравматических невротических расстройствах (испытания проведены в Украинском институте усовершенствования врачей) позволило сократить сроки лечения, снизить опасность рецидивов и осложнений, снизить уровень ПОД. В основе благоприятного действия лежат: увеличение биодоступности витамина Е за счет суперпродуктивного эффекта ДМСО; непосредственное взаимодействие ДМСО и витамина Е с активными формами кислорода; проявление антирадикальной активности в цитозоле (ДМСО) и мембранах (витамин Е, ДМСО); активация СОД и СПА; мембраностабилизирующие (витамин Е) и мембранопротекторные (ДМСО) эффекты; суммация различных эффектов витамина Е и ДМСО и т.д.

АО и перехватчики $\cdot\text{OH}$, использованные в настоящей работе, активировали СОД *in vivo* и *in vitro*. Совместно с Б.С.Мариновым нами было показано, что соединения, различной химической природы, обладающие свойствами доноров электронов, активируют, а акцепторы электронов ингибируют СОД. СОД-активирующая способность АО и перехватчиков радикалов по крайней мере отчасти определяется их электроннодонорными свойствами. На основании собственных данных и результатов других исследователей сформулирована концепция адаптогенного действия АО, в основе которой лежит представление о множественности механизмов действия АО, включающих прямые и опосредованные антиоксидательные эффекты.

Существует мнение о том, что одним из механизмов действия АО является имитация ими стадии срочной адаптации (Фролькис и соавт., 1985; Меерсон, 1986). Однократное введение крысам АО (фенозана К, карнозина, ДМСО) приводило к замечаниям ПОД,

СП¹ и липидной компоненты мозга, динамика которых повторяла таковую в инициальный период острого стресса (рис. 1). Через 2 часа происходила небольшая кратковременная активация ПОЛ, а затем устанавливался стабильный низкий уровень ПОЛ. В отличие от фазных изменений ПОЛ и СПА в мозге, СПА сыворотки крови возрастала, а ПОЛ снижалось постепенно, независимо от изменений в мозге. Таким образом, введение АО действительно имитирует действие острого стресса, включая природный механизм срочной адаптации, при этом по крайней мере быстрые эффекты АО на процессы ПОЛ в мозге принципиально отличны от эффектов на ПОЛ в крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ингибирование ПОЛ в мозге как фактор адаптации к стрессу. В ответ на внешние воздействия в организме развиваются многообразные и сложные реактивные сдвиги, в результате которых формируется целенаправленная системная адаптивная реакция организма. Стресс-реакции придают существенное значение в формировании адаптации в качестве ее неспецифического звена, а также в патогенезе многих заболеваний, рассматривая активацию ПОЛ как ключевой фактор повреждения мембран при стрессе (Меерсон, 1981; Прилипко, 1982). Вопросы о роли изменений ПОЛ в адаптивных реакциях остаются в значительной степени нерассмотренными. В настоящей работе впервые систематически исследованы стадии ингибирования ПОЛ при стрессорных воздействиях и показано, что эти стадии соответствуют адаптивным процессам. Следующие факты свидетельствуют в пользу такого вывода. 1. Наиболее ранней реакцией организма на стресс является срочная адаптация (Меерсон, 1986) и ингибирование ПОЛ. 2. Введение АО, имитирующих стадию срочной адаптации, вызывает изменения ПОЛ, сходные с таковыми в инициальный период действия острого стресса. 3. Стадии долговременной адаптации к ЭБС по физиологическим показателям соответствует ингибирование ПОЛ. 4. Трансплантация, усиливающая компенсаторно-адаптивные реакции, (Полежаев, Александрова, 1986), увеличивает степень ингибирования ПОЛ в отдаленные сроки после повреждения мозга. 5. АО и перехватчики *ОН снижают уровень ПОЛ и обладают адаптогенным действием при стрессе. 6. Активацию ПОЛ на стадии тревоги и истощения ОАС рассматривают как срыв адаптации, поэтому логично связывать снижение ПОЛ с адаптивными процессами.

