

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва»**

На правах рукописи



ИСАКИНА МАРИНА ВЛАДИМИРОВНА

**РОЛЬ ЛИПИДОВ В ПРОЦЕССАХ ПРОВЕДЕНИЯ
ВОЗБУЖДЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННЫХ
СОМАТИЧЕСКИХ НЕРВОВ**

Специальность 03.01.02 – Биофизика

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

**Научный руководитель
доктор биологических наук
профессор Ревин В.В.**

САРАНСК-2016

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Современные представления об участии липидов в проведении возбуждения по нервам, регуляции биологических процессов и регенерации нервной ткани	10
1.1.1 Состав липидов нервной ткани и их роль в проведении возбуждения и функционировании мембран	10
1.1.2 Лизофосфолипиды и их участие в развитии патологических процессов	15
1.1.3 Жирные кислоты как высокоактивные биорегуляторы клеточных процессов	18
1.1.4 Классификация, биологическая роль и участие в патологических процессах ферментов группы фосфолипазы A ₂	20
1.2 Особенности процессов дегенерации и регенерации нервной ткани после повреждения	25
1.3 Современные методы стимуляции восстановления нервных волокон и роль гиалуроновой кислоты в процессах регенерации	35
Глава 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	46
2.1. Объект исследования и постановка опыта	46
2.2. Экстракция липидов из нервной ткани	46
2.3. Хроматографические методы анализа	47
2.3.1. Микротонкослойная хроматография липидов	47
2.3.2. Газовая хроматография жирных кислот	49
2.4. Определение количества диеновых конъюгатов	51
2.5. Определение малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты	51
2.6. Изучение физико-химического состояния липидного бислоя нервного волокна с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния	52
2.7. Дифференциальная сканирующая калориметрия	53
2.8. Определение активности фосфолипазы A ₂ в гомогенате из нервной ткани	54
2.9. Количественное определение белка	55
2.10. Регистрация потенциала действия	55
2.11. Статистическая обработка результатов	55

Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПИДНОГО СОСТАВА ПРИ ВОЗБУЖДЕНИИ И РЕГЕНЕРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННЫХ СОМАТИЧЕСКИХ НЕРВОВ КРЫСЫ	56
3.1. Исследование состава и фазового состояния липидов соматических нервов крысы при покое и возбуждении	56
3.2. Влияние гиалуроната калия на изменение количественного содержания и жирнокислотного состава индивидуальных фосфолипидов и диацилглицерина в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки	65
3.3. Влияние гиалуроната калия на изменение содержания лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки	80
3.4. Влияние гиалуроната калия на изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки	85
3.5. Влияние гиалуроната калия на изменение количественного содержания и жирнокислотного состава индивидуальных фосфолипидов и диацилглицерина в дистальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки	88
3.6. Влияние гиалуроната калия на изменение содержания лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в дистальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки	100
3.7. Влияние гиалуроната калия на изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов в дистальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки	103
Глава 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЛИПИДНОГО БИСЛОЯ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ И ВВЕДЕНИИ ГИАЛУРОНАТА КАЛИЯ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ	106
Глава 5. ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФОСФОЛИПАЗЫ А ₂ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ И ДЕЙСТВИИ ГИАЛУРОНАТА КАЛИЯ	110
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	113
ВЫВОДЫ	116
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	118
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	119

Приложение А	137
Приложение Б	139
Приложение В	140
Приложение Г	150
Приложение Д	153
Приложение Е	154
Приложение Ж	155
Приложение З	165
Приложение И	168

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы.

Известно, что возникновение и проведение возбуждения по нервам представляет собой сложный физико-химический процесс, связанный не только с перераспределением ионов между клеткой и внешней средой, но и с целым каскадом биохимических реакций, в которых активное участие принимает липидная фракция нервного волокна. В настоящее время накоплены многочисленные экспериментальные данные о роли липидов нервного волокна в проведении возбуждения. Установлено, что различные метаболиты липидной природы принимают активное участие в регуляции функционирования нервного волокна, транспорте Ca^{2+} и активности большинства связанных с мембранами ферментов. Механическая травма нерва, вызванная его перевязкой или перерезкой, приводит к изменению липидного состава мембран, уровня мембран-связанного Ca^{2+} , активности белков-ферментов, вязкости цитоплазмы как в проксимальном, так и в дистальном отрезке нервного волокна (Ревин В. В., Набокина С. М., Анисимова И. А. Изучение активности фосфоинозитид-специфичной фосфолипазы С в нерве кролика в состоянии покоя и при возбуждении // Биохимия. 1996. Т.61, №5. С. 815–819; Ревин В. В., Юданов М.А., Ревина Э.С. [и др.] Изучение изменений содержания диацилглицерина при возбуждении нерва // Биохимия. 2006. Т.71, №10. С. 1354–1359; Ревин В. В., Юданов М. А., Максимов Г. В. Состав липидов соматических нервов крысы при действии повреждающих факторов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2006. Т.142, №8. С. 155–157; Ревин В.В., Ревина Э.С., Девяткин А.А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с; Papadopoulos T., Schemm R., Grubmüller H. [et al.] Lipid binding defects and perturbed synaptogenic activity of a Collybistin R290H mutant that causes epilepsy and intellectual disability// J Biol Chem. 2015. Vol. 290, Iss. 13. P. 8256–8270; Neumann B., Coakley S., Giordano-Santini R. [et al.] EFF-1-mediated regenerative axonal fusion requires components of the apoptotic pathway // Nature. 2015. Vol. 517, Iss. 7533. P. 219–222). Изменения, возникающие в результате травмы должны иметь характерные различия в указанных участках нерва, поскольку центральная регуляция сохраняется только в проксимальном конце нервного волокна. Однако, до сих пор, эти различия не были выявлены. Кроме этого, до настоящего времени сохраняет свою актуальность проблема восстановления функций поврежденных периферических нервов в связи с недостаточной эффективностью различных подходов и методов их лечения (Масгутов Р. Ф., Салафутдинов И. И., Богов А.А. [и др.] Стимуляция посттравматической регенерации седалищного нерва крысы с помощью плазмиды, экспрессирующей сосудистый эндотелиальный фактор роста и основной фактор роста фибробластов // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011. Т. VI, №3.

C. 67–70; Gu J., He X. R., Han Y. L. Effect of Draconis Sanguis-containing serum on NGF, BDNF, CNTF, LNGFR, TrkA, GDNF, GAP-43 and NF-H expressions in Schwann cells // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2015. Vol. 40, Iss. 7. P. 1392–1395; Knaing Z. Z., Schmidt C. E. Advances in natural biomaterials for nerve tissue repair // *Neuroscience letters*. 2012. № 519. P. 103–114; Cinteza D., Persinaru I., Maciuceanu Zarnescu B. M. [et al.] Peripheral Nerve Regeneration - an Appraisal of the Current Treatment Options // *Maedica (Buchar)*. 2015. Vol. 10, Iss. 1. P. 65–68). Принимая во внимание значимость данной проблемы, в последние десятилетия ведется активный поиск различных путей оптимизации аксональной регенерации. Весьма перспективным направлением для посттравматической регенерации нервных проводников является использование биологически активных веществ, в частности, гиалуроновой кислоты. В литературе все чаще встречаются работы по использованию препаратов на ее основе (Севастьянов В.И. Биоматериалы, системы доставки лекарственных веществ и биоинженерия // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2009. Т.11, №3. С. 69–78; Рахматуллин Р., Бурлуцкая О., Адельшина Л. [и др.] Наноструктурированный материал «Гиаматрикс» // *Врач*. 2011. №5. С. 22–24; Рахматуллин Р., Бурлуцкая О., Гильмутдинова И. [и др.] // *Врач*. 2011. №6. С. 32–34; Lai J. Y. Influence of Pre-Freezing Temperature on the Corneal Endothelial Cytocompatibility and Cell Delivery Performance of Porous Hyaluronic Acid Hydrogel Carriers // *Int J Mol Sci*. 2015. Vol. 16, Iss. 8. P. 18796–18811; Fan M., Ma Y., Zhang Z. [et al.] Biodegradable hyaluronic acid hydrogels to control release of dexamethasone through aqueous Diels-Alder chemistry for adipose tissue engineering // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015. Vol. 56. P. 311–317; Domingues R. M., Silva M., Gershovich P. [et al.] Development of Injectable Hyaluronic Acid/Cellulose Nanocrystals Bionanocomposite Hydrogels for Tissue Engineering Applications // *Bioconjug Chem*. 2015. Vol. 26, Iss. 8. P. 1571–1581; Engel B.J., Constantinou P.E., Sablatura L.K. [et al.] Multilayered, Hyaluronic Acid-Based Hydrogel Formulations Suitable for Automated 3D High Throughput Drug Screening of Cancer-Stromal Cell Cocultures // *Adv Healthc Mater*. 2015. Vol. 4, Iss. 11. P. 1664–1674; Reyes-Ortega F., Cifuentes A., Rodríguez G. [et al.] Bioactive bilayered dressing for compromised epidermal tissue regeneration with sequential activity of complementary agents // *Acta Biomater*. 2015. Vol. 23. P. 105–115; Zhang X., Sun P., Huangshan L. [et al.] Improved method for synthesis of cysteine modified hyaluronic acid for in situ hydrogel formation // *Chem Commun (Camb)*. 2015. Vol. 51, Iss. 47. P. 9662–9665). Ускоряя регенеративные процессы, гиалуроновая кислота способствует восстановлению физико-химических свойств клеточных мембран, одним из основных компонентов которых являются липиды (Torigoe K., Tanaka H. F., Ohkochi H. [et al.] Hyaluronan tetrasaccharide promotes regeneration of peripheral nerve: In vivo analysis by film model method // *Brain research*. 2011. №1385. P.87–92). В связи с вышеизложенным, возникает необходимость проведения исследований, направленных на

изучение механизмов, лежащих в основе проведения возбуждения по соматическим нервам и регенерации поврежденных нервных проводников.

Цель и задачи исследования. Целью работы было изучение роли липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Исследовать липидный состав соматических нервов крысы в состоянии покоя и при проведении возбуждения.

2. Исследовать изменение количественного содержания и жирнокислотного состава фосфолипидов в проксимальном и дистальном концах седалищного нерва крысы после его перерезки.

3. Исследовать изменение содержания лизофосфолипидов, свободных жирных кислот и продуктов перекисного окисления липидов в проксимальном и дистальном концах поврежденного седалищного нерва крысы.

4. Провести сравнительный анализ действия гиалуроната калия на изменение липидного состава и содержание продуктов их перекисного окисления в проксимальном и дистальном концах поврежденного седалищного нерва крысы.

5. Изучить фазовое состояние липидов соматических нервов крысы при возбуждении, повреждении и введении гиалуроната калия.

6. Исследовать изменение активности фосфолипазы A_2 при повреждении соматических нервов крысы и оценить ее роль в регуляции регенерационных процессов при действии гиалуроната калия.

Научная новизна работы. Впервые проведен сравнительный анализ роли липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденного нервного волокна крысы. Показано, что при проведении возбуждения и повреждении нервного волокна изменения происходят не только в составе липидов, но и резко меняется вся динамика липидной фазы. Установлено, что использование гиалуроната калия способствует восстановлению количественного и жирнокислотного состава отдельных фосфолипидных фракций, а также снижению уровня лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в травмированном нервном проводнике. С помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния и дифференциальной сканирующей калориметрии выявлено изменение физико-химического состояния липидного бислоя при возбуждении и повреждении соматических нервов крысы. При введении гиалуроната калия наблюдается восстановление микровязкости липидного компонента нервных волокон. Показано, что ускорение регенерационных процессов в поврежденном нервном проводнике при действии гиалуроната калия, вероятнее всего, опосредовано функционированием Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 .

Научно-практическая значимость работы. Результаты проведенного исследования позволяют расширить и углубить представления о роли липидов в процессах проведения возбуждения по соматическим нервам и развития патологии нервного волокна при его повреждении, а также позволяют выявить возможный механизм действия гиалуроната калия в процессе восстановления функционирования нервных проводников. Полученные данные могут использоваться для повышения эффективности существующих и разработки новых методов стимуляции регенерации соматических нервов при повреждении.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были представлены для обсуждения на Огарёвских чтениях в Мордовском государственном университете им. Н. П. Огарёва (Саранск, 2011–2014); на научной конференции молодых ученых, аспирантов и студентов Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарёва (Саранск, 2011–2014); на Международной научной конференции «Достижения и перспективы развития биотехнологии» (Саранск, 2012), на IV съезде биофизиков России (Нижний Новгород, 2012), на Международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» (Минск, 2014).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 18 работ, в числе которых 1 статья в российском научном журнале, рекомендованном ВАК и 2 статьи в зарубежных журналах, индексируемых в базе данных Scopus.

Положения, выносимые на защиту:

1. Было показано, что при переходе седалищного нерва крысы из состояния покоя в состояние возбуждения происходит интенсификация метаболизма фосфоинозитидов, что сопровождается снижением уровня фосфатидилинозитола, свободных жирных кислот и накоплением диацилглицерина, а также перераспределением жирных кислот в составе данных липидных фракций.

2. Установлено, что перерезка седалищного нерва крысы сопровождается изменением количественного содержания и жирнокислотного состава фосфолипидов в его проксимальном и дистальном отрезках.

3. Показано, что в проксимальном и дистальном концах седалищного нерва крысы после его перерезки происходит накопление лизофосфолипидов, свободных жирных кислот и продуктов перекисного окисления липидов.

4. Установлено, что в дистальном конце нерва наблюдаются более выраженные дегенерационные процессы, и гиалуронат калия свое стабилизирующее действие на восстановление содержания и жирнокислотного состава липидного компонента оказывает в большей степени в проксимальном конце седалищного нерва крысы по сравнению с его дистальным отрезком.

5. Гиалуронат калия усиливает регенерационные процессы в поврежденном нервном проводнике, что выражается в восстановлении физико-химического состояния бислоя и микровязкости липидного компонента соматических нервов.

6. Одним из механизмов проявления мембранопротекторных свойств гиалуроната калия является регуляция активности Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 .

Личный вклад автора состоит в поиске и анализе научной литературы по теме работы, участии в планировании и постановке конкретных задач диссертации на всех этапах её выполнения, осуществлении экспериментальной части исследования, в обсуждении результатов, подготовке публикаций и докладов.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из 7 разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований и их обсуждение, выводы, список литературы, приложения. Работа изложена на 168 страницах машинописного текста, содержит 2 таблицы и 55 рисунков. Библиографический указатель содержит 225 источников литературы, в том числе 112 на иностранных языках.

Благодарность. Автор выражает особую благодарность и признательность научному руководителю – доктору биологических наук, профессору Ревину Виктору Васильевичу за неоценимую помощь и внимание на всех этапах работы над диссертацией, а также кандидату биологических наук, доценту Мельниковой Наталье Алексеевне и всему коллективу кафедры биотехнологии, биоинженерии и биохимии Мордовского государственного университета имени Н.П. Огарёва за поддержку при выполнении диссертационного исследования.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные представления об участии липидов в проведении возбуждения по нервам, регуляции биологических процессов и регенерации нервной ткани

1.1.1 Состав липидов нервной ткани и их роль в проведении возбуждения и функционировании мембран

Главным клеточным элементом нервной ткани является нейрон, или нейронит (Харитонов Т. В., Плотникова Н. А., Кемайкин С. П. [и др.] Руководство к практическим занятиям по общей гистологии. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2006. 147 с). Нейроны способны выполнять свои функции только благодаря особым свойствам их наружной мембраны. Клеточная мембрана представляет собой многокомпонентную систему, в которой структурная организация и выполняемые функции взаимосвязаны, а их изменения являются основным механизмом перехода клетки из одного метаболического состояния в другое. Мембрана нейрона способна генерировать, проводить и воспринимать нервный импульс, практически мгновенно изменяя ионную проницаемость за счет специальных транспортных систем (Попелянский А. Ю. Болезни периферической нервной системы: руководство для врачей. М.: МЕДпресс-информ, 2009. С. 10–25; Rajapaksha S.P, Pal N., Zheng D. [et al.] Protein-fluctuation-induced water-pore formation in ion channel voltage-sensor translocation across a lipid bilayer membrane // *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 2015. Vol. 92, Iss. 5-1. P. 052719; Schlaepfer C.H., Wessel R. Excitable Membranes and Action Potentials in Paramecia: An Analysis of the Electrophysiology of Ciliates // *J Undergrad Neurosci Educ.* 2015. Vol. 14, Iss. 1. P. A82–86; Ge L., Liu X. D. Electrical resonance with voltage-gated ion channels: perspectives from biophysical mechanisms and neural electrophysiology // *Acta Pharmacol. Sin.* 2016. Vol. 37, Iss. 1. P. 67–74).

В состав биологических мембран входят представители трех классов веществ: липиды, белки, углеводы и минорные компоненты (Болдырев А. А., Кяйвярайнен Е. И., Илюха В. А. Биомембранология: учебное пособие. Петрозаводск: Изд-во Кар НЦ РАН, 2006. 226 с).

Липиды в значительной степени определяют ход патологических процессов, поскольку они характеризуются высокой лабильностью, а продукты липидного обмена вызывают деструктивные изменения в мембране. Как известно, нарушение липидного обмена и интенсивности протекания процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) приводит к нарушению транспорта Ca^{2+} и нормального метаболизма клеток (Суркова С. М. Метаболизм липидов головного мозга при эндотоксикозе : дис. ... канд. мед. наук. Саранск, 2006. 117 с). Основными липидами, входящими в состав мембран нервных волокон, являются фосфолипиды,

гликолипиды и стероиды (Дятловицкая Э. В., Безуглов В. В. Липиды как биоэффекторы // Биохимия. 1998. Т.63, №1. С. 3–5). В нервной ткани отмечается следующее процентное содержание различных классов липидов: фосфолипиды составляют 43 %, холестерол – 28 %, ганглиозиды – 29 %. При этом основная доля фосфолипидов в нервной ткани приходится на фосфатидилэтаноламин и фосфатидилхолин (Суркова С. М. Метаболизм липидов головного мозга при эндотоксикозе : дис. ... канд. мед. наук. Саранск, 2006. 117 с).

Фосфолипиды принимают активное участие в функционировании мембран. Установлено, что в состав различных возбудимых образований входят одни и те же фосфолипиды: фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, сфингомиелин, фосфатидилинозитол (Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с).

Фосфатидилхолин – производное фосфатидной кислоты, к гидроксилу фосфорной кислоты которой сложноэфирной связью присоединено положительно заряженное основание – холин. Следует отметить, что препараты из группы холина занимают важное место в нейропротекции (Kim S. T., Chung Y. H., Lee H. S. [et al.] Protective effects of phosphatidylcholine on oxaliplatin-induced neuropathy in rats // Life Sci. 2015. Vol. 130. P. 81–87). Особое внимание уделяется препаратам экзогенного холина: CDP-холину (цитиколин), GPS-холину (холина альфосцерат) (Суркова С. М. Метаболизм липидов головного мозга при эндотоксикозе : дис. ... канд. мед. наук. Саранск, 2006. 117 с). За счет восстановления активности Na^+/K^+ -АТФ-азы клеточной мембраны, снижение активности фосфолипазы A_2 и участия в синтезе фосфатидилхолина реализуется мембраностимулирующий эффект цитиколина (Домашенко М. А., Максимова М. Ю., Сергеев Д. В. [и др.] Цитиколин в лечении ишемических нарушений мозгового кровообращения // Неврология. 2013. №4. С. 1540–1542). Подтверждение способности фосфолипидов и деацетилированных фосфолипидов поддерживать целостность мембран нервных клеток путем восстановления синтеза фосфолипидов и нейротрансмиттера ацетилхолина в поврежденном мозге стало основанием в предположении, что эти соединения могут использоваться в качестве нейрозащитных агентов (Исайкин А. И., Чернышова Е. А., Яхно Н. Н. Применение нейропротективной терапии при инсультах и черепно-мозговой травме // Трудный пациент. 2012. Т.10, №11. С. 18–21).

Фосфатидилэтаноламин (ФЭА) метаболически тесно связан с фосфатидилхолином и в некоторых тканях животного организма может служить предшественником синтеза фосфатидилхолина (ФХ) (Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с).

