

БИОХИМИЯ

УДК 621.8.039 + 616.151.5 + 547.587.51

Академик К. Г. Карагезян, В. О. Топузьян, С. С. Овакимян,
Р. Г. Мелик-Оганджян

Особенности действия вновь синтезированного производного
гамма-аминомасляной кислоты на тканевые системы гемокоагуляции в
эксперименте

(Представлено 21/IV 2008)

Ключевые слова: *гемокоагуляция, тромбопластическая активность, гамма-аминомасляной кислоты, препарат Н-29, фосфолипиды*

Установленный впервые в 1951 г. К.Г. Карагезяном факт условно-рефлекторной регуляции свертывания крови [1] послужил основанием к раскрытию плеяды активаторов и ингибиторов этого процесса из серии непризнанных классическими ингредиентами этой системы [2-4]. Отмеченное касается различных категорий фосфолипидов (ФЛ) нейтральной и кислой природы, обуславливающих функциональную активность определенных ферментных систем, катализирующих и ингибирующих течение процесса гемокоагуляции [5-8]. В связи с указанным особый интерес представляют состояния, сопровождающиеся развитием расстройств в свертывающей системе крови, характеризующихся внутрисосудистым тромбообразованием, основательно изученным школой академика Г.Х. Бунятына [9,10] с акцентированием при этом определенных звеньев адреналовой системы главным образом надпочечных желез, наиболее активирующихся под действием гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), характеризующейся многопрофильностью развиваемых ею эффектов. В подобной постановке вопроса выявление и изучение особенностей действия вновь синтезированного В.О. Топузьяном производного ГАМК (N-бензоил-О-изопропил, α, β -дегиротирозил-ГАМК) под кодовым названием Н-29 на свертывающую систему крови представляет

не только существенный академический интерес, но имеет также важное прикладное значение.

Учитывая вышеизложенное и имеющийся у нас опыт изучения регуляторных механизмов реакций тканевого метаболизма, в частности различных звеньев обмена ФЛ, в том числе и процессов гемокоагуляции с участием ГАМК [11] при особом акцентировании изменений активности фосфолипазы А₂, катализирующей процесс деацилирования ФЛ-глицеридов, мы задались целью проследить за динамикой сдвигов тромбопластической активности (ТА), являющейся ФЛ-зависимым компонентом системы гемокоагуляции. На основании наших ранее проведенных исследований была конкретизирована активирующая роль фосфатидилхолинов (ФХ), фосфатидилэтаноламинов (ФЭ), сфингомиелинов (СФМ) и особенно лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), являющихся продуктом деацилирования ФХ, сопровождающегося одновременным освобождением жирных кислот (ЖК) полиенового ряда. Однозначность участия указанного липидного комплекса в свертывающей системе крови очевидна в качестве мощных стимуляторов ТА. В связи с отмеченным подчеркивается опосредованное регуляторное воздействие ГАМК на процесс гемокоагуляции при активной мобилизации, как уже отмечалось, определенных звеньев адреналовой системы. Этим в частности объясняется стимулирующая роль ФЭ в формировании специфических ферментных систем, выступающих в качестве активаторов и ингибиторов определенных этапов процесса свертывания крови. Логическим развитием этих исследований явилось установление факта присутствия указанных выше ФЛ-глицеридов, преимущественно холинсодержащих, в составе фибриногена крови, являющегося иницирующим тромбообразующим началом гемокоагуляционного процесса в физиологически функционирующем организме и индуктором внутрисосудистого тромбообразования при различных болезненных состояниях [12,13].

Исходя из вышеизложенного цель и задачи настоящего исследования были конкретизированы с учетом первостепенности выявления природы регуляторных механизмов, ответственных за обеспечение норм клеточной активности, в частности физиологического статуса системы гемокоагуляции, интенсивно регулируемой одним из ее главных составляющих ТА.

Схема проведения эксперимента состояла в предварительном измельчении исследованных тканей и суспендировании по 1 г навески каждой из них в 2 мл инкубационной среды в трех параллельных определениях в присутствии 0,1, 0,3 и 0,5 мл активного начала (Н-29) в каждом из них в отдельности. По завершении последующего 2-часового инкубирования полученной смеси с соблюдением отмеченных условий эксперимента и

