

«Симпатикалық гиперактивация кезінде β 1-адреноблокаторлардың және пуринды нуклеотидтер метаболиттерінің иммунды статуска, пуринді циклдар ферменттерінің белсенділігіне және антиоксидантты жүйеге әсері» тақырыбына

Советов Бақытбек Советұлының

6D110100 – Медицина мамандығы бойынша
философия (PhD) докторы дәрежесін алуға ұсынылған
диссертациялық жұмысының

АННОТАЦИЯСЫ

Көптеген зерттеулер көрсеткендей, миокардтың ишемиясы жүректе адреналиннің мөлшері жоғарылауымен қатар жүреді. Миокард ишемиясының аумағында оның концентрациясы фондық мәліметтермен салыстырғанда 1,5 -2 есе, ал жүректен алыс аумақтарда – 1,4-1,6 есе артық болады. Сонымен қатар бүйрек үсті бездерінде адреналиннің мөлшерінің күрт төмендеуі байқалады. Бұл жүрек бұлшық етіндегі адреналиннің бүйрек үсті безілік табиғаты бар екенін дәлелдейді.

Зерттеулерден белгілі болғандай, адреналин миокардта липидтердің асқын тотығуының өте күшті белсендіргіші болып табылады [Коган А. Х. және авторлар, 1976; Литвицкий П. Ф. және авторлар, 1980, 1981].

Жүректе адреналиннің жинақталуы, бір жағынан, липидтердің асқын тотығу процесін белсендіреді, ал екінші жағынан – антиоксидантты ферменттердің белсенділігін тежейді. Бұдан басқа, катехоламиндердің әсерінен АТФ-ң шығындалуының артуына байланысты, липидтердің асқын тотығуының күшеюіне ықпал етуі мүмкін, бұл АТФ гидролизінің өнімі – ксантиннің жинақталуына әкеледі. Ксантиннің алмасуы да оттегінің белсенді формаларының түзілуімен қатар жүреді [Tien M. et al., 1981].

Миокард ишемиясы жағдайында катехоламиндердің прооксидантты әсерінің механизмі қазіргі кезде жете зерттелген жоқ. Алайда, әдебиетті талдау және өзіміздің жүргізген зерттеулеріміз адреналиннің артық мөлшерінің әсерінен липидтердің асқын тотығуының мүмкін болатын қарқынды жолдарын біраз бөліп қарастыруға мүмкіндік береді.

Біріншіден, қалыпты жағдайда адреналиннің адренохромға тотығу супероксидті анион-радикалдың O^*_2 қатысуымен жүреді, ал бұл процестің жылдамдығы, көбінесе, липидтердің асқын тотығуы өнімдерінің мөлшеріне, атап айтқанда, липидтердің гидроперекисьтеріне байланысты болады.

Екіншіден, адреналиннің мөлшері жоғары болатын, миокард ишемиясы кезінде, адреналиннің ферментті және ферментті емес тотығу өнімдерінің түзілуі жоғарылайды, атап айтқанда, O^*_2 , адренохромның, H_2O_2 , OH^* , олар өз

кезегінде липидтердің асқны тотығуының қарқынды жүруіне әкеледі.

Үшіншіден, жүректің ишемиясы кезінде онда адреналиннің жинақталуы антиоксидантты ферменттердің белсенділігінің төмендеуімен сәйкес келеді. Айта кету керек, бұл екі процестің де ұқсас сипаты бар.

Симпато-адреналды жүйенің активациясы жүректің ишемиялық ауруының дамуын қиындататыны белгілі. Ал катехоламиндердің жоғары деңгейі миокард инфарктысының қайталап даму және кенет өлімнің қауіп факторы болып табылады. Симпатикалық гиперактивация кезінде синусты тахикардия, функционалды экстрасистолия, кардиалгиялар, қан қысымының эпизодты көтерілуі, гипергидроз, митралды клапанның пролапсы және түрлі вегетативті белгілер көрініс береді. Кардиологиялық практикада ішкі симптоматикалық белсенділігі болмайтын кардиоселективті β -блокаторға баса назар аударылады. Бұл талапқа сәйкес келетін метопролол болып табылады [Терешенко С.Н., Косицына И.В., Джаиани Н.А.].

Метапролол, төмен дозаларда жүректің β_1 -адренорецепторларын тежей отыра, аденозинтрифосфаттан (АТФ-тан) циклды аденозинмонофосфаттың (цАМФ-тың) катехоламиндер ынталандырған түзілуін төмендетеді, жасушаішілік Ca^{2+} ағынын азайтады, жүректің ишемиялық ауруын, жүрек қағысының бұзылуын емдеу үшін қолданылады [Маколкин В.И., Ахмедова О.О., Бувальцев В.И. және авторлар].

Симпатикалық гиперактивация тек адреналиннің ферментті емес тотығу өнімдерінің қарқынды түзілуімен ғана қатар жүрмейді. Сонымен қатар, адреналин, жасушалардың АТФ-ты пайдалануын жылдамдата отыра, оның метаболизміне және аденозинмонофосфат (АМР) пен аденозин (АД) деңгейінің жоғарылауына ықпал етеді.

Аденозин миокардтың ишемияға және гипоксияға бейімделуінде маңызды рөл атқарады [Козловский В.И., Зинчук В.В, Станкевич П.Б, Хлопицкий С.]. Жүрекке антиаритмиялық әсер көрсете отыра, аденозин, катехоламиндер индуцирлеген атриовентрикулярлы өткізгіштікті баяулатады. Жүректің β -адренорецепторлары арқылы әсер ете отыра, аднозин кардиалды жиырылғыштықты төмендетеді. Аденозиннің А1- рецепторлары агонистерінің прекоңдиционирленуі тәуелді механизмнің А(2А) рецепторлары арқылы жасушалық иммунды жауапты тежейді [Naamani O., Chaimovitz C., Douvdevani A.].