Фосфатидилинозитол (ФИ) содержит в своей молекуле инозит. ФИ участвует в регуляции работы K^+ -каналов (Smith K. E., Browne L., Selwood D. L. [et al.] Phosphoinositide Modulation of Heteromeric Kv1 Channels Adjusts Output of Spiral Ganglion Neurons from Hearing Mice // *J Neurosci.* 2015. Vol. 35, Iss. 32. P. 11221–11232), транспорта Ca^{2+} и характеризуется высокой скоростью обмена фосфатных групп. Так, в ходе метаболизма ФИ образуется диацилглицерин, играющий важную роль в регуляции активности протеинкиназы и в транспорте ионов кальция (Ревин В. В., Юданов М. А., Ревина Э. С. [и др.] Изучение изменений содержания диацилглицерина при возбуждении нерва // *Биохимия.* 2006. Т.71, №10. С. 1354–1359; Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с).

Протеинкиназа С (ПКС) принимает участие в ответе клеток на различные агонисты, включая гормоны, нейротрансмиттеры, ростовые факторы. Фермент активируется повышением содержания диацилглицерина (ДАГ) в мембране в результате агонист – индуцируемого гидролиза трифосфоинозитидов (Исайкин А. И., Чернышова Е. А., Яхно Н. Н. Применение нейропротективной терапии при инсультах и черепно-мозговой травме // *Трудный пациент.* 2012. Т.10, №11. С. 18–21). Гидролиз других фосфолипидов, в частности фосфатидилхолина, также может влиять на активность ПКС (Проказова Н. В., Звездина Н. Д., Коротаева А. А. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки // *Биохимия.* 1998. Т.63, №1. С. 38–46).

Функциональные особенности возбудимых мембран обусловлены неравномерным распределением фосфолипидов, а, следовательно, и плотности зарядов на поверхности мембраны. Известно, что фосфатидилсерин (ФС), участвует в образовании комплексов с кальцием и является кальциевым депо в примембранной области, что обусловлено его отрицательным зарядом. Проницаемость мембраны для ионов кальция находится в линейной зависимости от количества ФС. Таким образом, заряженные фосфолипиды принимают активное участие в регуляции ионного транспорта через биологические мембраны в качестве воротной системы ионного канала (Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с). Кроме этого, ФС принимает участие в апоптозе нейрональных клеток (Суркова С. М. Метаболизм липидов головного мозга при эндотоксикозе : дис. ... канд. мед. наук. Саранск, 2006. 117 с; Neumann B., Coakley S., Giordano-Santini R. [et al.] ERF-1-mediated regenerative axonal fusion requires components of the apoptotic pathway // *Nature.* 2015. Vol. 517, Iss. 7533. P. 219–222).

Холестерин является одним из важнейших структурных компонентов биомембран. Большая часть холестерина в организме млекопитающих находится в клеточных мембранах и

миелиновых оболочках. Холестерин важен для работы нескольких сигнальных нейротрансмиттерных и рецепторных систем, включая холинергическую, ГАБАергическую, 5-НТ1А/серотониновую, а также аминокислотные ингибирующие (например, глицин) и возбуждающие нейротрансмиттерные системы. При изучении нейродегенеративных заболеваний, в частности, болезни Альцгеймера, было показано, что при изменении метаболизма холестерина изменяется внутриклеточный транспорт синаптических везикул, активность Na^+/K^+ -АТФ-азы, аденилатциклазы, ацетилхолиновых, никотиновых и родопсиновых рецепторов, кальциевого гомеостаза.

Таким образом, полученные за последние десятилетия данные позволяют по-новому взглянуть на функции холестерина и фосфолипидов как на важные биологические молекулы в процессах передачи нервных импульсов и синаптической пластичности (Moldovan M., Krarup C. Persistent abnormalities of membrane excitability in regenerated mature motor axons in cat // *J. Physiol.* 2004. Vol. 560, Iss. 3. P. 795–806; Кудинов А. Р. Роль липидов в процессах нейропластичности и нейродегенерации : дис. ... доктора биол. наук. М., 2007. 211 с; Петров А. М., Кудряшова К. Е., Одношивкина Ю. Г. [и др.] Холестерин и липидные плотки в плазматической мембране нервного окончания и мембране синаптических везикул // *Нейрохимия.* 2011. Т.28, №1. С. 19–25; Linares-Clemente P., Rozas J. L., Mircheski J. [et al.] Different dynamin blockers interfere with distinct phases of synaptic endocytosis during stimulation in motoneurons // *J Physiol.* 2015. Vol. 593, Iss. 13. P. 2867–2888; Papadopoulos T., Schemm R., Grubmüller H. [et al.] Lipid binding defects and perturbed synaptogenic activity of a Collybistin R290H mutant that causes epilepsy and intellectual disability// *J Biol Chem.* 2015. Vol. 290, Iss. 13. P. 8256–8270).

В нервной ткани в больших количествах содержатся сфинголипиды, которые участвуют в процессах пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток. Сфингозин ингибирует протеинкиназу С, являющуюся одним из ключевых участников клеточного роста. Однако он может оказывать как ингибирующий, так и промотирующий эффект на пролиферацию клеток. Это объясняется тем, что сфингозин воздействует на клеточный рост как РКС – зависимым, так и РКС – независимым путем (Алесенко А. В. Функциональная роль сфингозина в индукции пролиферации и гибели клеток // *Биохимия.* 1998. Т. 63, №1. С. 75–82; Дятловицкая Э. В. Связь биологических функций сфинголипидов с их химической структурой // *Биоорганическая химия.* 2000. Т.26, №1. С. 12–18). Установлено, что гликофинголипиды обладают выраженной антиоксидантной и нейропротекторной активностью. Показано, например, что введение в организм мыши гликофинголипидов предотвращает конвульсии, вызванные глутаровой ацидемией или пентилентетразолом, препятствует ингибированию натрий-калиевых АТФаз и накоплению продуктов свободнорадикального окисления липидов (Сейфулла Р.Д.,

Суслина З. А., Куликова Е. В. [и др.] Перспективы применения нанотехнологий в клинической неврологии // Технологии. Перспективы применения нанотехнологий в клинической неврологии. 2008. Т.2, №2. С. 35–42).

Гликолипиды вместе с фосфолипидами составляют основу бислоя биологических мембран. Исследования показали, что ганглиозиды модулируют фосфорилирование тирозинкиназ рецепторов ростовых факторов, оказывают прямое действие на другие киназы, локализованные во внешнем слое плазматической мембраны, осуществляющие фосфорилирование ряда мембраносвязанных белков, активируют сфингозинкиназу. Кроме этого, ганглиозид GD3, воздействуя на митохондрии, генерирует активные формы кислорода с последующим выделением цитохрома с и активацией каспаз (Дятловицкая Э. В., Кандыба А. Г. Биоэффektorные сфинголипиды как стимуляторы роста и выживаемости клеток // Биоорганическая химия. 2004. Т.30, №3. С. 227–233; Дятловицкая Э. В. Сфинголипидные рецепторы // Биохимия. 2008. Т.73, №2. С. 149–153). Особое внимание уделяется биоэффektorной роли церамидов, которые являются вторичными мессенджерами и передают внутриклеточный сигнал к внутриклеточным мишеням. Установлено, что церамид (N – ацилсфингозин) ингибирует пролиферацию и стимулирует дифференцировку и апоптоз клеток, в то время как продукты его гликозилирования (глюкозил – и лактозицерамиды, а также некоторые ганглиозиды), напротив стимулируют рост и способствуют выживаемости клеток (Дятловицкая Э. В. Роль лизосфинголипидов в регуляции биологических процессов // Биохимия. 2007. Т.72, №5. С. 596–602). Церамиды относятся к промежуточным соединениям в биосинтезе и метаболизме сфингомиелина, который является одним из основных структурных компонентов клеточных мембран. Известно, что сфингомиелин образуется в результате переноса фосфохолиновой группы с фосфатидилхолина на церамид с помощью церамидфосфохолинтрансферазы. Однако существует и альтернативный путь биосинтеза сфингомиелина, который осуществляется через ацилирование сфингозилфосфохолина ацил-СоА. По второму пути биосинтеза кислоты, отсутствующие в пуле церамида, могут включаться в молекулу сфингомиелина (Шарыпова Н. Г. Механизмы повреждений плазматических мембран лимфоцитов крови у больных опийной наркоманией в состоянии абстинентного синдрома : дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2004. 173 с).

Соотношение различных липидных фракций непостоянно и изменяется при различных патологических состояниях. Известно, что на липидный обмен может влиять множество факторов. Среди них важнейшее значение имеют радикальные реакции перекисного окисления липидов и активность фосфолипаз. Поэтому становится очевидным, что с точки зрения возможности управления морфофункциональным состоянием клетки, этим компонентам следует придавать первостепенное значение. Таким образом, нарушение липидного обмена

является инициирующим звеном в патогенезе различных заболеваний и требует целенаправленной и своевременной их коррекции (Суркова С. М. Метаболизм липидов головного мозга при эндотоксикозе : дис. ... канд. мед. наук. Саранск, 2006. 117 с).

1.1.2 Лизофосфолипиды и их участие в развитии патологических процессов

В последнее время в связи с активным изучением молекулярных механизмов развития патологических состояний на уровне мембранных образований клеток усилился интерес к особенностям биологического функционирования лизофосфолипидов (Грибанов Г.А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов // Вопросы медицинской химии. 1991. Т.37, №4. С. 2–10).

Лизофосфолипиды (ЛФЛ) – класс фосфолипидов, содержащих одну углеводородную цепь – длинноцепочечного спирта сфингозина (в лизосфинголипидах) или жирной кислоты (в лизоглицерофосфолипидах). Известно, что лизофосфолипиды – это не только вещества, вызывающие серьезные нарушения структуры и функций клеток, их ультраструктур, но и обязательные компоненты всех мембранных образований. Они принимают активное участие в синтезе некоторых молекулярных форм лецитинов и других фосфатидов, определяют подвижность мембран, их проницаемость, явления секреции, экзоцитоза, адгезии клеток, связанных с мембранными ферментами, развитии физиологических реакций и патологических процессов, старении и гибели клеток (Грибанов Г.А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов // Вопросы медицинской химии. 1991. Т.37, №4. С. 2–10). В биологических мембранах ЛФЛ присутствуют в крайне низких количествах – от 0,5 до 6 % всех липидов. Благодаря большим полярным «головкам» и лишь одному гидрофобному «хвосту» лизофосфолипиды обладают потенциальной способностью инициировать открывание мембранных K^+ -каналов (так называемых TREK-каналов, часто встречающихся в клетках центральной и периферической нервной системы), действуя на белки каналов или на мембраны. Установлено, что ЛФЛ как важнейшие сигнальные молекулы регулируют множество метаболических реакций, воздействуя на такие процессы, как мобилизация кальция, ингибирование аденилатциклазы и активация митогенактивируемой протеинкиназы (МАРК) (Торховская Т. Н., Ипатова О. М., Захарова Т. С. [и др.] Клеточные рецепторы к лизофосфолипидам как промоторы сигнальных эффектов (обзор) // Биохимия. 2007. Т.72, №2. С. 149–158). Лизофосфатидилхолин (ЛФХ) является наиболее изученным лизофосфолипидом из-за относительно высокого содержания в тканях (Торховская Т. Н., Ипатова О. М., Захарова Т. С. [и др.] Клеточные рецепторы к лизофосфолипидам как промоторы сигнальных эффектов (обзор) // Биохимия. 2007. Т.72, №2. С. 149–158). В последнее время появилось множество

данных о регуляторной роли ЛФХ, который ранее рассматривался только как эндогенный детергент (Дятловицкая Э. В. Роль лизосфинголипидов в регуляции биологических процессов // Биохимия. 2007. Т.72, №5. С. 596–602). Известно, что добавление лизофосфатидилхолина к мембранам из фосфолипидов приводит к резкому уменьшению времени жизни мембран – способствует зарождению и неограниченному росту липидных пор, формируемых апоптозным белком Вах (Карпунин Д. В. Исследование свойств бислойных липидных мембран, содержащих лизолипиды и холестерин: дис. ... канд. физ.-мат. наук. М., 2005. 109 с). Лизофосфатидилхолин выступает в роли вторичного мессенджера, оказывая влияние на трансмембранную передачу сигнала и активируя протеинкиназу С. Цитолитический эффект ЛФЛ обусловлен сочетанием действия их как поверхностно-активных веществ, ионофоров, вызывающих структурные перестройки липидного компонента и белков в мембранах (Харченко Е. П., Клименко М. Н. Пластичность и регенерация мозга // Неврологический журнал. 2006. Т.11, №6. С. 37–45; Бурлакова Е. Б., Карагезян К. Г., Амирханян О. М. [и др.] Нарушения тканевых превращений лизофосфатидилхолинов при экспериментальном сахарном диабете у белых крыс и особенности коррегирующего действия низкоэнергетического лазерного облучения сверхнизкой интенсивности // Доклады академии наук. 2010. Т.433, №1. С. 118–121). ЛФХ относится к группе вторичных посредников, образующихся при активации гормончувствительной цитозольной фосфолипазы A_2 . Молекулярная масса цитозольной фосфолипазы A_2 в 6 раз больше, чем молекулярная масса секреторной формы, а ее активация требует на порядок более низкое содержание ионов кальция. Цитозольная фосфолипаза A_2 активируется под действием гормонов и ростовых факторов через рецепторы, сопряженные с определенными G-белками, а также при повышении уровня внутриклеточного Ca^{2+} . При этом фермент переходит из цитоплазмы в мембрану, в результате чего образуются различные типы вторичных мессенджеров: арахидоновая кислота – предшественник синтеза простагландинов и другие ненасыщенные жирные кислоты, лизофосфатидилхолин (Проказова Н.В., Звезда Н. Д., Коротаева А. А. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки // Биохимия. 1998. Т.63, №1. С. 38–46).

Многочисленные клеточные эффекты лизофосфолипидов по направленности и механизму проявления условно разделяют на 2 группы: 1) ростостимулирующее действие, под которым подразумевают не только непосредственно клеточный рост, но и всевозможные процессы, связанные с выживаемостью клеток в различных условиях; 2) влияние на белки цитоскелета и тем самым на определяемые им клеточные процессы и взаимодействия. В частности «цитоскелетные» эффекты лизофосфолипидов связаны с изменением формы клетки и ее подвижности: происходит сокращение гладкой мышцы, сосудов, сокращение аксона, хемотаксис и инвазия клеточных монослоев. Существенную роль здесь играет кальциевый

сигналинг, т.е. изменение распределения внутриклеточного Ca^{2+} в процессах передачи клеточных сигналов, индуцируемых рецепторным присоединением лизофосфолипидов. Помимо этого, ЛФЛ оказывают влияние на секрецию ионов, на процессы, связанные с клеточным трансмембранным эндоцитозом и экзоцитозом (Торховская Т. Н., Ипатова О. М., Захарова Т. С. [и др.] Клеточные рецепторы к лизофосфолипидам как промотеры сигнальных эффектов (обзор) // Биохимия. 2007. Т.72, №2. С. 149–158).

Несмотря на разнообразие приведенных выше эффектов лизофосфолипидов, механизм их реализации долго оставался невыясненным. Рядом авторов высказывалось предположение об участии в этих процессах специфических рецепторов. Открыты они были относительно недавно, с применением геномных подходов. Эти рецепторы функционируют в паре с G-белком – высокоактивным регуляторным гетеротримерным белком, контролирующим многие процессы транскрипции и мембранной проницаемости. Присоединение лиганда к соответствующему рецептору может вызывать его конформационные изменения, индуцирующие ответ в молекуле G-белка. Результатом этого могут оказаться изменения в процессах, контролируемых данным белком: изменения активности специфических митогенактивируемых протеинкиназ (МАРК и МЕК) или транскрипционных ядерных факторов, или раскрытие ионных каналов, т.е. изменения в процессах, затрагивающих фактически «командные посты» жизни клетки. И именно с этим связан множественный характер различных влияний ЛФЛ, разнообразие индуцируемых ими клеточных ответов, осуществляемых по ростостимулирующему или цитоскелетзависимому пути (Торховская Т. Н., Ипатова О. М., Захарова Т. С. [и др.] Клеточные рецепторы к лизофосфолипидам как промотеры сигнальных эффектов (обзор) // Биохимия. 2007. Т.72, №2. С. 149–158).

В последнее время появляется всё больше данных, свидетельствующих о роли лизофосфатидной кислоты (ЛФК) в развитии различных патологических процессов путем взаимодействия с сопряженными с G-белком трансмембранными рецепторами (GPCR) (Uchida H., Nagai J., Ueda H. Lysophosphatidic acid and its receptors LPA1 and LPA3 mediate paclitaxel-induced neuropathic pain in mice // Mol Pain. 2014. Vol. 10. P. 71). Установлено, что рецепторы ЛФК могут по-разному действовать на клетки нервной системы, активируя при этом различные сигнальные пути. Так, например, LPA1 – рецептор, передавая сигнал через Rho/Rho-киназный путь, участвует в развитии нейропатии. С использованием модельных мышей, нокаутных по гену *lpa1*, показано, что ЛФК играет существенную роль в процессах, лежащих в основе демиелинизации (Бердичевец И. Н., Тяжелова Т. В., Шимшилашвили Х. Р. [и др.] Лизофосфатидная кислота – липидный медиатор с множеством биологических функций. Пути биосинтеза и механизм действия // Биохимия. 2010. Т.75, №9. С. 1213–1223).

Таким образом, лизофосфолипиды выполняют регуляторную функцию в клетках центральной и периферической нервной системы. Клеточные эффекты лизофосфолипидов могут осуществляться по ростостимулирующему и цитоскелетзависимому пути. Связываясь с соответствующими рецепторами, лизофосфолипиды выступают в роли вторичных мессенджеров и оказывают влияние на трансмембранную передачу сигнала, активируя различные сигнальные пути в клетках нервной системы.

1.1.3 Жирные кислоты как высокоактивные биорегуляторы клеточных процессов

Наиболее часто встречающиеся фосфолипиды построены по единому плану, их молекулы стерически соответствуют друг другу. В то же время, огромное разнообразие фосфолипидов обеспечивается различием жирных кислот, входящих в состав их молекул. Жирнокислотный состав фосфолипидов нервных волокон изучен в ряде работ (Ревин В. В., Мокринский В. П., Кольс О. Р. Жирнокислотный состав индивидуальных фосфолипидов нерва краба при покое и при проведении возбуждения // Биохимия. 1987. Вып. 52, № 8. С. 1270–1273; Ревин В. В., Юданов М. А., Максимов Г. В. Состав липидов соматических нервов крысы при действии повреждающих факторов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2006. Т.142, №8. С. 155–157; Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с). Жирные кислоты влияют на различные фундаментальные процессы регуляции организма: ионный гомеостаз, проведение гормонального сигнала, транскрипцию генов, синтез различных высокоактивных липидных биорегуляторов и функционирование большинства регуляторных белков (Когтева Г. С., Безуглов В. В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы // Биохимия. – 1998. – Т.63, №1. – С. 6–15). Жирные кислоты участвуют в формировании гидрофобной зоны мембраны и определении ее фазового состояния. Существование в составе фосфолипидов мембран ненасыщенных жирных кислот обуславливает их подверженность различным воздействиям, в частности перекисному окислению. Интенсификация процессов ПОЛ приводит к возникновению различных нарушений на уровне отдельных ферментных систем и целой клетки. Установлено, что при изменении функционального состояния клетки наблюдается перераспределение жирных кислот возбудимых образований. Установлена эффекторная роль полиненасыщенных жирных кислот и их производных (аминов, моноацилглицеринов, оксипролинов) (Дятловицкая Э.В., Безуглов В. В. Липиды как биоэффекторы // Биохимия. 1998. Т.63, №1. С. 3–5).