проведенного центрифугирования образовавшиеся осадки исследованных тканей использовали на предмет определения в них динамики изменений ТА. В качестве объектов исследования были отобраны цельная кровь, мозговая, печеночная, миокардиальная и почечная ткани экспериментальных белых крыс массой 180-200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария и голодавших в течение 12 ч перед их умерщвлением методом декапитирования под легким эфирным наркозом. Последнему предшествовало взятие у экспериментальных животных проб крови после предварительной крестообразной фиксации их на станках для мелких животных. Это производилось проколом шприцем венозного узла в месте слияния подключичной и верхней полой вен по биссектрисе угла, образуемого между торсом и фиксированной передней лапой при объемных соотношениях между заранее набранным в шприц стабилизатором (оксалат натрия) и кровью 1:9. Определение протромбинового времени проводили по Квику в модификации Кудряшова [14], ТА – по Кудряшову, времени свертывания крови – по Ли Уайту [15]. Определение ТА в форменных элементах крови, отделяемых известными методами центрифугирования, и в срезах исследованных тканей после предварительного их декапсулирования и освобождения от кровеносных сосудов производили до (контроль) и после их двухчасовой инкубации в 2 мл системы трис-НСI буфера при $T=37^{\circ}\text{C}$ и $\text{pH}=7.4$ в присутствии различных концентраций (0.1, 0.3 и 0.5 мл) 0.01 М раствора препарата Н-29.

Согласно результатам проведенных исследований, отраженным в таблице, наиболее высокий уровень ТА в контроле обнаруживается в мозговой и почечной тканях, а также в форменных элементах крови. В то же время в печеночной и тем более в миокардиальной тканях практически интактных животных ТА оказывается слабее в 2 и более раз.

Как явствует из данных, приведенных в таблице, ингибирующее действие препарата Н-29 на ТА исследованных биологических объектов развивается адекватно возрастанию его концентрации в инкубационной среде (0.1-0.5 мл) согласно ниже приведенной очередности: печень→миокард→форменные элементы крови→мозг→почки. Примечательно при этом особо выраженное падение ТА в печеночной ткани и форменных элементах крови. В первой из них после 2-часовой инкубации в системе трис-НСI буфера указанный сдвиг по сравнению с величиной ТА в контроле развивается в соответствии с примененным объемом (0.1, 0.3 и 0.5 мл) введенного в инкубационную среду препарата Н-29, на 167, 173 и 233 % соответственно. Что касается динамики падения ТА форменных элементов крови в однотипных условиях эксперимента, то указанный сдвиг фиксируется в них в пределах 63, 138 и 225 %. Установленный факт заслуживает особого внимания, поскольку

согласно издавна сформировавшемуся определению функциональная универсальность печеночной ткани как своеобразной "лаборатории" физиологически метаболизирующего организма заключается и в приобщении к многочисленным биосинтетическим процессам, касающимся факторов системы свертывания крови. Это в частности касается и тромбопластинов, выступающих в миссии основных составляющих фермента тромбокиназы, катализирующей процесс трансформации инактивного протромбина в активный тромбин. Аналогичные суждения правомерны в различной степени их акцентирования и в отношении отдельных представителей элементов крови, преимущественно тромбоцитов, как основного депо тромбопластинов и важнейшего физиологически активного соединения серотонина – одного из существенных регуляторов процесса гемокоагуляции.

Особенности ингибирующего действия различных концентраций синтетического препарата Н-29 на тромбопластическую активность тканевых систем и форменных элементов крови белых крыс *in vitro*

Объект исследования	Тромбопластическая активность в сек протромбинового времени при 2-часовой инкубации в системе трис-НСI буфера						
	К	1	% раз- ницы от К	2	% раз- ницы от К	3	% раз- ницы от К
Мозг	15 ± 0.21	21 ± 0.23	-40	23 ± 0.22	-53	26 ± 0.25	-73
Почки	15 ± 0.23	16 ± 0.21	-7	17 ± 0.23	-13	21 ± 0.21	-40
Форменные элементы крови	16 ± 0.21	26 ± 0.23	-63	38 ± 0.25	-138	52 ± 0.31	-225
Печень	30 ± 0.19	80 ± 0.29	-167	82 ± 0.28	-173	100 ± 0.31	-233
Миокард	35 ± 0.20	42 ± 0.27	-20	44 ± 0.25	-26	58 ± 0.27	-66

Примечания. n=25; К – контроль; 1, 2, 3 – добавленные к буферной среде соответственно приведенной нумерации 0.1, 0.3, 0.5 мл 0.01 М р-ра препарата Н-29; обозначения " – " указывают на степень падения тромбопластической активности от нормы в %.

Установленное нами ингибирующее действие препарата Н-29 на ТА служит основанием к обстоятельному изучению особенностей биохимических и молекулярно-биологических механизмов подключения многочисленных факторов, в том числе липидной природы, в реализацию различных этапов формирования процесса гемокоагуляции. Полученные результаты служат

основанием для рекомендации препарата Н-29 к до- и клиническому испытанию при различных осложнениях процесса свертывания крови как одного из основных патогенетических показателей в условиях внутрисосудистого тромбообразования при различных болезненных состояниях ЦНС и сердечно-сосудистого аппарата.