Жүрекке жүктеме артқан кезде және катехоламиндердің мөлшері стресс салдарынан артқан кезде АТФ және креатинфосфат деңгейі төмендейді. Бұл 5`-нуклеотидазаның белсендірілуіне және АМФ-тан аденозиннің түзілуінің артуына әкеледі. Қанда оттегі деңгейінің төмендеуі миокардиоциттерде аденозин синтезін ынталандырады, соның салдарынан оттегінің жеткізілуі, АТФ және креатинфосфат синтезі күшейеді. Бұл макроэргтердің деңгейінің артуы 5`-нуклеотидазаны тежейді, аденозиннің бөлінуін төмендетеді.

Қазіргі кезде биожүйелерді реттеу механизмдерінде биохимиялық реакциялар және олармен байланысты болатын физиологиялық процестердің тотығу-тотықсыздану процестеріне тура тәуелділігі бар екені туралы нақты

заңдылық ұғым қалыптасты. Осы механизмдер аясында тиолдисульфидті редокс-жүйе жағдайына баса назар аударылады.

Редокс-жүйені қалыптастыратын биотиолдардың ішінде трипептид *глутатион* ерекше орын алады. Глутатионның ең басты антиоксидантты қызметі – иммунды жасушаларды, атап айтқанда, лимфоциттерді қорғау болып табылады. Алайда, егер, глутатионның қоры таусылатын болса, антиоксидантты қорғаныс әлсірейді, бұл өз кезегінде иммунды жүйе қызметінің бұзылуына әкеліп соғады.

Осыған байланысты, алдын-ала жасалған тәжірибелерде, біз, глутатионды редокс-жүйенің иммунды статус жағдайымен, пуринді нуклеотидтер метаболизмі және антиоксидантты қорғаныс ферменттерінің белсенділігімен байланысын қалыпты жағдайда, гипотиреоз және адреналэктомия кезінде зерттедік.

Жоғарыда айтылғандарға сәйкес, әртүрлі қарама-қайшы әдебиетті ғылыми мәліметтерді ескере отыра, жұмыста келесі **негізгі мақсат** қойылды: аденозинмонофосфаттың, аденозиннің, селективті β_1 -адреноблокатор метопролола және симпатикалық гиперактивацияның иммунды жағдайға, АМР-дезаминаза (АМРD), аденозиндезаминаза (АD), 5'-нуклеотидаза (5'Н), каталаза, глутатионредуктаза (ГР) және глутатионпероксидаза (ГПО) ферменттерінің белсенділігіне және МДА пен ДК деңгейіне әсерін қалыпты жағдайда және тәжірибелік жануарларға адреналинді енгізу арқылы жасалған симпатикалық гиперактивация кезінде зерттеу.

Зерттеу мақсаты: Пуринды нуклеотидтер метаболиттерінің (АМФ және аденозин) және селективті β_1 -адреноблокатор метопрололдың симпатикалық гиперактивация кезінде иммунды статусқа және қан плазмасы мен жүрек және бауыр жасушаларында және пуринды нуклеотидтер метаболизмі ферменттерінің белсенділігіне және антиоксидантты жүйеге әсерін зерттеу.

Зерттеудің міндеттері:

1. Қалыпты жағдайда, гипотиреоз және адреналэктомия кезінде глутатионды редокс-жүйенің иммунды статус жағдайымен, пуринді нуклеотидтер алмасуы және антиоксидантты қорғаныс ферменттерінің белсенділігімен функционалды өзара байланысты зерттеу.

2. Жануарларға зерттеуге 60 минут қалғанда, 100 г дене салмағына 0,4 мг дозада енгізілген адреналиннің, күніне 100 мкг-нан per os енгізілген аденозин және АМФ-ң иммунды жағдайға, пуринді нуклеотидтер алмасуы ферменттеріне және антиоксидантты қорғаныс жүйесіне метаболитикалық әсерлерінің ерекшеліктерін анықтау.

3. Симпатикалық гиперактивация кезінде селективті β_1 -адреноблокатор метопрололдың иммунды статусқа және пуринді нуклеотидтер метаболизмі ферменттерінің және антиоксидантты қорғаныс ферменттерінің белсенділігіне әсерін зерттеу.

4. Симпатикалық гиперактивация кезінде АМФ және аденозин кешенін қосынды енгізудің иммунды статусқа және пуринді нуклеотидтер метаболизмі

ферменттерінің және антиоксидантты қорғаныс ферменттерінің белсенділігіне әсерін зерттеу.

Зерттеудің әдістері

Зерттеулер дене салмағы 200-250 грамм болатын, 3-3,5 айлық 180 ақ егеуқұйрықтарға жүргізілді. Зерттеуде «Тәжірибелік жануарларды пайдалана отыра, жұмыстар жүргізу Ержесі» басшылыққа алынды. Жануарлар сериялар бойынша бөлінді. Глутатионды редокс-жүйенің функционалды жағдайы туралы жалпы, тотыққан және тотықсызданған глутатионның мөлшері бойынша қорытынды жасалды, олар М.С. Чулкованың өзгерткен, С.В.Травина сипаттаған Вудворд және Фрей әдісі бойынша анықталды. Глутатионредуктаза (ГР) және глутатионпероксидазаның (ГПО) белсенділігі С.Н. Власова және авторлар әдісі бойынша анықталды. Пуринді нуклеотидтер алмасуының ферменттері: аденозиндезаминаза (AD), АМР-дезаминаза (АМРD) С.О. Тапбергенов әдісі бойынша анықталды және минутына нмоль аммиактың мг белокқа қатынасы арқылы сипатталды. 5'-нуклеотидазаның (5'Н) белсенділігі АМР-дезаминазаның аденозин мен фосфор қышқылына дейін гидролиз жылдамдығы бойынша қорытынды жасалды және минутына мкмоль H_3PO_4 мг белок мөлшері арқылы сипатталды. Белоктың мөлшері жалпы қабылданған Лоури әдісі бойынша анықталды. Каталазаның белсенділігі М.А. Королюк және авторлар әдісі бойынша зерттелді.

