

На правах рукописи

РОЗАНОВ  
ВСЕВОЛОД АНАТОЛЬЕВИЧ

УДК 616.831:547.466-018-095]:001.6

РОЛЬ ГАМК-ШУНТА В МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КОМПЕНСАЦИИ  
В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПРИ НЕКОТОРЫХ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ  
СОСТОЯНИЯХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

03.00.04 - Енохишвили

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Москва - 1969

*Звистанцев перевод № 0471*

Работа выполнена на кафедре биохимии Одесского медицинского института им. И.И.Пирогова МЗ УССР.

Одобрительные оппоненты:

Доктор биологических наук, профессор В.З.Горкин  
Доктор медицинских наук, профессор А.П.Хожлов  
Доктор биологических наук, ст.н.с. Л.В.Молчанова.

Ведущая организация:

Институт питания АМН СССР.

Защита диссертации состоится " \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 1990 г.  
в \_\_\_\_ часов на заседании специализированного совета Д 053.22.0  
при Университете Дружбы Народов им.П.Лумумби по адресу: 117198,  
ГСП, Москва, ул.Миклухо-Маклай, д.8, Медицинский факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Университета  
Дружбы Народов им. П.Лумумби по адресу: Москва, ул.Миклухо-Маклай  
д.8.

Автореферат разослан " \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 1989 г.

Ученый секретарь  
специализированного совета  
доктор медицинских наук



Торбек В.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В современной медицинской биохимии проблема гипоксии и коррекции гипоксических нарушений является одной из ведущих. Особый интерес в связи с этим представляют так называемые экстремальные (Горизонтов П.Д., 1973) и критические (Рябов Г.А., 1988) состояния, при которых гипоксия, как неспецифическое проявление патологии, выступает на первый план. Гипоксия при этих состояниях, как правило, имеет смешанный характер и адекватно моделируется только при условии воссоздания реальной патологической ситуации. В последние десятилетия актуальность медико-биологических исследований в области биохимии экстремальных состояний возросла в связи с неуклонным ростом травматизма, ожоговых и лучевых поражений. При этом перед медициной помимо задачи сохранения жизни путем неотложных мер интенсивной терапии стоит не менее важная сверхзадача восстановления утраченных мозговых функций и социальной реабилитации пострадавших. Для решения этих задач необходимо биохимическое обоснование антигипоксических мероприятий, оценка эффективности различных сочетаний фармакологических и метаболических средств защиты органов и тканей от гипоксии.

При обсуждении вероятных метаболических механизмов устойчивости к гипоксии на первый план выходят компенсаторные пути метаболизма: глюконеогенез, пентозофосфатный шунт, реакции карбоксилирования, переаминирования (Жоничка П., Селеро Дж., 1968; Васильев В.Г. и соавт., 1984; Кондрашова М.И., 1988). В нервной ткани особую привлекательность привлекает ГАМК-шунт, представляющий собой обходной путь по отношению к лимитирующей ЦИК регулируемой  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназной реакцией (Бунятян Г.Х., 1966; Сытинский И.А., 1972; Roberts E., 1974; Taria R., 1983; Раевский К.С., Георгиев В.П., 1986), и определяющий содержание и быстроту оборота важнейшего центрального нейромедиатора ГАМК (Сытинский И.А., 1977, Kraljević K., 1970; Gonnard P., 1980). Имеются экспериментальные подтверждения участия системы ГАМК в ограничении повреждений, вызванных стрессом (Meerson Q.Z., 1981; 1986), однако вопрос о количественном вкладе метаболизма ГАМК в нормализацию нарушенного метаболизма мозга при экстремальных состояниях практически не решен. Нет ясности в представлениях о механизмах метаболического контроля, управляющих работой ГАМК-шунта, особенно при гипоксии. В то же время решение этих вопросов открывает перспективы разработки методов коррекции функций ГАМК-шунта, в частности, с помощью новых ГАМК-производст

на основе естественных метаболитов (Копелевич В.М. и соавт., 1981) и витаминно-коферментно-метаболических комплексных препаратов (Розанов А.Я., 1986). На этой основе возможна разработка конкретных рекомендаций по антигипоксической терапии при экстремальных состояниях организма. Вышеизложенное определяет актуальность предпринятого исследования.

Цель и задачи исследования. Цель исследования состояла в разработке рациональной экспериментальной фармако-метаболической защиты мозга от гипоксии при экстремальных состояниях организма на основе представлений о ГАМК-шунте как о компенсаторном метаболическом пути в нервной ткани.

Для достижения данной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Оценить количественный вклад ГАМК-шунта в поток субстратов на стадии  $\alpha$ -кетоглутарат ( $\alpha$ -КГ) — сукцинат в различных отделах мозга и сопоставить полученные данные со сведениями об устойчивости этих отделов мозга к гипоксии.

2. Расширить представления о механизмах метаболического контроля ГАМК-шунта и сопряженных с ним биохимических процессов в нервной ткани путем сравнения скоростей потоков, активности и компартиментализации ферментов, содержания субстратов и их катаболизма до  $^{14}\text{CO}_2$  в норме и при гипоксии.

3. Изучить возможности направленной регуляции функции ГАМК-шунта с помощью новых ГАМК-конъюгатов на витаминной основе, витаминов, коферментов и их сочетаний с субстратами ГАМК-шунта. Сопоставить метаболические эффекты исследуемых ГАМК-конъюгатов и комплексов с их защитным действием при гипоксии.

4. Исследовать функцию ГАМК-шунта и оценить его роль в механизмах метаболической компенсации при таких экстремальных состояниях организма как тяжелая черепно-мозговая травма (ТЧМТ), ранняя постлучевая реакция ЦНС (синдром ранней переходящей недееспособности или РПН) геморрагический шок, острая печеночная энцефалопатия (гепатогенный шок).

5. Оценить по клиническим, патофизиологическим и биохимическим параметрам эффективность фармако-метаболической защиты мозга от гипоксии при этих состояниях при помощи сочетания ГАМК-ергических препаратов и комплекса витаминов, коферментов и метаболитов (КВКМ) на основании полученных данных разработать практические рекомендации по защите мозга от гипоксии при ТЧМТ и купированию ранней постлучевой реакции.

6. С помощью методов математической статистики на основе системного подхода оценить взаимосвязи и взаимовлияния между системой метаболизма ГАМК и сопряженными с ней процессами (окислительное декарбоксилирование  $\alpha$ -кетокислот, трансаминирование) при экстремальных состояниях и экспериментальной терапии и обосновать стратегию антигипоксической защиты мозга при экстремальных состояниях организма.

Научная новизна диссертационной работы. На основании измерения максимальных активностей ферментов ГАМК-шунта и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса в гомогенатах и субклеточных фракциях головного мозга крыс впервые показано, что в мозжечке интенсивность потока по пути ГАМК-шунта может достигать 1/4 суммарного потока на стадии  $\alpha$ -КГ—сукцинат, а в коре — 1/8 — 1/10. Выявлены корреляции между интенсивностью метаболизма ГАМК, ее компартиментализацией и транспортом в различных отделах мозга, свидетельствующие о существенной роли транспорта в регуляции метаболизма ГАМК. На основании измерения катаболизма меченых 1-[ $^{14}$ C]-ГАМК и 5-[ $^{14}$ C]- $\alpha$ -КГ показаны реципрокные регуляторные взаимоотношения между КГДК-реакцией и ГАМК-зависимым трансаминированием  $\alpha$ -КГ и рассмотрена вероятная роль структурного единства КГДК и ГАМК-Т как причины этих взаимоотношений. В частности, подтверждена роль КГДК как прочно фиксированной на митохондриальной мембране матрицы — основы метаболона и установлено, что при падающей деструкции митохондрий до 76 % внутримитохондриальной ГАМК-Т-активности ассоциировано с КГДК.

На основе уточненных представлений о роли субстратов и коферментов в регуляции ГАМК-шунта и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса апробированы подходы направленной регуляции этих путей метаболизма с помощью парентерального введения витаминно-коферментного комплекса Пентапирувит и сочетания РРР +  $\alpha$ -КГ + ГЛ + ГАМК. При этом показано, что при многократном введении одного лишь РРР проявляются преимущественно некоферментные метаболические эффекты, которые могут быть скорректированы одновременным введением метаболитов ГАМК-шунта. Впервые исследовано влияние новых ГАМК-кофакторов на витаминной основе (никотиноил-ГАМК, оротил-ГАМК, биотинил-ГАМК) на функционирование ГАМК-шунта в нервной ткани, выявлены специфические черты их эффектов в различных отделах головного мозга. Установлено, что активация ГАМК-шунта в нервной ткани закономерно сопутствует проявлению антигипоксического эффекта исследуемых соединений и комплексов.

Впервые количественно оценена компенсаторная роль ГАМК-шунта

в метаболизме головного мозга в динамике после экспериментальной ТЧМТ и в первые 24 часа после абсолютного летального лучевого поражения в дозе 30 Гр (синдром РИН). Показано усиление функции ГАМК-шунта при ТЧМТ в ответ на торможение окислительного декарбоксилирования  $\alpha$ -КГ. На основании полученных данных развиты представления о ГАМК-шунте как о механизме метаболической компенсации при гипоксии экстремальных состояний, разработан способ защиты головного мозга от гипоксии при ТЧМТ, основанный на сочетании применении тиопенталового наркоза и КВМ, стимулирующего функцию ГАМК-шунта и ключевые звенья цикла Кребса. Экспериментально обоснована возможность применения КВМ как системно, так и местно, путем аппликации на поврежденную поверхность мозга. Установлено, что одним из механизмов действия использованной комбинации фармакоагентов и препаратов метаболитной терапии является ограничение перекисного окисления липидов и поддержание высокой активности глутатионовой противоперекисной системы в нервной ткани.

Апробирован способ купирования ранней постлучевой реакции, основанный на сочетании применении ГАМК-эргического ноотропного препарата пантогам (пантол-ГАМК) и КВМ. Эффективность экспериментальной терапии оценена по общепатологическим, физиологическим, морфологическим и биохимическим показателям в сравнении с традиционными методами лечения.

На основании анализа полученных данных с применением методов математического моделирования с элементами системного подхода развиты представления о механизмах метаболического контроля ГАМК-шунта в условиях гипоксии экстремальных состояний и сформулированы теоретические основы фармако-метаболической защиты мозга от гипоксии в виде принципа "экономии энергетической компоненты", включающего такие моменты, как общее снижение энергетических затрат, преимущественное использование компенсаторных источников энергии и поддержание функции ключевых звеньев энергетического обмена.

Практическая значимость работы. Разработаны и внедрены практические рекомендации по антигипоксической терапии у больных с ТЧМТ ("Способ лечения гипоксии мозга", заявка на изобретение № 4293370/14 от 3.08.87 г., получено положительное решение от 07.09.89). В результате применения разработанного способа лечения, состоящего в сочетании (на фоне базового реанимационного пособия) пролонгированного наркоза тиопенталом Na и КВМ, включающего тиаминпирофосфат, липоат, пантотенат-Ca, никотинамид, рибофлавинмононуклеотид, пиридоксальфосфат, глутамат и аминалон (ГАМК) в определенных моляр-

ных соотношениях, достигнуто значительное снижение смертности в остром периоде ТЧМТ и улучшение отдаленных результатов лечения. Разработаны конкретные рекомендации по применению аппликационной терапии витаминно-коферментно-метаболическими композициями при открытой ТЧМТ и нейрохирургических вмешательствах и лекарственного электрофореза с подведением метаболических препаратов к дизцефальной области мозга.

Продемонстрирована возможность коррекции ранней постлучевой реакции с помощью ГАМК-ергических ноотропных препаратов (ГОМК, пантогам) и КВММ и обоснована целесообразность дальнейших исследований по модификации лучевого синдрома посредством улучшения функций и метаболического состояния ЦНС с помощью ноотропных препаратов.