Рассмотрим каждую из ситуаций, в которых наблюдали ингибирование ПОЛ. Адаптивные процессы включают реализующиеся "с места" реакции кратковременного приспособления на базе готовых механизмов, а также формирующиеся постепенно реакции длительного приспособления. Первые реакции происходят немедленно после начала действия стрессора, но обеспечивают приспособление лишь на короткий период (Меерсон, 1973). Уже в первые минуты действия стрессорного фактора происходит снижение интенсивности процессов ПОЛ, динамика которого зависит от силы воздействия и состояния организма. Согласно нашей концепции (рис. 2), наблюдаемая суммарная динамика ПОЛ складывается из взаимодействия процессов его ингибирования и активации, которые происходят параллельно, но в начальный период стресса доминирует ингибирование, а в последующий период — активация. Такая схема позволяет объяснить ряд феноменов, например, более эффективное ингибирование ПОЛ при введении АО в условиях стресса; чем у интактных животных.

Стадия длительного адаптации также сопровождается ингибированием ПОЛ в мозге, причем низкий уровень ПОЛ отмечается уже в переходный период лабильности физиологических показателей, предшествующий их стабилизации. По-видимому, адаптивные изменения в мембранах мозга предшествуют адаптации на уровне целого организма. "Срыв" адаптации по физиологическим показателям и активация ПОЛ в сыворотке крови происходят на фоне сохранения пониженного или нормального уровня ПОЛ в мозге. "Запаздывание" активации ПОЛ в мозге по сравнению с сывороткой при хроническом ЭБС свидетельствует об относительно большей устойчивости адаптивных изменений в мозге. Ингибирование ПОЛ характерно и для животных, исследованных через длительный срок после повреждения миндалины, состояние которых соответствует стадии длительного компенсации, рассматриваемой Ф.З.Меерсоном (1986) как частный случай длительного адаптации.

Несомненно, что механизмы ингибирования ПОЛ при срочной и долговременной адаптации различны. По-видимому, для стадии срочной адаптации характерно "изменение диапазона регулируемых констант", а для долговременной адаптации — "изменение систем регулирования" (терминология В.И.Медведева, 1982).

Введение химических адаптогенов, в том числе АС, призвано

повысить мощность механизмов адаптации. АО оказывают выраженный стресс-протекторный эффект, повышают СПА и ингибируют ПОЛ, предотвращая активацию ПОЛ при срыве срочной и долговременной адаптации. Несмотря на относительную теоретическую и практическую разработанность применения АО для предотвращения последствий стресса, в настоящей работе содержится ряд принципиально новых данных. Это данные об адаптогенном действии и способности ингибировать ПОЛ *in vivo* перехватчиков $\cdot\text{OH}$ -радикалов, на основании которых выдвинута гипотеза о роли $\cdot\text{OH}$ в инициации ПОЛ при стрессе, факты, свидетельствующие о новом механизме действия АО и перехватчиков путем активации СОД. Модуляция СОД веществами с электроннодонорными и электроноакцепторными свойствами открывает новое направление в исследовании регуляции активности этого фермента *in vivo*.

Все экспериментальные ситуации, рассмотренные выше, сопровождаются ингибированием ПОЛ, связанным хотя бы отчасти с возрастанием СПА. Если ингибирование ПОЛ является общим компонентом адаптивных реакций, то липидная компонента мозга изменяется в разных условиях по-разному. Содержание фосфолипидов в мозге и их окисляемость, возрастающие при срочной адаптации и введении АО в соответствии с концепцией регуляции липидной компоненты мембран (Бурлакова, 1976), снижаются при адаптации к хроническому ЭБС, что свидетельствует о высокой "структурной цене" и напряженности такой адаптации и функциональном изнашивании участвующих в адаптации систем (Меерсон, 1986). Фосфолипиды мозга крайне чувствительны к действию стрессорных факторов: при остром стрессе их истощение в мозге начинается иногда до развития активации ПОЛ.