Жирные кислоты не только входят в состав сложных липидов, но могут находиться и в свободном неэтерифицированном виде. Было обнаружено, что свободные жирные кислоты

(СЖК) совместно с ионами Ca^{2+} могут индуцировать неспецифический митохондриальный переход проницаемости (МПП). Это явление возникает при различных патологиях, таких как инфаркт миокарда, нейродегенеративные процессы, ожирение, диабет и других. Существует несколько разновидностей МПП. Благодаря работам американских исследователей, а также работам, сделанным в лаборатории Г.Д. Мироновой, был обнаружен тип МПП, индуцируемый насыщенными длинноцепочечными СЖК (в первую очередь, пальмитиновой кислотой) и Ca^{2+} . В основе этого механизма лежит процесс, связанный с накоплением молекул СЖК и Ca^{2+} на матриксной поверхности внутренней митохондриальной мембраны, после чего происходит комплексообразование Ca^{2+} с анионами СЖК. Было обнаружено, что в митохондриальной мембране содержится гидрофобный Ca^{2+} – связывающий компонент, состоящий из смеси насыщенных длинноцепочечных жирных кислот (в основном, пальмитиновой и стеариновой). Именно эти СЖК обладают сродством к иону Ca^{2+} на порядок выше, чем сродство к этому иону других СЖК и липидов. Таким образом, в исследованиях последних лет, было показано, что насыщенные длинноцепочечные СЖК вполне могут выступать в роли «сенсора» на Ca^{2+} – в том числе, и при индукции МПП (Гриценко Е. Н. Пермеабиллизация липидного бислоя при связывании Ca^{2+} с насыщенными длинноцепочечными жирными кислотами: физико-химический механизм и возможность его реализации в митохондриальной мембране : дис. ... канд. биол. наук. Пущино, 2006. 106 с).

Следует отметить, что насыщенные свободные жирные кислоты повышают температуру фазового перехода, а ненасыщенные – снижают ее (Ревин В.В., Ревина Э.С., Девяткин А.А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с). Свободные жирные кислоты регулируют работу ионных каналов и АТФаз, активность фосфолипаз, G-белков, протеинкиназ, модулируют фосфоинозитидный и сфингомиелиновый цикл, перенос гормональной информации, транскрипцию генов. Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) являются составной частью широкого семейства биорегуляторов, включающего в себя также оксипирины, ДАГ, ЛФЛ, церамиды и амиды жирных кислот (ЖК). Эти липидные биорегуляторы образуются из других липидов под действием ряда ферментов, из которых первостепенную роль играют фосфолипазы (Дятловицкая Э. В., Безуглов В. В. Липиды как биоэффекторы // Биохимия. 1998. Т.63, №1. С. 3–5). Следует принять во внимание, что один и тот же агонист (например, фактор некроза опухолей, γ – интерферон, интерлейкин – 1β), связываясь с рецептором на поверхности клетки, способен одновременно индуцировать фосфолипазы A_2 , C и D, а также сфингомиелиназу, что приводит к высвобождению арахидоновой кислоты и стимуляции сфингомиелинового цикла, расщеплению фосфатидилхолина и накоплению диацилглицеринов. Также известно, что арахидоновая кислота и другие ненасыщенные жирные кислоты

активируют протеинкиназу С, причем эффект не опосредован их окисленными метаболитами, т.к. ни циклооксигеназы, ни липоксигеназы не влияют на активацию фермента. Арахидоновая кислота, высвобождаемая из фосфолипидов, может играть роль вторичного мессенджера в передаче сигнала, затрагивающего активацию ПКС. Другие жирные кислоты могут играть роль вторичных мессенджеров, активируя различные изоформы РКС, независимо от ДАГ, ФС и Ca^{2+} . ЖК значительно усиливают ДАГ – зависимую активацию РКС, в результате чего фермент проявляет практически максимальную активность на низком, близком к базальному, уровню Ca^{2+} . Кроме того, ненасыщенные жирные кислоты вызывают время – и дозозависимую транслокацию РКС из цитозоля к плазматической мембране (Когтева Г.С., Безуглов В.В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы // Биохимия. 1998. Т.63, №1. С. 6–15).

Таким образом, накопленные данные позволяют утверждать, что жирные кислоты выступают в роли вторичных мессенджеров, опосредуя эффекты многих других биоактивных молекул.

1.1.4 Классификация, биологическая роль и участие в патологических процессах ферментов группы фосфолипазы A_2

Фосфолипазы – это гетерогенная группа ферментов класса гидролаз (КФ 3. 1. 4. 3; и 3. 1. 4. 4.), которые играют центральную роль в метаболизме фосфолипидов. В тканях животных и человека обнаружено большое количество фосфолипаз. Все они обладают способностью гидролизовать эфирные связи глицерофосфолипидов. Хотя для всех фосфолипаз субстратами являются фосфолипиды, каждая разновидность фермента обладает способностью катализировать реакцию расщепления специфической эфирной связи. В соответствии с этим различают четыре класса, в зависимости от положения гидролизуемой связи: А, В, С, D (Ипатова О. М. Фосфоглив: механизм действия и применение в клинике. М.: Изд-во Эксмо, 2005. 150 с).

Фосфолипазы играют исключительно важную роль в функционировании биологических мембран. Это ключевые ферменты, которые обновляют внутриклеточные липиды и тем самым влияют на проницаемость биологических мембран, функционирование различных мембраносвязанных ферментов и рецепторов (Рахматов А. Б., Муратова У. З., Файзиев К.И. [и др.] Псориаз: патогенетическая значимость фосфолипазы A_2 у больных псориазом // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. 2004. № 2. С. 16–18; Fu Y., Frederick T. J., Huff T. B. [et al.] Paranodal myelin retraction in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis visualized by coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy // Journal of

Biomedical Optics. 2011. Vol. 16, Iss. 10. P. 106006; Каминный А. И., Павлунина Т. О., Шувалова Ю. А. [и др.] Роль секреторной фосфолипазы A_2 в развитии атеросклероза // Атеросклероз и дислипидемии. 2012. № 4. С. 63–64; Bechler M. E., de Figueiredo P., Brown W. J. A PLA1-2 punch regulates the Golgi complex // J. Neurobiology. 2012. Vol. 22, Iss. 2. P. 116–124; Schopfer L.M., Lockridge O. Analytical approaches for monitoring exposure to organophosphorus and carbamate agents through analysis of protein adducts // Drug Test. Analysis. 2012. Vol. 4, Iss. 3–4. P. 246–261; Туровский Е. А., Каймачников Н. П., Зинченко В. П. Агонист специфическое участие SOC и ARC-каналов и iPLA2 в регуляции входа Ca^{2+} при колебательных ответах в адипоцитах // Биологические мембраны. 2013. Т. 30, № 5–6. С. 491–498).

Наиболее изученными являются ферменты группы фосфолипазы A_2 (ФЛ A_2). Представители семейства ФЛ A_2 обнаружены во всех клетках животного и растительного происхождения. Впервые ФЛ A_2 найдена в 1903 г. во время проведения экспериментов по гемолизу эритроцитов ядом кобры (Рахматов А. Б., Муратова У. З., Файзиев К. И. [и др.] Псориаз: патогенетическая значимость фосфолипазы A_2 у больных псориазом // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. 2004. № 2. С. 16–18). Фосфолипаза A_2 (лецитиназа A_2 , фосфатид-2-ацилгидролаза; К.Ф. 3.1.1.4) представляет собой липолитический фермент, который специфически расщепляет сложноэфирную связь в *sn*-2 – положении фосфоглицеридов. Фосфолипазы A_2 широко распространены в природе и существуют в секретируемой и внутриклеточной формах. К секретируемым фосфолипазам A_2 , относят ферменты ядов рептилий, членистоногих и кишечнорастворимых, пищеварительные ферменты млекопитающих (Коротаяева А. А. Секреторная фосфолипаза A_2 группы ПА в плазме крови больных после коронарной ангиопластики: регуляция липидами и липопротеидами : дис. ... докт. биол. наук. М., 2009. 40 с; Harris J. B., Scott-Davey T. Secreted phospholipases A_2 of snake venoms: effects on the peripheral neuromuscular system with comments on the role of phospholipases A_2 in disorders of the CNS and their uses in industry // Toxins (Basel). 2013. Vol. 5, Iss. 12. P. 2533–2537; Terra A. L., Moreira-Dill L. S., Simões-Silva R. [et al.] Biological characterization of the Amazon coral *Micrurus spixii* snake venom: Isolation of a new neurotoxic phospholipase A_2 // Toxicon. 2015. Vol. 103. P. 1–11; Floriano R. S., Rocha T., Carregari V. C. [et al.] The neuromuscular activity of *Bothriopsis bilineata smaragdina* (forest viper) venom and its toxin Bbil-TX (Asp49 phospholipase A_2) on isolated mouse nerve-muscle preparations // Toxicon. 2015. Vol. 96. P. 24–37;). Внутриклеточным фосфолипазам A_2 долгое время не уделялось должного внимания из-за сложностей их выделения, идентификации и очистки, связанных с их низкой концентрацией в животных клетках. В настоящее время данным ферментам отводится важная роль в катаболизме клеточных фосфолипидов и поддержании структурной целостности клеточных

мембран (Брагина Н. А., Чупин В. В., Булгаков В.Г. [и др.] Липидные ингибиторы фосфолипазы A_2 // Биоорганическая химия. 1999. Т.25, №2. С. 83–96).

В активном центре фосфолипазы A_2 находится каталитический участок и нескольких участков для связывания определенных функциональных групп молекулы субстрата. Например, для связывания углеводородного остатка во 2-м положении глицеринового скелета, а также центров связывания аммониевой и фосфатидной групп. Для фосфолипаз характерно существование нескольких типов активных центров: 1) серингистидинового; 2) карбоксил-карбоксилатного; 3) цинк-карбоксилатного и 4) цистеин-гистидинового. Осуществление каталитического действия фермента связано с участием именно этих групп. Строение активного центра фосфолипазы предполагает возможность взаимодействия с большим спектром веществ разной химической природы, т.е. конкурентными ингибиторами. Это позволяет регулировать фосфолипазную активность при действии на клетку различных метаболитов (Юданов М. А. Исследование состава липидов соматических нервов крысы при травмировании и действии химических агентов : дис. ... канд. биол. наук. Саранск, 2005. 187 с).

Фосфолипаза A_2 активируется в ответ на гормоны, факторы роста и родственные агонисты в разных типах животных клеток. Активность регулируется также гетеродимерными G-белками, фосфорилированием и Ca^{2+} . Некоторые фосфолипазы, например, содержащие Ca^{2+} -связывающий домен, могут быть активированы транслокацией их к субстрату на мембране (Купцова О. С. Фосфолипаза A_2 Роль окисления фосфолипидов *in vitro* и *in vivo* в регуляции фосфолиполиза : дис. ... канд. биол. наук. М., 2001. 58 с; Петросян Е. А., Оноприев В.И., Повиляева Т. Л. [и др.] Оценка состояния эндогенной интоксикации при развитии экспериментального жёлчного перитонита // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. 2005. Т. 164, № 4. С. 28–30). В системах млекопитающих ФЛ A_2 может быть фосфорилирована и активирована через каскад MAP-киназы (Сидорова Ю. А., Иванова Е. В., Гришанова А.Ю. [и др.] Дозовая зависимость влияния α -токоферола на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков в печени крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2003. Т. 136, № 7. С. 45–48).

Семейство фосфолипаз A_2 включает 13 групп, обозначаемых римскими цифрами (I – XIII). Группы подразделяются на подгруппы в зависимости от кодирующих их гомологичных генов и обозначаются латинскими буквами. Некоторые группы фосфолипаз состоят из нескольких подгрупп. Например, фосфолипаза A_2 группы II (секФЛА $_2$ (IIA)) включает представителей подгруппы A, B, C, D, E, F. Группы выделяют на основе первичной структуры, локализации и свойств, таких как зависимость от внутриклеточной концентрации ионов кальция. Некоторым представителям семейства для активации необходимы миллимолярные количества ионов Ca^{2+} – для секреторных фосфолипаз A_2 и микромолярные

количества – для цитозольных, некоторые же представители в ионах кальция не нуждаются – Ca^{2+} -независимые фосфолипазы A_2 (Коротаяева А. А. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки // Биохимия. 1998. Т.63, №1. С. 38–46).

Другая классификация основана на выделении 4 различных семейств у млекопитающих: низкомолекулярные Ca^{2+} -зависимые секреторные sPLA₂, цитоплазматические Ca^{2+} -зависимые cPLA₂, внутриклеточные Ca^{2+} -независимые iPLA₂, Ca^{2+} -независимые ФАТ-ацилгидролазы (или cPLA₂, связанные с липопротеинами) (Купцова О. С. Фосфолипаза A_2 Роль окисления фосфолипидов *in vitro* и *in vivo* в регуляции фосфолиполиза : дис. ... канд. биол. наук. М., 2001. 58 с; Петросян Е. А., Оноприев В. И., Повилиева Т. Л. [и др.] Оценка состояния эндогенной интоксикации при развитии экспериментального жёлчного перитонита // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. 2005. Т. 164, № 4. С. 28–30; Huang W. M., Li Z. Y., Xu Y. J. [et al.] PKG and NHR-49 signalling co-ordinately regulate short-term fasting-induced lysosomal lipid accumulation in *C. elegans* // Biochem J. 2014. Vol. 461, Iss. 3. P. 509–520).

Образующиеся в результате действия ФЛ A_2 , жирные кислоты и лизофосфолипиды участвуют во множестве сигнальных процессов внутри и снаружи клетки. Так арахидоновая кислота используется для синтеза эйкозаноидов (простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов), модулирующих сокращение мышц и участвующих в ответе на локальный стресс и воспалительные процессы. ЛФЛ служат предшественниками фактора активации тромбоцитов, биологически активного фосфоглицерида, который участвует в патологических (аллергия и воспаление) и физиологических процессах (репродукция, поддержание кровяного давления). Также ЛФЛ является внутриклеточным переносчиком липидов, а жирные кислоты и их метаболиты способны активизировать разные типы K^+ -каналов, фосфолипазу D, и вместе с ЛФЛ участвовать в активации фосфолипазы C (Руднов В. А. Нутритивная поддержка при сепсисе: существуют ли аргументы в пользу специального протокола? // Анестезиология и реаниматология. 2006. № 6. С. 9–12; Рябикина Е. В. Совершенствование интенсивной комплексной терапии больных с послеоперационным перитонитом : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2009. 23 с).

При патологических состояниях эти ферменты активно вовлекаются как в компенсаторные, так и в деструктивные процессы, протекающие в клетках (Рахматов А. Б., Муратова У. З., Файзиев К. И. [и др.] Псориаз: патогенетическая значимость фосфолипазы A_2 у больных псориазом // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. 2004. № 2. С. 16–18; Šribar J., Oberčkal J., Križaj I. Understanding the molecular mechanism underlying the presynaptic toxicity of secreted phospholipases A(2): an update // Toxicon. 2014. Vol. 89. P. 9–16).

В настоящее время установлено, что фосфолипазы A_2 играют существенную роль в развитии воспалительного процесса. Вклад фермента заключается в запуске синтеза

химических медиаторов воспаления. Они образуются, активируются или накапливаются в очаге воспаления, а их соотношением определяется характер течения патологического процесса (O'Donoghue M. L., Mallat Z., Morrow D. A. [et al.] Prognostic utility of secretory phospholipase A₂ in patients with stable coronary artery disease // Clin. Chem. 2011. Vol. 57, Iss. 9. P. 1311–1317). К медиаторам воспаления липидной природы относятся жирные кислоты и их производные (простагландины, лейкотриены, тромбоксаны), а также фосфолипидный фактор активации тромбоцитов. Предполагается, что в воспалительный процесс вовлечены внутриклеточные цитозольные фосфолипазы A₂, высвобождающие полиеновые кислоты из *sn*-2 – положения глицеринового остатка мембранных фосфолипидов. Полиеновые жирные кислоты, в том числе и арахидоновая, обладают собственной биологической активностью, усиливают сосудистую проницаемость, оказывают вазоактивное действие, вызывают агрегацию тромбоцитов (Breitling L. P., Koenig W., Fischer M. [et al.] Type II secretory phospholipase A₂ and prognosis in patients with stable coronary heart disease: mendelian randomization study // PLoS One. 2011. Vol. 6, Iss. 7. P. e22318). Другие продукты фосфолипазной реакции гидролиза – лизофосфолипиды проявляют ярко выраженную цитотоксичность и детергентные свойства. Эти вещества обнаруживаются при таких заболеваниях, как холецистит, катаракта, псориаз, инфаркт миокарда и др. Образующийся лизофосфолипид служит предшественником фактора активации тромбоцитов – медиатора воспаления, септического шока, аллергической реакции и астматического состояния в случае высвобождения жирной кислоты из фосфатидилхолина 1-О-алкильного типа (Брагина Н. А., Чупин В. В., Булгаков В.Г. [и др.] Липидные ингибиторы фосфолипазы A₂ // Биоорганическая химия. 1999. Т.25, №2. С. 83–96).

Интересно, что для инициации распада миелина и развития Валлеровского перерождения после травмы периферического нерва необходима активация ФЛ A₂ (Gaudet D.A., Popovich P.G., Ramer M.S. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury // Journal of Neuroinflammation. 2011. Iss. 8. P. 1–13). Так, содержание цитозольных и мембраносвязанных фосфолипаз A₂ возрастает в течение часа после травмы нерва и остается повышенным в течение 2-х недель. Этот период времени коррелирует с Валлеровской дегенерацией, а возвращение уровня фосфолипазы A₂ к нормальному через 3 недели после повреждения связано с аксональной регенерацией и ремиелинизацией. Обнаружено, что блокада экспрессии фосфолипазы A₂ в дистальном отделе седалищного нерва значительно увеличивает продолжительность времени удаления миелина и разрушенных аксонов. Важная роль ФЛ A₂ в регуляции клеточных процессов, а также ее повышенный уровень при ряде патологических состояний, приводят к необходимости регулирования активности данного фермента. Поэтому огромный практический интерес и теоретическую значимость представляют в настоящее время поиск новых классов ингибиторов фосфолипазы

A₂ и разработка современных способов их синтеза (Брагина Н. А., Чупин В. В., Булгаков В.Г. [и др.] Липидные ингибиторы фосфолипазы A₂ // Биоорганическая химия. 1999. Т.25, №2. С. 83–96; Breitling L. P., Koenig W., Fischer M. [et al.] Type II secretory phospholipase A₂ and prognosis in patients with stable coronary heart disease: mendelian randomization study // PLoS One. 2011. Vol. 6, Iss. 7. P. e22318; Ong W. Y., Farooqui T., Kokotos G. [et al.] Synthetic and natural inhibitors of phospholipases A₂: their importance for understanding and treatment of neurological disorders // ACS Chem Neurosci. 2015. Vol. 6, Iss. 6. P. 814–831).

1.2 Особенности процессов дегенерации и регенерации нервной ткани после повреждения

Все ткани по присущему им типу регенерации делятся на 3 группы: ткани, которым свойственна клеточная регенерация, ткани для которых характерна клеточная и внутриклеточная регенерация и ткани только с внутриклеточной регенерацией. Для клеток нервной ткани характерна лишь внутриклеточная регенерация, которая реализуется путем образования так называемых конусов роста и их прорастания в направлении мышцы, где заново формируются моторные синапсы (Балезина О. П., Богачева П. О., Орлова Т. Ю. Влияние блокаторов кальциевых каналов L – типа на активность новообразуемых синапсов мышцы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2007. Т.143, №2. С. 128–131; Балезина О. П., Богачева П. О. Подавление секреции медиатора в новообразованных моторных синапсах мышцы с участием Ca²⁺-каналов L-типа и рианодиновых рецепторов // Известия РАН. Серия биологическая. 2009. №5. С. 591–597; Брюховецкий И. С. Механизмы регенерации спинного мозга крыс при трансплантации обкладочных нейроэпителиальных клеток в биополимерном коллагеновом матриксе : дис. ... канд. мед. наук. Владивосток, 2008. 109 с). В литературе появились данные, указывающие, что наряду с внутриклеточной регенерацией путем самостоятельной гиперплазии ультраструктур, нейрон может также внутриклеточно регенерировать, получая эти структуры извне от слившегося с ним ядра олигодендрокита. Изучение этой проблемы открывает возможности приживания ампутированного периферического отростка к его проксимальной культе (Сотников О. С., Рыбакова Г. И., Соловьева И. А. Проблема слияния отростков нейронов // Морфология. 2007. Т.132, №5. С. 18–22; Константинова Н. Б. Роль слияния клеток при репаративной регенерации коры головного мозга: функциональное, морфологическое и цитохимическое исследование : дис. ... канд. биол. наук. Москва, 2009. 104 с). Экспериментально доказан факт слияния региональных клеток в префронтальной зоне коры головного мозга и образование двуядерных клеток. При слиянии 2-х нейронов возникали дикарионы, а при слиянии нейрона с олигодендрокитами образовывались

гетерекарионы. Слившийся с олигодендроцитом нейрон может выполнять удвоенную нагрузку. Морфологические данные подтверждаются результатами функциональных исследований, показавшими, что улучшение условно-рефлекторной деятельности животных происходит вместе с увеличением числа слияний в префронтальной коре. Полученные знания дают возможность влиять на частоту слияния клеток и направлять в желаемое русло ход физиологической и репаративной регенерации (Константинова Н. Б. Роль слияния клеток при репаративной регенерации коры головного мозга: функциональное, морфологическое и цитохимическое исследование : дис. ... канд. биол. наук. Москва, 2009. 104 с).