Выработаны критерии применимости математических моделей, отражающих связи между биохимическими процессами в нервной ткани, для анализа ее метаболического состояния и оценки тяжести гипоксии. Разработано 12 методических усовершенствований.

Основные положения, выдвигаемые на защиту. О ГАМК-шунте как о неспецифическом механизме компенсации метаболических расстройств при гипоксии экстремальных состояний. Уточненные представления о механизмах метаболического контроля ГАМК-шунта и их приложимость к практической разработке способов его направленной регуляции. "Принцип экзотомии энергетической компоненты" как основа рациональной фармако-метаболической защиты мозга от гипоксии при экстремальных состояниях.

Апробация работы и публикации. Основные положения диссертации доложены на Украинских и Всесоюзных съездах биохимиков, физиологов, фармакологов, одиннадцати Всесоюзных и трех Республиканских биохимических конференциях и симпозиумах в 1982-1989 гг.; на международных конференциях "Хроматография в биологии и медицине" (Москва, 1986) и "Молекулярная организация биологических структур" (Москва, 1989); на -й Всесоюзной конференции по фармакологической коррекции гипоксических состояний (Москва, 1988); на сессии научного совета по нейронам "Нейрохимические механизмы регуляции метаболизма" (Бреван, 1988); а Всесоюзном совещании "Субстраты окисления как адаптогены" (Пушино, 1989); По теме диссертации опубликовано 19 статей, в том числе 4 обзорные, 25 тезисов докладов, 1 методические рекомендации, 4 рукописи и депонировано ВИНТИ и УкрВИНТИ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы (3 главы), экспериментальной части (собственные исследования, 7 глав), обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы (621 источник, в том числе 300 отечественных и 321 иностранных авторов) приложения (результаты статистической обработки и математическо-

го моделирования). Работа изложена на страницах машинописного текста, включая страницы списка литературы, страницы приложения, страницу иллюстративного материала (текст диссертации иллюстрирован таблицами и рисунками).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальные модели исследований. Эксперименты поставлены с использованием крыс линии Вистар, массой 180–240 г и мышей линии BALB и гибридов  $F_1$  (СВА x  $C_{57}Bl/6$ ), массой 17–21 г, общего поле Тяжелую компрессионную черепно-мозговую травму у крыс вызывали путем удара свободно падающим грузом (Промыслов М.Ш., 1984) в правую темпоро-париетальную область (сила удара 0,46 Дж, площадь боковой части 0,45 см<sup>2</sup>). Животное в момент удара фиксировали в станке под кратковременным (1,5–2 мин) фторотановым наркозом. Контрольных животных подвергали "минимуму травмирования" (помещение в станок под наркозом без удара). Синдром РИН получали как результат общего внешнего  $\gamma$ -облучения крыс в дозе 30 Гр от источника <sup>60</sup>Со при мощности дозы  $1 \pm 0,1$  Гр·мин<sup>-1</sup> и расстоянии источник-поверхность 0,6 м. В отдельных сериях экспериментов животных (мышей) подвергали общему облучению в дозах 11, 15, 30 и 60 Гр. Острую кровопотерю (2,5–3,5% от массы тела) вызывали под эфирным наркозом поэтапным взятием крови из задней полковой вены. Острый гепатогенный шок моделировали перевязыванием под эфирным наркозом сосудов ворот печенки на 60 мин с последующим восстановлением кровотока.

Способы экспериментальной терапии. В первые трое суток после ТЧМТ использовали следующие схемы лечения:

1. Длительный наркоз тиопенталом Na (40–50 мг·кг<sup>-1</sup> массы, внутривенно), дважды в сутки через равные промежутки времени.
2. Введение КВМ, включающего (в мг·кг<sup>-1</sup> массы): тиаминпирозинфосфат – 0,7–1,0; липоат – 4,6–5,0; 4-фосфопантотенат Na – 11,0–11,5; никотинат – 7,4–7,5; рибофлавинмононуклеотид – 3,5–3,7; пиридоксальфосфат – 3,0–3,1;  $\alpha$ -кетоглутарат Na – 15,0–16,0; глутамат Na – 20,0–22,0; ГАМК – 50,0–60,0. Компоненты комплекса вводили группами (первые 5 и последующие 4 компонента) в виде забуференных NaHCO<sub>3</sub> растворов (pH=7,4), внутривенно, 2 раза в сутки.
3. Сочетание инъекций тиопентала Na и КВМ.

В отдельных экспериментах раствор КВМ, включающий все 9 компонентов, использовали для орошения поверхности травмированного мозга. Доза веществ, контактирующих с мозгом в течение 1 часа при этом соответствовала однократной дозе для внутривенного введения.



С целью коррекции РИН применяли сочетание тислентала Na (20-30 мг·кг<sup>-1</sup> массы, внутривенно, однократно непосредственно после облучения), КВИМ указанного состава (трижды в сутки) и сочетание пантогама (40 мг·кг<sup>-1</sup> массы, внутривенно) с КВИМ.

При изучении нейрометаболических эффектов новых ГАМК-производных и витаминно-коферментно-метаболитных комплексов исследуемые соединения вводили внутривенно, курсами (5 инъекций в течение 2-х суток), животных забивали через 1 час после последней инъекции.

При проведении "гипоксической пробы" животных помещали в герметичные камеры индивидуально и группами, исследуемые соединения вводили непосредственно перед опытом. Во всех случаях контрольные животные получали инъекции растворителя, опыты ставились в одно и то же время суток.

Биохимические методы исследований. Животных забивали декапитацией, головной мозг быстро извлекали и разделяли на мозжечок, кору и стволую часть и использовали для приготовления грубых концентрированных гомогенатов (1:4; 1:5 или 1:10), субфракций или срезов толщиной 0,3 мм. Митохондриальную фракцию получали, пользуясь методическими рекомендациями Прохоровой М.И. и соавт. (1982). Для получения фракции "несинаптических" митохондрий использовали метод Clark J.B. & Nicklas W.J. (1970). Фракцию "грубых" синапсов выделяли по методу Wheeler D.D. (1980). Срезы коры головного мозга получали в герметичной камере со 100 %-ной влажностью в среде 95 % O<sub>2</sub> и 5 % CO<sub>2</sub> с помощью приспособления, работающего по принципу микротомы Мак-Ильвейна (McIlwain H., Buddle H., 1953). Фракцию "синаптических мембран" получали, сочетая методические приемы, описанные Ogawa N. et al. (1982) и Кузнецовым В.М. и соавт. (1982).

При определении ИГДН-активности в лизированной синапсомитохондриальной фракции мозга использовали методику Ещенко Н.Д. (1982) с нашими модификациями (Розанов В.А., Пархоменко Ю.М., 1987). При работе с гомогенатами определяли пируват-(ПДН),  $\alpha$ -кетоглутарат (ИГДН) и сукцинат-феррицианид-редуктазную (СДГ) активность по методу Gubler C.J. (1960). Определение аминотрансферазной активности (АСТ и АЛТ) проводили по методике Осадчей Л.М. (1982). Измерение активности глутаматдекарбоксилазы (ГДК) и ГАМК-трансаминазы (ГАМК-Т) осуществляли по приросту соответственно ГАМК и глутамата (ГЛ), используя методики Сытинского И.А. и соавт. (1967) и Промислова М.Ш. и соавт. (1968) в нашей модификации (Розанов В.А.,

1980). Количество ГЛ и ГАМК определяли с помощью хроматографии на бумаге (Сытинский И.А. и соавт., 1967). В отдельных экспериментах помимо суммарного содержания ГАМК и ГЛ определяли содержание их свободных и связанных форм по методу Elliott K.A. (1965). Диненовую конъюгацию ненасыщенных жирных кислот оценивали по методике И.Д.Стальной (1977), содержание малонового диальдегида - с помощью тиобарбитуровой кислоты (Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г., 1977), содержание SH-групп и S-S-связей с помощью реактива Элмана (Вревкина И.В. и соавт., 1977), активность глутатионредуктазы по методике Путиловой Ф.Е. (1982), активность глутатионпероксидазы как описано у Ланкина В.З. и соавт. (1976).

При проведении изотопных исследований использовали следующие меченые субстраты:  $1\text{-}[^{14}\text{C}]\text{-ГАМК}$  (Institute of isotopes, ВНР) уд. активность 438,1 МБк·ммоль<sup>-1</sup>,  $5\text{-}[^{14}\text{C}]\text{-}\alpha\text{-КГ}$  (Amersham, GB), уд. активность 562,4 МБк·ммоль<sup>-1</sup>,  $1,4\text{-}[^{14}\text{C}]\text{-}\alpha\text{-КГ}$  (Amersham, GB), уд. активности 2,15 ГБк·ммоль<sup>-1</sup>,  $1,4\text{-}[^{14}\text{C}]\text{-янтарная кислота}$  (Amersham, GB), уд. активность 4,11 ГБк·ммоль<sup>-1</sup>,  $1,4\text{-}[^{14}\text{C}]\text{-АСП}$  (Amersham, GB), уд. активность 2 ГБк·ммоль<sup>-1</sup>. При исследовании фармакодинамики меченых соединений определяли относительную активность тканей организма после обычной процедуры гомогенизации образцов в 0,01 и растворе NaOH с последующим высушиванием на мишенях и подсчетом радиоактивности. Катаболизм меченых субстратов до  $^{14}\text{CO}_2$  оценивали по методике Gubler S. et al. (1974) с нашими модификациями (Розанов В.А., Рейтараго Т.Е., 1989). Включение метки меченых субстратов в интермедиаты цикла Кребса и аминокислоты определяли по Gaitonde M.K. (1965).

Поглощение  $[^{14}\text{C}]\text{-ГАМК}$  срезами коры головного мозга крыс исследовали, пользуясь методическими рекомендациями Arbilla S. et al., (1979). Na-зависимое поглощение  $[^{14}\text{C}]\text{-ГАМК}$  синапсами оценивали по Wheeler D.D. (1980). Специфическое Na<sup>+</sup>-независимое связывание  $[^3\text{H}]\text{-ГАМК}$  препаратами синаптических мембран определяли по методике Ogawa N. (1982).

Радиоактивность проб измеряли при помощи газопотоочного счетчика 2154-I-1M "Протока" и сцинтилляционного счетчика "Бета". Белок определяли по методу Lowry D.H. et al. (1951).

#### Вспомогательные методы исследований.

Для оценки тяжести экспериментальной патологии и эффективности терапевтических мероприятий использовали общепатологические (клинические), физиологические и морфологические критерии. Двигательную активность животных оценивали по стандартной методике "открытого поля", условно-рефлекторную деятельность - по скорости фор-

ирования условного оборонительного рефлекса в челюстной камере (Вальдман А.В., Пошивалов В.П., 1984). Электрокортикографию осуществляли при помощи электроэнцефалографа ЭЭП-4-02. Морфологические исследования включали общее описание гистологической картины, оценку плотности нейронов и подсчет нормо-, гипо- и гиперхромных нейрональных компонентов (Ярыгин Н.Б., Ярыгин В.Н., 1973).

Статистическая обработка данных осуществлялась непараметрическими методами и на основе закона нормального распределения. В последнем случае использован вариационный, корреляционный и регрессионный анализ с последующим построением моделей, их графическим отображением, анализом и экспериментальной проверкой (Сенетков Д., 1968; Советов В.Я., Яковлев С.А., 1985).

### ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### I. Оценка количественного вклада ГАМК-шунта в цикл Кребса в различных отделах головного мозга крыс и уточнение механизмов метаболического контроля ГАМК-шунта

Исходя из классических представлений, развитых А.В.Палладиным его школой о связи между морфо-функциональной и биохимической топографией ЦНС (Палладин А.В., 1972, 1975), изучение количественных различий в метаболизме различных отделов мозга является важным путем познания в нейробиологии. На первом этапе нами предпринято опосредованное измерение максимальной активности ряда ферментов, катализирующих взаимосвязанные реакции метаболизма в различных отделах головного мозга крыс (табл. I). Как видно из представленных данных, активность дегидрогеназ  $\alpha$ -кетокислот наиболее высока в коре и минимальна в мозжечке, СДГ-активность в коре и мозжечке практически одинакова, а активность ферментов азотистого метаболизма (ГДК, МК-Т, АСТ и АЛТ) в мозжечке достоверно выше, чем в коре. Отношение максимальных активностей КГДК: ГАМК-Т в мозжечке приближается 2,6:1, а в коре составляет 10:1. Если же суммировать КГДК и МК-Т-активность, имея в виду, что эти ферментные системы по сути регулируют интенсивность альтернативных путей превращения  $\alpha$ -КГ-сукцината, то выясняется, что суммарная пропускная способность этих путей в коре и мозжечке примерно одинакова и приближается к максимальной СДГ-активности. Однако в мозжечке, как свидетельствуют расчеты, потенциальные возможности образования сукцината за счет ГАМК-шунта значительно выше (1/4 суммарного потока), чем в коре (1/10 суммарного потока). Это обстоятельство, а также более вы-

Максимальные активности ферментов ГАМК-шунта и некоторых сопряженных процессов в отделах головного мозга крыс ( $M \pm m$ ,  $n=10-12$ , мкмоль субстрата или продукта реакции  $\cdot g^{-1}$  ткани  $\cdot min^{-1}$ ,  $n - P < 0,05$ ; жж -  $P < 0,01$ , сравнении между отделами мозга)

Исследуемый показатель: и единицы измерения	Морфо-функциональные отделы мозга		
	Мозжечок	Кора	Стволовая час
ПДК-активность	0,150 $\pm$ 0,009	0,200 $\pm$ 0,019 <sup>ж</sup>	0,149 $\pm$ 0,025
$\alpha$ -КГДК-активность	0,950 $\pm$ 0,045	1,242 $\pm$ 0,055 <sup>жж</sup>	1,085 $\pm$ 0,039
СДГ-активность	1,783 $\pm$ 0,089	1,779 $\pm$ 0,063	1,634 $\pm$ 0,070
ГДК-активность	0,144 $\pm$ 0,007 <sup>ж</sup>	0,122 $\pm$ 0,005	0,149 $\pm$ 0,010 <sup>ж</sup>
ГАМК-Т-активность	0,364 $\pm$ 0,026 <sup>жж</sup>	0,180 $\pm$ 0,013	0,252 $\pm$ 0,011 <sup>ж</sup>
АСТ-активность	6,269 $\pm$ 0,102 <sup>ж</sup>	5,775 $\pm$ 0,162	5,833 $\pm$ 0,167
АЛТ-активность	3,125 $\pm$ 0,157 <sup>жж</sup>	2,160 $\pm$ 0,144	2,360 $\pm$ 0,133

самая активность других реакций азотистого метаболизма указывает на своеобразие метаболического статуса мозжечка по сравнению с корой. Оно проявляется и в сравнительно низком уровне суммарной ГЛ и ГАМК в мозжечке по сравнению с корой (12,63 $\pm$ 0,76 против 14,89 $\pm$ 0,48 и 3,34 $\pm$ 0,36 против 3,63 $\pm$ 0,30 мкмоль  $\cdot g^{-1}$  ткани соответственно). В мозжечке также отмечено достоверно более низкое, чем в коре, содержание эндогенной связанной ГАМК (0,73 $\pm$ 0,12 против 1,07 $\pm$ 0,10 мкмоль  $\cdot g^{-1}$  ткани,  $P < 0,05$ ), связывание экзогенной I<sup>14</sup>C-ГАМК представлено в этом отделе мозга значительно слабее, чем в коре, в то время как десорбция метки происходит интенсивнее.

Таким образом, выявлены существенные количественные различия между мозжечком и корой в интенсивности метаболизма, содержания и связывания ГАМК, вероятнее всего, обусловленные различиями в клеточном составе этих мозговых структур. Имеются и другие данные, свидетельствующие о количественных особенностях метаболизма мозжечка: в этом отделе мозга наблюдается наиболее высокая пиридоксалькиназная активность (Turky T. et al., 1976) и активность редуктазы янтарного полуальдегида, регулирующего уровень важного побочного продукта ГАМК-шунта - ГСМК (Rumigny J.F. et al., 1981). Эти данные, в сочетании с представленными выше, дают основание считать что большая устойчивость мозжечка к повреждениям при экстремальных состояниях, таких как гипоксия, гипогликемия, интоксикации по сравнению с серым веществом коры (Battistin L., Dan M., 1985) я

ляется следствием повышенных потенциальных возможностей ГАМК-шунта.

Следует отметить, что стволовая часть мозга по большинству исследуемых параметров занимает промежуточное положение по сравнению с мозжечком и корой больших полушарий. Вероятнее всего это связано со значительной морфо-функциональной неоднородностью ствольной части, включающей небольшие по массе, но исключительно богатые ГАМК подкорковые образования (Ситинский Н.А., 1977). В связи с этим все внимание в дальнейшем мы сконцентрировали на сопоставлении ткани мозжечка и коры больших полушарий как относительно однородных и филогенетически значительно различающихся отделов мозга.

Наблюдаемые количественные метаболические особенности ткани мозжечка находят подтверждение при изучении этих же ферментных систем на субклеточном уровне. В частности, распределение КГДЖ- и ГАМК-Т-активности в грубых митохондриях из коры и мозжечка совпадает с их распределением в гомогенатах, причем сохраняется примерно такие же соотношения КГДЖ:ГАМК-Т (3,2:1 в мозжечке и 7:1 в коре). При этом были обнаружены существенные различия в отношении ГЛ/ГАМК в митохондриях и в постмитохондриальном супернатанте: в митохондриях оно приближалось к 1, а вне их составляло 2,6-3,4, в зависимости от отдела мозга. Поскольку ГЛ является продуктом ГАМК-Т-реакции, ГАМК ее субстратом, а ГАМК-Т-реакция обратима (Van Veshelen F.J. et al., 1985), можно полагать, что вне митохондрий равновесие в этой реакции смещено влево, в сторону образования ГАМК из янтарного полуальдегида (ЯПА), в то время как внутри митохондрий равновесие сдвинуто вправо, в сторону образования ГЛ и быстро утилизируемого ЯПА. Эти данные хорошо согласуются с представлением о наличии в митохондриях мозга системы переносчика, осуществляющей антипорт ГАМК (внутри) - ГЛ (наружу) (Pavagella S. et al., 1984). Таким образом, можно предполагать, что обход  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназной стадии цикла Кребса возможен вследствие утечки  $\alpha$ -КГ из митохондрий с использованием взамен ГАМК в качестве источника супината. Эти представления тесно смыкаются с развивающимися взглядами о существовании так называемого быстрого трансаминазного окисления субстратов цикла Кребса, осуществляемого благодаря сопряжению функции трансаминаз, ГАМК-шунта, быстрой стадии цикла Кребса от сукцината до оксалоацетата и ключевых начальных стадий глюконеогенеза (Кондрашова М.Н., 1986, 1987, 1988). Эта схема предусматривает увеличение роли аминокислот и PEP в регуляции

скорости промежуточных реакций энергетического метаболизма.

В наших экспериментах мы попытались уточнить эти представления, для чего были использованы ряд меченых аминокислот и субстратов цикла Кребса. Сравнение интенсивности их катаболизма при добавлении в эквимоллярных количествах к гомогенатам различных отделов мозга показало (рис.1), что из всех субстратов наиболее быстро и

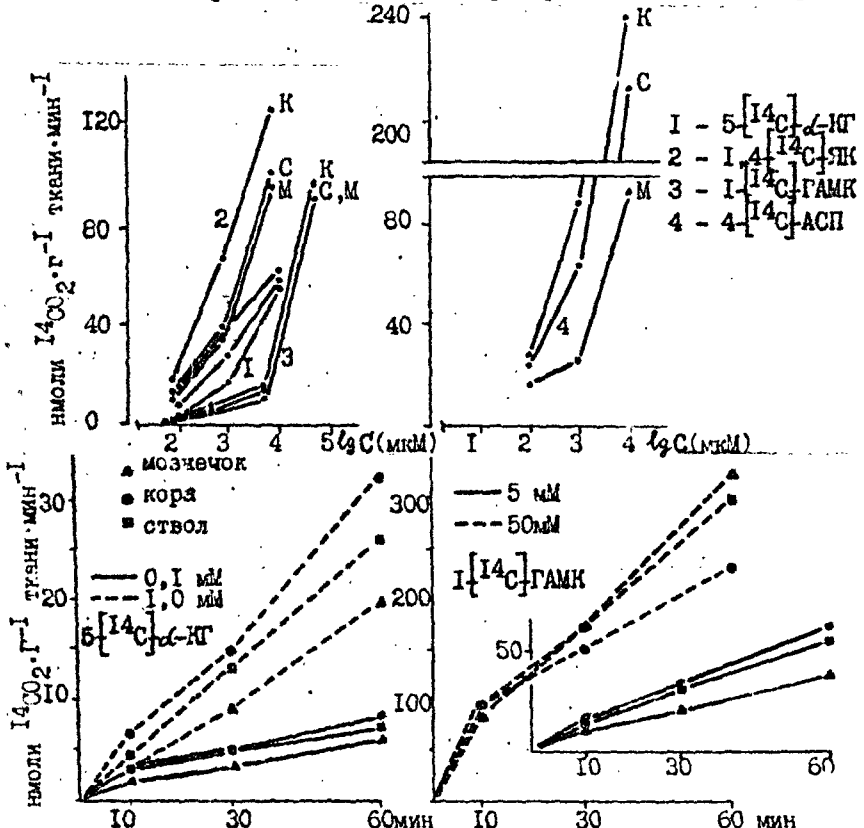


Рис.1. Катаболизм меченых АСП, ГАМК,  $\alpha$ -кетоглутарата и сукцината до  $^{14}\text{CO}_2$  при добавлении их к гомогенатам различных отделов мозга крысы. М-мозжечок, К-кора, С-стволовая часть.

катаболизируется сукцинат и медленнее всего - ГАМК. При добавлении исследуемых субстратов в возрастающих концентрациях видно, что в случае 5- $^{14}\text{C}$ - $\alpha$ -КТ, 1,4- $^{14}\text{C}$ -сукцината и 4- $^{14}\text{C}$ -АСП выход  $^{14}\text{CO}_2$  нарастал почти линейно, в то время как при добавлении 1- $^{14}\text{C}$ -ГАМК значительный выход  $^{14}\text{CO}_2$  наблюдался только при больших концентрациях

(50 мМ). При этом катаболизм практически всех субстратов, включая  $1-^{14}\text{C}$ -ГАМК, был наиболее интенсивен в коре, т.е. в том отделе мозга, где активнее всего протекают реакции цикла Кребса (табл. I). Однако в отдельных экспериментах было показано, что если концентрация  $1-^{14}\text{C}$ -ГАМК достигает 50 мМ и инкубация продолжается достаточно долго (60 мин), степень катаболизма меченой ГАМК в мозжечке превышает таковую в коре. Эти факты подтверждают наши представления о том, что количественные различия между мозжечком и корой в интенсивности работы ГАМК-шунта отражают максимальные потенциальные возможности соответствующих ферментов, что может иметь значение при экстремальных ситуациях, сопровождающихся повышением уровня ГЛ и ГАМК.