Содержание холестерина в мозге обычно находится в тесной прямой связи с интенсивностью ПОЛ и может быть оценено как неспецифический фактор в процессах адаптации. Факты временного накопления холестерина на фоне низкого ПОЛ при выработке условного рефлекса и введении нейропептидов свидетельствуют о том, что такое сочетание этих показателей связано с выполнением мозгом интегративной функции.

Изменения фосфолипидного спектра мозга при адаптации (кроме адаптации к хроническому ЭБС) приводят к повышению окисляемости, как это обычно происходит при ингибировании ПОЛ (Бурлакова, 1976). Истощение фосфолипидов и снижение их окисля-

емости на фоне ингибирования ПОЛ при хроническом ЭБС указывают на рассогласование механизмов регуляции ПОЛ и липидного состава мембран мозга, что может быть одной из причин церебральной мембранной патологии при "экспериментальном неврозе". В пользу этого свидетельствует и двойственный характер изменения фосфолипидного спектра в этом случае, включающего черты, характерные и для срочной адаптации, и для стадии последующей активации ПОЛ. Различия изменений фосфолипидного состава мембран мозга в различных ситуациях указывают на относительную специфичность этого показателя при адаптации, что хорошо согласуется с постулированной Е.М.Крепсом (1982) ролью церебральных фосфолипидов в качестве адаптивных и информационных молекул. Наиболее близкие фосфолипидные спектры характерны для срочной адаптации и введения АС, что подтверждает близкую связь адаптогенных эффектов АС и механизмов срочной адаптации. Таким образом, в отличие от неспецифических звеньев адаптации — ингибирования ПОЛ и повышения СПА —, адаптивные изменения фосфолипидного спектра мембран мозга в определенной степени специфичны, хотя и генерализованы (специфичность в отношении клеточных и субклеточных фракций мозга практически отсутствует).

Существенная роль изменений ПОЛ на разных стадиях адаптации к стрессу подтверждается сопоставлением их с динамикой других важнейших показателей ОАС (рис. 3), схематично представленных в виде фазных реакций. Интенсивность ПОЛ и связанные с ней параметры (СПА, содержание холестерина) закономерно изменяются вместе с другими неспецифическими детерминантами ОАС: "резистентностью" по Г. Селье, безусловными реакциями по П.В.Симонову, гормональным статусом организма. При этом фазам ОАС, имеющим адаптивный характер, соответствует низкий уровень ПОЛ и холестерина в мозге на фоне высокой СПА.

Таким образом, ингибирование ПОЛ можно рассматривать как неспецифический защитный механизм, обеспечивающий мобилизацию других адаптивных реакций при срочной адаптации и функционирование сформировавшихся при долговременной адаптации приспособительных систем, а увеличение СПА, обеспечивающее низкий уровень ПОЛ, — как важнейший стресс-лимитирующий фактор.

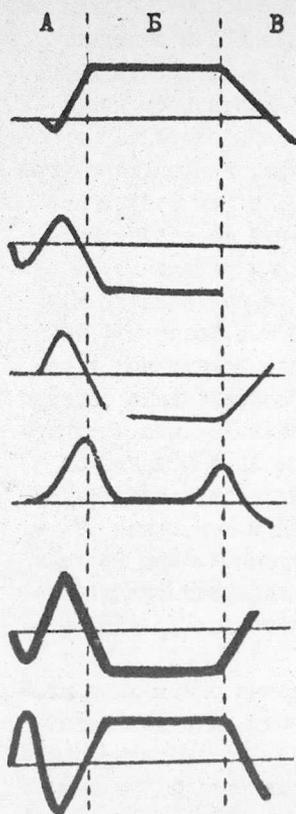


Рис. 3. Динамика различных показателей при развитии ОАС.

I. Резистентность к стрессу по Г. Селье (1979). А - стадия тревоги, Б - стадия резистентности, В - стадия истощения.

II. Безусловные реакции на внешнее воздействие по П.В.Симонову (1962). А - превентивное торможение, затем возбуждение, Б - запредельное торможение.