Установлено, что при травме периферических нервов в поврежденном отростке и его перикарионе происходит комплекс скоординированных изменений (Архипова Е.Г. Репаративная регенерация периферических нервов крыс после механической альтерации фармакологической модификации : дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород, 2007. 101 с). Первая реакция на травму характеризуется появлением отека и набуханием, а затем воспалительным ответом. Природа первоначального воспалительного ответа чрезвычайно важна для протекания успешной регенерации (Gaudet D.A., Popovich P.G., Ramer M.S. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury // *Journal of Neuroinflammation*. 2011. Iss. 8. P. 1–13). Острый воспалительный ответ характеризуется накоплением нейтрофилов и созданием среды, неблагоприятной для здорового регенерационного ответа (Carlson B. M. *Principles of regenerative biology*. San Diego: Academic Press, 2007. 379 p; Швалев В. Н. Развитие морфоклинических представлений о нейротканевых связях: роль тучных клеток в нервной трофике // *Казанский медицинский журнал*. 2010. Т.91, №5. С. 687–689). Иммунный ответ сопровождается развитием цитокинового каскада и выделением лейкоцитами цитотоксических, провоспалительных и противовоспалительных факторов (оксида азота, цитокинов, простагландинов и т.д.) (Хама-Мурад А.Х., Павлинова Л. И., Мокрушин А. А. Вторичное повреждение при мозговом инсульте и возможность восстановления функций мозга (роль цитокинов, нейротрофических факторов, адгезионных молекул) // *Нейрохимия*. 2007. Т.24, №2. С. 121–131; Шевцов В. И., Щудло Н. А., Щудло М. М. [и др.] Особенности клеточного состава эндоневрия седалищного нерва при distractionном остеосинтезе бедра у собак // *Морфология*. 2007. Т.132, №4. С. 39–43; Брюховецкий И. С. Механизмы регенерации спинного мозга крыс при трансплантации обкладочных нейроэпителиальных клеток в биополимерном коллагеновом матриксе : дис. ... канд. мед. наук. Владивосток, 2008. 109 с; Лосева Е. В., Логинова Н. А., Акмаев И. Г. Роль интерферона – альфа в регуляции функций нервной системы // *Успехи физиологических наук*. 2008. Т.39, №2. С. 32–46). Фаза иммунного ответа протекает с участием макрофагов, поскольку они не только удаляют остатки клеток и тканей, но и секретируют большое число факторов

роста и цитокинов, необходимых для активации клеток – предшественников тканевой регенерации (Carlson B. M. Principles of regenerative biology. San Diego: Academic Press, 2007. 379 p; Шевцов В. И., Щудло Н. А., Щудло М. М. [и др.] Особенности клеточного состава эндоневрия седалищного нерва при distractionном остеосинтезе бедра у собак // Морфология. 2007. Т.132, №4. С. 39–43; Naidu M. The role of cells, neurotrophins, extracellular matrix and cell surface molecules in peripheral nerve regeneration // Malaysian Journal of Medical Sciences. 2009. Vol. 16, Iss. 2. P. 10–14). Цитокины играют важную роль в регенерации нервных волокон. Синтез лейкоз – ингибирующего фактора (LIF), нейротрофических цитокинов IL-6 и трансформирующего фактора роста (TGF- β 1) увеличивается в нерве после аксотомии и поддерживается в процессе регенерации до восстановления контакта шванновских клеток с аксоном (Рагинов И. С. Регенерация нейронов чувствительного узла спинномозгового нерва : дис. ... докт. биол. наук. Саранск, 2006. 161 с; Харченко Е. П., Клименко М. Н. Пластичность и регенерация мозга // Неврологический журнал. 2006. Т.11, №6. С. 37–45; Архипова Е.Г. Репаративная регенерация периферических нервов крыс после механической альтерации фармакологической модификации : дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород, 2007. 101 с). Так, после пересечения седалищного нерва у мышей, шванновские клетки (ШК) в дистальном нерве синтезируют провоспалительные цитокины TNF- α и интерлейкин-1 α в течение 5 часов после травмы, тогда как продукция интерлейкина-1 β задерживается до 24-х часов. Также, экспрессия интерлейкина-6 (IL-6) и LIF mRNA увеличивается в течение 3-х часов после травмы. Эти факторы продуцируются шванновскими клетками и необходимы для хемотаксиса иммунных клеток. Действительно, обработка шванновских клеток IL-6 увеличивает экспрессию LIF и MCP-1 mRNA, и обработка LIF также увеличивает экспрессию MCP-1 mRNA. TNF- α вызывает продукцию MCP-1 и матриксной металлопротеиназы-9, которые в свою очередь являются необходимыми для накопления макрофагов. Помимо этого, матриксные металлопротеиназы необходимы для аксональной регенерации, поскольку они вызывают распад хондроитин сульфата, Nogo и тенастина – С, которые являются ингибиторами аксонального роста *in vitro* и *in vivo* (Groves M. L., McKeon R., Werner E. [et al.] Axon regeneration in peripheral nerves is enhanced by proteoglycan degradation // Experimental Neurology. 2005. Vol. 195, Iss. 2. P. 278–292; Pizzi M. A., Crowe M. J. Matrix metalloproteinases and proteoglycans in axonal regeneration // Experimental Neurology. 2007. Vol. 204, Iss. 2. P. 496–511; Cafferty W. B., McGee A. W., Strittmatter S. M. Axonal growth therapeutics: regeneration or sprouting or plasticity? // Trends Neurosci. – 2008. – V. 31, №5. – P. 215–220). Для нейтрализации активности ингибиторов, связанных с миелином, предприняты попытки вводить блокирующие антитела, иммунизировать против компонентов миелина, использовать антагонисты к рецепторам Nogo и инактивировать сигнальный путь Rho-ROCK (Козлова Е. Н. Стратегии

восстановления утраченных сенсорных связей со спинным мозгом // Молекулярная биология. 2008. Т. 42, №5. Р. 820–829). В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что ШК активируют цитокиновый/хемокиновый каскад, который увеличивает воспалительный ответ после травмы ПНС (Gaudet D.A., Popovich P.G., Ramer M.S. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury // Journal of Neuroinflammation. 2011. Iss. 8. P. 1–13).

Также регенерацию периферического нерва поддерживают такие цитокины, как CNTF (цилиарный нейротрофический фактор, Ciliary Neurotrophic Factor), IL-6, IL-1, TGF- β и LIF (Архипова Е. Г. Репаративная регенерация периферических нервов крыс после механической альтерации фармакологической модификации : дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород, 2007. 101 с; Олейник А. А., Вастьянов Р. С. Рецепторы и механизмы реализации нейротропных эффектов цитокинов и факторов роста // Успехи физиологических наук. 2008. Т.39, №2. С. 47–54). Показано, что IL-1 в основном предотвращает гибель нейронов путем торможения избыточного поступления ионов Ca^{2+} в нейроны, торможения высвобождения глутамата, ингибирования долговременной потенциации и усиления активности γ -аминомасляной кислоты. Однако другие эффекты данного цитокина – активация циклооксигеназы-2 и индуцибельной формы NO-синтазы – могут способствовать развитию процессов нейродегенерации (Вастьянов Р. С., Олейник А. А. Нейротропные эффекты цитокинов и факторов роста // Успехи физиологических наук. 2007. Т.38, №1. С. 39–54). Активированные макрофаги проявляют основную фагоцитарную активность на 2–3 сутки после повреждения нерва (Алексеева Е. Б. Регенерация седалищного нерва крысы после кратковременного дозированного вытяжения его центрального отрезка : дис. ... канд. биол. наук. Казань, 2003. 92 с). Фагоцитоз имеет большое значение для успеха последующей регенерации: нервные волокна подвергаются дегенерации на небольшом протяжении центрального и на всем протяжении периферического отрезка. После перерезки или повреждения нерва часть аксонов, расположенных дистальнее места травмы лишается оболочки, состоящей в основном из шванновских клеток и внеклеточного матрикса. Это обусловлено дефицитом ретроградно транспортирующихся нейротрофических факторов, поступающих от шванновских клеток по нервным волокнам (Архипова Е. Г., Гретен А. Г., Крылов В. Н. Динамика репаративной регенерации кожного нерва крыс при разной степени его травмирования // Морфология. 2007. Т.131, №3. С. 30–32). Без трофической поддержки аксонов шванновские клетки теряют миелин и подвергаются структурному и функциональному разрушению в течение 48 часов (Carlson B.M. Principles of regenerative biology. San Diego: Academic Press, 2007. 379 p).

Шванновские клетки – высокоспециализированные клетки, которые формируются вдоль аксонов периферических нервных волокон. Помимо образования миелиновой оболочки

(Oliveira M. J., Águas A. P. High concentration of phosphorus is a distinctive feature of myelin. An X-Ray elemental microanalysis study using freeze-fracture scanning electron microscopy of rat sciatic nerve // *Microsc Res Tech.* 2015. Vol. 78, Iss. 7. P. 537–539), они секретируют большое количество факторов роста и других активных молекул, которые поддерживают сохранение целостности и функций аксонов (Carlson B. M. *Principles of regenerative biology.* San Diego: Academic Press, 2007. 379 p.; Gaudet D.A., Popovich P.G., Ramer M.S. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury // *Journal of Neuroinflammation.* 2011. Iss. 8. P. 1–13). После элиминации молекул, тормозящих рост аксонов, начинается регенерация нервных волокон. При частичном повреждении нервов на любом уровне восстановление происходит за счет сохранившихся аксонов, которые начинают активно разрастаться и ветвиться. Это ветвление, получившее в литературе название «спрутинг» (от англ. to sprout - пускать ростки, ветвиться), лежит в основе формирования компенсаторно-восстановительной реиннервации (Одинак М. М., Живолупов С. А., Рашидов Н. А. [и др.] Особенности развития денервационно-реиннервационного процесса при травматических невропатиях и плексопатиях // *Вестник Российской военно-медицинской академии.* 2007. Т.4, №20. С. 130–140; Гомазков О. А. Ростовые и нейротрофические факторы в регуляции трансформации стволовых клеток и нейрогенеза // *Нейрохимия.* 2007. Т.24, №2. С. 101–120). Различают два вида спрутинга – коллатеральный и терминальный (регенераторный). Коллатеральный спрутинг (КС) – это ветвление аксонов в области перехватов Ранвье, в нескольких сотнях микрометров от немиелинизированного участка, а регенераторный (РС) – ветвление или удлинение конечного участка аксона (Ishikawa R., Kohama K. Actin dynamics in filopodia of nerve growth cone // *Биологические мембраны.* 2003. Т. 20, №1. P. 16 – 20; Одинак М. М., Живолупов С. А., Рашидов Н. А. [и др.] Особенности развития денервационно-реиннервационного процесса при травматических невропатиях и плексопатиях // *Вестник Российской военно-медицинской академии.* 2007. Т.4, №20. С. 130–140). Ультраструктура конуса роста заметно отличается от аксона очень высокой концентрацией ряда органелл (микротрубочек, микрофиламентов, митохондрий, агранулярного ретикулума, лизосом и рибосом). Характерной особенностью конусов роста является наличие в них многочисленных вакуолей, что является показателем активного пиноцитоза экзогенных белков.

В настоящее время установлена важная роль ионов кальция в функционировании конуса роста моторных и других аксонов (Satkauskas S., Bagnard D. Local protein synthesis in axonal growth cones // *Cell adhesion and Migration.* 2007. Vol.1, Iss. 4. P. 179–184). Так, пусковым механизмом Валлеровской дегенерации дистального отдела пересеченного нерва может быть большое поступление ионов кальция в поврежденный участок нерва (Одинак М.М., Живолупов С. А., Федоров К. В. [и др.] Нарушения невральности проводимости при травматических

невропатиях (патогенез, клинические синдромы, диагностика и лечение) // Военно-медицинский журнал. 2008. №2. С. 28–38). Вход наружного кальция по каналам L-типа и выброс депонированного кальция через рианодиновые рецепторы в цитоплазму создают подъемы уровня внутриклеточного кальция, способствующие наращиванию филоподий в окончаниях растущих аксонов (Ткачук В. А. Фосфоинозитидный обмен и осцилляция ионов Ca^{2+} // Биохимия. 1998. Т.63, №1. С. 47–56; Мельников К. Н. Разнообразие и свойства кальциевых каналов возбудимых мембран // Психофармакология и биологическая наркология. 2006. Т.6 №2. С. 1139–1155; Мельников К. Н. Кальциевые каналы возбудимых мембран // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2007. Т.5 №1. С. 28–42; Балезина О. П., Богачева П. О., Орлова Т. Ю. Влияние блокаторов кальциевых каналов L – типа на активность новообразуемых синапсов мышцы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2007. Т.143, №2. С. 128–131; Балезина О. П., Богачева П. О. Подавление секреции медиатора в новообразованных моторных синапсах мышцы с участием Ca^{2+} -каналов L-типа и рианодиновых рецепторов // Известия РАН. Серия биологическая. 2009. №5. С. 591–597; Shim S., Ming G. Roles of channels and receptors in the growth cone during PNS axonal regeneration // Exp. Neurol. 2010. Vol. 223, Iss. 1. P. 38–44).

В образовании филоподий важную роль играет дистрогликан, который образует комплекс с эзрином и активирует CDc42 – ГТФ-зависимый белок, играющий важную роль в формировании цитоскелета (Masaki T., Matsumura K. Biological role of dystroglycan in Schwann cell function and its implications in peripheral nervous system diseases // Journal of biomedicine and biotechnology. 2010. Vol. 2010. P. 1–17).

Начальная скорость роста регенерирующих аксонов составляет примерно 0,25 мм в сутки и увеличивается до 3–4 мм в сутки после прохождения зоны травмы (Алексеева Е.Б. Регенерация седалищного нерва крысы после кратковременного дозированного вытяжения его центрального отрезка : дис. ... канд. биол. наук. Казань, 2003. 92 с; Дятловицкая Э. В., Кандыба А. Г. Биоэффektorные сфинголипиды как стимуляторы роста и выживаемости клеток // Биоорганическая химия. 2004. Т.30, №3. С. 227–233; Одинак М. М., Живолупов С. А., Рашидов Н. А. [и др.] Особенности развития денервационно – реиннервационного процесса при травматических невропатиях и плексопатиях // Вестник Российской военно – медицинской академии. 2007. Т.4, №20. С. 130–140; Курахмаева К. Б., Воронина Т. А., Капица И. Г. [и др.] Нейропротекторное действие фактора роста нервов у животных // Фармация. 2008. №2. С. 38–40). Однако при расхождении центрального и периферического отрезков поврежденного нерва хаотично ветвящиеся нервные волокна образуют ампутационную неврому на конце центрального отрезка, которая препятствует реиннервации клеток-мишеней. Хирургическое восстановление целостности нерва путем удаления невромы и сшивания свободных концов

поврежденного нерва возобновляет регенерацию аксонов из его центрального сегмента (Исламов Р.Р., Валиуллин В. В., Мурашов А.К. Механизмы нейропротекторного действия эстрогенов, связанные с экспрессией сосудистого эндотелиального фактора роста // Известия РАН. Серия биологическая. 2007. №2. С. 145–156).

Аксональная регенерация – сложный процесс, в котором помимо образования цитоплазматического материала, происходят взаимодействия между конусами роста и окружающей их средой (Carlson В. М. Principles of regenerative biology. San Diego: Academic Press, 2007. 379 p; Одинак М. М., Живолупов С. А., Рашидов Н. А. [и др.] Особенности развития денервационно – реиннервационного процесса при травматических невропатиях и плексопатиях // Вестник Российской военно – медицинской академии. 2007. Т.4, №20. С. 130–140; Michalski В., Bainf J. R., Fahnestock M. Long-term changes in neurotrophic factor expression in distal nerve stump following denervation and reinnervation with motor or sensory nerve // Journal of neurochemistry. 2008. Vol. 105, Iss. 4 P. 1244–1252; Гущина С. В., Волкова О. В., Кругляков П. П. [и др.] Транскрипционная активность ядерного фактора каппа в (NF-kB) в посттравматических чувствительных нейронах (гистохимическое исследование) // Морфология. 2010. Т.137, №2. С. 18–22;). Успешная аксональная регенерация определяется микроокружением в дистальном участке нервного ствола, генерацией в нем трофических сигналов, необходимых для поддержания растущих аксонов (Michalski В., Bainf J.R., Fahnestock M. Long-term changes in neurotrophic factor expression in distal nerve stump following denervation and reinnervation with motor or sensory nerve // Journal of neurochemistry. 2008. Vol. 105, Iss. 4 P. 1244–1252; Крюков К. И., Рева Г. В., Едранов С. С. [и др.] Динамика морфологических изменений нейронов тройничного ганглия при компрессионной травме верхнечелюстного нерва крысы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2008. Т. 145, №5. Р. 597–600; Масгутов Р. Ф., Салафутдинов И. И., Богов А. А. [и др.] Стимуляция посттравматической регенерации седалищного нерва крысы с помощью плазмиды, экспрессирующей сосудистый эндотелиальный фактор роста и основной фактор роста фибробластов // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011. Т. VI, №3. С. 67–70). Шванновские клетки, формирующиеся вдоль периферических нервных волокон, в ответ на пересечение волокна синтезируют различные факторы роста, стимулирующие разрастание аксона.

Кроме взаимодействия с окружающими аксон клетками, большое значение для него имеет физический субстрат. При подходе регенерирующего аксона к поверхности мышечного волокна (в случае аксонов мотонейронов) восстановление нервно-мышечного окончания происходит за счет взаимодействий с внеклеточным матриксом и молекулярных сигналов, исходящих от органа-мишени (Архипова Е. Г. Репаративная регенерация периферических

нервов крыс после механической альтерации фармакологической модификации : дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород, 2007. 101 с; Naidu M. The role of cells, neurotrophins, extracellular matrix and cell surface molecules in peripheral nerve regeneration // *Malaysian Journal of Medical Sciences*. 2009. Vol. 16, Iss. 2. P. 10–14).