Анализ катаболизма меченых субстратов при длительных сроках инкубации позволил выявить интересный факт: скорость выхода  $^{14}\text{CO}_2$  при добавлении  $1-^{14}\text{C}$ -ГАМК и  $5-^{14}\text{C}$ - $\alpha$ -КГ была непостоянной, причем обнаруженные флуктуации имели противоположный характер в зависимости от того, какой субстрат был добавлен - ГАМК или  $\alpha$ -КГ (рис. 2). При-

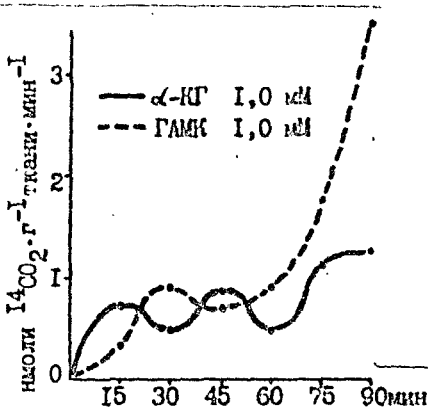


рис. 2. Колебания скорости выделения  $^{14}\text{CO}_2$  при добавлении к гомогенатам  $1-^{14}\text{C}$ -ГАМК и  $5-^{14}\text{C}$ - $\alpha$ -КГ (1 мМ).

чиной этого явления может быть наличие реципрокной регуляции на уровне КГДЖ и ГАМК-Т, что обуславливает периодическое усиление потока по основному (кетоглутаратдегидрогеназному) или альтернативному пути (ГАМК-шунт). Одним из факторов подобной регуляции может быть доступность субстратов или коферментов. С целью установления роли доступности субстратов к гомогенатам нервной ткани добавляли  $1-^{14}\text{C}$ -ГАМК (1 мМ) и избыток немеченого  $\alpha$ -кетоглутарата (10 мМ), или  $5-^{14}\text{C}$ - $\alpha$ -КГ (1 мМ) и избыток немеченой ГАМК (10 мМ). Выяснилось (рис. 3), что избыток  $\alpha$ -КГ тормозит катаболизм

меченой ГАМК, в то время как избыток ГАМК заметно стимулирует катаболизм  $\alpha$ -КГ, причем наиболее выражено это в мозжечке. В то же время стимулирующее влияние ГАМК не распространялось на катаболизм  $4-^{14}\text{C}$ -сукцината, но проявлялось при использовании  $1-^{14}\text{C}$ - $\alpha$ -КГ,

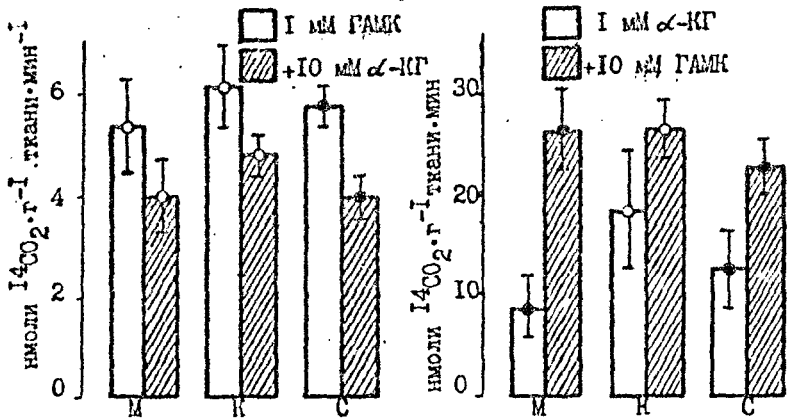


Рис. 3. Влияние избытка ГАМК на катаболизм 5-[ $^{14}\text{C}$ ]  $\alpha$ -кетоглутарата и избытка  $\alpha$ -кетоглутарата на катаболизм 1-[ $^{14}\text{C}$ ] ГАМК в различных отделах головного мозга крыс.

что подтверждает наличие регуляторного механизма на уровне  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса. Вероятной основой этого регуляторного механизма может быть структурные пространственные взаимоотношения между ГАМК-Т и КГДК. В последнее время развиты представления о КГДК как о замкнутой матрице, собирающей на себе функционально связанные ферменты цикла Кребса и сопряженных процессов, структурной основе метаболона (Любарев А.Е., Курганов В. 1987). В наших экспериментах с использованием лизированных грубых митохондрий из различных отделов головного мозга крыс (Розанов Г Пархоменко Д.М., 1987) показано, что КГДК значительно прочнее, чем ЦДК фиксирована на митохондриальной мембране, что подтверждает ее роль замкнутой матрицы. В экспериментах с использованием жесткой деструкции (троекратное замораживание-оттаивание) "несинаптических" митохондрий было показано, что по меньшей мере 1/5 часть в тримитохондриальной ГАМК-Т соосаждается с КГДК. В условиях щадящей деструкции (15-тисекундное воздействие ультразвука), приводящей, по данным Robinson J.V., Szegre P.A. (1985, 1987), к частичному разрушению митохондрий с сохранением целостности метаболонов, с дегидрогеназами  $\alpha$ -кетокислот и сукцинатдегидрогеназой было ассоциировано около 76 % исходной ГАМК-Т-активности. Таким образом, предположение о структурном взаимодействии ГАМК-Т и ферментов цикла Кребса, в частности  $\alpha$ -КГДК, находит подтверждение.

Вторым важным механизмом регуляции ГАМК-шунта является доступность кофермента PIP (Gursky T. et al., 1976; Tapia R., 1983).



ваших экспериментах подтверждена роль PEP как активатора аминоксифераз *in vitro*, подобраны оптимальные условия для определения АСТ- и АЛТ-активности в присутствии и отсутствии PEP (Розаиов В.А. и соавт., 1987) и исследована регуляторная роль PEP в ГДК-реакции в различных отделах головного мозга крыс (рис.4). Как

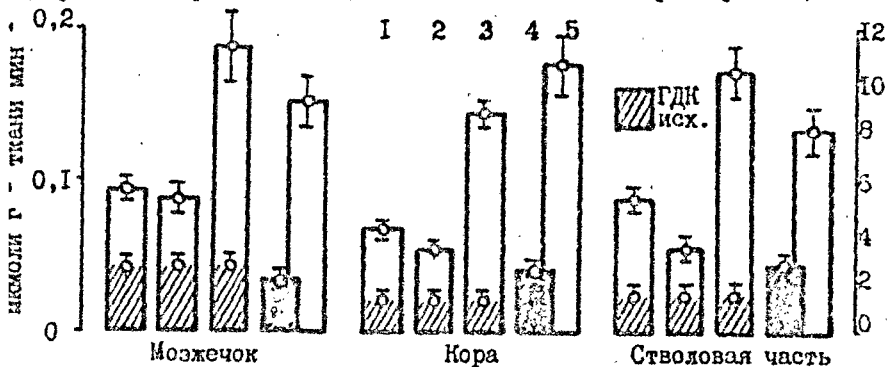


рис.4. Роль PEP и субстрата (ГЛ) как активаторов ГДК-реакции. 1 - субстрат-активируемая ГДК-активность; 2 - кофактор-активируемая; 3 - максимальная; 4 - содержание ГАМК; 5-содержание ГЛ.

показали эксперименты, активирующее влияние PEP и ГЛ на ГДК носит характер не простой суммиции, а потенцирования, причем в мозжечке как исходная, так и субстрат- и кофактор-активируемая ГДК-активность была достигнута выше, чем в коре. Таким образом, первая стадия ГАМК-шунта существенно зависит от PEP. Однако в связи с развиваемыми представлениями о быстром трансаминазном окислении субстратов ЦТК еще больший интерес представляет влияние PEP на катаболизм некоторых интермедиатов ЦТК и ГАМК-шунта до  $^{14}\text{CO}_2$ . В этих экспериментах (рис.5) эффект PEP сравнивали с влиянием комплекса коферментов ЦТК и КГДК. Как выяснилось, PEP оказывает активирующее влияние на катаболизм  $5\text{-}[^{14}\text{C}]\alpha\text{-КГ}$ ,  $1\text{-}[^{14}\text{C}]\alpha\text{-КГ}$  и  $4\text{-}[^{14}\text{C}]\text{АСП}$ , а комплекс коферментов стимулирует распад  $5\text{-}[^{14}\text{C}]\alpha\text{-КГ}$ ,  $1\text{-}[^{14}\text{C}]\text{ГАМК}$  и  $4\text{-}[^{14}\text{C}]\text{АСП}$ . Скорость катаболизма  $1,4\text{-}[^{14}\text{C}]\text{сукцината}$  (максимальная по сравнению с другими субстратами) не возрастает ни в том, ни в другом случае. Полученные данные не противоречат представлениям о существовании быстрого трансаминазного окисления и в то же время свидетельствуют о множественности и неоднозначности механизмов активирующего влияния PEP и комплекса коферментов на метаболические пути, обеспечивающие катаболизм исследуемых субстратов.

Приведенные исследования свидетельствуют о том, что кофактор-

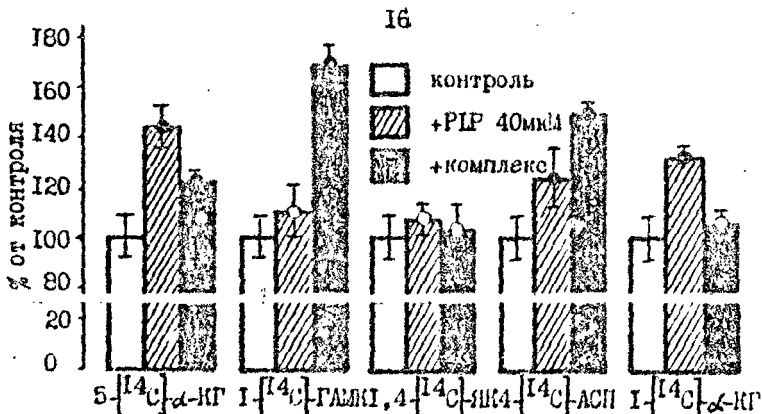


Рис. 5. Влияние 40 мкМ РТР и комплекса функционально связанных коферментов (тиаминопирофосфат, липоат, коэнзим А, FAD и NAD<sup>+</sup> в "пируватдегидрогеназных" соотношениях *in vitro* на катаболизм до <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> меченых α-KГ и сукцината (0,1 мМ) и ГАМК и АСП (1 мМ).

ментализация в нервной ткани, структурно-функциональные взаимоотношения в составе мультиферментных кластеров, субстратное и коферментное обеспечение играют важную роль в метаболическом контроле ГАМК-шунта. Полученные данные, особенно касающиеся активирующего действия субстратов и кофермента, являются основанием для разработки подходов направленной регуляции ГАМК-шунта в головном мозге с помощью естественных метаболитов, витаминов, коферментов и их комплексов.

## 2. Метаболические эффекты и защитное действие при гипоксии новых ГАМК-кофакторов на основе витаминов и витаминно-коферментно-метаболитных композиций

При переносе результатов исследований *in vitro* на уровень целостного организма появляются новые трактовки результатов в связи с множественностью механизмов действия вводимых парентерально естественных метаболитов и витаминов, что особенно хорошо видно на примере никотината (Виноградов В.В., 1987). Мы стремились исследовать потенциальные лекарства и сочетания витаминов, коферментов и естественных метаболитов в условиях, близких к клиническим. С этой целью использовали малые дозы соединений (с учетом видовых особенностей метаболизма у лабораторных грызунов), применяли многократное их введение (курс инъекций). Через 1 час после последней инъекции в ткани мозга и коры больших полушарий головного мозга исследовали изменения обмена веществ, индуцированные исследуемыми препара-

тами и их комплексами и сопоставляли с их защитным действием при гипоксии замкнутого пространства.