III. Изменение концентрации инсулина в крови (Л.Е.Панин, 1983).

IV. Динамика адренокортикальной активности (А.А.Виру, 1981).

V. Изменение интенсивности ПОД в мозге и крови и содержания холестерина в мозге.

VI. Изменение СПА в мозге и сыворотке крови.

ВЫВОДЫ

1. Адаптация к стрессорным воздействиям сопровождается снижением интенсивности перекисного окисления липидов и активацией перехвата супероксидных радикалов в мозге и сыворотке крови, а также снижением доли холестерина в мембранах мозга. Изменения фосфолипидного спектра мембран мозга неодинаковы при различных воздействиях.

2. В инициальный период острого стресса происходит ингибирование перекисного окисления липидов и повышение супероксидперехватывающей активности в мозге и сыворотке крови. Содержание фосфолипидов и их окисляемость увеличиваются, а содержание холестерина в мозге уменьшается. При продолжении

стрессорного воздействия перекисное окисление липидов активируется, в мембранах мозга накапливается холестерин и снижается доля фосфолипидов.

3. Снижение и последующее увеличение интенсивности перекисного окисления липидов в мозге и крови при остром стрессе могут быть объяснены в рамках концепции, ключевыми звеньями которой являются наличие одновременно процессов ингибирования (за счет усиленной секреции кортикостероидов, катехоламинов, пептидных гормонов, повышающих супероксидперехватывающую активность) и активации (за счет усиленного радикалообразования) перекисного окисления липидов, доминирование первого процесса в инициальный период стресса, а второго - в последующий период.

4. Хронический эмоционально-болевой стресс (модель "экспериментального невроза") приводит к ингибированию перекисного окисления липидов в мозге и сыворотке крови. Патологический по физиологическим показателям характер долговременной адаптации проявляется на уровне мембран мозга в рассогласовании регуляции перекисного окисления липидов и состава липидной компоненты мембран мозга, в том числе в снижении содержания фосфолипидов и их окисляемости на фоне низкого уровня перекисного окисления липидов и высокой супероксид-перехватывающей активности. Хроническое стрессорное воздействие вызывает нарушение энергетического метаболизма мозга.

5. В отдаленные сроки после однократного повреждения мозга низкому уровню перекисного окисления липидов и содержанию холестерина соответствует повышенный уровень фосфолипидов в мозге и их высокая окисляемость. Нейротрансплантация эмбриональной мозговой ткани в поврежденный участок усиливает эти эффекты.

6. Перехватчики гидроксильных радикалов обладают адаптогенным действием при хроническом эмоционально-болевым стрессе. Введение крысам перехватчика гидроксильных радикалов диметилсульфоксида снижает уровень перекисного окисления липидов и содержание холестерина, увеличивает супероксидперехватывающую активность, содержание фосфолипидов в мозге и их окисляемость. Гидроксильные радикалы играют существенную роль в развитии постстрессорного свободнорадикального повреждения мембран мозга.

7. Антиоксиданты фенолан калия (синтетический антиоксидант класса пространственно затрудненных фенолов), карнозин (водорастворимый антиоксидант дипептидной природы) и витамин Е в сочетании с перехватчиком гидроксильных радикалов диметилсульфоксидом обладают адаптогенным действием при остром и хроническом стрессе, ингибируют перекисное окисление липидов, снижают содержание холестерина, вызывают накопление фосфолипидов и повышение их окисляемости в мембранах мозга. Антиоксиданты и перехватчики гидроксильных радикалов оказывают непосредственное активирующее действие на супероксиддисмутазу.

8. Однократное введение intactным животным веществ, обладающих антиоксидантным и адаптогенным действием, вызывает изменения перекисного окисления липидов, супероксидперехватывающей активности и липидной компоненты мозга, сходные с таковыми в инициальный период действия острого стресса.

9. Все изменения перекисного окисления липидов, супероксидперехватывающей активности и липидной компоненты мозга крыс при действии стресса и введении антиоксидантов аналогичны в гомогенатах мозга, синапсоммах и фракциях, обогащенных нейронами и глией.