Взаимодействие между клеткой и ее субстратом чрезвычайно важно как для поддержания нормального функционирования тканей, так и для процессов миграции и изменения состояния клеток, без которых невозможно заживление и восстановление. Все более очевидно, что основная функция естественного субстрата – связывание факторов роста или других биологически активных молекул. Клетки взаимодействуют со своим субстратом посредством молекул клеточной адгезии. Эти мембранно-связанные молекулы гликопротеина опосредуют взаимодействие клеток с компонентами внеклеточного матрикса (ВКМ) или с другими клетками. Выделяют 4 класса молекул клеточной адгезии (МКА). Например, интегрины состоят из гетеродимеров с различными комбинациями α - и β -субъединиц. По крайней мере, 15 форм α -субъединиц и 8 форм β -субъединиц дают огромное количество возможных димерных вариантов интегринов. Некоторые классы МКА, например, кадгеринины опосредуют межклеточные взаимодействия, в то время как интегрины, в основном, вовлечены во взаимодействия между клетками и компонентами ВКМ. Для регенерирующих аксонов характерен специфический субстрат, состав которого определяет успех репарации. В процессе аксонального роста взаимодействие между аксоном и субстратом (шванновские клетки или базальная мембрана) опосредуется рецепторами, расположенными на поверхности аксона (Tucker B. A., Rahimtula M., Mearow K. M. Laminin and growth factor receptor activation stimulates differential growth responses in subpopulations of adult DRG neurons // *European Journal of Neuroscience*. 2006 Vol. 24, Iss. 3. P. 676–690; Deister C., Aljabari S., Schmidt C. E. Effects of collagen 1, fibronectin, laminin and hyaluronic acid concentration in multi-component gels on neurite extension // *J. Biomater. Sci. Polymer Ed.* 2007. Vol. 18, Iss. 8. P. 983–997; Yu W. M., Yu H., Chen Z. L. Laminins in Peripheral Nerve Development and Muscular Dystrophy // *Molecular Neurobiology*. 2007. Vol. 35, Iss. 3. P. 288–297). Например, ламинин связывается с рецептором в базальной мембране, а N – CAM, L1, или N – и E – кадгерин с рецептором на поверхности шванновской клетки (Naidu M. The role of cells, neurotrophins, extracellular matrix and cell surface molecules in peripheral nerve regeneration // *Malaysian Journal of Medical Sciences*. 2009. Vol. 16, Iss. 2. P. 10–14). Шванновские клетки со сниженной экспрессией ламинина характеризуются уменьшением пролиферации и дифференцировки, а также подвергаются апоптозу (Tucker B. A., Rahimtula M., Mearow K. M. Laminin and growth factor receptor activation stimulates differential growth responses in subpopulations of adult DRG neurons // *European Journal of Neuroscience*. 2006 Vol. 24, Iss. 3. P. 676–690; Deister C., Aljabari S., Schmidt C. E. Effects of collagen 1, fibronectin,

laminin and hyaluronic acid concentration in multi-component gels on neurite extension // *J. Biomater. Sci. Polymer Ed.* 2007. Vol. 18, Iss. 8. P. 983–997; Yu W. M., Yu H., Chen Z. L. Laminins in Peripheral Nerve Development and Muscular Dystrophy // *Molecular Neurobiology*. 2007. Vol. 35, Iss. 3. P. 288–297).

Когда аксон миелинизированного нервного волокна окончательно сформируется, большинство субстратно-рецепторных взаимодействий исчезает, но при повреждении и в начале процесса регенерации соответствующие молекулы вновь экспрессируются на поверхности плазматической мембраны аксона (Carlson B. M. *Principles of regenerative biology*. San Diego: Academic Press, 2007. 379 p; Минасян А. Л., Азнаурян А. В., Меликсетян И. Б. [и др.] Развитие нейродегенеративных процессов во флексорном и экстензорном ответвлениях седалищного нерва после его раздавливания; регенерация под действием обогащенного пролином пептида // *Нейрохимия*. 2011. Т.28, №4. С. 315–322).

ШК продуцируют большое количество фактора роста нервов (NGF) и мозгового нейротрофического фактора (BDNF) помимо синтеза лент Бюнгнера. Использование базальной мембраны в качестве физического субстрата обеспечивает свободный доступ аксонов к этим факторам роста. Подобная синтезирующая деятельность ШК проявляется под действием интерлейкина-1, выделяемого вторгающимися макрофагами. Уровень NGF возрастает в 10–15 раз по сравнению с нормой в течение 24 часов после аксотомии и остается повышенным на протяжении 2-х недель. Количество BDNF, благодаря которому поддерживается регенерация не только двигательных, но и чувствительных, а также симпатических нейронов, увеличивается в течение 3-4 дней и достигает максимума примерно через 4 недели. Выработка факторов роста возвращается к нормальному уровню после завершения стадии разрастания аксона (Carlson B. M. *Principles of regenerative biology*. San Diego: Academic Press, 2007. 379 p). Таким образом, с одной стороны, шванновские клетки являются источником растворимых факторов, стимулирующих регенерацию аксонов, а, с другой стороны, экспрессируют на своей поверхности факторы, способствующие адгезии конуса роста (Серяков В. И. Регенерация периферического нерва после микрохирургического шва под влиянием D, L – карнитина : дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 2007. 211 с).

Наряду с участием в активации аксональной регенерации, определенные компоненты субстрата способны к ее замедлению. Хотя основная доля миелина в дистальном сегменте нервного волокна и удаляется макрофагами, оставшиеся остатки миелина могут выступать локальными ингибиторами регенерации. Боковые цепи некоторых протеогликанов, таких как хондроитин сульфат и кератин сульфат, также могут замедлять этот процесс. Аксональная регенерация с использованием трансплантатов периферических нервов облегчается при удалении этих цепей ферментативным способом (Carlson B. M. *Principles of regenerative biology*.

San Diego: Academic Press, 2007. 379 p). Известно, что основными ингибиторами аксональной регенерации являются Nogo-A, миелин-ассоциированный гликопротеин и миелин олигодендроцит гликопротеин. Они могут связываться с рецептором Lingo-1 и отрицательно влиять на аксональный спрутинг и миелинизацию в ЦНС. Было установлено, что блокада данного рецептора может служить разумной стратегией в стимуляции нервной регенерации и функциональном восстановлении (Wu H. F., Cen J. S., Zhong Q. [et al.] The promotion of functional recovery and nerve regeneration after spinal cord injury by lentiviral vectors encoding Lingo-1 shRNA delivered by Pluronic F-127 // *Biomaterials*. 2013. Vol. 34, Iss. 6. P. 1686–1700; Zhang Y., Zhang Y. P., Pepinsky B. [et al.] Inhibition of LINGO-1 promotes functional recovery after experimental spinal cord demyelination // *Exp Neurol*. 2015. Vol. 266. P. 68–73).

В исследованиях *in vivo* было показано, что регенерирующие аксоны обладают замечательной особенностью расти по направлению к концевой пластинке на мышечном волокне. В экспериментах на мышцах исследователи использовали желтые и голубые флуоресцентные метки, связывающиеся с фрагментом гена *thyl*, отвечающего за экспрессию специфических нейрональных веществ. Была отмечена аксональная регенерация примерно на 95 % после травмы. В то время как отсутствие этого гена приводило к регенерации, менее чем на 5 % (Carlson B. M. *Principles of regenerative biology*. San Diego: Academic Press, 2007. 379 p; Moore A. M., Borschel G. H., Santosa K. A. [et al.] A transgenic rat expressing green fluorescent protein (GFP) in peripheral nerves provides a new hindlimb model for the study of nerve injury and regeneration // *Journal of neuroscience methods*. 2012. Vol. 204, Iss. 1. P. 19–27).

Другие компоненты ВКМ, такие как гиалуроновая кислота и молекулы, связывающие воду, в еще большей степени оказывают влияние на поведение клеток в регенерирующих системах. Как в ходе эмбрионального развития, так и в процессе регенерации, накопление гиалуроновой кислоты обычно предшествует миграции клеток. Клетки связываются со своим субстратом посредством взаимодействия рецептора (например, RGD (Arg–Gly–Asp) последовательность фибронектина) с компонентами субстрата по типу фокальной адгезии (клетка – внеклеточный матрикс). Сложнейшие механизмы обнаружения неподвижного субстрата через взаимодействия адгезионных центров с субстрат-связывающимися лигандами могут сильно влиять на дифференциацию. Даже механическая деформация субстрата способна открыть или скрыть субстрат-связывающиеся факторы роста и другие активные молекулы. Однако субстрат – не простой механический каркас. Различные факторы роста связываются с молекулами матрикса, до того как они в результате деятельности ферментов высвобождаются в непосредственной близости от клеток. Другие молекулы остаются связанными с клетками. Из-за связывания с субстратом факторы роста оказываются доступными, когда это необходимо. Кроме этого, близко расположенные клетки остаются защищенными от их неизбирательной

активности. Субстрат выступает в качестве среды для переноса локальных химических сигналов (факторов роста или паракринных сигналов от близлежащих клеток). При удлинении аксонов сигнальные молекулы, связанные с субстратом, служат ориентирами для растущих аксонов. Исходя из этого, в успех регенерации значительный вклад вносят взаимодействия между регенерирующими клетками и тканевым матриксом (Carlson B. M. Principles of regenerative biology. San Diego: Academic Press, 2007. 379 p).

Таким образом, у высших животных и человека существуют различные механизмы, направленные на регенерацию поврежденного нервного волокна. Ведущим механизмом репарации нервной ткани является восстановление мембранных структур и функциональной активности клеточных мембран, что находит отражение в росте и ремиелинизации аксонов. Однако изменение количественного состава фосфолипидов, локализованных в мембранах, накопление лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в результате активации липолитических ферментов, интенсификация процессов перекисного окисления липидов, формирование соединительнотканного рубца и наличие естественного механизма сдерживания роста поврежденных аксонов служат препятствием на пути к самостоятельному восстановлению нервных проводников. В этой связи непрерывно растет интерес к различным способам оптимизации аксональной регенерации. Сегодня становится очевидным, что только путем использования биоматериалов, содержащих биологически активные вещества и обладающих такими свойствами, как биосовместимость, биологическая активность, отсутствие антигенных свойств и биodeградируемость можно добиться определенных успехов в восстановлении функционирования нервных проводников.

1.3 Современные методы стимуляции восстановления нервных волокон и роль гиалуроновой кислоты в процессах регенерации

В настоящее время существуют принципы оперативных подходов к восстановлению поврежденного нерва, причем развитие хирургии достигло определенного предела и уже незначительно влияет на улучшение функциональных исходов восстановления иннервации (Голубев В. Г., Еськин Н. А., Крупаткин А. И. Применение новых диагностических технологий при повреждении периферических нервов // Вестник Российской АМН. 2008. №8. С. 40–43).

В связи с этим, в последние десятилетия ведется активный поиск различных веществ, клеточных линий, полимеров, тканей, трансплантируемых в зону повреждения периферических нервов (Федяков А. Г. Экспериментально-клиническое обоснование применения биополимерных материалов в хирургии периферических нервов : дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2010. 97 с; Ponomarenko O. V. Correction of neurotrophic disorders in patients, suffering

consequences of a spinal cord and peripheral nerves trauma // *Klin Khir.* 2014. Iss. 8. P. 62–64; Cinteza D., Persinaru I., Maciuceanu Zarnescu B. M. [et al.] *Peripheral Nerve Regeneration - an Appraisal of the Current Treatment Options // Maedica (Buchar).* 2015. Vol. 10, Iss. 1. P. 65–68). Одним из перспективных подходов для улучшения регенерации нервной ткани считается использование фармакологических стимуляторов регенерации. Следует учесть, что потенциальный стимулятор регенерации должен проявлять нейротрофическое и нейротропное действие, поддерживать посттравматическое выживание нейронов, ветвление и удлинение их отростков. Такими свойствами в равной степени обладают нейротрофические факторы, гормоны, ряд веществ различной химической природы (Масгутов Р. Ф. *Посттравматическая регенерация седалищного нерва крысы в условиях его тубуляции и вытяжения* : дис. ... канд. биол. наук. Саранск, 2006. 88 с).

В последнее время всё большее внимание уделяется нейротрофическим факторам (Taveggia C., Feltri M. L., Wrabetz L. *Signals to promote myelin formation and repair // Nat.Rev.Neurol.* 2010. Vol. 6, Iss. 5. P. 276–287; Allodi I., Udina E., Navarro X. *Specificity of peripheral nerve regeneration: interactions at the axon level // Prog. Neurobiol.* 2012. Vol. 98, Iss. 1. P. 16–37; Gu J., He X. R., Han Y. L. *Effect of Draconis Sanguis-containing serum on NGF, BDNF, CNTF, LNGFR, TrkA, GDNF, GAP-43 and NF-H expressions in Schwann cells // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2015. Vol. 40, Iss. 7. P. 1392–1395). К ним относятся факторы роста нервной ткани из семейства цитокинов. Так, фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF) стимулирует дифференцировку и оказывает защитное действие в симпатических, сенсорных и холинергических структурах ЦНС и периферических нервах (Курахмаева К. Б., Воронина Т. А., Капица И. Г. [и др.] *Нейропротекторное действие фактора роста нервов у животных // Фармация.* 2008. №2. С. 38–40; Джинджихашвили И. А., Курахмаева К. Б., Хосравани М. [и др.] *Возможность доставки фактора роста нервов в мозг в эксперименте in vivo // Фармация.* 2008. №5. С. 51–54; Морозова А. А., Сумбатян Н. В., Лезина В. П. [и др.] *Синтез циклических аналогов 4-й петли фактора роста нервов // Биоорганическая химия.* 2008. Т.34, №5. С. 617–629). Мозговой нейротрофический фактор (brain – derived neurotrophic factor, BDNF) участвует в развитии и сохранении нейрональных клеток, стимуляции роста аксонов, реализации антиапоптотического эффекта (Lykissas M. G., Batistatou A. K., Charalabopoulos K.A. [et al.] *The role of neurotrophins in axonal growth, guidance, and regeneration // Current Neurovascular Research.* 2007. Vol. 4, Iss. 2. P. 143–151). Семейство глиального нейротрофического фактора (glia – derived neurotrophic factor, GDNF) является нейропротектором для моторных, сенсорных, симпатических и других нейронов (Lykissas M. G., Batistatou A. K., Charalabopoulos K. A. [et al.] *The role of neurotrophins in axonal growth, guidance, and regeneration // Current Neurovascular Research.* 2007. Vol. 4, Iss. 2.

Р. 143–151; Пуздрова В. А., Каргина-Терентьева Р. А., Тарасова О. С. Влияние хронической гипотензии на адренергическое нервное сплетение подкожной артерии голени крысы и его регенерацию после повреждения бедренного нерва // Морфология. 2008. Т.133, №4. С. 15–19). Тем не менее, несмотря на перспективы клинического использования различных факторов роста в процессе регенерации нервной ткани, разнообразие оказываемых ими эффектов, сложность их регуляции, значительные различия результатов исследований *in vitro* и *in vivo*, создают существенные противоречия в эффективности их применения и требуют дальнейшего изучения.

Среди нейротрофических факторов большой интерес представляет D,L-карнитин для улучшения процессов регенерации и реиннервации при травмах периферических нервов. Экспериментально было показано, что его использование улучшает проводимость как в моторных, так и в чувствительных нервах, восстанавливает недостаточность эндоневрального кровоснабжения, повышает активность Na^+/K^+ -АТФазы и восстанавливает ретроградный аксоплазматический ток (Серяков В. И. Регенерация периферического нерва после микрохирургического шва под влиянием D, L – карнитина : дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 2007. 211 с). Тем не менее, имеющиеся в литературе противоречивые данные относительно эффективности рацемической формы D,L-карнитина и наличие противопоказаний к применению препаратов карнитина, создают ограничения для его использования в клинической практике.

Из литературы известно достаточно большое количество веществ разнообразной химической природы, оказывающих стимулирующее влияние на рост нервных волокон. Весьма перспективными фармакологическими стимуляторами регенерации нерва представляются производные пиримидина. Препараты из данной группы стимулируют посттравматическую регенерацию миелиновых волокон и поддерживают выживание аксотомированных нейронов. (Нигметзянова М. В., Рагинов И. С. Изменение экспрессии различных типов P2Y-рецепторов в нейронах спинального ганглия L5 в процессе нейроонтогенеза у крыс // Ученые записки казанского государственного университета. 2010. Т.152. С. 51–54). В экспериментах *in vitro* была обнаружена нейропротективная активность дипептида pGlu–Asp–NH₂, которую связывают с увеличением экспрессии эндогенного нейропротектора NGF и защитного белка теплового шока HSP70 (Зенина Т. А., Гудашева Т. А., Букреев Я. С. [и др.] Нейропротективный эффект дипептида AVP (4-5)-NH₂ связан с фактором роста нервов и белком теплового шока HSP70 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2007. Т. 144, №10. С. 424–426). Тем не менее, использование веществ химической природы для стимуляции регенерации нервной ткани весьма ограничено, в связи с возможным проявлением побочных реакций и трудноконтролируемым разнообразием оказываемых ими эффектов. Недавнее исследование

продемонстрировало возможность применения в лечении аутоиммунных нейропатий пептида ARA 290 – производного эритропоэтина, но не обладающего гемопоэтическими свойствами, из-за которых возникают ограничения в клиническом использовании эритропоэтина (Liu Y., Luo B., Han F. [et al.] Erythropoietin-derived nonerythropoietic Peptide ameliorates experimental autoimmune neuritis by inflammation suppression and tissue protection // PLoS One. 2014. Vol. 9, Iss. 3. P. 1–11).

Использование биополимеров является одним из перспективных направлений для посттравматической регенерации нервных волокон. К высокоэффективным биостимуляторам относятся такие биополимеры как альгинаты, коллаген, желатин, хитозан, гиалуроновая кислота, полиэфиры бактериального происхождения. При имплантации они расщепляются на более простые соединения, которые либо выводятся из организма, либо принимают активное участие в метаболизме на клеточном уровне (Севастьянов В. И. Биоматериалы, системы доставки лекарственных веществ и биоинженерия // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009. Т.11, №3. С. 69–78; Knaing Z. Z., Schmidt C. E. Advances in natural biomaterials for nerve tissue repair // Neuroscience letters. 2012. № 519. P. 103–114; Рахматуллин Р., Бурлуцкая О., Адельшина Л. [и др.] Наноструктурированный материал «Гиаматрикс» // Врач. 2011. №5. С. 22–24; Foureaux G., Franca J. R., Nogueira J. C. [et al.] Ocular Inserts for Sustained Release of the Angiotensin-Converting Enzyme 2 Activator, Diminazene Aceturate, to Treat Glaucoma in Rats // PLoS One. 2015. Vol. 10, Iss. 7. P. e0133149; Li G., Zhang L., Yang Y. Tailoring of chitosan scaffolds with heparin and γ -aminopropyltriethoxysilane for promoting peripheral nerve regeneration // Colloids Surf B Biointerfaces. 2015. Vol. 134. P. 413–422).

В эксперименте для восстановления целостности нерва используют полые проводники (кондуиты), содержащие различные биodeградирующие материалы (Kokai L. E., Bourbeau D., Weber D. [et al.] Sustained growth factor delivery promotes axonal regeneration in long gap peripheral nerve repair // Tissue engineering. 2011. Vol. 17, Iss. 9–10. P. 1263–1275; Gao H., You Y., Zhang G. [et al.] The use of fiber-reinforced scaffolds cocultured with Schwann cells and vascular endothelial cells to repair rabbit sciatic nerve defect with vascularization // Biomed Res Int. 2013. Vol. 2013. P. 1–7). Биodeградирующие материалы структурируют ткань и поддерживают ее регенерацию, а затем подвергаются рассасыванию и исчезают, не ухудшая впоследствии функцию восстановленных биологических структур (Rocha D. N., Brites P., Fonseca C. [et al.] Poly(Trimethylene Carbonate-co- ϵ -Caprolactone) Promotes Axonal Growth // PLoS One. 2014. Vol. 9, Iss. 2. P. e88593; Zhu Y., Wang A., Patel S. [et al.] Engineering bi-layer nanofibrous conduits for peripheral nerve regeneration // Tissue Engineering Part C Methods. 2011. Vol. 17, Iss. 7. P. 705–715; Gu X., Ding F., Yang Y. [et al.] Construction of tissue engineered nerve grafts and their application in peripheral nerve regeneration // Progress in neurobiology. 2011. Vol. 93, Iss. 2.