Эксперименты показали (табл.2), что повторные инъекции ГАМК в

Таблица 2

Метаболические эффекты и антигипоксическая активность компонентов ГАМК-шунта, новых ГАМК-комблятов на витаминной основе и Пентапирувита ( $\mu P < 0,05$ )

Условия опыта (в: Изменения активности ферментов и : Антигипоксическая актив- скобках - доза в: содержания субстратов (% от конт- : ность (из- мг.кг <sup>-1</sup> массы и : роля, верхняя строка - мозжечок, : нение средней молярные соотно- : нижняя - кора) : продолжитель- шения) : : ности жизни)	: КГДЖ:АСТ		: АЛТ		: ГДЖ:ГАМК-Т		: ГЛ		: ГАМК	
ГАМК (5-80)	$\frac{119^*}{97}$	$\frac{93}{123}$	$\frac{119^*}{103}$	$\frac{61^*}{100}$	$\frac{110}{125}$	$\frac{66^*}{99}$	$\frac{90}{95}$	от 0 до +40%*		
PLP (3-10)	$\frac{104}{131^*}$	$\frac{83^*}{89}$	$\frac{151^*}{94}$	$\frac{76^*}{78}$	$\frac{76^*}{104}$	$\frac{98}{104}$	$\frac{80}{99}$	+11%		
PLP+ГАМК (5, 10; 1:1)	$\frac{120^*}{131^*}$	$\frac{80^*}{72,7}$	$\frac{112}{69^*}$	$\frac{83}{102}$	$\frac{92}{94}$	$\frac{78^*}{101}$	$\frac{96}{103}$	-		
PLP+ГАМК+ $\alpha$ -КГ (10,40,15; 1:10:2,5)	$\frac{86}{100}$	$\frac{70}{80}$	$\frac{96}{95}$	$\frac{104}{106}$	$\frac{104}{105}$	$\frac{109}{113^*}$	$\frac{85}{75}$	-		
PLP+ГАМК+ $\alpha$ -КГ+ГЛ (3,50,13,20; 1,3: 55:13:18)	$\frac{173^*}{160^*}$	$\frac{43^*}{44^*}$	$\frac{70^*}{67^*}$	$\frac{82}{98}$	$\frac{113}{148^*}$	$\frac{110}{92}$	$\frac{102}{69^*}$	+25%*		
Тиаминпиррофосфат, линсат, 4-фосфо- пантотенат Na, никотинат, фла- винаденинмоно- нуклеотид (1,5, 12,8,4; 0,2:3: 5:8:1)	$\frac{187^*}{163^*}$	$\frac{82}{74}$	$\frac{87}{57}$	$\frac{80}{70}$	$\frac{107}{143^*}$	$\frac{82^*}{69^*}$	$\frac{96}{49^*}$	+32%*		
ГМК (100)	$\frac{123^*}{156^*}$	$\frac{109}{135}$	$\frac{39^*}{89}$	$\frac{95}{128^*}$	$\frac{162^*}{161^*}$	$\frac{109}{97}$	$\frac{127^*}{88}$	+33%*		
Ортоил-ГАМК (20)	$\frac{92}{88}$	$\frac{98}{122}$	$\frac{331^*}{393^*}$	$\frac{95}{76}$	$\frac{76^*}{82}$	$\frac{78}{90}$	$\frac{75^*}{95}$	- 4%		
Биотинил-ГАМК (26)	$\frac{53^*}{112}$	$\frac{79^*}{83^*}$	$\frac{65}{62}$	-	$\frac{80}{98}$	$\frac{118^*}{115^*}$	$\frac{97}{76,2}$	- 3%		
Пантоил-ГАМК (40)	-	-	-	$\frac{134^*}{101}$	$\frac{111^*}{97}$	$\frac{148^*}{85}$	$\frac{79^*}{97}$	+29%*		
Никотиноил-ГАМК (20)	$\frac{108}{83}$	$\frac{99}{96}$	$\frac{119}{97}$	$\frac{74}{101}$	$\frac{119^*}{97}$	$\frac{105}{85}$	$\frac{70^*}{97}$	+33%*		

малых, близких к клиническим, дозах (5 мг.кг<sup>-1</sup> массы) вызывает в головном мозге изменения, свидетельствующие о торможении продукции

эндогенной ГАМК в ГДК-реакции и ускорении ее утилизации в ГАМК-Т-реакции. Эти изменения наиболее выражены в коре, в то время как в мозжечке более отчетливо проявляется повышение КГДК-активности. В то же время в этих дозах ГАМК не оказывала антигипоксического действия, которое появлялось при однократном введении ГАМК в дозе 40-80 мг·кг<sup>-1</sup> массы.

Неожиданными были метаболические эффекты PIP. При парентеральном многократном введении он вызывал в нервной ткани изменения, прямо противоположные тем, которые можно было ожидать, исходя из представлений о PIP как о коферменте, обеспечивающем процесс дегидроксилирования аминокислот и трансаминирования. В частности, (табл.2) после его введения наблюдалось торможение АСТ-активности и активности ферментов ГАМК-шунта и отсутствовало достоверное защитное действие при гипоксии. Изменение соотношения КГДК/ГАМК-Т свидетельствовало об уменьшении пропускной способности ГАМК-шунта и перераспределении потока α-КГ преимущественно по дегидрогеназному пути. Мы попытались скорректировать эти сдвиги одновременным введением эквивалентных количеств ГАМК, которая стимулирует ГАМК-шунт. С этой целью был применен PIP-ГАМК (Шиффово основание), обладающий самостоятельной, отличной от PIP фармакологической характеристикой (Ковлор И.А. и соавт., 1988), однако, как свидетельствуют наши данные, быстро разрушающийся в организме с освобождением PIP и ГАМК (Розанов В.А. и соавт., 1987). Как показали эксперименты, эквивалентные количества ГАМК практически не влияют на эффекты PIP (табл.2). Если же увеличить количество ГАМК в 10 раз и одновременно ввести в состав комплекса α-КГ, некоферментные эффекты PIP нивелируются, а комплекс, включающий PIP, ГАМК, α-КГ и ГЛ обладал уже отчетливым стимулирующим влиянием на ГАМК-шунт и КГДК-активность. Аналогичный эффект наблюдается при введении комплекса Пентапирувит, однако при его применении активация КГДК-активности достигает наибольшего уровня. В обоих случаях происходит снижение уровня свободных ГЛ и ГАМК в отделах мозга (более выраженное при введении комплекса Пентапирувит), что в сочетании с измененными активностями ферментов можно расценивать как проявление быстрой утилизации их как субстратов окисления. Эти метаболические сдвиги в нервной ткани сочетаются с выраженным защитным действием обоих комплексов при гипоксии замкнутого пространства (табл.2).

Таким образом, повышенные каталитические возможности ферментных систем, ответственных за образование эндогенного сукцината, обу-

словленные применением витаминно-коферментно-метаболических комплексов, является фактором повышения устойчивости организма к гипоксии. В то же время следует учитывать множественность вероятных механизмов действия подобных комплексов, в частности, общее активирующее влияние на переаминарование аминокислот, катаболизм субстратов ЦТК и многие другие реакции обмена веществ.

Вторым путем направленного воздействия на метаболизм ГАМК является использование многочисленных ГАМК-производных, ингибиторов метаболизма ГАМК, лигандов ГАМК-рецепторов (Сытинский И.А., 1977; Раевский К.С., Георгиев В.П., 1986). Среди этих соединений отдельную группу составляют ГАМК-конъюгаты на основе витаминов - пантотил-ГАМК (пантогам), никотиноил-ГАМК (пирамилон), фосфопиридоксил-ГАМК, оротил-ГАМК, биотинил-ГАМК (Копелевич В.М. и соавт., 1981). В наших экспериментах осуществлялось сопоставление нейрометаболических эффектов и антигипоксической активности этих соединений в сравнении с ГСМК ( $\gamma$ -оксимасляной кислотой), защитное действие которой при гипоксии хорошо изучено (Островская Р.У., 1981; Хватова Е.М. и соавт., 1987). Как видно из представленных данных (табл.2) в ряду этих соединений проявлялась та же закономерность, что и при изучении витаминно-коферментных препаратов: стимулирующее действие на утилизацию  $\alpha$ -НГ по КГДК-пути и особенно по пути ГАМК-шунта сочеталось с антигипоксической активностью (пантогам, пирамилон, ГСМК), а отсутствие такого стимулирующего действия сопровождалось отсутствием защитного действия при гипоксии (оротил-, биотинил-ГАМК).

В результате сравнения эффектов ГАМК, витаминных компонентов (никотинат, оротат), а также бикомпонентных ГАМК-конъюгатов можно прийти к заключению, что во всех случаях, за исключением фосфопиридоксил-ГАМК, нейротропное действие новых соединений обусловлено влиянием всей молекулы и не связано с освобождением ГАМК в нервной ткани. В отношении пантогама этот вывод подкреплен прямыми экспериментами по катаболизму меченого препарата (Розанов В.А., 1979). В связи с конформационной и структурной близостью к ГАМК возникает вопрос о возможности конкуренции новых ГАМК-конъюгатов за места связывания ГАМК в рецепторных и транспортных структурах. Нами рассмотрен этот вопрос на примере пантогама. Как показали эксперименты, пантогам проявляет свойства ингибитора как высокоаффинного  $\text{Na}^+$ -независимого рецепторного связывания ГАМК, так и  $\text{Na}^+$ -зависимого поглощения ГАМК целостными клеточными и субклеточными структурами (Рейтарова Т.Е., Розанов В.А. и соавт., 1988; Розанов В.А.

и соавт., 1987); в то же время, пантогам дает отчетливый ГАМК-имитический эффект (Ковлер М.А. и др., 1980), что можно расценивать как результат модуляции им ГАМК-рецепторов, а при многократном введении стимулирует образование новых ГАМК-рецепторов в нервной ткани (Obawa H. et al., 1982). Показанное в наших экспериментах резкое ослабление ингибирующего влияния пантогама на фоне введения бикукуллина, специфического ингибитора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов, свидетельствует в пользу того, что точкой приложения действия пантогама являются классические постсинаптические рецепторы типа ГАМК<sub>A</sub>. Эти данные дают основание отнести пантогам к ГАМК-ергическим веществам и являются косвенным подтверждением единства рецепции, транспорта и метаболизма ГАМК в нервной ткани.

В целом эта часть исследований способствовала закреплению концепции об активизации метаболизма энергетических субстратов по пути ГАМК-шунта в нервной ткани в обеспечении повышенной устойчивости организма к гипоксии. Практическим результатом этих исследований явился подбор рациональных сочетаний витаминно-коферментно-метаболических компонентов и создание новых композиций, обладающих защитным действием при гипоксии.

### 3. Метаболизм ГАМК и некоторые показатели функциональной активности головного мозга при экстремальных состояниях организма и экспериментальной терапии

При изучении биохимических сдвигов в ЦНС при экстремальных состояниях исследовали такие показатели, как ПЦК- и КГДК-активность, АСТ-, АЛТ-, ГДК- и ГАМК-Т-активность, а также содержание ГЛ и ГАМК. Основные результаты экспериментов (рис.6) свидетельствуют, что тяжелая черепно-мозговая травма у крыс сопровождается резким угнетением активности дегидрогеназ  $\alpha$ -кетокислот и компенсаторной активацией аминотрансфераз, в том числе, ГАМК-трансаминазы, в ткани травмированного полушария. Наибольшее угнетение функций дегидрогеназ  $\alpha$ -кетокислот наблюдалось на 3-и сутки после травмы, к 7-и суткам их активность нормализовалась. Активность ГАМК-Т была повышена уже к концу I-х суток после ТМТ и сохранялась на этом уровне до конца периода наблюдения (7 сут.). Уровень ГЛ и ГАМК изменялся незначительно, отмечена лишь тенденция к повышению уровня ГЛ и снижению уровня ГАМК. Соотношения между ГАМК-шунтом и КГДК-реакцией заметно изменялось в пользу ГАМК-шунта (по пути ГАМК-шунта проходит до 44 % суммарного потока на стадии  $\alpha$ -КГ  $\rightarrow$  сукцинат при общем снижении интенсивности суммарного потока на 12 %).