Зерттеудің жаңалығы

1. Антиоксидантты қорғаныс ферменттерінің пуринді нуклеотидтер алмасуы ферменттерінің белсенділігімен және иммунды жағдаймен функционалды өзара байланысы анықталды.
2. Симпатикалық гиперактивация кезінде иммунитеттің Т- және В-бөліктерінің функционалды өзара байланысы күшейеді, тотығушы стресс жағдайына жуық өзгерістер дамиды, бұл ГПО, каталаза және AD, АМРD, 5'Н пуринді нуклеотидтер алмасуы ферменттерінің белсендірілуі, МДА және ДК деңгейінің жоғарылауы арқылы көрінеді.
3. Интактты жануарларға енгізілген АМР және аденозин лейкоциттердің, лимфоциттердің, Т-лимфоциттердің, Т-хелперлердің жалпы санын арттырады, МДА, РТМЛ деңгейін және Т-супрессорлардың жалпы санын төмендетеді. Аденозин және АМФ интактты жануарлардың жүрегінде және бауырында глутатионредуктазаның (ГР), глутатионпероксидазаның (ГПО), каталазаның белсенділігі төмендеуін, малонды диальдегид (МДА) және диенді конъюгаттар деңгейінің төмендеуін тудырады.
4. Алғаш рет зерттелетін ғылыми жұмыста пуринді нуклеотидтер метаболиттерінің (АМФ және аденозин) және селективті β_1 -адреноблокатор метопрололдың симпатикалық гиперактивация кезінде иммунды статуска және қан плазмасы мен жүрек және бауыр жасушаларында және пуринді нуклеотидтер метаболизмі ферменттерінің белсенділігіне және антиоксидантты жүйеге әсері зерттелді.

5. β_1 -адреноблокатор метопролол жануарларда МДА және ДК мөлшерін төмендетеді және осыған адекватты түрде ГР, ГПО және каталаза белсенділігін төмендетеді, адреналинді енгізу салдарынан жануарлар ағзасындағы тотығышы стрессорлы реакцияның көрінісін бәсеңдетеді.

6. Симпатикалық гиперактивация кезінде аденозин және АМФ кешені пуринді нуклеотидтер алмасуы ферменттерінің белсенділігін арттыра отыра, иммунитеттің Т- және В-бөліктерінің функционалды өзара байланысын күшейтеді, пероксидация процесін азайтады және осыған адекватты түрде антиоксидантты қорғаныс ферменттерінің белсенділігін төмендетеді.

7. Гиперадреналинемия және кез-келген тотықтырушы стресс кезінде байқалатын антиоксидантты қорғаныс жүйесіндегі, пуриндер алмасуы ферменттерінің белсенділігіндегі және иммунды реакциялардағы өзгерістерді түзету үшін тек β_1 -адреноблокатор метопрололды ғана емес, сонымен қатар аденозин және АМФ кешенін де пайдалануға болады.

Зерттеудің қорғауға шығарылған негізгі қағидалары

1. Жануарлар ағзасында глутатионды редокс-жүйенің иммунды статус жағдайымен, пуринді нуклеотидтер метаболизмі ферменттерінің және антиоксидантты қорғау ферменттерінің белсенділігімен функционалды өзара байланысы болады.

2. Гипотиреоз және адреналэктомия кезінде жасушалардың антиоксидантты қорғауын қамтамасыз ету үшін глутатионның тотықсызданған формасын пайдалану жоғарылуы жағына қарай тиолдисульфидті тепе-теңдік өзгеруінің функционалды ығысуы орын алады.

3. Адреналинді енгізу арқылы туындаған симпатикалық гиперактивация кезінде және АМФ пен аденозинді енгізген кезде пуринді нуклеотидтер метаболизмі ферменттерінің белсендірілуі және иммунитеттің Т- және В-бөліктерінің функционалды өзара байланысының күшеюі орын алады.

4. Адреналиннен ерекшелігі, сау жануарларға АМР және аденозинді енгізу стрестік реакция тудырмайды. АМР және аденозин әсерлері жүректе және бауырда антиоксидантты қорғау жүйесін сақтауға және тотықтырушы гомеостазды жүйесінің тепе-теңдігін қамтамасыз етуге бағытталған.

5. β_1 -адреноблокатор метопролол тәрізді, аденозин және АМФ пероксидация процесін төмендетеді және соған адекватты түрде антиоксидантты қорғау ферменттерінің белсенділігін азайтады, иммунды статус жағдайын және пуринді нуклеотидтер метаболизмі ферменттерінің белсенділігін өзгертеді.

6. Симпатикалық гиперактивация және тотықтырушы стресс біршама байқалатын жағдайларда антиоксидантты қорғау, иммунды жүйе қызметі және пуринді нуклеотидтер метаболизмі қызметі өзгерістерін коррекциялау (түзету) үшін β_1 -адреноблокаторлармен қатар, АМФ және аденозинді қолдануға болады.