10. Ингибирование перекисного окисления липидов и активация перехвата супероксидных радикалов, а также изменение содержания холестерина в мембранах мозга могут быть рассмотрены как неспецифические звенья адаптации, а фосфолипидный спектр церебральных мембран — как относительно специфичный показатель.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, СПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гуляева Н.В. Активность цитохромоксидазы и содержание цитохромов в мозгу крыс при хроническом эмоционально-болевым стрессе// Нейрохимия.—1984.—Т.3.—№ 3.—С.260-268.
2. Гуляева Н.В., Левшина И.П. Изменения энергетического метаболизма в некоторых областях мозга и вегетативных реакций белых крыс при невротизации//Журн.высш.нервн.деят.—1984.—Т.34.—№ 3.—С.554-559.
3. Левшина И.П., Гуляева Н.В. Изменение скорости локального мозгового кровотока и содержание цитохромов в мозгу крыс при хроническом эмоционально-болевым стрессе//Журн.высш.нервн.деят.—1984.—Т.34.—№ 5.—С. 967-971.
4. Гуляева Н.В., Левшина И.П., Левина О.Л., Плеханова Л.Г.

Корректирующее действие антиоксиданта при хроническом эмоционально-болевым стрессе у крыс//Бюл.эксперим.биол.и мед.-1984.-Т.98.-№ 12.-С.645-646.

5. Гуляева Н.В., Левина О.Л., Левшина И.П. Действие алкоголя при хроническом эмоционально-болевым стрессе у крыс//Бюл.эксперим.биол.и мед.-1985.-Т.100.-№ 8.-С.204-206.

6. Левшина И.П., Левина О.Л., Гуляева Н.В. Возможная роль гипоксии и перекисного окисления липидов в развитии невроподобного состояния у крыс//Журн.выш.нервн.деят.-1985.-Т.35.-№ 2.-С.330-338.

7. Айрапетянц М.Г., Левшина И.П., Гуляева Н.В. Терапевтическое действие антиоксиданта при хроническом эмоционально-болевым стрессе у крыс//Журн.выш.нервн.деят.-1986.-Т.36.-№ 3.-С.554-560.

8. Гуляева Н.В., Левшина И.П., Азизова О.А., Козлов А.В. О влиянии хронического потребления этанола на эмоциональный стресс у белых крыс//Журн.выш.нервн.деят.-1986.-Т.33.-№ 4.-С.767-776.

9. Гуляева Н.В., Левшина И.П. Адаптогенное действие диметилсульфоксида при хроническом эмоционально-болевым стрессе у крыс//Бюл.эксперим.биол.и мед.-1986.-Т.102.-№ 11.-С.523-525.

10. Гуляева Н.В. Активация супероксиддисмутазы мозга крыс под действием антиоксидантов//Тез.докл. П Всес.конф. "Биоантиоксидант".-Черноголовка, 1986.-Т.1.-С.105.

11. Гуляева Н.В., Левшина И.П., Обидин А.Б. Показатели свободнорадикального окисления липидов и антирадикальной защиты в мозге крыс в разные фазы общего адаптационного синдрома и при введении перехватчиков радикалов//Фундаментальные достижения нейрохимии - медицине.-Горький, 1987.-С.181-182.

12. Гуляева Н.В. Липиды мозга крыс линий Трайона//Тез.докл. Всес.симп. по биохимии липидов.-Алма-Ата, 1987.-С.49-50.

13. Гуляева Н.В. Активность Na,K-АТФазы и содержание продуктов перекисного окисления липидов в мозге при действии внешних факторов//Ионный гомеостаз и влияние факторов внешней среды на жизнедеятельность клетки.-М., МГУ, 1987.-С.82.

14. Гуляева Н.В., Меркулова Г.П. Антистрессовое действие альфа-токоферола в комплексе с диметилсульфоксидом в эксперименте: подходы к обоснованию применения в клинике//Научно-технический прогресс в медицине и фундаментальные проблемы биоло-

гии. - Харьков, 1987. - С.398-400.

15. Меркулова Г.П., Гуляева Н.В. К вопросу об использовании антиоксидантов в лечении церебральных инсультов//Научно-технический прогресс в медицине и фундаментальные проблемы биологии. - Харьков, 1987. - С.403-405.