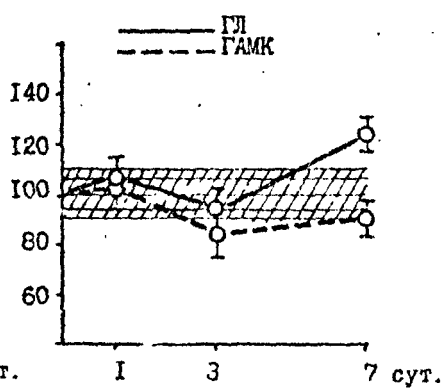
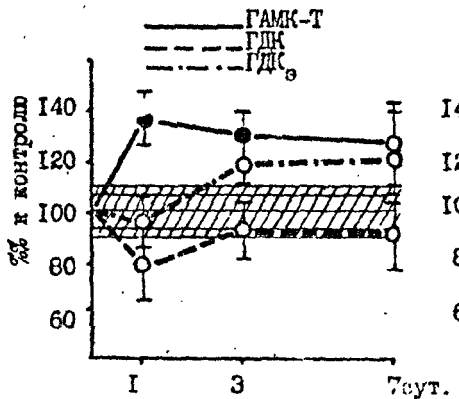
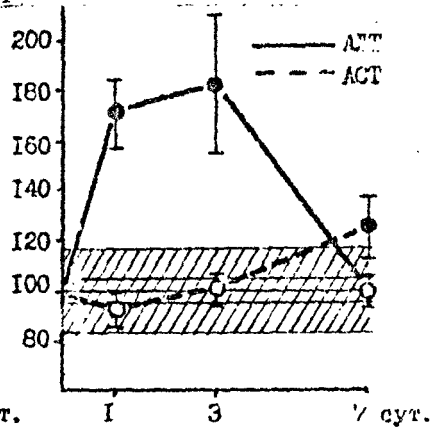
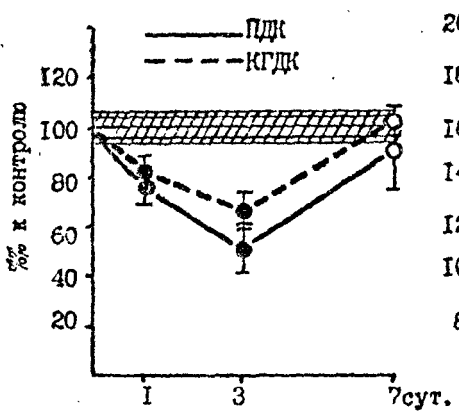


Рис.6. Состояние ГАМК-лунта и сопряженных с ним процессов (окислительное декарбоксилирование  $\alpha$ -кетокислот, переаминирование) в головном мозге в первые 7 суток после ТЧМТ.

С целью экспериментальной терапии нами использованы длительный (до 3-х суток) тиопенталовый наркоз, введение разработанного нами КВКМ и сочетание тиопентала натрия и КВКМ. Применение тиопентала натрия при ТЧМТ обосновывается необходимостью купирования гиперактивности гипофиз-адреналовой системы (Усенко Л.В., Клигуненко Е.Н., 1987), благоприятными гемодинамическими сдвигами в очаге ушиба мозга (Миротворская Г.Н., Кирсанова А.К., 1983), торможением метаболизма и потребления  $O_2$  и ограничением продукции лактата (Ziewjo В.К., 1982). Как показали наши исследования, (рис.7) длительное введение тиопентала натрия не устраняет угнетения активности дегидрогеназ  $\alpha$ -кетокислот в нервной ткани, приводит к изме-

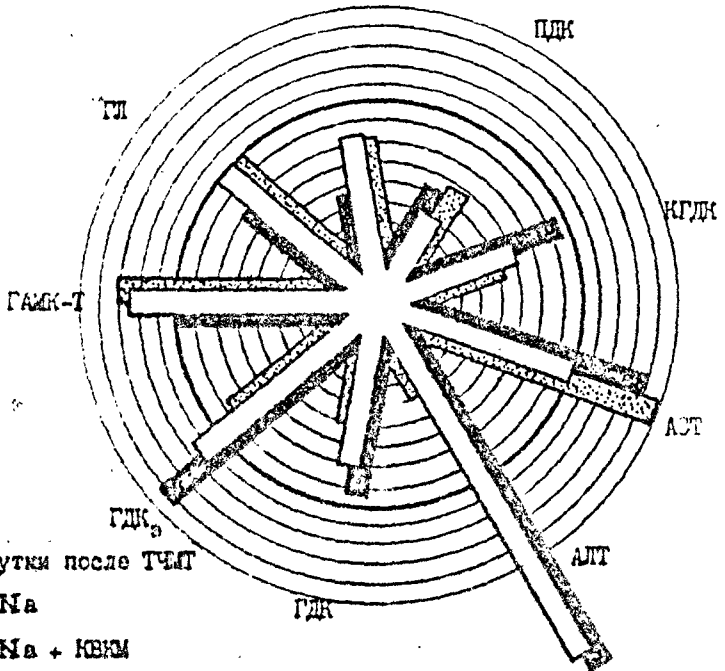


Рис. 7. Метаболические параметры ткани травмированного полушария головного мозга крысы при использовании различных вариантов фармако-метаболической защиты от гипоксии.

нению реакции со стороны аминотрансфераз (повышение АСТ- и снижение АЛТ-активности) и способствует поддержанию высокой ГАМК-Т-активности, при этом происходит снижение содержания эндогенной ГАМК. Суммарный поток на стадии  $\alpha$ -КГ — сукцинат в этих условиях еще больше ослабевает и ГАМК-шунт по интенсивности уравнивается с КГДК-реакцией, обеспечивая тем самым 50 % суммарного потока субстратов. Одновременно введение KBM указанного состава существенно модифицировало эффекты тиопентала натрия. В частности, наблюдалась активация КГДК, повышению АСТ- и АЛТ-активности, поддержание высокой интенсивности метаболизма ГАМК, причем с активацией продукции ГАМК в ГДК-реакции. Результатом этих изменений явилось отчетливое и достоверное снижение содержания ГЛ и ГАМК в нервной ткани на фоне нормализации суммарного потока превращения  $\alpha$ -КГ в сукцинат и сохранения сдвига в пользу ГАМК-шунта. Эти благоприятные с точки зрения биохимической логики сдвиги, свидетельствующие о повышении устойчивости нервной ткани к гипоксии, сочетались с



общебиологическими и физиологическими признаками эффективности применяемой терапии: снижением смертности, ускорением редуции неврологического дефицита, улучшением показателей двигательной активности и условно-рефлекторной деятельности животных.

В то же время механизмы терапевтического действия примененного сочетания препаратов, по-видимому, многообразны. Так, при оценке некоторых показателей интенсивности перекисного окисления липидов (диеновая конъюгация и уровень малонового диальдегида) в нервной ткани при ТЧМТ выяснилось, что характерное усиление пероксидации при травме (Воробьев Ю.В., Промыслов М.Ш., 1985) заметно ослабевает при использовании тиопентала Na и КВЮМ. Одновременно отмечено ограничение посттравматического снижения Zn-групп и поддержание более высокой активности глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы. Таким образом, экспериментальная терапия способствует защите липидов бисембран от пероксидации, что также является существенным компонентом положительного эффекта.

В отдельной серии экспериментов эффективность КВЮМ была подтверждена при его аппликации на поверхность травмированного мозга. В этих исследованиях было показано, что уже непосредственно после травмы метаболические нарушения в мозге укладываются в картину тяжелой тканевой гипоксии: наблюдалось резкое снижение активности дегидрогеназ  $\alpha$ -кетокислот, повышение активности ГДК (но не ГАМК-Т) и значительное увеличение содержания ГЛ и ГАМК, уровня альбумина и всего фонда свободных аминокислот. Аппликационное применение КВЮМ на фоне тиобарбитурового наркоза в этих условиях способствовало нормализации ПДК- и КГДК-активности, повышению ГАМК-Т-активности, нормализации уровня ГЛ и достоверному снижению содержания ГАМК, что можно расценивать как активизацию пунтирующей функции метаболизма ГАМК. Эти сдвиги сопровождались нормализацией электрокортикографической картины (уменьшением амплитуды волн, блокированием эпилептиформных разрядов и дизэнцефальных трехфазных группировок), а также тенденцией к снижению суммарного фонда свободных аминокислот.

Полученные данные подтвердили целесообразность снижения функциональной активности ЦНС в ранний посттравматический период, что в сочетании с одновременной витаминно-коферментно-метаболической коррекцией дает хорошие результаты восстановления мозговых функций. Эта мера является особенно необходимой при дизэнцефально-катаболическом варианте течения тяжелой травматической болезни мозга, когда повышенный уровень окисления, обусловленный усилением активирующего влияния катехоламинов (Кузнецкий В.И. и соавт., 1987) ста-

новится фактором, углубляющим гипоксию из-за несоответствия между кислородными запросами тканей и возможностями поставок  $O_2$ . В то же время при определенных типах течения посттравматического процесса, когда на первый план выступают явления апалического синдрома, целесообразно поддерживать активное функциональное состояние ЦНС, что отражается на протекании метаболических процессов и корригирует ряд нарушений обмена (Промыслов М.Ш., 1984).

Исследование системы ГАМК в ранние сроки после детального лучевого поражения представляет интерес для выяснения механизмов синдрома ранних постлучевых нарушений ЦНС. С другой стороны, поскольку метаболические нарушения в головном мозге после действия больших доз ионизирующих излучений во многом напоминают гипоксические изменения (Давыдов Б.И., Усанов И.Б., 1987), возникает вопрос об участии ГАМК-цинта в компенсации метаболических расстройств. В связи с этим в ходе исследования изменения метаболизма и содержания ГАМК сопоставляли с показателями функциональной активности ЦНС. Как показали эксперименты, изменения активности ГАМК-Т и содержания ГЛ и ГАМК позволяют говорить о фазовой динамике сдвигов в системе ГАМК (рис.8). Так, выявляется фаза ранних изменений (1-3 часа), характеризующаяся снижением уровня ГАМК и ГЛ и незначительными изменениями ГАМК-Т-активности, фаза нарастающего угнетения активности ГАМК-Т (3-6 час.) фаза компенсации (24 часа) и вторичной декомпенсации (48 час.). В отдельных экспериментах показано, что снижение содержания ГАМК и ГЛ в первые 6 часов после облучения происходит в основном за счет связанных форм аминокислот, что свидетельствует о нарушении их компарментализации, вероятно, в силу нарушения функционирования транспортных процессов (Rozanov V.A. et al., 1986). Сопоставление нейробиохимических изменений с двигательной активностью и условно-рефлекторной деятельностью облученных животных показало, что выраженные изменения спонтанной поисково-исследовательской активности развиваются только к 24-м часам после воздействия, в то время как в условиях наличия мотивации (болеевое раздражение) нарушения условно-рефлекторной деятельности отмечаются уже через 1 час после лучевой нагрузки. Полученные данные свидетельствуют о преобладании непосредственно после облучения процессов возбуждения, в то время как в последующие часы нарастает торможение ЦНС. Этот вывод совпадает с данными литературы (Григорьев Д.Г. и др., 1984) и является основанием для фармако-метаболической коррекции, заключающейся в раннем применении средств с седативным компонентом в фармакологическом профиле с по-