Жұмыстың тәжірибелік және теориялық маңызы

Зерттеу нәтижелерінде клеткалық және субклеткалық деңгейде иммундық жүйе және антиоксидантты қорғау жүйесіне симпатикалық гиперактивация кезінде аденозиннің және АМФ және селективті β_1 -адреноблокатор

метопрололдың әсері зерттелді. Сонымен қатар лимфоциттерде аденозиннің ДНҚ репликациясын тежейтіні, пуриндер синтезін төмендететіні анықталды.

Пуринды нуклеотидтер циклының ферменттері АМФ, аденозин және инозин тәрізді өзгешелік жасушаішілік модуляторлардың деңгейін бақылайтыны, жүректегі β -адренорецепторлар арқылы әсер ете отыра, аденозин жүректің жиырылғыштығын төмендететіні тәжірибелік дәлелденді. Метапролол, төмен дозаларда жүректің β_1 -адренорецепторларын тежей отыра, АТФ-тан цАМФ-тың катехоламиндер ынталандырған түзілуін төмендететіні анықталып, соған байланысты жүректің ишемиялық ауруын, жүрек қағысының бұзылуын емдеу үшін қолданылуға ұсынылды.

Қорытындылар

1. Жануарлар ағзасында глутатионды редокс-жүйенің иммунды статус жағдайымен, пуринді нуклеотидтер метаболизмі ферменттерінің және антиоксидантты қорғау ферменттерінің белсенділігімен функционалды өзара байланысы болады.

2. Гипотиреоз және адреналэктомия кезінде жасушалардың антиоксидантты қорғауын қамтамасыз ету үшін глутатионның тотықсызданған формасын пайдалану жоғарылуы жағына қарай тиолдисульфидті тепе-теңдік өзгеруінің функционалды ығысуы орын алады.

3. Адреналинді енгізу арқылы туындаған симпатикалық гиперактивация кезінде және АМФ пен аденозинді енгізген кезде пуринді нуклеотидтер метаболизмі ферменттерінің белсендірілуі және иммунитеттің Т- және В-бөліктерінің функционалды өзара байланысының күшеюі орын алады.

4. Адреналиннен ерекшелігі, сау жануарларға АМР және аденозинді енгізу стрестік реакция тудырмайды. АМР және аденозин әсерлері жүректе және бауырда антиоксидантты қорғау жүйесін сақтауға және тотықтырушы гомеостазды жүйесінің тепе-теңдігін қамтамасыз етуге бағытталған.

5. β_1 -адреноблокатор метопролол тәрізді, аденозин және АМФ перосидация процесін төмендетеді және соған адекватты түрде антиоксидантты қорғау ферменттерінің белсенділігін азайтады, иммунды статус жағдайын және пуринді нуклеотидтер метаболизмі ферменттерінің белсенділігін өзгертеді.

6. Симпатикалық гиперактивация және тотықтырушы стресс біршама байқалатын жағдайларда антиоксидантты қорғау, иммунды жүйе қызметі және пуринді нуклеотидтер метаболизмі қызметі өзгерістерін коррекциялау (түзету) үшін β_1 -адреноблокаторлармен қатар, АМФ және аденозинді қолдануға болады.

Диссертация тақырыбы бойынша басылымдар

Диссертация тақырыбы бойынша 10 ғылыми жұмыстар жарияланды. Олардың ішінде 7 мақала, 3 тезис халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция материалдарында басылған.

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности 6D110100 – Медицина

Советова Бакытбек Советұлы

«Влияние β_1 -адреноблокаторов и метаболитов пуриновых нуклеотидов на иммунный статус, активность ферментов пуринового цикла и антиоксидантной системы при симпатической гиперактивации»

Известно, что ишемия миокарда сопровождается значительным увеличением содержания адреналина в сердце. В зоне ишемии миокарда его (концентрация повышается более чем в 1,5 — 2 раза по сравнению с фоновыми данными; в отдаленных от нее участках сердца — в 1,4 — 1,6 раза. Одновременно с этим наблюдается прогрессирующее снижение содержания адреналина в надпочечниках. Это свидетельствует в основном о надпочечниковом происхождении адреналина в мышце сердца.

Вместе с тем показано, что адреналин является мощным активатором ПОЛ в миокарде [Коган А. Х. и др., 1976; Литвицкий П. Ф. и др., 1980, 1981].

Накопление адреналина в сердце, с одной стороны, потенцирует процесс ПОЛ, а с другой — может подавлять активность антиоксидантных ферментов. Кроме того, катехоламины могут способствовать усилению ПОЛ в связи с увеличением под их влиянием расхода АТФ, что ведет к накоплению продукта его гидролиза — ксантина. Метаболизм последнего также сопровождается образованием активных форм кислорода [Tien M. et al., 1981].

Механизмы прооксидантного действия катехоламинов в условиях ишемии миокарда на сегодняшний день изучены еще недостаточно. Однако анализ литературы и собственных исследований дает основание выделить несколько возможных путей интенсификации ПОЛ под влиянием избытка адреналина.

Во-первых, окисление адреналина в адренохром в норме проходит при участии супероксидного анион-радикала O_2^* , а скорость этого процесса в существенной мере зависит от содержания продуктов ПОЛ, в частности гидроперекисей липидов.

Во-вторых, при ишемии миокарда, когда содержание адреналина в нем повышено, должно увеличиться образование продуктов ферментативного и неферментативного окисления адреналина, в частности O_2^* , адренохрома, H_2O_2 , OH^* , обуславливающих в свою очередь интенсификацию ПОЛ.

В-третьих, накопление адреналина в сердце при его ишемии совпадает со снижением активности антиоксидантных ферментов. Причем динамика обоих процессов имеет сходный характер.