Научно-технологический центр органической
и фармацевтической химии НАН РА

Академик К. Г. Карагезян, В. О. Топузян, С. С. Овакимян, Р. Г. Мелик-Оганджян

Особенности действия вновь синтезированного производного гамма-аминомасляной кислоты на тканевые системы гемостаза в эксперименте

Установлена роль высокой физиологической антикоагулянтной активности вновь синтезированного производного гамма-аминомасляной кислоты (N-бензоил-О-изопропил, α, β -дегиротирозил- гамма-аминомасляная кислота) под кодовым названием Н-29 в понижении *in vitro* тромбопластической активности в различных тканях (мозг, почки, печень, миокард) и форменных элементах крови. Полученные результаты сообщают принципиально новую научную информацию, представляющую не только существенный академический интерес, но имеющую также важное прикладное значение.

**Ավադեմիկոս Կ. Գ. Ղարազյոզյան, Վ. Օ. Թոփուզյան, Ս. Ս. Նովակիմյան,
Ռ. Գ. Մելիք-Օհանջանյան**

Գամմա-ամինակարազաթթվի նոր սինթեզված ածանցյալի ազդեցության առանձնահատկությունները արյան մակարդունակության վրա զանազան հյուսվածքային համակարգերում էքսպերիմենտի պայմաններում

Կարարված հետազոտությունների արդյունքների հիման վրա հայտնաբերվել է գամմա-ամինակարազաթթվից նոր սինթեզված Н-29 պայմանական անվանմամբ միացության (N-բենզոիլ-О-իզոպրոպիլ, α, β -դեհիդրոթիրոզիլ-գամմա-ամինակարազաթթու) հակամակարդիչ ազդեցությունը *in vitro* փորձերում՝ հյուսվածքային (ուղեղ, երիկամներ, լյարդ, սրտամկան և արյան ձևավոր փայրեր) փրոմբոպլաստիկների ակտիվության նվազեցման ճանապարհով: Սրացված արդյունքները որակավորվում են որպես ոչ միայն լուրջ ակադեմիական հետաքրքրություն ներկայացնող փաստեր, այլև ունեն բացառիկ կարևոր կիրառական նշանակություն:

Academician K. G. Karageuzyan, V. O. Topuzyan, S. S. Hovakimyan,
R. G. Melik-Ohanjanyan

Peculiar Action of Newly Synthesized Derivative of Gamma-Aminobutyric Acid on the Tissues Systems of Hemmocoagulation

Our data obtained in vitro have shown that synthetic preparation of H-29, which is a derivate of gamma-aminobutyric acid (N-benzoyl-O-isopropyl, α, β -dehidrotirosyl-gamma-aminobutyric acid) demonstrates the high level of antitromboplastic activity in the brain, kidney, liver, miocardial tissues, as well as in the blood corpuscles. The results of this investigations have not only an extremely high significance of academician interest, but also they have a serious practical applications.

Литература

1. *Карагезян К.Г.* Условно-рефлекторная регуляция свертывания крови. Канд. дис. Ереван. 1953. 310 с.
2. *Карагезян К.Г.* - ДАН СССР. 1958. Т. 118. N1. С. 142-145.
3. *Карагезян К.Г.* Фосфолипиды головного мозга, цереброспинальной жидкости, крови и печени при различных функциональных состояниях организма. Докт. дис. Ереван. 1968. 463 с.
4. *Бунятыян Г.Х., Карагезян К.Г.* - ДАН СССР. 1954. Т. 99. N5. С. 831-834.
5. *Карагезян К.Г., Амирханян О.М.* - ДАН СССР. 1971. Т. 201. N1. С. 238-241.
6. *Карагезян К.Г., Овакимян С.С., Тевосянц А.В.* - ДАН СССР. 1971. Т. 201. N2. С. 486-489.
7. *Карагезян К.Г., Овакимян С.С., Тевосянц А.В.* - ДАН СССР. 1971. Т. 201. N3. С. 733-736.
8. *Карагезян К.Г., Казарян П.А.* - ДАН СССР. 1974. Т. 215. N1. С. 221-223.
9. *Бунятыян Г.Х., Казарян Б.А., Карагезян К.Г., Гулян Э.А.* - ДАН АрмССР. 1965. Т. 40. N5. С. 289-295.
10. *Buniatian H.Ch.* Studies of the Role of Gamma-Aminobutyric Acid in Carbohydrates Metabolism. Yerevan. 1961. 67 p.
11. *Карагезян К.Г.* - ДАН АрмССР. 1968. Т. 8. N1. С. 3-10.
12. *Овакимян С.С.* Фосфолипиды фибриногена и изменения их содержания в процессе фибринообразования. Канд. дис. Ереван. 1970. 195 с.
13. *Карагезян К.Г., Саакян С.С.* В кн.: *Вопр. биохимии мозга.* Ереван. Изд. АН АрмССР. 1964. N1. С. 163-165.
14. *Предтеченский Б.Е.* В кн.: *Лабораторные методы исследования.* М. 1950. С. 113-115.
15. *Андреев Г.В.* - Пробл. гематол. и перелив. крови. М. 1962. N9. С. 31-33.