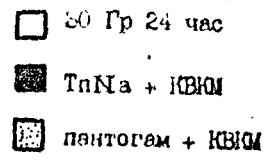
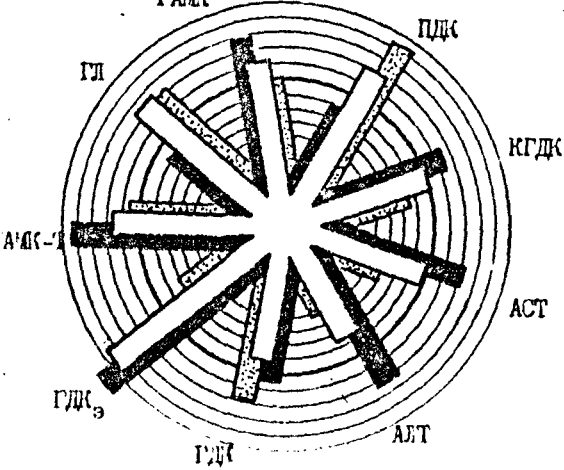
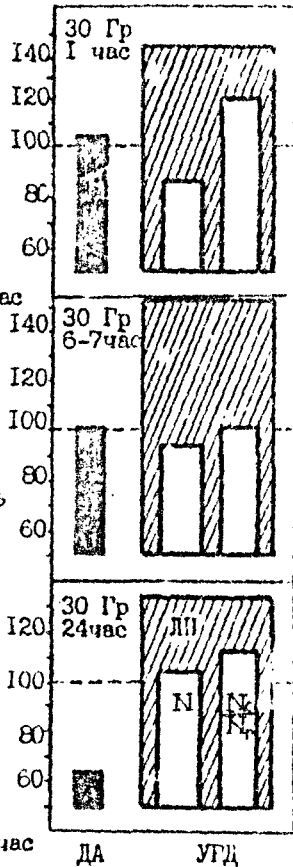
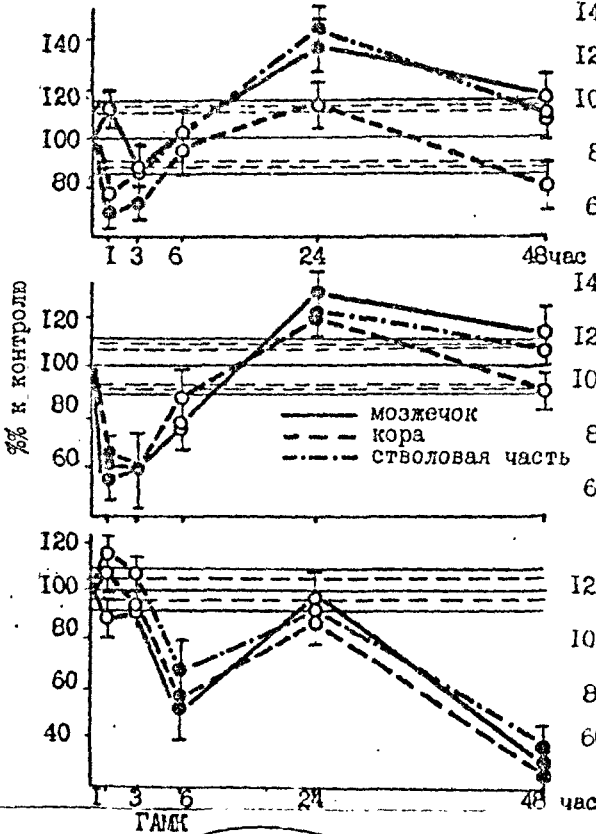


Рис.8. Изменения ГАМК-Т-активности, содержания ГЛ и ГАМК, условно-рефлекторная деятельность (УРД) двигательная активность (ДА) животных в разные сроки после общего  $\gamma$ -облучения в дозе 30 Гр.

следующим подключением средств, стимулирующих функцию ЦНС. Исходя из этого с целью коррекции состояния ЦНС применяли однократное введение тиопентала натрия сразу после облучения с последующим многократным введением разработанного нами КВМ и попеременные инъекции ГАМК-ергического противосудорожного и ноотропного препарата пантогам и КВМ. Выяснилось, что применение фармако-метаболической антигипоксической терапии с использованием пантогама и КВМ улучшает показатели двигательной активности и условно-рефлекторной деятельности животных, по метаболическим параметрам при этом происходил сдвиг в сторону усиления шунтирующей функции ГАМК и аминоксифераз (рис. 8). Эксперименты по изучению окислительного декарбоксилирования  $\alpha$ -КТ в нервной ткани облученных животных под влиянием комплекса коферментов *in vitro* и фоне фармако-метаболической защиты позволяют считать, что одним из механизмов защитного действия применяемых соединений может быть их стабилизирующее влияние на бисамбраны. Об этом свидетельствует более выраженная реакция повышения КДЖ-активности мозга защищенных животных на комплекс коферментов *in vitro* и приведенные ранее данные об ограничении пероксидации липидов под влиянием КВМ. Проведенные исследования показали также эффективность примененных фармако-метаболических комплексов и ряда ГАМК-ергических ноотропных препаратов (ГМК пантогам) при лучевом синдроме по общебиологическим критериям (время наступления гибели, выживаемость, картина крови), что свидетельствует о важной роли коррекции состояния ЦНС в модификации лучевого синдрома.

Таким образом, по биохимическим и патофизиологическим критериям сочетание фармакологической антигипоксической терапии (тиобарбитураты) и витаминно-коферментно-метаболической коррекции (КВМ) было весьма эффективным. КВМ указанного состава проявлял активность и при таких экстремальных состояниях, как острый геморрагический шок и состояние после длительной ишемии печени. В основе биохимических механизмов положительного эффекта и в этом случае лежала нормализация активности дегидрогеназ  $\alpha$ -кетокислот и активирующее влияние на компенсаторные реакции азотистого метаболизма - трансаминазы и ГАМК-шунт. В то же время биохимические механизмы действия предложенного и испытанного нами сочетания препаратов множественны. Они включают прямой и косвенный противоположностный эффект и, по-видимому, иные многочисленные метаболические и фармакодинамические влияния, в том числе на другие, кроме головного мозга, органы и ткани.

Поскольку в такой сложной системе, как клеточный метаболизм действует очень большое количество регуляторных факторов, наиболее значимое значение имеют взаимовлияния (связи) между компонентами системы (Фридрих П., 1986). Мы оценивали эти взаимовлияния при помощи методов множественной корреляции. Это позволило не только выявить взаимосвязанные параметры, но и оценить их долевое участие в общей картине взаимодействий на разных стадиях развития патологического процесса и при экспериментальной терапии. В сочетании с анализом абсолютных изменений и времени возникновения биохимических сдвигов эти данные позволили уточнить представления о механизмах регуляции активности ГАМК-шунта при экстремальных состояниях: одной из причин активации метаболизма ГАМК является индуцирующее влияние повышенного уровня глутамата и ГАМК, что, в свою очередь, вызвано торможением утилизации  $\alpha$ -кетокислот и аминированием  $\alpha$ -кето. Экспериментальная проверка полученных математических моделей подтвердила их адекватность и продемонстрировала сходство поведения системы взаимосвязанных реакций метаболизма (цикл Кребса, ГАМК-шунт и трансаминазы) при различных экстремальных состояниях, что подчеркивает неспецифический характер метаболических нарушений в нервной ткани.

#### Заключение

Проведенное исследование, в сочетании с анализом литературы, дает основание оценить вклад системы ГАМК в защиту мозга от гипоксии при экстремальных состояниях организма (рис. 9).

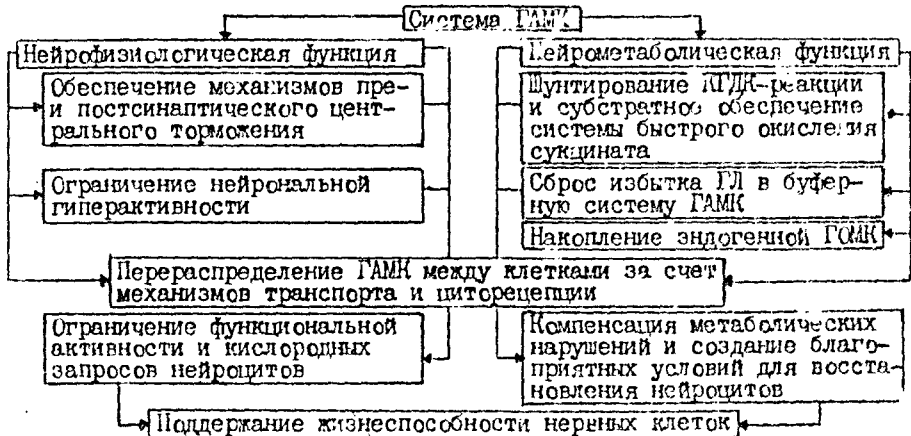


Рис. 9. Вклад системы ГАМК в защиту нервной ткани от гипоксии при экстремальных состояниях организма.

Исходя из принципа повышения адаптационных возможностей организма посредством усиления естественных компенсаторных процессов мы использовали такие направленные воздействия, как "остановка метаболизма" (Носчака Р.В., 1982) в сочетании с метаболической коррекцией (витамино-коферментно-метаболитный комплекс). Полученные данные подтверждают целесообразность комплексного патогенетического подхода (Крыжановский Г.Н., 1980) в защите мозга от гипоксии при экстремальных состояниях, открывают перспективы подбора новых рациональных сочетаний фармакоагентов и средств метаболитной терапии. Проведенный недавно анализ (Альпидовский В.К. и соавт. 1989) показывает, что в мировой медицинской практике широко представлены ампулированные композиции витаминов, коферментов и метаболитов, ориентированные на широкий спектр патологии. Разработанные и апробированные нами композиции могут составить основу для создания аналогичных отечественных комплексных препаратов для парентерального применения. Проведенное исследование и его клиническое приложение (результаты лечения 124 больных с ТЧМТ, острой кровопотерей, системной остановкой кровообращения) показали, что раннее применение биохимически обоснованных наборов витаминных, коферментных и метаболитных препаратов дает отчетливый терапевтический эффект, проявляющийся преимущественно при восстановлении мозговых функций в отдаленном постгипоксическом периоде. Это позволяет рассматривать их как необходимый компонент лечения острого периода экстремальных состояний в противовес традиционным взглядам на подобные препараты как на средства отдаленной восстановительной терапии.

### Выводы

1. Разработаны представления о ГАМК-шунте как о неспецифическом механизме компенсации метаболических нарушений цикла трикарбоновых кислот в нервной ткани при экстремальных состояниях (тяжелая черепно-мозговая травма, геморрагический шок, ишемия печени, летальное  $\gamma$ -облучение), роль которого состоит в образовании дополнительных количеств энергично окисляющегося и способного накапливаться сукцината. Эта компенсаторная реакция является метаболическим ответом на гипоксическое угнетение окислительного декарбоксилирования  $\alpha$ -кетоглутарата и перенасыщение фонда аминокислот глутаминовой группы.

2. Максимальная активность ферментов ГАМК-шунта неодинакова в различных отделах головного мозга, как следствие этого в возмоз-

же по пути ГАМК-шунта может метаболизироваться примерно 1/4 часть утиляриного потока субстратов на стадии  $\alpha$ -кетоглутарат — сукцинат, в коре — 1/8—1/10. Между КГДЖ и ГАМК-Т существует взаиморегуляция, определяющая реципрокный вход  $\alpha$ -кетоглутарата в альтернативные реакции его биодеградации и обусловленная структурными взаимосвязями между этими ферментами. Важную роль в механизмах метаболического контроля ГАМК-шунта играет доступность кофермента (пиридоксаль-5-фосфата) и субстрата (ГАМК).

3. Пиридоксаль-5-фосфат *in vitro* проявляет свойства эффективного стимулятора активности ферментов ГАМК-шунта и трансаминаз и ускоряет катаболизм до  $^{14}\text{CO}_2$  меченых субстратов ЦТК, однако *in vivo* то стимулирующее действие на метаболизм ГАМК и трансаминирование нервной ткани сменяется некоферментными эффектами угнетения; это явление компенсируется при одновременном применении субстратов ГАМК-шунта (глутамат, ГАМК,  $\alpha$ -кетоглутарат), что обеспечивает функционирование ГАМК-шунта и активизацию  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы в мозге и приводит к появлению антигипоксического действия по тесту гипоксии замкнутого пространства.