Известно, что активация симпатoadренальной системы усугубляет течение ишемической болезни сердца. А повышенный уровень катехоламинов служит фактором риска развития повторного инфаркта миокарда и внезапной смерти. При симпатической гиперактивации наиболее часто проявляются синусовая тахикардия, функциональная экстрасистолия, кардиалгии, эпизодическое повышение артериального давления, гипергидроз и другие вегетативные проявления. Для ослабления этих симптомов в кардиологической практике предпочтение отдаётся кардиоселективным β -блокаторам, не обладающим внутренней симпатической активностью. Таким требованиям, в первую очередь, отвечает метопролол [Терешенко С.Н., Косицына И.В., Джаиани Н.А.].

Метопролол, блокируя в невысоких дозах β_1 -адренорецепторы сердца, уменьшает стимулированное катехоламинами образование циклического аденозинмонофосфата ($3'5'$ AMP) из аденозинтрифосфата (АТФ), снижают внутриклеточный ток Ca^{2+} , используется в лечении ишемической болезни сердца, нарушений сердечного ритма [Маколкин В.И., Ахмедова О.О., Бувальцев В.И.].

Симпатическая гиперактивация сопровождается не только усиленным образованием продуктов не ферментативного окисления адреналина. Одновременно, адреналин, ускоряя использование клетками АТФ, способствует его метаболизму и увеличению уровня аденозинмонофосфата (AMP) и аденозина (AD).

Аденозин играет особо важную роль в адаптации миокарда к ишемии и гипоксии [Козловский В.И., Зинчук В.В., Станкевич П.Б., Хлопицкий С.]. Оказывая антиаритмическое на сердце действие, аденозин замедляет атриовентрикулярную проводимость индуцированную катехоламинами. Действуя через β -адренорецепторы в сердце, аденозин уменьшает кардиальную сократимость. Прекондиционирование агонистов A_1 -рецепторов аденозина подавляет клеточный иммунный ответ через $A(2A)$ рецепторы зависимого механизма [Naamani O., Chaimovitz C., Douvdevani A.].

При увеличении нагрузки на сердце или при действии детерминированного стрессом избытка катехоламинов уровень АТФ и креатинфосфата снижается. Это приводит к активации $5'$ -нуклеотидазы и к возрастанию образования аденозина из АМФ. Снижение уровня кислорода в крови стимулирует синтез аденозина миокардиоцитами, который достигая артериол вызывает, их дилатацию, увеличивает кровоток, следовательно, доставку кислорода и усиление синтеза АТФ и креатинфосфата. Повышение уровня этих макроэргов ингибирует $5'$ -нуклеотидазу, уменьшает выброс аденозина.

К настоящему времени в механизмах регуляции биосистем сформировалась вполне закономерное представление о существовании прямой зависимости биохимических реакций и связанных с ними физиологических процессов от окислительно-восстановительных процессов. В рамках этих

механизмов особое внимание уделяется состоянию тиолдисульфидной редокс-системы.

Особое место среди биотиолов формирующих свою редокс-систему занимает трипептид *глутатион*. Главная антиоксидантная роль глутатиона заключается также в защите иммунных клеток, в первую очередь лимфоцитов. Но если истощаются запасы глутатиона, может наступить ослабление антиоксидантной защиты, что ведет к нарушению функций иммунной системы.

В этой связи, нами в предварительных постановочных опытах было изучена функциональная взаимосвязь глутатионовой редокс-системы с состоянием иммунного статуса, с активностью ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и антиоксидантной защиты в норме, при гипотиреозе и адреналэктомии.

Анализ литературных источников позволяет заключить, что для более осмысленного использования аденозина и его аналогов в клинической практике необходимо более детальное сравнительное изучение влияния адреналина, аденозина и его предшественника – АМР на систему антиоксидантной защиты, β 1-адреноблокатора метопролола на ферменты метаболизма пуриновых нуклеотидов и иммунный статус.

В этой связи, с учетом всех имеющихся противоречивых литературных научных данных, в работе поставлена **основная цель:** изучить, влияние АМР, аденозина, селективного β 1-адреноблокатора метопролола и симпатической гиперактивации на иммунный статус, на активность АМР-дезаминазы (АМРD), аденозиндезаминазы (АD), 5'-нуклеотидазы (5'Н), каталазы, глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГПО) и на уровень МДА и ДК в норме и при симпатической гиперактивации, вызванной введением адреналина экспериментальным животным.

Цель исследования: Изучить влияние метаболитов пуриновых нуклеотидов (АМФ и аденозина) и селективного β 1-адреноблокатора метопролола на иммунный статус и на активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и антиоксидантной системы в плазме крови и в клетках сердца и печени в норме и при симпатической гиперактивации .

Задачи исследования:

1. Изучить функциональную взаимосвязь глутатионовой редокс-системы с состоянием иммунного статуса, с активностью ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и антиоксидантной защиты в норме, при гипотиреозе и адреналэктомии.

2. Выяснить особенности метаболических эффектов адреналина введенного в/б животным в дозе 0,4 мг на 100 г массы тела за 60 минут до исследования, аденозина и АМФ, вводимые per os по 100 мкг в день в течение 10 дней на иммунный статус, ферменты метаболизма пуриновых нуклеотидов и систему антиоксидантной защиты.

3. Изучить влияние селективного β 1-адреноблокатора метопролола на иммунный статус и на активность ферментов метаболизма пуриновых

нуклеотидов и ферменты антиоксидантной защиты при симпатической гиперактивации.

4. Изучить влияние метаболитов пуриновых нуклеотидов (АМФ и аденозина) на иммунный статус и на активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и ферменты антиоксидантной защиты при симпатической гиперактивации.