16. Гуляева Н.В. Супероксидперехватывающая активность комплексов карнозина и анзерина с медью и цинком//Тез.докл. I болгаро-советского симпозиума "Свободные радикалы и биостабилизаторы". - София, 1987. - С.49.

17. Гуляева Н.В., Обидин А.Б. Простой колориметрический метод определения диметилсульфоксида//Лабораторное дело. - 1987. - № 8. - С.635-636.

18. Левшина И.П., Гуляева Н.В., Обидин А.Б., Курочкина Е.В. Антистрессовый эффект диметилсульфоксида у крыс//Журн.высш. нервн.деят. - 1987. - Т.37. - № 2. - С.350-355.

19. Гуляева Н.В., Хоничева Н.М., Обидин А.Б. Супероксиддисмутазная активность и уровень малонового диальдегида в мозгу крыс "способной" и "неспособной" линий Трайона: связь с устойчивостью к стрессу//Нейрохимия. - 1987. - Т.6. - № 2. - С.259-262.

20. Маринов Б.С., Обидин А.Б., Гуляева Н.В. Изменение активности супероксиддисмутазы под действием доноров и акцепторов электронов//Биохимия. - 1987. - Т.52. - № 5. - С.846-849.

21. Гуляева Н.В. Супероксидперехватывающая активность карнозина в присутствии ионов меди и цинка//Биохимия. - 1987. - Т.52. - № 7. - С.1216-1220.

22. Никонов В.В., Гуляева Н.В., Обидин А.Б. Эффекты троксевазина, димексидом и витамина Е при инфаркте миокарда//Кровообращение. - 1987. - Т.20. - № 1. - С.19-22.

23. Gulyaeva N.V., Obidin A.B., Marinov B.S. Modulation of superoxide dismutase by electron donors and acceptors//FEBS Letters. - V.211. - № 2. - P.211-214.

24. Гуляева Н.В. Профилактическое и терапевтическое действие антиоксиданта при экспериментальном неврозе у крыс//Экспериментальные неврозы и их фармакологическая терапия. - М., Наука, 1988. - С.20-26.

25. Гуляева Н.В., Левшина И.П. Теоретическое и экспериментальное обоснование применения витамина Е в комплексе с димексидом в профилактике и терапии невроза//Экспериментальные неврозы и их фармакологическая терапия. - М., Наука, 1988. - С.15-20.

26. Гуляева Н.В., Никонов В.В., Хименко Л.П., Чуйко В.А., Романский Л.А. Витамин Е и димексид в предупреждении кардиоцеребрального синдрома у лиц пожилого и старческого возраста при инфаркте миокарда//Кровообращение.-1988.-Т.21.-№ 2.-С.30-31.
27. Гуляева Н.В. Состояние свободнорадикального окисления липидов и липидный состав ткани мозга реципиента при трансплантации как показатели компенсаторных процессов//Тез.докл.Всес. симп."Трансплантация ткани мозга млекопитающих".-Пушино, 1988.-С.21-22.
28. Гуляева Н.В., Левшина И.П., Обидин А.Б. Стадия ингибирования свободнорадикального окисления липидов предшествует стадии его активации при стрессе//Доклады АН СССР.-1988.-Т.300.-№ 3.-С.748-752.
29. Айрапетянц М.Г., Гуляева Н.В. Роль свободнорадикального окисления липидов в механизмах адаптации//Вестник АМН СССР.-1988.-№ II.-С.49-55.
30. Гуляева Н.В., Левшина И.П. Характеристики свободно радикального окисления и антирадикальной защиты мозга при адаптации к хроническому стрессу//Бюл.эксперим.биол.и мед.-1988.-Т.106.-№ 8.-С.153-156.
31. Гуляева Н.В., Левшина И.П., Обидин А.Б., Авакян А.Х., Козлов А.В., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Супероксидустраняющая активность и антиоксидантная система трансферрин-церулоплазмин в сыворотке крови при хроническом эмоционально-болевым стрессе и введении диметилсульфоксида у крыс//Бюл.эксперим.биол.и мед.-1988.-Т.106.-№ 8.-С.159-161.
32. Левшина И.П., Обидин А.Б., Гуляева Н.В. Антистрессовые эффекты витамина Е и диметилсульфоксида при их совместном применении в малых дозах//Бюл.эксперим.биол.и мед.-1988.-Т.106.-№ 9.-С.274-276.
33. Гуляева Н.В., Лузина Н.Л., Левшина И.П., Крыжановский Г.Н. Стадия ингибирования перекисного окисления липидов при стрессе//Бюл.эксперим.биол.и мед.-1988.-Т.106.-№12.-С.660-663.
34. Левшина И.П., Курочкина Е.В., Обидин А.Б., Гуляева Н.В. Альфа-токоферол в комплексе с диметилсульфоксидом - средства, обладающее высокоэффективным адаптогенным действием при хроническом эмоционально-болевым стрессе у крыс//Дури.высш. нервн.деят.-1988.-Т.38.-№ 3.-С.533-539.
35. Гуляева Н.В., Левшина И.П., Обидин А.Б. Показатели свобо-