P. 204–230; (Seidlits S. K., Khaing Z. Z., Petersen R. R. [et al.] The effects of hyaluronic acid hydrogels with tunable mechanical properties on neural progenitor cell differentiation // *Biomaterials*. 2010. Vol. 31, Iss. 14. P. 3930–3940; Barreiros V. C., Dias F. J., Iyomasa M. M. [et al.] Morphological and morphometric analyses of crushed sciatic nerves after application of a purified protein from natural latex and hyaluronic acid hydrogel // *Growth Factors*. 2014. Vol. 32, Iss. 5. P. 164–170; Dorsey S. M., McGarvey J. R., Wang H. [et al.] MRI evaluation of injectable hyaluronic acid-based hydrogel therapy to limit ventricular remodeling after myocardial infarction // *Biomaterials*. 2015. Vol. 69. P. 65–75; Yang B., Guo X., Zang H. [et al.] Determination of modification degree in BDDE-modified hyaluronic acid hydrogel by SEC/MS // *Carbohydr Polym*. 2015. Vol. 131. P. 233–239). Среди них гидрогель BD™ PuraMatrix™, гель «СфероГель» и мембрана «ЭластоПОБ», материал «Лит Ар», наноструктурированные биоматериалы (Khoshakhlagh P., Moore M. J. Photoreactive interpenetrating network of hyaluronic acid and Puramatrix as a selectively tunable scaffold for neurite growth // *Acta Biomater*. 2015. Vol. 16. P. 23–35; McGrath A. M., Novikova L. N., Wiberg M. [et al.] BD™ PuraMatrix™ peptide hydrogel seeded with Schwann cells for peripheral nerve regeneration // *Brain Research Bulletin*. 2010. Vol. 83, Iss. 5. P. 207–213; Севастьянов В. И. Биоматериалы, системы доставки лекарственных веществ и биоинженерия // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2009. Т.11, №3. С. 69–78; Федяков А. Г. Экспериментально-клиническое обоснование применения биополимерных материалов в хирургии периферических нервов : дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2010. 97 с; Сергеев С. М. Стимуляция посттравматической регенерации периферического нерва в зоне диастаза : экспериментально-морфологическое исследование : автореферат дис. ... канд. мед. наук. Саранск, 2009. 24 с; Sivoletta S., Brunello G., Ferrarese N. [et al.] Nanostructured guidance for peripheral nerve injuries: a review with a perspective in the oral and maxillofacial area // *Int. J. Mol. Sci*. 2014. Vol. 15, Iss. 2. P. 3088–3117; Сейфулла Р. Д., Суслина З. А., Куликова Е. В. [и др.] Перспективы применения нанотехнологий в клинической неврологии // *Технологии. Перспективы применения нанотехнологий в клинической неврологии*. 2008. Т.2, №2. С. 35–42). В настоящее время в эксперименте на животных их сравнивают между собой по эффективности поддержания регенерации нервных волокон. В одном из исследований была показана эффективность использования гидрогеля, состоящего из полиэтиленгликоля и фумарата, и содержащего положительно заряженные мономерные единицы. Положительно заряженный гидрогель обеспечивал прикрепление эксплантов, состоящих из сенсорных нейронов и шванновских клеток, благодаря чему ШК оставались жизнеспособными на протяжении трех недель. К тому же наблюдался ускоренный рост аксонов (Dadsetan M., Knight A. M., Lu L. [et al.] Stimulation of neurite outgrowth using positively charged hydrogels // *Biomaterials*. 2009. Vol. 30, Iss. 23 – 24. P. 3874–3881). На примере геля, состоящего из фибрина, гепарина и ассоциированного с ними

фактора роста нервов было показано дозозависимое и времязависимое высвобождение NGF, что особенно важно для аксональной регенерации ввиду быстрой деградации фактора роста нервов (Lee J. Y., Kim S. M., Kim M. J. Controlled release of nerve growth factor from heparin-conjugated fibrin gel within the nerve growth factor-delivering implant // *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2014. Vol. 40, Iss. 1. P. 3–10).

Несмотря на большое количество веществ, оказывающих стимулирующее влияние на восстановление нервных волокон, для большинства из них механизм действия остается недостаточно изученным. Кроме этого, ряд недостатков и побочные эффекты ограничивают их использование в клинической практике. В связи с этим, возникает необходимость в поиске новых методов, способствующих регенерации нервной ткани и восстановлению функций поврежденных соматических нервов. Весьма перспективным направлением в этой области является использование биологических стимуляторов регенерации (Исламов Р.Р., Валиуллин В. В., Мурашов А.К. Механизмы нейропротекторного действия эстрогенов, связанные с экспрессией сосудистого эндотелиального фактора роста // *Известия РАН. Серия биологическая.* 2007. №2. С. 145–156; Wei S. Y., Zhang P. X., Han N. [et al.] Effects of Hedysari Polysaccharides on regeneration and function recovery following peripheral nerve injury in rats // *The American Journal of Chinese Medicine.* 2009. Vol. 37, Iss.1. P. 57–67; Ma J., Li W., Tian R. [et al.] Ginsenoside Rg1 promotes peripheral nerve regeneration in rat model of nerve crush injury // *Neuroscience Letters.* 2010. Vol. 478, Iss. 2. P. 66–71; Ozkan M., Gokmen N., Yilmaz O. [et al.] Effect of Erythropoietin on Peripheral Nerve Regeneration // *Journal of Neurological Sciences.* 2010 Vol. 27, Iss. 1. P. 35–42). Одним из таких веществ является гиалуроновая кислота. Высокая биосовместимость и биологическая активность гиалуроновой кислоты, отсутствие антигенных свойств, антиоксидантное действие и способность к стимуляции процессов регенерации позволяют широко использовать ее в различных областях медицины (Price R. D., Berry M.G., Navsaria H. A. Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence // *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery.* 2007. Vol. 60, Iss. 10. P. 1110–1119; Забненкова О.В., Пирогова А. С., Павленко О. Ю. Гиалуроновая кислота: новая эра внутридермальных наполнителей // *Вестник эстетической медицины.* 2009. Т. 8, №2. С. 83–88; Севастьянов В.И. Биоматериалы, системы доставки лекарственных веществ и биоинженерия // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2009. Т.11, №3. С. 69–78; Takeda K., Sakai N., Shiba H. [et al.] Characteristics of high-molecular-weight hyaluronic acid as a brain-derived neurotrophic factor scaffold in periodontal tissue regeneration // *Tissue Engineering.* 2011. Vol. 17, Iss.7–8. P. 955–965; Канюков В. Н., Стадников А. А., Трубина О. М. [и др.] Особенности регенерации роговицы при применении биопластического материала на основе гиалуроновой кислоты // *Вестник Оренбургского государственного университета.* 2012. Т. 148, №12. С. 76–79;

Collins M. N., Birkinshaw C. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering – A review // Carbohydrate Polymers. 2013. Vol. 92, Iss. 2. P. 1262–1279). Тем не менее, данные о влиянии гиалуроновой кислоты на регенерацию периферической нервной системы практически отсутствуют.

По химической природе гиалуроновая кислота – отрицательно заряженный биополимер с молекулярной массой от 10^4 до 10^7 кДа, представляющий собой гликозаминогликан, состоящий из чередующихся остатков N-ацетил- β -D-глюкозамина и β -D-глюкуроновой кислоты, соединенных между собой β -1,3- и β -1,4-гликозидными связями соответственно (рисунок 1.1).

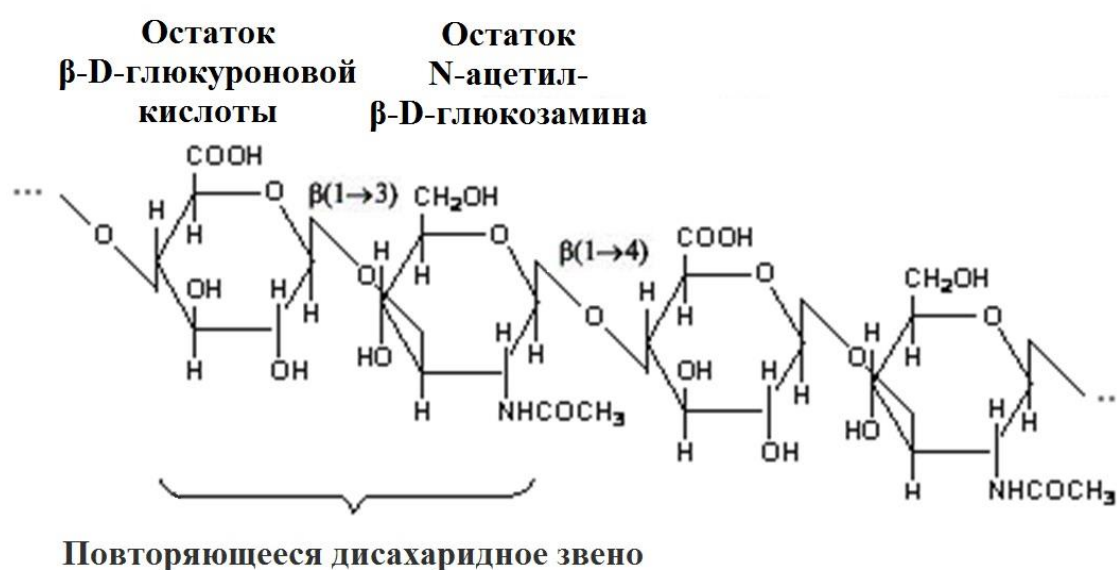


Рисунок 1.1 Структурная формула гиалуроновой кислоты

Впервые о необычном полисахариде было упомянуто в работе Karl Meyer и John Palmer, опубликованной в 1934 г. Из стекловидного тела бычьего глаза они выделили кислый полисахарид с очень высокой молекулярной массой. И именно они предложили название гиалуроновая кислота (hyaluronic acid от hyaloid – стекловидный и uronic acid – уроновая кислота). Вскоре выяснилось, что биополимер распространен и среди бактерий. Kendal и Dawson в 1937 г. сообщили о выделении из культуральной жидкости гемолитического стрептококка полисахарида, осаждающегося уксусной кислотой и этиловым спиртом. Но лишь через 20 лет после выхода этой работы полная структура и мономерный состав гиалуроновой кислоты были окончательно установлены (Collins M. N., Birkinshaw C. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering – A review // Carbohydrate Polymers. 2013. Vol. 92, Iss. 2. P. 1262–1279; Якимов Л. А., Найманн А. И., Текеев И. А. Использование искусственной синовиальной жидкости при лечении остеоартроза // Кафедра травматологии и ортопедии. 2013. Т. 1, № 5. С. 11–13).

Синтез гиалуронана производится тремя различными, но родственными гиалуронан-синтазами, которые являются трансмембранными белками плазматической мембраны. У человека имеются три гиалуронан-синтазы: HAS1, HAS2 и HAS3, которые кодируются различными генами, локализованными на разных хромосомах. Каждый из синтезируемых HAS-белков играет специфическую роль в биосинтезе гиалуроновой кислоты:

-HAS1 – белок осуществляет медленный синтез высокомолекулярного гиалуронана;

-HAS2 – белок значительно активнее, чем HAS1, и также синтезирует высокомолекулярную ГК с молекулярной массой (М) до 2 млн Да;

-HAS3 – белок синтезирует более короткие цепи с $M=(2-3) \times 10^5$ Да (Хабаров В. Н., Бойков П. Я., Чижова Н. А. [и др.] Значение параметра молекулярной массы гиалуроновой кислоты в препаратах для эстетической медицины // Вестник Эстетической Медицины. 2009. Т. 8, № 4. С. 16–20).

Известно, что гиалуроновая кислота является одним из основных компонентов межклеточного матрикса, который представляет собой микроокружение для регенерирующих нервных волокон (Kazantsev V., Gordleeva S., Stasenko S. [et al] A homeostatic model of neuronal firing governed by feedback signals from the extracellular matrix // PLoS One. 2012. Vol.7, Iss. 7. P. e41646). Показано, что микроокружение играет важную роль для управления ростом нервных волокон (Madison R. D., McGee C., Rawson R. [et al.] Extracellular vesicles from a muscle cell line (C2C12) enhance cell survival and neurite outgrowth of a motor neuron cell line (NSC-34) // J Extracell Vesicles. 2014. Iss. 3. P. 1–9). Так, одним из основных препятствий для регенерации волокон периферических нервов является образование рубцовой ткани в области прорастания аксонов (Ikeda K., Yamauchi D., Osamura N. [et al.] Hyaluronic acid prevents peripheral nerve adhesion // The British Association of Plastic Surgeons. 2003. Vol. 56, Iss. 4. P. 342–347). При формировании глиальных рубцов в местах повреждения нервной ткани увеличивается содержание кератан – сульфат протеогликанов, ограничивая тем самым регенерацию аксонов. Использование мембраны, состоящей из двух химически связанных полимеров, таких как гиалуроновая кислота и карбоксиметилцеллюлоза уменьшает образование рубца после травмы (Park J. S., Lee J. H., Han C. S. [et al.] Effect of hyaluronic acid-carboxymethylcellulose solution on perineural scar formation after sciatic nerve repair in rats // Clinics in Orthopedic Surgery. 2011. Vol. 3, Iss. 4. P. 315–324). Кроме этого, недавние исследования продемонстрировали, что в качестве каркаса для мозгового нейротрофического фактора может выступать высокомолекулярная гиалуроновая кислота, которая способна высвободить небольшие дозы BDNF на протяжении 2-х недель (Takeda K., Sakai N., Shiba H. [et al.] Characteristics of high-molecular-weight hyaluronic acid as a brain-derived neurotrophic factor scaffold in periodontal tissue regeneration // Tissue Engineering. 2011. Vol. 17, Iss.7-8. P. 955–965; Rayahin J. E., Buhrman J. S.,

Zhang Y. [et al.] High and low molecular weight hyaluronic acid differentially influence macrophage activation // *ACS Biomater Sci Eng.* 2015. Vol. 1, Iss. 7. P. 481–493).

Таким образом, гиалуроновая кислота не является простой пассивной макромолекулой соединительной ткани, а выступает в качестве метаболически высокоактивного биополимера. Она принимает активное участие во многих жизненно важных физиологических процессах: от клеточной коммуникации, миграции и дифференциации до регуляции процессов, протекающих в межклеточном матриксе, и активации метаболизма клеточных структур (Гольцова Е.Н. Изучение влияния концентрации гиалуроновой кислоты на жизнеспособность моноклеарных клеток в культуре *in vitro* // *Вестник Уральской медицинской академической науки.* 2012. №4. С. 26; Хабаров В. Н., Бойков П. Я., Селянин М. А. Гиалуроновая кислота: получение, свойства, применение в биологии и медицине. М.: Практическая медицина, 2012. 224 с). К настоящему времени выделены белки-рецепторы, которые связывают гиалуроновую кислоту на поверхности цитоплазматической мембраны. Это высокоафинный рецептор CD44, рецептор RHAMM (рецептор гиалуроновой кислоты, опосредующий подвижность) и ICAM – 1 (Хабаров В. Н., Бойков П. Я., Селянин М. А. Гиалуроновая кислота: получение, свойства, применение в биологии и медицине. М.: Практическая медицина, 2012. 224 с.; Collins M.N., Birkinshaw C. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering – A review // *Carbohydrate Polymers.* 2013. Vol. 92, Iss. 2. P. 1262–1279;). Известно, что в развитии центральной нервной системы немаловажную роль играет гиалуроновая кислота, которая связывается со специфическими рецепторами CD44 и RHAMN разных клеточных популяций (Mészár Z., Felszeghy S., Veress G. [et al.] Hyaluronan accumulates around differentiating neurons in spinal cord of chicken embryos // *Brain Research Bulletin.* 2008. Vol. 75, Iss. 4. P. 414–418; Isa I. L., Srivastava A., Tiernan D. [et al.] Hyaluronic Acid Based Hydrogels Attenuate Inflammatory Receptors and Neurotrophins in Interleukin-1 β Induced Inflammation Model of Nucleus Pulposus Cells // *Biomacromolecules.* 2015. Vol. 16, Iss. 6. P. 1714–1725). Гиалуроновая кислота, взаимодействуя с рецептором CD44, вызывает активацию матриксной металлопротеиназы, которая регулирует клеточную подвижность (Isacke M. C., Yarwood H. The hyaluronan receptor, CD44 // *Int J Biochem Cell Biol.* 2002. Vol. 34, Iss. 7. P. 718 –721). Показано, что при повреждении седалищного нерва происходит снижение активности матриксной металлопротеиназы – 9, что ингибирует синтез гиалуроновой кислоты (Yong N., Guoping C. Upregulation of matrix metalloproteinase-9 dependent on hyaluronan synthesis after sciatic nerve injury // *Neuroscience Letters.* 2008. Vol. 444, Iss. 3. P. 259–263). Также экспериментально доказано, что введение гиалуроновой кислоты *in vivo* стимулирует выработку эндогенной гиалуроновой кислоты (Самойленко А. В. Гиалуроновая кислота в лечении и профилактике цилиохориоидальной отслойки // *Глаукома: научно-клинический журнал.* 2004. №4. С. 22–26). Многообразные биологические функции

гиалуронана зависят от величины молекулярной массы гиалуронана, т.е. фактически от размера макромолекулы. По литературным данным, гиалуронан с молекулярной массой 10×10^4 Да стимулирует пролиферацию фибробластов человека в матрице коллагена, а с молекулярной массой 860000 Да ускоряет размножение роговичных эпителиальных клеток. Биополимер с молекулярной массой 400000-1000000 Да, напротив, ингибирует пролиферацию нормальных эндотелиальных клеток (Хабаров В. Н., Бойков П. Я., Селянин М. А. Гиалуроновая кислота: получение, свойства, применение в биологии и медицине. М.: Практическая медицина, 2012. 224 с).

Установлено, что гиалуроновая кислота проходит стадии от высокомолекулярного полимера до коротких полисахаридных фрагментов под действием фермента – гиалуронидазы (Чернова В. В., Володина В. П., Кулиш Е. И. [и др.] Деструкция хитозана в растворе под действием фермента гиалуронидазы // Вестник Башкирского университета. 2009. Т. 14, №1. С. 44–47). Недавние исследования продемонстрировали, что эти фрагменты (в частности, тетрасахаридные остатки гиалуроновой кислоты) приобретают новые свойства, защищая нейроны от гибели и способствуя их регенерации (Torigoe K., Tanaka H. F., Ohkochi H. [et al.] Hyaluronan tetrasaccharide promotes regeneration of peripheral nerve: In vivo analysis by film model method // Brain research. 2011. №1385. P.87–92). Фрагменты среднего размера (25–50 дисахаридов) демонстрируют иммуностимулирующие и сильные ангиогенные характеристики, ускоряют развитие воспалительных процессов. Олигосахариды меньшего размера служат индукторами белков теплового шока и антиапоптозными факторами. Например, Hsp70 подавляет апоптоз, предотвращая выработку каспазы-3 (семейство генов каспаз кодирует группу протеаз, участвующих в апоптозе путем каскадной активации одного фермента другим, приводя в итоге к гибели клетки). Тетрасахарид гиалуронана активирует фактор теплового шока 1 (HSF1). Белок HSF1 при активации фосфорилируется и транспортируется из цитоплазмы в ядро, где он связывается с элементом теплового шока в ДНК и таким образом активирует ген для Hsp72 в стрессовых ситуациях. Одни олигосахариды с малой молекулярной массой выполняют функции эндогенных сигналов тревоги, клеточного стресса, другие – запускают различные сигнальные пути регуляции. Так, гиалуроновая кислота с молекулярной массой 1300-4500 Да (3 – 10 дисахаридных единиц) инициирует размножение эндотелиальных клеток. Напротив, фракция гиалуроновая кислота с молекулярной массой в диапазоне 1300-7200 Да (3-16 дисахаридных единиц) ингибирует *in vitro* пролиферацию нормальных клеток эндотелия, но не подавляет размножение нормальных фибробластов и нормальных гладкомышечных клеток (Хабаров В. Н., Бойков П. Я., Селянин М. А. Гиалуроновая кислота: получение, свойства, применение в биологии и медицине. М.: Практическая медицина, 2012. 224 с). Сообщается, что повышение активности гиалуронидаз является одним из

стимулирующих факторов для повышения активности фибробластов, участвующих в синтезе новых молекул гиалуроновой кислоты (Забненкова О. В., Пирогова А. С., Павленко О. Ю. Гиалуроновая кислота: новая эра внутридермальных наполнителей // Вестник эстетической медицины. 2009. Т. 8, №2. С. 83–88). С другой стороны, было показано, что разрушение внеклеточного матрикса путем деградации гиалуроновой кислоты приводит к модуляции биоэлектрической активности нейронных сетей мозга с формированием стойкой эпилептоподобной активности (Мухина И. В., Ведунова М. В., Сахарнова Т. А. [и др.] Модуляция биоэлектрической активности первичной культуры гиппокампа посредством энзиматического воздействия на внеклеточный матрикс // Современные технологии в медицине. 2012. №1. С. 7–14).

Таким образом, гиалуронан обладает необычайно широким спектром размероспецифической активности, а набор фрагментов гиалуроновой кислоты служит информационным полем для регуляторных систем (Забненкова О.В., Пирогова А.С., Павленко О.Ю. Гиалуроновая кислота: новая эра внутридермальных наполнителей // Вестник эстетической медицины. 2009. Т. 8, №2. С. 83–88).