Методы исследования

Исследования проведены на лабораторных взрослых белых крысах. Активность глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГПО) определяли по методу Власовой с соавторами. Активность АМФ-дезаминазы и аденозиндезаминазы определяли по скорости дезаминирования и выражали в нмоль аммиака на мг белка (Тапбергенов С.О., Тапбергенова С.М., 1984). Активность 5'-нуклеотидазы в лимфоцитах определяли по скорости гидролиза АМФ до аденозина и фосфорной кислоты и выражали в количестве мкмоль H_3PO_4 на 1 мг белка (Тапбергенов С.О., Тапбергенов Т.С., 2001). АМФ и аденозин вводили в/б по 0,1 мг в течение 10 дней (суммарная доза 1 мг). Активность каталазы определяли по реакции перекиси водорода с молибдатом аммония по методу Королук и соавторов и выражали в крови мкат/л в мин, в тканях в мкат/г в мин. Количество белка определяли общепринятым методом Лоури.

Новизна исследования

1. Установлена функциональная взаимосвязь ферментов антиоксидантной защиты, с активностью ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и иммунным статусом.

2. При симпатической гиперактивации усиливается функциональная взаимосвязь Т- и В-звеньев иммунитета, происходят сдвиги приближенные к состоянию окислительного стресса, что проявляется активацией ГПО, каталазы и ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов АД, АМРД, 5'Н, увеличением уровня МДА и ДК.

3. АМР и аденозин введенные интактным животным увеличивают общее число лейкоцитов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов, Т-хелперов, снижает уровень МДА, РТМЛ и общее число Т-супрессоров. В сердце и в печени интактных животных аденозин и АМФ, вызывает снижение активности глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГПО), каталазы, снижение уровня малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов.

4. Впервые будет исследовано влияние метаболитов пуриновых нуклеотидов (АМФ и аденозина) и селективного β 1-адреноблокатора метопролола на иммунный статус и на активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и антиоксидантной системы в плазме крови и в клетках сердца и печени в норме и при симпатической гиперактивации.

5. β 1-адреноблокатор метопролол снижает количество МДА и ДК и адекватно этому снижает активность ГР, ГПО и каталазы, ослабляет выраженность окислительной стрессорной реакции организма животных, вызванной введением адреналина.

6. При симпатической гиперактивации комплекс аденозин и АМФ, повышая активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов, усиливают функциональную взаимосвязь Т- и В-звеньев иммунитета, уменьшают процесс пероксидации и адекватно снижают активность ферментов антиоксидантной защиты.

7. Для коррекции изменений в системе антиоксидантной защиты, активности ферментов метаболизма пуринов и иммунных реакций, наблюдаемые при гипердреналемии и окислительного стресса любого происхождения, можно использовать не только β_1 -адреноблокатор метопролол, но и комплекс аденозин и АМФ.

Выводы

1. В животном организме существует функциональная взаимосвязь глутатионовой редокс-системы с состоянием иммунного статуса, с активностью ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и антиоксидантной защиты. При гипотиреозе и при адреналэктомии обнаружен функциональный сдвиг колебаний тиолдисульфидного равновесия в сторону увеличения потребности восстановленной формы глутатиона для антиоксидантной защиты клеток

2. При симпатической гиперактивации, вызванной введением адреналина и при введении АМФ и аденозина имеет место активация ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и усиление функциональной взаимосвязи Т- и В-звеньев иммунитета.

3. Введение АМР и аденозина здоровым животным, в отличие от адреналина, не вызывает стрессорной реакции. Эффекты АМР и аденозина в сердце и печени направлены на сохранение системы антиоксидантной защиты и обеспечения равновесия системы окислительного гомеостаза.

4. Аденозин и АМФ, как β_1 -адреноблокатор метопролол при симпатической гиперактивации, снижают процесс пероксидации и адекватно этому снижают активность ферментов антиоксидантной защиты, меняют состояние иммунного статуса и активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов.

5. Для коррекции изменений антиоксидантной защиты, функции иммунной системы и метаболизма пуриновых нуклеотидов, наблюдаемые при состояниях с выраженной симпатической гиперактивностью и окислительном стрессе разного происхождения, наряду с β_1 -адреноблокаторами, можно использовать аденозин и АМФ.

Сведения о публикациях

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 7 статей, 3 тезиса в материалах международной научно-практической конференции.

ABSTRACT

dissertations for the degree of Doctor of Philosophy (PhD)
on the specialty 6D110100 - Medicine

Sovetov Bakytbek Sovetuli

"The influence of β_1 -adrenoblockers and metabolites of purine nucleotides on the immune status, the activity of the enzymes of the purine cycle and the antioxidant system in sympathetic hyperactivation"