4. Изменения активности ферментов ГАМК-шунта и сопряженных реакций окислительного декарбоксилирования  $\alpha$ -кетоглутарата и трансаминирования в нервной ткани после серии инъекций ряда новых ГАМК-анальгетиков на основе витаминов (никотинил-ГАМК, пантоил-ГАМК, ороил-ГАМК, биотинил-ГАМК) и витаминно-коферментно-метаболических комплексов (Пентапирувит и  $\text{PLP} + \alpha$ -кетоглутарат+ГЛ+ГАМК) при составлении с их антигипоксической активностью свидетельствуют о том, что повышенные возможности утилизации  $\alpha$ -кетоглутарата как основному (дегидрогеназному) пути, так и по пути ГАМК-шунта в нервной ткани сочетается с повышенной устойчивостью организма к гипоксии.

5. Направленная активация основного ( $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного) и альтернативного (ГАМК-шунт) путей превращения  $\alpha$ -кетоглутарата в сукцинат в нервной ткани при тяжелой черепно-мозговой травме с помощью витаминно-коферментно-метаболических комплексов Пентапирувит и  $\text{PLP} + \alpha$ -кетоглутарат+ГЛ+ГАМК сама по себе и в сочетании с защитой мозга от гипоксии с помощью тиопентала натрия обеспечивает терапевтический эффект, отчетливо проявляющийся в ранние сроки после травмы по общепатологическим показателям и в постоперативном периоде по динамике восстановления мозговых функций, поведенческим проявлением и морфологическим критериям. Одним из механизмов терапевтического действия разработанного сочетания

препаратов является ограничение перекисного окисления липидов и поддержание функций глутатионовой системы противоперекисной защиты в нервной ткани.

6. Эффективность витаминно-коферментно-метаболической терапии проявляется как при системном, так и при аппликационном применении комплекса, в последнем случае это подтверждается нормализацией электроэнцефалографических показателей активности травмированного мозга и благоприятными метаболическими изменениями (нормализация окислительного декарбоксилирования  $\mathcal{L}$ -кетокислот, активация ГАМК-шунта, снижение уровня глутамата и ГАМК). В первые часы после травмы характер биохимических и функциональных нарушений в травмированном и в контрлатеральной полушарии свидетельствует о вовлечении в патологический процесс всего мозга целиком.

7. Состояние ГАМК-шунта в нервной ткани в период развития ранней постлучевой реакции после общего равномерного  $\gamma$ -облучения в дозе 30 Гр характеризуется фазой ранних изменений (1 час), фазой максимальных сдвигов (3-6 часов), фазой компенсации (24 часа) и фазой вторичной декомпенсации (48 часов). Эти изменения сочетаются с нарушениями компартиментализации ГАМК (снижением содержания ее связанных форм), особенно в первые 3 часа после воздействия. Характер поведенческой активности животных, изменения их условно-рефлекторной деятельности указывают на преобладание процессов возбуждения ЦНС в первые часы с последующим нарастанием тормозных процессов.

8. Фармако-метаболические воздействия (сочетание однократного введения тиопентала натрия сразу после облучения с последующим многократным применением КВКМ или сочетание пантогама с КВКМ) обеспечивает к концу первых суток после облучения усиление компенсаторной функции ГАМК-шунта в нервной ткани и улучшение условно-рефлекторной деятельности животных. ГАМК-эргические ноотропные и антигипоксические препараты (ГОМК, пантогам) и КВКМ (Пенталирувит в сочетании с комплексом  $\text{PLP} + \mathcal{L}$ -кетоглутарат+ГАМК+ГЛ) проявляют эффективность при лечении лучевого синдрома (удлинение средней продолжительности жизни животных, улучшение состояния кровотока и снижение смертности). Это подчеркивает роль гипоксии мозга в патогенезе ранней постлучевой реакции и указывает на необходимость коррекции состояния ЦНС с целью улучшения течения лучевого синдрома в целом.

9. На базе полученных данных с учетом результатов математического моделирования наблюдаемых биохимических процессов разработа-



ны рекомендации по рациональной фармако-метаболической защите головного мозга от гипоксии при экстремальных состояниях организма - принцип "экономии энергетической компоненты", предусматривающий сочетание трех целенаправленных воздействий: а) общего снижения энергетических затрат посредством угнетения функциональной активности ЦНС; б) активации компенсаторных путей метаболизма, способных восполнить подачу быстро и устойчиво окисляющихся субстратов; в) поддержания функции ключевых звеньев энергетического обмена.

#### СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Розанов В.А. Метаболизм и физиологические функции ГАМК-копегатов и ГАМК-производных в ЦНС млекопитающих // Нейрохимия. - 1982. - Т.1, № 4. - С.406-419.

2. Розанов В.А., Рейтарова Т.Е. Влияние  $V_3$ -витаминсактивных соединений на содержание свободных и связанных гама-аминомасляной и глутаминовой кислот в головном мозгу мышей // Укр. биохим. журн. - 1980 - Т.55, № 6. - С.671-673.

3. Савицкий И.В., Розанов В.А., Цибульский В.В., Гривцев Б.А. Обмен некоторых нейромедиаторов в головном мозгу животных при радиационном поражении организма // Девятая Всес. конф. по биохимии нервн. системы: Тез. научн. сообщ., Ереван: Изд-во АН Арм.ССР, 1983. - С.229-230.

4. Савицкий И.В., Розанов В.А., Цибульский В.В. Некоторые итоги изучения системы ГАМК и сопряженных реакций в головном мозгу при действии ионизирующих излучений. - Москва, 1984. - 14 с. - Рук. представлена ред. ж. Нейрохимия. Деп. в ВИНТИ № 5800-84.

5. Розанов В.А., Карпович Г.А. Ранние изменения уровня ГАМК, глутамата и аминотрансферазной активности в отделах головного мозга крыс после общего  $\gamma$ -облучения в абсолютно летальной дозе // Радиобиология. - 1985. - Т.25, № 3. - С.384-388.

6. Розанов В.А. Соотношение и взаиморегуляция путей метаболизма  $\alpha$ -кетоглутарата в митохондриях различных отделов головного мозга крыс // Молекулярн. механизмы и регуляция энергетич. обмена: Тез. Всес. симп., Пушкино, 1986. - С.17-18.

7. Розанов В.А., Рейтарова Т.Е. Использование хроматографии на бумаге для серийных исследований компонентов системы ГАМК в образцах нервной ткани // Хроматография в биологии и медицине: Тез. докл. междунар. симп., Москва, 1986. - С.44-45.

8. Rozanov V.A., Reitarova T.E., Karpovitch G.A. Neurochemische Abweichungen im Verlauf des fogen radiogenen Syndroma bei

Ratten und ihre Beeinflussung durch Vitamine // Radiobiol. Radiother. - 1986. - В.27, Н.5. - S.537-547.

9. Розанов В.А., Парксменко Ю.М. Активность пируват и кетоглутаратдегидрогеназного комплексов в различных отделах головного мозга крыс // Укр. биохим. журн. - 1987. - Т.59, № 1. - С.29-34.

10. Розанов В.А., Возмаута С. Интенсивность процесса утилизации  $\alpha$ -кетоглутарата и содержание некоторых связанных с ним субстратов в различных отделах головного мозга крыс // Нейрохими. - 1986. - Т.5, № 4. - С.377-383.

11. Погорелов И.Ф., Розанов В.А., Цепколенко В.А., Арлев В.М., Петров А.П., Щербань А.М. Коррекция ГАМК-системы клеток мозга при черепно-мозговой травме и гепатогенном шоке // Совр. пробл. гемостаза: Научн. труды ЦОЛИУВ, 1987. - Т.266. - С.70-71.

12. Рейтарова Т.Е., Розанов В.А., Тоцкий В.Н. Поглощение  $^{14}\text{C}$  ГАМК срезами коры головного мозга крыс: влияние  $\text{Ca}^{2+}$  // Укр. биохим. журн. - 1987. - Т.59, № 2. - С.87-90.

13. Розанов В.А., Карпович Г.А., Мулякина Н.А. Об использовании пиридоксаль-5-фосфата при определении аминотрансферазной активности в ткани головного мозга // Вопр. мед. химии. - 1987. - Т.33, № 3. - С.129-132.

14. Розанов В.А. Некоторые особенности глутаматдекарбоксилазной реакции в гомогенатах различных отделов головного мозга крыс // Укр. биохим. журн. - 1987. - Т.59, № 5. - С.41-45.

15. Розанов В.А., Цепколенко В.А., Савицкий И.В., Петров А.П. Нейрохимические обоснования принципа эксклюзии энергетической компоненты в коррекции метаболизма при травматических повреждениях ЦНС // Фундаментальные достижения нейрохимии - медицине: Тез. докл. десятой Всес. конф. по биохимии нервн. сист., Горький, 1987. - С.53-54.

16. Розанов В.А., Колелевич В.М., Рейтарова Т.Е., Розанов А.А., Гунар В.И. Анализ влияния новых ГАМК-кофакторов на систему ГАМК головного мозга с учетом возможности их биотрансформации // Поиск новых лекарств: Тез. докл. конф. Тарту, ТГУ, 1987. - С.97-99.

17. Ковлер М.А., Караев А.Л., Колелевич В.М., Буланова Л.Н., Розанов В.А., Авакумов В.Н., Гунар В.И. Синтез и нейрофармакологическая активность шиффова основания  $\gamma$ -аминомасляной кислоты и пиридоксальфосфата // Хим. фарм. журн. - 1987. - № 9. - С.1051-1064.

18. Розанов В.А., Карпович Г.А., Сергеева О.Н., Колелевич В.М., Гунар В.И. Влияние многократных инъекций ГАМК на ГАМК-сунт и не-

которые связанные с ним реакции в головном мозге крыс // *Вопр. мед. химии.* - 1988. - Т.31, № 1. - С.29-33.

19. Рейтарова Т.Е., Розанов В.А., Ковлер М.А., Копелевич В.М., Толцкий В.И., Гунар В.И. Влияние патотената и гемолантотената кальция на поглощение  $^{14}\text{C}$ -ГАМК срезами коры головного мозга крыс // *Фармакология и токсикология.* - 1988. - Т.51, № 4. - С.25-29.

20. Розанов В.А., Цепколенко В.А., Левицкий И.В., Галич И.М., Промыслов М.Ш. О компенсаторной функции ГАМК-шунта в энергетическом метаболизме мозга при дозированной черепно-мозговой травме у крыс // *Вопр. нейрохирургии им. Н.И.Бурденко.* - 1988. - № 5. - С.11-15.

21. Король А.П., Цепколенко В.А., Розанов В.А., Хасицкая Т.Б. Биохимическое обоснование интенсивной терапии при синдроме сдавления мозга // *Нейрохирургия: межведомств. сборник, Киев, 1988, № 21.* - С.38-41.

22. Розанов В.А. Механизмы регуляции ГАМК-шунта в головном мозге // *Нейрохимия.* - 1988. - Т.7, № 4. - С.611-628.

23. Розанов В.А., Рейтарова Т.Е. Соотношение между связыванием, метаболизмом гамма-аминобутирической кислоты и некоторыми реакциями цикла Кребса в головном мозге крыс // *Укр. биохим. журн.* - 1989. - Т.61, № 1. - С.42-48.

24. Розанов В.А., Копелевич В.М., Савицкий И.В. Изменения в системе ГАМК головного мозга при многократном инъектировании пиридоксаль-5-фосфата и его шиффова основания с ГАМК // *Вопр. мед. химии.* - 1989. - Т.35, № 2. - С.42-46.

25. Розанов В.А. Роль системы ГАМК в механизмах фармако-метаболической защиты мозга от гипоксии // *Анестезиол. и реаниматол.* - 1989. - № 2. - С.68-78.

26. Rozanov V.A. Some data confirming structural unity of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex and GABA-2-ox glutarate aminotransferase // *Molecular organization of biological structures: Abstr. Int. Symp. (June, Moscow, 1989).* - Moscow, 1989, p.145.

27. Розанов В.А. Метаболическая роль ГАМК-шунта в центральной нервной системе при экстремальных состояниях // *Успехи современной биологии.* - 1989. - Т.107, № 3. - С.376-390.

*Rozanov*