Глава 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объект исследования и постановка опыта

Объектом исследования служили седалищные нервы белых беспородных крыс. В первой серии эксперимента опытные нервы раздражали с частотой 100 имп/с в течение 5 минут, после чего исследовали изменение липидного состава, интенсивности перекисного окисления липидов, активности фосфолипазы A_2 , фазового состояния липидов нервного волокна при проведении возбуждения. Контролем служили нераздраженные нервы.

Во второй серии эксперимента для создания модели патологического процесса проводили перерезку седалищного нерва крысы. У животных первой опытной группы, наркотизированных диэтиловым эфиром, перерезали один из седалищных нервов, после чего рану зашивали. У животных второй опытной группы сразу после перерезки проводили интраоперационное введение гиалуроната калия (Hyaluronic acid potassium salt from human umbilical cord, Sigma) в концентрациях 2 мг/кг, 17 мг/кг и 30 мг/кг. Контролем служил неповрежденный седалищный нерв крысы. Проксимальный и дистальный концы седалищных нервов, а также контрольные нервы выделяли через 12 ч., 24 ч., 3 сут., 7 сут. и 30 сут. после повреждения. Эффективность регенерации оценивали по способности проводить потенциал действия, изменению липидного состава, фазового состояния и интенсивности перекисного окисления липидов в разных участках поврежденного нервного волокна.

В третьей серии эксперимента для создания модели патологии на один из седалищных нервов крысы накладывали лигатуру. У животных первой опытной группы, наркотизированных диэтиловым эфиром, перевязывали один из седалищных нервов, после чего рану зашивали. У животных второй опытной группы сразу после перевязки проводили интраоперационное введение гиалуроната калия (Hyaluronic acid potassium salt from human umbilical cord, Sigma) в концентрациях 2 мг/кг, 17 мг/кг и 30 мг/кг. Контролем служил неповрежденный седалищный нерв крысы. Седалищные нервы извлекали через 12 ч., 24 ч., 3 сут., 7 сут. и 30 сут. после повреждения и определяли активность фосфолипазы A_2 , а также фазовое состояние липидов нервных волокон.

2.2. Экстракция липидов из нервной ткани

Экстракцию липидов из нервной ткани проводили по методу Блайя-Дайера (Bligh E., Dyer W. Rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physion. 1959. Vol. 37, Iss. 8. P. 911–917). Изолированные нервы (150 мг) фиксировали в жидком азоте и

гомогенизировали в 3 мл смеси хлороформ/метанол/вода (1/2/0,8, по объему). Полученный гомогенат сливали в колбу с притертой пробкой, доводили общий объем до 10 мл. Через час содержимое сливали через складчатый фильтр. Колбу ополаскивали 5 мл вышеуказанной смеси и сливали туда же. Для отделения нелипидных водорастворимых примесей в полученную смесь добавляли 4 мл хлороформа и 4 мл воды, встряхивали и центрифугировали в течение 15 минут при 3000 оборотах в минуту. В этих условиях происходит деление раствора на две фазы: верхняя – водно-метанольная, содержащая водорастворимые компоненты, на границе фаз – белая пленка – протеолипиды, и нижняя фаза – хлороформная, содержащая липиды. Нижнюю фракцию осторожно отделяли и сливали в предварительно взвешенную выпаривательную колбу.

Экстракцию липидов вышеуказанным методом проводили при пониженной температуре (4 °С). Конечный экстракт в выпаривательной колбе упаривали на роторном испарителе ИР 1МЗ (Россия) до постоянного веса в токе азота. Полученные липиды растворяли в смеси хлороформ/метанол (2/1, по объему) до концентрации 20 мг/мл. Липиды хранили при низкой температуре (–20 °С) в атмосфере азота.

2.3. Хроматографические методы анализа

2.3.1. Микротонкослойная хроматография липидов

Хроматографическое разделение проводили в тонком слое силикагеля, нанесенного на стеклянную пластинку. Использовали как стандартные пластинки НРТLC Silicagel 60 F254 (Merck, Германия), так и приготовленные в лабораторных условиях. Для разделения липидов использовали хроматографические камеры. Стенки их изнутри выстилали фильтровальной бумагой, что ускоряло насыщение парами растворителей. Системы растворителей в камерах готовили за 1-1,5 часа до анализа.

Образцы, предназначенные для разделения, наносили с помощью автоматического аппликатора Automatic TCL-Sampler 4 (Camag, Швейцария) на расстоянии 0,7-1 см от краев пластины по 20 мкл в виде полосы (одномерное разделение). Для разделения фосфолипидов использовали одномерную хроматографию в системе растворителей: хлороформ/метанол/вода/аммиак (60/34/4/2) (Reich E., Schibli A. A standardized approach to modern high performance thin-layer chromatography (HPTLC) // J. Planar Chromatogr. 2004. Vol. 6, Iss. 17. P. 438–443; Handloser D., Widmer V., Reich E. Separation of phospholipids by HPTLC – an investigation of important parameters // Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. 2008. Iss. 31. P. 1857–1870) и хлороформ/метанол/ледяная уксусная кислота/вода (60/50/1/4)

(Эванз У. Г., Морре Д. Д., О'Брайтман Э. [и др.] Биологические мембраны. Методы. М.: Мир, 1990. 424 с). Для разделения ДАГ использовали систему гептан/диэтиловый эфир/ледяная уксусная кислота (60/40/2 по объему) (Эванз У. Г., Морре Д. Д., О'Брайтман Э. [и др.] Биологические мембраны. Методы. М.: Мир, 1990. 424 с). В одну камеру одновременно помещали не более двух пластинок, причем так, чтобы поверхность подложки была обращена в сторону выстилающей камеру бумаги, а слои адсорбента находились на максимальном удалении друг от друга. Пластины перед нанесением прогревали в течение 30 минут при температуре 110-120 °С.

После нанесения образцов пластину помещали в хроматографическую камеру. Разделение заканчивали, когда фронт растворителей не доходил до верхнего края пластины на 0,3-0,5 см. Пластины вынимали из камеры и высушивали до исчезновения запаха растворителей.

Для обнаружения липидов нами был использован метод, основанный на окрашивании их парами йода, удобный благодаря своей универсальности и отсутствию разрушающего действия на липиды. Пластины после извлечения из хроматографической камеры высушивали и помещали в эксикатор, содержащий кристаллы йода. Липиды обнаруживали в виде коричнево-желтых пятен или полос. Пятна осторожно очерчивали мягким карандашом и ждали, чтобы йод улетучился (Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография: в 2 т. Т.2. М.: Мир, 1981. 523 с).

Обнаружение фосфолипидов проводили методом В.Е. Васьковского (Vaskovsky V.E., Kostevsky E.Y., Vasendin J. A universal reagent for phospholipids analysis // J. Chromatogr. 1975. Vol. 114, Iss. 1. P. 129–141). Сначала получали исходный реагент А. К 10 г натрия молибденовокислого в 60 мл 4н НСІ добавляли 0,4 г солянокислого гидразина в 14 мл 4н НСІ. Смесь нагревали на водяной бане в течение 20 минут, охлаждали, добавляли 14 мл концентрированной серной кислоты и доводили объем до 100 мл дистиллированной водой. Для опрыскивания пластин готовили реагент С: к 1 объему исходного реагента А добавляли 3 объема дистиллированной воды или 7 объемов 7н серной кислоты. Пятна фосфолипидов в последнем случае окрашивались в голубой цвет.

Отдельные фракции фосфолипидов идентифицировали с использованием значений R_f , специфических окрашивающих агентов и свидетелей.

Холинсодержащие фосфолипиды обнаруживали с помощью реагента Драгендорфа, который готовили следующим образом:

Раствор 1: 1,7 г нитрата висмута растворяли в 100 мл 20 % уксусной кислоты. Раствор 2: 10 г иодида калия растворяли в 25 мл воды. Смешивали 20 мл раствора 1 с 5 мл раствора 2 и добавляли 70 мл воды. Этой смесью опрыскивали пластинки. Холинсодержащие липиды

проявляются в виде оранжевых пятен (Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У. [и др.] Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. 544 с).

Для обнаружения аминоксодержащих фосфолипидов (ФЭА, ФС) использовали нингидриновый реактив. Хроматографические пластинки опрыскивали 0,15 % раствором нингидрина в ацетоне после чего нагревали до 100 °С. Аминосодержащие фосфолипиды окрашиваются в красно-фиолетовый цвет (Marinetti G. V. *New Biochemical Separations*. Princeton: Van Norstrand, 1964. 339 p).

Обнаружение свободных жирных кислот проводили с помощью бромкрезолового зеленого. К 0,3 % раствору бромкрезолового зеленого в 80 % метаноле (по объему) добавляли 8 капель 30 % раствора гидроксида натрия на 100 мл раствора. Этой смесью опрыскивали пластинки. Жирные кислоты проявлялись в виде желтых пятен на зеленом фоне (Кирхнер Ю. *Тонкослойная хроматография: в 2 т. Т.2*. М.: Мир, 1981. 523 с).

Количественное определение фосфолипидов осуществляли с помощью денситометрического автоматизированного комплекса CAMAG TLC Scanner 4 (Швейцария). Предварительно готовили реактив для окрашивания пластинок: 20 г. сульфата меди пентагидрата растворяли в 200 мл дистиллированной воды. Добавляли 8 мл серной кислоты (98 %) и 8 мл ортофосфорной кислоты (85 %). После разделения в системе растворителей, пластинку опускали в краситель на 15 секунд и сушили на воздухе, после чего нагревали на плитке при 140 °С в течение 30 минут (Reich E., Schibli A. A standardized approach to modern high performance thin-layer chromatography (HPTLC) // *J. Planar Chromatogr.* 2004. Vol. 6, Iss. 17. P. 438–443; Handloser D., Widmer V., Reich E. Separation of phospholipids by HPTLC – an investigation of important parameters // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2008. Iss. 31. P. 1857–1870). Детектирование осуществляли с помощью TCL Scanner 4 и программного обеспечения winCATS в режиме поглощения при 360 нм с дейтериевой лампой. Содержание фосфолипидов выражали отношением неорганического фосфора индивидуальных фосфолипидных фракций к суммарному неорганическому фосфору всех фосфолипидных фракций.

2.3.2. Газовая хроматография жирных кислот

Метилвые эфиры жирных кислот индивидуальных липидов и свободных жирных кислот анализировали методом газовой хроматографии (ГХ). ГХ – универсальный метод разделения разнообразных смесей веществ, испаряющихся без разложения. При этом компоненты разделяемой смеси перемещаются по хроматографической колонке с потоком инертного газа (газа – носителя). Разделяемая смесь многократно распределяется между газом – носителем

(подвижной фазой) и нелетучей неподвижной жидкой фазой, нанесенной на инертный материал (твердый носитель), которым заполнена колонка. Принцип разделения – неодинаковое сродство органических веществ к летучей подвижной фазе и стационарной фазе в колонке. Компоненты смеси селективно удерживаются неподвижной фазой, а затем выходят из колонки и регистрируются детектором (Зеленин К. Н. Газовая хроматография в медицине // Соровский образовательный журнал. 1996. №11. С. 20–25). Метод ГХ успешно сочетается с методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Вещества, полученные методом ТСХ элюируют, концентрируют и анализируют методом газовой хроматографии.

Метилирование жирных кислот. Метилирование проводили по методу Моррисона и Смита (Morrison W. R., Smith L. M. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol // J. Lipid Res. 1964. Iss. 5. P. 600–608). Силикагель, содержащий индивидуальные фосфолипиды соскребали в пробирку со шлифом, заливали 4 мл смеси хлороформ/метанол (2/1). Элюирование проводилось при постоянном перемешивании на магнитной мешалке (12 ч.). Супернатант сливали в пробирку со шлифом. Растворитель выпаривали и к сухому остатку липидов приливали 3 мл метанола, 50 мкл трехфтористого бора в метаноле и 10 мкг маргаринового кислоты. Пробирки плотно закрывали и помещали в термостат с температурой 64 °С на 1 час. Затем пробы охлаждали, в каждую пробирку добавляли 1,5 мл воды, 2 мл гексана и 1,5 мл соляной кислоты. Пробирки закрывали, энергично встряхивали 3 мин и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 мин. Верхнюю фазу, содержащую метиловые эфиры, отбирали и выпаривали в канюле током азота. Метиловые эфиры растворяли в 10 мкл гексана.

Разделение метиловых эфиров жирных кислот проводили на газовом хроматографе SHIMADZU GC-2010Plus AF (Япония).

Скорость пропускания газа устанавливали следующие: водород – 40 мл/мин, воздух – 400 мл/мин. Давление азота было постоянным – 49,5 кПа. Температура испарителя – 225 °С, детектора – 250 °С, колонок не выше 240 °С. При разделении смеси веществ применяли метод нелинейного программирования температур, т.е. программа включала несколько линейных участков с разной скоростью нагрева: T1 = 100 °С; время удерживания 4 мин; T2 = 240 °С; скорость нагрева 3 °С/мин в течение 10 мин, время анализа – 49 мин.

Анализ и обработка результатов хроматографических исследований.

Количественный анализ проводили методом внутреннего стандарта. Этот метод основан на добавлении известного количества определенного вещества, называемого «внутренним стандартом», к анализируемым смесям. Для этого калибровали прибор с использованием смеси с известным содержанием анализируемых веществ и внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта использовали маргариновую кислоту.

2.4. Определение количества диеновых конъюгатов

В ходе перекисного окисления липидов на стадии образования свободных радикалов в молекулах полиненасыщенных высших жирных кислот возникает система сопряженных двойных связей, что сопровождается появлением нового максимума в спектре поглощения – $\lambda_{\text{макс}}=233$ нм (Современные методы биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. 392 с). Для определения диеновых конъюгатов (ДК) отбирали 2 мл (С=2 мг/мл) хлороформенного экстракта липидов и выпаривали его на роторном испарителе в токе азота. После этого липиды растворяли в метанол – гептановой смеси, состоящей из 4 частей метанола и 1 части гептана (по объему). Содержание колбочек встряхивали до полного растворения липидов. Концентрация липидов доводилась данной смесью до 1 мг/мл. Измерения проводили на спектрофотометре UV-3600 (SHIMADZU) (Ревин В. В. Роль липидов в процессе проведения возбуждения по соматическим нервам : дис. ... д-ра. биол. наук. Минск, 1990. 364 с). О содержании в липидах диеновых конъюгатов судили по поглощению в области 233 нм. Концентрацию ДК в исследуемом образце рассчитывали по формуле:

$$\text{ДК} = D/E \times C$$

ДК – концентрация диеновых конъюгатов;

D – оптическая плотность исследуемого образца;

E – молярный коэффициент экстинкции, равный $2,2 \times 10^5$ моль⁻¹ × см⁻¹;

C – содержание общих липидов в пробе, мг/мл.

2.5. Определение малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты

В основе метода лежит реакция между малоновым диальдегидом и тиобарбитуровой кислотой (ТБК), которая при высокой температуре и кислом значении pH протекает с образованием окрашенного триметинового соединения, содержащего одну молекулу малонового диальдегида (МДА) и две молекулы ТБК. Максимум поглощения приходится на 535 нм (Современные методы биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. 392 с). В нашем случае брали навеску нервной ткани, фиксировали в жидком азоте и переносили в гомогенизатор (Sartorius Potter S, Германия). В гомогенизатор добавляли 3 мл 30%-ного раствора охлажденного ТХУ и 0,2 мл 5 М HCl и гомогенизировали. Полученную взвесь переносили в пробирки и добавляли 2 мл 0,6%-ного раствора ТБК; затем смесь нагревали на горячей водяной бане в течение 15 мин. После этого раствор центрифугировали и проводили

измерения на спектрофотометре UV-3600 (SHIMADZU) (Ревин В. В. Роль липидов в процессе проведения возбуждения по соматическим нервам : дис. ... д-ра. биол. наук. Минск, 1990. 364 с). Концентрацию малонового диальдегида рассчитывали по формуле:

$$\text{МДА} = D/E \times C$$

МДА – концентрация малонового диальдегида;

D – оптическая плотность исследуемого образца;

E – молярный коэффициент экстинкции, равный $1,56 \times 10^{-5}$ моль⁻¹ × см⁻¹;

C – концентрация белка в пробе, мг.

2.6. Изучение физико-химического состояния липидного бислоя нервного волокна с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния

Рамановская спектроскопия – вид спектроскопии, в основе которой лежит способность исследуемых систем (молекул) в неупругом (рамановском или комбинационном) рассеянии монохроматического света. При комбинационном рассеянии свет и вещество обмениваются энергией. В результате, частота рассеянного света может, как уменьшаться (при этом энергия переходит от света к веществу – это стоксово рассеяние), так и увеличиваться (при этом энергия переходит от вещества к свету – это анти – стоксово рассеяние). Рассеяние можно рассматривать как очень быстрый процесс поглощения и испускания фотона. При подобном поглощении фотона молекула не переходит в устойчивое возбужденное электронное состояние, если энергия фотона недостаточна для этого процесса. Она переходит в нестабильное возбужденное состояние, из которого она излучает фотон через очень короткое время. Спектр комбинационного рассеяния (КР) большинства органических молекул состоит из линий, отвечающих деформационным и валентным колебаниям химических связей углерода (С) с другими элементами, как правило, водородом (Н), кислородом (О) и азотом (N), а также характеристическим колебаниям различных функциональных групп (гидроксильной – ОН, аминогруппы – NH₂ и т.д.). Эти линии проявляются в диапазоне от 600 см⁻¹ (валентные колебания одинарных С-С связей) до 3600 см⁻¹ (колебания гидроксильной – ОН группы). Таким образом, рамановская спектроскопия нашла широкое применение в биологии для изучения культур микроорганизмов, клеточных культур, тканей и природных волокон (Руководство по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов / Под ред. С.Н. Быковского М.: Изд-во Перо, 2014. 656 с).

По спектрам комбинационного рассеяния можно оценить изменение физико-химического состояния липидного бислоя. Для выполнения этой задачи мы использовали отношения интенсивностей полос КР-спектра, позволяющие судить о конформации и составе жирных кислот липидов, а также соотношении белков и липидов:

1) Отношение интенсивности полос I_{1060}/I_{1088} – отражает отношение количества С–С связей жирных кислот в транс-конформации к количеству С–С связей жирных кислот в гош-конформации (Rooney M.W., Lange Y., Kauffman J.W. Acyl chain organization and protein secondary structure in cholesterol-modified erythrocyte membranes // J Biol Chem. 1984. Vol. 259, Iss. 13. P. 8281–8285);

2) Отношение интенсивности полос I_{1650}/I_{1445} – отражает отношение количества С=C связей жирных кислот в цис-конформации к деформационным колебаниям связи С–CH₃ между углеродом полиеновой цепи и углеродом боковой метильной цепи (Fu Y., Frederick T.J., Huff T.B. [et al.] Paranodal myelin retraction in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis visualized by coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy // Journal of Biomedical Optics. 2011. Vol. 16, Iss. 10. P. 106006);

Регистрацию спектров комбинационного рассеяния осуществляли на рамановском спектрометре *in via Basis* фирмы Renishaw с короткофокусным высокосветосильным монохроматором (фокусное расстояние не более 250 мм). Для возбуждения рамановских спектров использовался лазер (длина волны излучения 532 нм, мощность излучения 100 мВт, объектив 100х). Регистратор данных – CCD детектор (1024x256 пикселей с пельтье – охлаждением до – 70 °С) с решеткой 1800 штр/мм. Оцифрованные спектры были обработаны в программе OriginPro 8.1.

2.7. Дифференциальная сканирующая калориметрия

Метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) основан на том, что при изменении температуры в образце начинают протекать различные физические и химические процессы, сопровождающиеся либо выделением (кривая охлаждения), либо поглощением (кривая нагревания) тепла. Измерительная камера ДСК состоит из двух ячеек, в одной находится исследуемый образец, а в другую, называемую ячейкой сравнения, помещают эталон. Между тиглем и термопарой находится теплопроводящая колонка, которая позволяет измерять усредненную температуру со всей площади тигля. Экспериментально измеряется временная зависимость разницы температур между ячейкой с образцом и ячейкой сравнения. Тепловой поток измеряется как разница температур в двух точках измерительной системы в один момент времени.