It is known that myocardial ischemia is accompanied by a significant increase in the content of adrenaline in the heart. In the myocardial ischemia zone (its concentration rises by more than 1.5 - 2 times compared with background data, in remote areas of the heart it is 1.4 - 1.6 times.) At the same time, there is a progressive decrease in adrenaline content in the adrenal glands. Which is mainly indicative of the adrenal origin of adrenaline in the heart muscle. At the same time it is shown that adrenaline is a potent activator of LPO in the myocardium [Kogan, A. Kh. Et al., 1976; Litvitskii, P.F. et al., 1980, 1981. The accumulation of adrenaline in the heart, on the one hand, potentiates the process LPO, and on the other hand, it can suppress the activity of antioxidant enzymes. In addition, catecholamines can contribute to LPO amplification due to the increase in ATP flow under their influence, which leads to the accumulation of the product of its hydrolysis, xanthine. The metabolism of the latter is also accompanied by the formation of reactive oxygen species [Tien M. et al., 1981] Mechanisms of the prooxidant effect of catecholamines in conditions of myocardial ischemia have not been studied sufficiently to date. However, the analysis of the literature and own research gives grounds to identify several possible ways of intensifying LPO under the influence of excess adrenaline. First, the oxidation of adrenaline to adrenochrome normally passes with the participation of the superoxide anion radical O^*2 , and the speed of this process depends to a considerable extent on the content of LPO products, in particular, lipid hydroperoxides. Secondly, with myocardial ischemia, when the content of adrenaline in it is increased, the formation of products of enzymatic and non-enzymatic oxidation of adrenaline, in particular O_2 , adrenochrome, H_2O_2 , OH^* , which in turn causes intensification of LPO, should increase. Thirdly, the accumulation of adrenaline in the heart with its ischemia coincides with a decrease in the activity of antioxidant enzymes. And the dynamics of both processes has a similar nature. It is known that activation of the sympathoadrenal system aggravates the course of coronary heart disease. And elevated levels of catecholamines are a risk factor for the development of recurrent myocardial infarction and sudden death. With sympathetic hyperactivation, sinus tachycardia, functional extrasystole, cardialgia, episodic increase in arterial pressure, hyperhidrosis and other vegetative manifestations are most often manifested. To reduce these symptoms in cardiac practice, preference is given to cardioselective β -

blockers that do not have internal symptomatic activity. Such requirements, in the first place, metoprolol [Tereshenko S.N., Kositsyna I.V., Jaiani N.A.].

Metoprolol, blocking in low doses β_1 -adrenoreceptors of the heart, reduces catecholamine-stimulated formation of cyclic adenosine monophosphate (3'5'AMP) from adenosine triphosphate (ATP), reduces intracellular current of Ca^{2+} , is used in the treatment of coronary heart disease, cardiac rhythm disturbances [Makolkin V. I., Akhmedova O.O., Buval'tsev V.I.]. Sympathetic hyperactivation is accompanied not only by the enhanced formation of products of non-enzymatic oxidation of adrenaline. Simultaneously, adrenaline, accelerating the use of ATP cells, contributes to its metabolism and increased levels of adenosine monophosphate (AMP) and adenosine (AD). Adenosine plays a particularly important role in the adaptation of the myocardium to ischemia and hypoxia [Kozlovsky V.I., Zinchuk V.V., Stankevich P.B., Khlopitsky S.]. By exerting an antiarrhythmic effect on the heart, adenosine slows the atrioventricular conduction induced by catecholamines. Acting through β_1 -adrenergic receptors in the heart, adenosine reduces cardiac contractility. The preconditioning of the adenosine A1 receptor agonists suppresses the cellular immune response via A (2A)

Metoprolol, blocking in low doses β_1 -adrenoreceptors of the heart, reduces catecholamine-stimulated formation of cyclic adenosine monophosphate (3'5'AMP) from adenosine triphosphate (ATP), reduces intracellular current of Ca^{2+} , is used in the treatment of coronary heart disease, cardiac rhythm disturbances [Makolkin V. I., Akhmedova OO, Buval'tsev V.I.]. Sympathetic hyperactivation is accompanied not only by the enhanced formation of products of non-enzymatic oxidation of adrenaline. Simultaneously, adrenaline, accelerating the use of ATP cells, contributes to its metabolism and increased levels of adenosine monophosphate (AMP) and adenosine (AD).

Adenosine plays a particularly important role in the adaptation of the myocardium to ischemia and hypoxia [Kozlovsky V.I., Zinchuk V.V., Stankevich P.B., Khlopitsky S.]. By exerting an antiarrhythmic effect on the heart, adenosine slows the atrioventricular conduction induced by catecholamines. Acting through β_1 -adrenergic receptors in the heart, adenosine reduces cardiac contractility. The preconditioning of the adenosine A1 receptor agonists suppresses the cellular immune response through the A (2A) receptors of the dependent mechanism [Naamani O., Chaimovitz C., Douvdevani A.].

When the load on the heart increases or when stress-dependent surplus catecholamines occur, the level of ATP and creatine phosphate decreases. This leads to activation of 5'-nucleotidase and to an increase in the formation of adenosine from AMP. A decrease in the level of oxygen in the blood stimulates the synthesis of adenosine by cardiomyocytes, which, when reaching the arterioles, causes their dilatation, increases blood flow, hence oxygen delivery and enhanced synthesis of ATP and creatine phosphate. Increasing the level of these macroergs inhibits 5'-nucleotidase, reduces the release of adenosine. By now, the mechanisms of regulation of biosystems have formed quite a legitimate idea of the existence of direct dependence of biochemical reactions and associated physiological processes on

oxidation-reduction processes. Within these mechanisms, special attention is paid to the state of the thiol disulfide redox system. Glutathione occupies a special place among the biotin forming its redox system. The main antioxidant role of glutathione is also in the protection of immune cells, primarily lymphocytes. But if the reserves of glutathione are depleted, the antioxidant protection can weaken, which leads to a violation of the functions of the immune system.

In this connection, in the preliminary stage experiments, we studied the functional interrelation of the glutathione redox system with the status of the immune status, the activity of the enzymes of the purine nucleotide metabolism and antioxidant defense in normal, hypothyroid and adrenalectomy.

The analysis of literature sources allows us to conclude that for a more meaningful use of adenosine and its analogues in clinical practice, a more detailed comparative study of the effect of adrenaline, adenosine and its precursor - AMP on the antioxidant defense system, β 1-adrenoblocker metoprolol on enzymes of purine nucleotide metabolism and immune status.