дрорадикального окисления липидов и антирадикальной защиты мозга - нейрохимические корреляты общего адаптационного синдрома//Журн.выш.нервн.деят.-1988.-Т.38.-№ 4.-С.731-737.

36. Ермакова И.В., Лосева Е.В., Гуляева Н.В. Поведенческие, морфологические и биохимические корреляты раннего влияния нейротрансплантата на поврежденный мозг взрослых крыс//Журн.выш.нервн.деят.-1988.-Т.38.-№ 5.-С.922-930.

37. Гуляева Н.В., Дупин А.М., Левшина И.П., Обидин А.Б., Болдырев А.А. Карнозин предотвращает активацию свободнорадикального окисления липидов при стрессе//Бюл.эксперим.биол.и мед.-1989.-Т.107.-№ 2.- С.144-147.

38. Гуляева Н.В., Бикбулатова Л.С., Обидин А.Б., Айрапетянц М.Г., Крутликков Р.И. Длительное снижение перекисного окисления липидов в мозгу крыс при введении нейропептидов//Нейрохимия.- 1989.-Т.8.-№ 1.-С.95-100.

39. Гуляева Н.В., Обидин А.Б., Маринов Б.С. Механизм функционирования супероксиддисмутазы: многоцентровая модель// Известия АН СССР(сер.биол.).-1989.-№ 4.- С.

40. Гуляева Н.В. Антиокислительное действие карнозина: эффекты in vivo//Тез.докл. III Всес.конф. "Биоантиоксидант".-М., 1989.- Т.1.- С.59-60.

41. Гуляева Н.В. Свободнорадикальное окисление липидов в мозге при адаптации к экстремальным воздействиям//Тез.докл. III Всес.конф. "Биоантиоксидант".-М., 1989.-Т.2.-С.27-28.

42. Гуляева Н.В. Ингибирование свободнорадикального окисления липидов в механизмах срочной и долговременной адаптации к стрессу//Биологические науки.-1989.-№ 4.- С.5-14.

АВТОРСКИЕ СВИДЕТЕЛЬСТВА

1. Гуляева Н.В., Обидин А.Б. Способ определения диметилсульфоксида//А.С.СССР № 1324668.- Б.И. № 27, 1987.

2. Гуляева Н.В. Способ определения супероксидных анион-радикалов//А.С.СССР № 1352327.-Б.И. № 42, 1987.

Тематический план 1989 г., № 384

Подписано в печать 11.07.89 г. Л-29055. Формат 60x90/16.
Ротапринтная печать. Усл.печ.л. 2,0. Усл.кр.-отт. 2,125.
Уч.-изд.л. 1,98. Тираж 100 экз. Заказ 868. Бесплатно.

Издательство Университета дружбы народов
117923, ГСП-1, Москва, ул.Орджоникидзе, 3

Типография Издательства УДН. 117923, ГСП-1, Москва,
ул.Орджоникидзе, 3

F-17453'



2007100893