In this regard, taking into account all the conflicting literary scientific data, the main goal is to study the effect of AMP, adenosine, selective β 1-adrenoblocker metoprolol and sympathetic hyperactivation on the immune status, on the activity of AMP-deaminase (AMPD), adenosine deaminase (AD), 5'-nucleotidase (5'H), catalase, glutathione reductase (GR), and glutathione peroxidase (GPO) and to the level of MDA and DC in normal and sympathetic hyperactivation induced by administration of epinephrine to experimental animals.

Objective: To study the effect of metabolites of purine nucleotides (AMP and adenosine) and selective β 1-adrenoblocker metoprolol on the immune status and on the activity of enzymes of the metabolism of purine nucleotides and antioxidant system in blood plasma and in heart and liver cells in normal and sympathetic hyperactivation.

Objectives of the study:

1. To study the functional interrelation of the glutathione redox system with the status of the immune status, with the activity of the enzymes of the purine nucleotide metabolism and antioxidant protection in norm, with hypothyroidism and adrenalectomy.

2. To elucidate the peculiarities of metabolic effects of adrenaline injected intraperitoneally to animals at a dose of 0.4 mg per 100 g of body weight 60 minutes prior to the study, adenosine and AMP administered per os at 100 μ g per day for 10 days for immune status, enzymes metabolism of purine nucleotides and the system of antioxidant protection.

3. To study the effect of selective β 1-adrenoblocker metoprolol on the immune status and on the activity of enzymes of the purine nucleotide metabolism and antioxidant defense enzymes in sympathetic hyperactivation.

4. To study the effect of the metabolites of purine nucleotides (AMP and adenosine) on the immune status and on the activity of the enzymes of the purine nucleotide metabolism and antioxidant defense enzymes under the simatic hyperactivation.

Methods of research:

Studies were performed on laboratory adult white rats. The activity of glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GPO) was determined according to Vlasova's method with co-authors. The activity of AMP deaminase and adenosine deaminase was determined by the deamination rate and expressed in nmol of ammonia per mg of protein (Tabbergenov S.O., Tapbergenova S.M., 1984). The activity of 5'-nucleotidase in lymphocytes was determined from the rate of AMP hydrolysis to adenosine and phosphoric acid and expressed in an amount of $\mu\text{mol H}_3\text{PO}_4$ per 1mg protein (Tapbergenov S.O., Tapbergenov T.S., 2001). AMP and adenosine were administered intraperitoneally by 0.1 mg for 10 days (total dose of 1 mg). The amount of protein was determined by the conventional Lowry method.

The novelty of the study:

1. The functional interrelation of enzymes of antioxidant protection, with activity of enzymes of metabolism of purine nucleotides and immune status is established.

2. With sympathetic hyperactivation, the functional interrelation of the T- and B-links of immunity is enhanced, shifts approximate to the state of oxidative stress occur, which is manifested by activation of GPO, catalase and enzymes of the metabolism of purine nucleotides AD, AMPD, 5'H, increase in MDA and DC level.

3. AMP and adenosine introduced into intact animals increase the total number of leukocytes, lymphocytes, T-lymphocytes, T-helpers, reduces the level of MDA, RTML and the total number of T-suppressors. In the heart and in the liver of intact animals, adenosine and AMP causes a decrease in the activity of glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPO), catalase, a decrease in the level of malonic dialdehyde (MDA) and diene conjugates

4. The influence of metabolites of purine nucleotides (AMP and adenosine) and selective β 1-adrenoblocker of metoprolol on the immune status and on the activity of enzymes of the metabolism of purine nucleotides and antioxidant system in blood plasma and in heart and liver cells in normal and sympathetic hyperactivation will be studied for the first time.

5. β 1-adrenoblocker metoprolol reduces the amount of MDA and DC and adequately reduces the activity of GH, GPO and catalase, weakens the oxidative stress response of the animal body caused by the injection of adrenaline.

6. With sympathetic hyperactivation, the adenosine and AMP complex, increasing the activity of the enzymes of the purine nucleotide metabolism, enhance the functional interrelation of the T and B immunity units, reduce the peroxidation process and adequately reduce the activity of antioxidant defense enzymes.

7. To correct the changes in the system of antioxidant protection, the activity of enzymes of purine metabolism and immune reactions observed in hyperadrenalemia and oxidative stress of any origin, not only the β 1-blocker of metoprolol, but also the complex of adenosine and AMP can be used.

Conclusions:

1. In the animal body, there is a functional relationship between the glutathione redox system and the state of the immune status, with the activity of the enzymes of

the purine nucleotide metabolism and antioxidant protection. With hypothyroidism and adrenalectomy, a functional shift in the oscillations of thioldisulfide equilibrium was observed in the direction of increasing the demand for the reduced form of glutathione for antioxidant protection of cells

2. With sympathetic hyperactivation caused by the administration of adrenaline and with the administration of AMP and adenosine, enzymes of the purine nucleotide metabolism take place and the functional interrelation between the T and B links of immunity is strengthened.

3. Introduction of AMP and adenosine in healthy animals, unlike adrenaline, does not cause a stress reaction. The effects of AMP and adenosine in the heart and liver are aimed at preserving the antioxidant defense system and ensuring the equilibrium of the oxidative homeostasis system.

4. Adenosine and AMP, like β 1-adrenoblocker metoprolol with sympathetic hyperactivation, reduce the peroxidation process and adequately reduce the activity of antioxidant defense enzymes, change the status of the immune status and the activity of the enzymes of the purine nucleotide metabolism.

5. Adenosine and AMP can be used along with β 1-adrenoblockers to correct the changes in antioxidant defense, immune system functions and the metabolism of purine nucleotides observed in conditions with pronounced sympathetic hyperactivity and oxidative stress of different origin.

Publication Information:

On the topic of the thesis published 10 scientific papers, 7 of them articles, 3 theses in the materials of the international scientific and practical conference.