Исследование температуры фазового перехода проводили с помощью дифференциального сканирующего калориметра Модуль DSC822^e (Швейцария). Измерения осуществлялись при скорости нагрева 3 °С в минуту в диапазоне температур от -60 до 60 °С в токе азота. Для обработки и анализа термограмм липидов использовали пакеты программного обеспечения STAR^e.

2.8. Определение активности фосфолипазы A₂ в гомогенате из нервной ткани

Нерв крысы гомогенизировали в 6 мл 0,05 М ацетатного буфера, рН 5,2; содержащего 0,15М NaCl. После озвучивания смеси ультразвуком 22 кГц в течение 1-2 мин. гомогенат оставляли на 18 часов при температуре 40 °С. После подкисления концентрированной HCl до рН 4,0 раствор гомогената подвергали нагреванию при 70 °С в течение 5 мин., что сопровождается изменением цвета от кремового до темно-серого. Затем гомогенат быстро охлаждали до 40 °С, нейтрализовали с помощью 5н NaOH и центрифугировали при 5000 об/мин 20 мин. Образовавшийся осадок удаляли, супернатант желтого цвета проводили через бумажный фильтр. В отфильтрованном прозрачно – желтом супернатанте определяли белок по методу Лоури (Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. [et al.] Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, Iss. 1. P. 265–275).

Активность ФЛА₂ определяли по накоплению свободных жирных кислот на газовом хроматографе фирмы Shimadzu GS 2010 (Япония). Реакционная среда для определения активности Ca²⁺-зависимой фосфолипазы A₂ содержала 10 мМ Трис, 0,05 М NaCl, 5 мМ CaCl₂, 0,5 % детергента тритон X-100, рН 8. Реакционная среда для определения активности Ca²⁺-независимой фосфолипазы A₂ содержала 10 мМ Трис, 0,05 М NaCl, 1 мМ ЭГТА (этиленгликольтетрауксусная кислота), 0,5 % детергента тритон X-100, рН 8 (Владимиров Ю.А. Физико-химические основы патологии клетки: роль кальция и фосфолипазы A₂ в повреждении митохондрий при гипоксии / Ю. А. Владимиров. М.: Изд-во РГМУ, 1998. С. 36). В качестве субстрата использовали ФХ, выделенный из яичного желтка и очищенный хроматографическим методом с использованием системы хлороформ/метанол/ацетон/ледяная уксусная кислота/вода (40/13/15/12/8, по объему). Для образования мицелл смесь озвучивали ультразвуком 1-2 мин. Гидролиз проводили 1 ч. при 37 °С. Реакцию останавливали смесью хлороформ/метанол/вода (1/2/0,8 по объему). Нижнюю фазу упаривали, фосфолипиды осаждали ледяным ацетоном, в супернатанте определяли содержание свободных жирных кислот. Удельную активность выражали в мкг жирных кислот, образованных за 1 ч. одним мг

белка (Юданов М. А. Исследование состава липидов соматических нервов крысы при травмировании и действии химических агентов : дис. ... канд. биол. наук. Саранск, 2005. 187 с).

2.9. Количественное определение белка

Содержание белка определяли по методу Лоури (Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. [et al.] Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, Iss. 1. P. 265–275). К 0,4 мл раствора исследуемого образца добавляли 2 мл раствора С (50 частей 2 % раствора карбоната натрия на 0,1 М растворе NaOH и 1 часть 0,5 % раствора CuSO₄ на 1 % растворе цитрата натрия) и оставляли при комнатной температуре на 10 мин. Добавляли 0,2 мл реактива Фолина-Чокальтеу, перемешивали и через 30-40 мин. измеряли величину оптической плотности при 750 нм.

Для построения калибровочной кривой использовали стандартный раствор альбумина.

2.10. Регистрация потенциала действия

Отпрепарированные седалищные нервы крысы помещали в раствор Рингера для теплокровных животных с температурой 37 °С и постоянным продуванием кислорода. На опыт отбирали нервные волокна, дававшие четкие потенциалы действия при внеклеточном отведении со следующими параметрами стимуляции: амплитуда 1,5 В, длительность 0,3 мс, частота раздражения 100 имп/с (Ревин В. В. Роль липидов в процессе проведения возбуждения по соматическим нервам : дис. ... д-ра. биол. наук. Минск, 1990. 364 с). Стимуляцию осуществляли электрическими прямоугольными импульсами от стимулятора ЭСЛ-2. Потенциал действия наблюдали на экране осциллографа С1-83.

2.11. Статистическая обработка результатов

При создании первичной базы данных использовался редактор электронных таблиц MS Excel 2010. Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакетов прикладных программ Statistica 10. Для выявления взаимосвязей между переменными был использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена. При описании данных, распределение которых отличалось от нормального закона, рассчитывались медиана и квартили. Проверка гипотезы о распределении данных по нормальному закону производилась с помощью критерия согласия Шапиро-Уилка. При нормальном распределении данные представлены как среднее значение и стандартное отклонение ($M \pm m$). Анализ влияния категориальных факторов на количественные показатели проводился на основе многофакторного дисперсионного анализа MANOVA. Статистическая значимость была зафиксирована на уровне 0,05.

Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПИДНОГО СОСТАВА ПРИ ВОЗБУЖДЕНИИ И РЕГЕНЕРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННЫХ СОМАТИЧЕСКИХ НЕРВОВ КРЫСЫ

3.1. Исследование состава и фазового состояния липидов соматических нервов крысы при покое и возбуждении

Липиды принимают активное участие в функционировании мембран в связи с многообразием их индивидуального состава, высокой скоростью обмена, наличием в их составе различных жирных кислот, определяющих физическое состояние бислоя и способность к окислению (Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с; Rolyan H., Tyurina Y.Y., Hernandez M. [et al.] Defects of Lipid Synthesis Are Linked to the Age-Dependent Demyelination Caused by Lamin B1 Overexpression // J Neurosci. 2015. Vol. 35, Iss. 34. P. 12002–12017). Тем не менее, остается недостаточно изученным вопрос об отдельных метаболитах липидной природы, играющих важную роль в функционировании возбудимых образований. Исходя из этого, мы исследовали изменение липидного состава соматических нервов крысы в состоянии покоя и при проведении возбуждения.

Эксперимент показал, что в состоянии покоя в седалищном нерве крысы содержатся следующие фосфолипидные фракции: фосфатидилэтаноламин (ФЭА), фосфатидилхолин (ФХ), сфингомиелин (СМ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилинозитол (ФИ), лизофосфатидилхолин (ЛФХ), лизофосфатидилэтаноламин (ЛФЭА) (рисунок 3.1; 3.2).

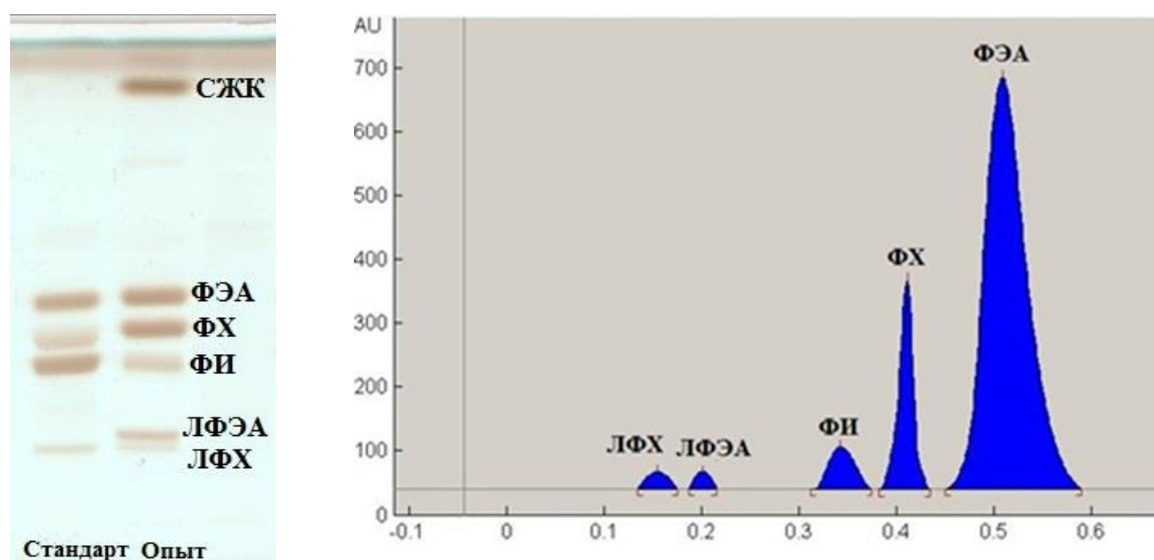


Рисунок 3.1 Хроматограмма (слева) и денситограмма (справа) фосфолипидов, выделенных из контрольного седалищного нерва крысы и разделенных в системе растворителей хлороформ/метанол/вода/аммиак (60/34/4/2)

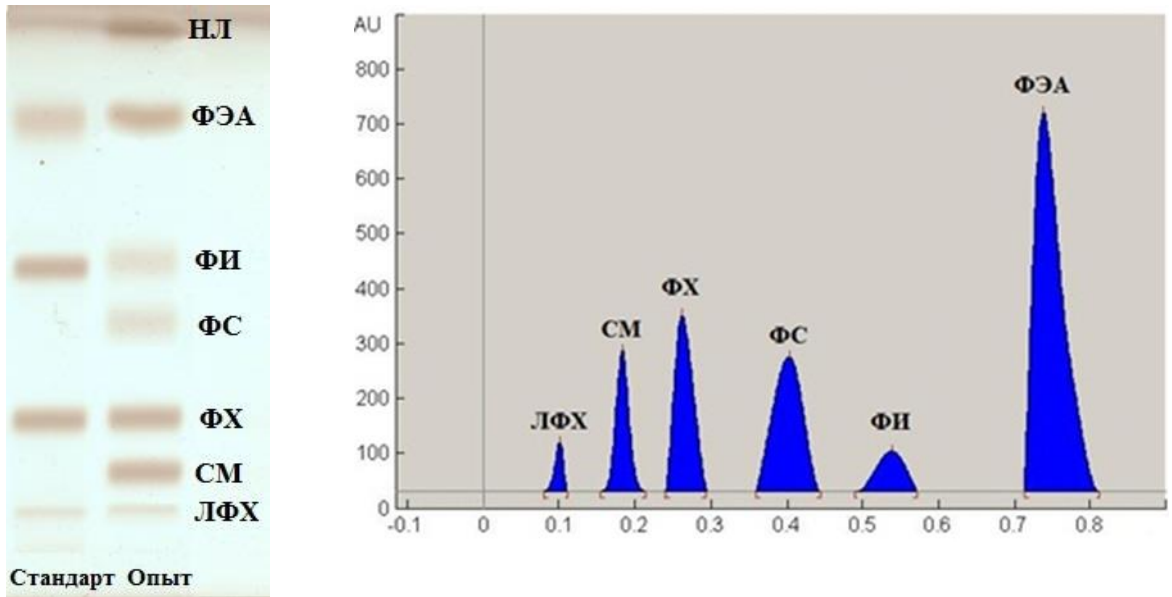


Рисунок 3.2 Хроматограмма (слева) и денситограмма (справа) фосфолипидов, выделенных из контрольного седалищного нерва крысы и разделенных в системе растворителей хлороформ/метанол/ледяная уксусная кислота/вода (60/50/1/4):

НЛ – нейтральные липиды

При проведении возбуждения количественное соотношение индивидуальных фосфолипидов седалищного нерва крысы изменяется. Раздражение нервов с частотой 100 имп/с в течение 5 минут приводит к уменьшению содержания ФИ и ФЭА на 30,3 и 8,4 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с нераздраженным нервом. В остальных фракциях достоверных изменений не обнаружено (Приложение А, таблица А.1, рисунок 3.3).

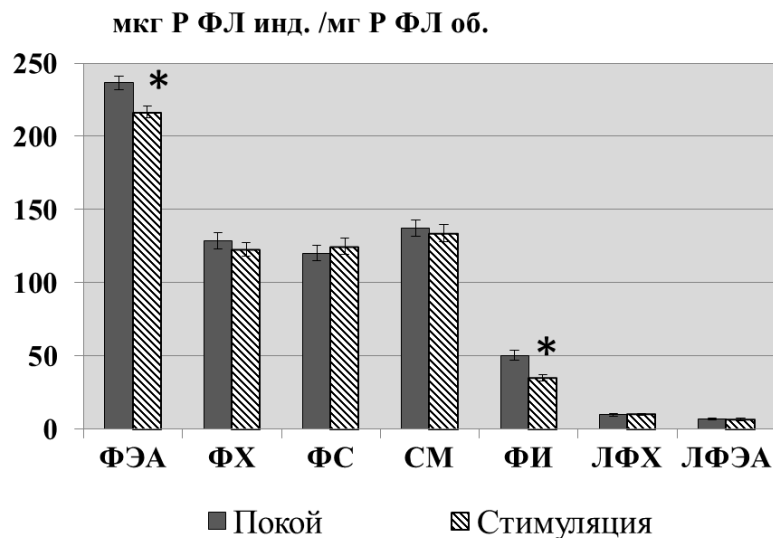


Рисунок 3.3 Изменение содержания индивидуальных фосфолипидов в седалищном нерве крысы при стимуляции: мкг Р ФЛ инд./мг Р ФЛ об. – мкг неорганического фосфора индивидуального фосфолипида/мг неорганического фосфора общих фосфолипидов (* – достоверность отличия по отношению к покою, $p < 0,05$)

Из литературы известно, что диацилглицерин является продуктом расщепления фосфолипидов фосфолипазой С и играет важную роль в регуляции активности фосфолипазы А₂, протеинкиназы С и транспорта Ca²⁺. Кроме этого, ДАГ обладает способностью активировать протеинкиназу С, участвующую в усилении сигнала от возбужденного рецептора клеточной поверхности к белкам-исполнителям и фосфолипазе А₂, и выступает в качестве источника арахидоновой кислоты (Когтева Г.С., Безуглов В.В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы // Биохимия. 1998. Т.63, №1. С. 6–15; Исайкин А. И., Чернышова Е. А., Яхно Н. Н. Применение нейропротективной терапии при инсультах и черепно-мозговой травме // Трудный пациент. 2012. Т.10, №11. С. 18–21). В ходе проведенных нами исследований было установлено, что стимуляция седалищного нерва крысы сопровождается увеличением содержания ДАГ на 31,4 % (p<0,05) относительно контрольного нерва. В этих же условиях наблюдается снижение содержания СЖК на 43,3 % (p<0,05) по сравнению с нераздраженным нервом (Приложение А, таблица А.2, рисунок 3.4).

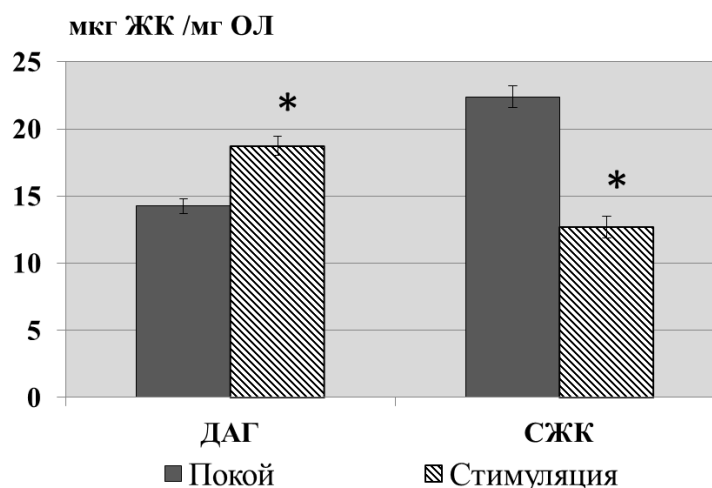


Рисунок 3.4 Изменение содержания диацилглицерина и свободных жирных кислот в седалищном нерве крысы при стимуляции: мкг ЖК/мг ОЛ – мкг жирных кислот/мг общих липидов (*– достоверность отличия по отношению к покою, p<0,05)

Известно, что характеристика жирнокислотного состава (ЖК состава) липидов нерва является одним из важнейших показателей его функционального состояния (Шнайдер Н. А., Шаповалова Е. А. Липидный обмен: введение // Вестник Клинической больницы №51. 2008. Т.3, №1–1. С. 17–26). В связи с этим, представляло интерес изучить количественное распределение жирных кислот (ЖК), входящих в состав индивидуальных фосфолипидов, диацилглицерина и свободных жирных кислот. В составе жирных кислот индивидуальных фосфолипидных фракций была обнаружена 21 жирная кислота: декановая (10:0), гендекановая

(11:0), лауриновая (12:0), тридекановая (13:0), миристиновая (14:0), миристоолеиновая (14:1), пентадекановая (15:0), цис-10-пентадекановая (15:1), пальмитиновая (16:0), пальмитолеиновая (16:1), стеариновая (18:0), элаидиновая (18:1n9t), олеиновая (18:1n9c), линолевая (18:2n6c), линоленовая (18:3n3), арахидиновая (20:0), цис-11,14-эйкозодиеновая (20:2), цис-8,11,14-эйкозатриеновая (20:3n3), арахидоновая (20:4n6), цис-13, 16-докозодиеновая (22:2), лигноцеридиновая (24:0) (рисунок 3.5).



Рисунок 3.5 Хроматограмма жирных кислот, выделенных из фракции фосфатидилхолина (контроль)

Содержание насыщенных жирных кислот во фракции ФЭА составляет 41,4 %, а ненасыщенных – 58,6 %. Коэффициент насыщенности составляет 0,7. При возбуждении в составе ФЭА изменений не обнаружено (Приложение А, таблица А.3, рисунок 3.6).

Во фракции ФХ содержится больше насыщенных ЖК – 71,6 % и меньше ненасыщенных – 28,4 %. Коэффициент насыщенности составляет 2,5. При раздражении седалищных нервов крысы достоверного изменения коэффициента насыщенности во фракции ФХ не наблюдается (Приложение А, таблица А.3, рисунок 3.6).

Исследование показало, что во фракции сфингомиелина содержание насыщенных жирных кислот – 39,6 %, а ненасыщенных – 60,4 %. Коэффициент насыщенности равен 0,7. При раздражении нервов в составе жирных кислот СМ существенных изменений не обнаружено (Приложение А, таблица А.3, рисунок 3.6).

В составе ФС в контроле доля насыщенных жирных кислот составляет 25,9 %, а ненасыщенных – 74,1 %. Величина коэффициента насыщенности равна 0,3. Стимуляция нерва не сопровождается изменениями соотношения насыщенные/ненасыщенные жирные кислоты (Приложение А, таблица А.3, рисунок 3.6).

Изучение ЖК состава фосфатидилинозитола показало, что в данной фракции доля ненасыщенных жирных кислот составляет 84,3 %, а насыщенных – 15,7 %. Коэффициент насыщенности соответствует 0,2. При возбуждении во фракции ФИ наблюдается уменьшение коэффициента насыщенности на 26,3 % относительно контроля за счет снижения содержания

пальмитиновой, стеариновой, цис-8,11,14-эйкозатриеновой и арахидоновой и увеличения элаидиновой и олеиновой жирных кислот (Приложение А, таблица А.3, рисунок 3.6).

Помимо индивидуальных фосфолипидов, нами были исследованы изменения жирнокислотного состава фракций ДАГ и СЖК. Во фракции ДАГ содержание насыщенных жирных кислот составляет 83,2 %, а ненасыщенных – 16,8 %. Коэффициент насыщенности равен 5,0. При стимуляции нерва во фракции ДАГ наблюдается увеличение коэффициента насыщенности на 99,4 % ($p < 0,05$) относительно контроля. Изменение соотношения насыщенные/ненасыщенные жирные кислоты во фракции ДАГ при возбуждении, главным образом, обусловлено снижением содержания ненасыщенных жирных кислот: элаидиновой, линолевой, цис-8,11,14-эйкозатриеновой и арахидоновой в 1,6; 1,7; 4,5 и 2,8 раз ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с нераздраженным нервом. В составе фракции СЖК обнаружены те же жирные кислоты, что и во фракции ФИ и ДАГ. В состоянии покоя во фракции СЖК содержание насыщенных жирных кислот – 83,9 %, а ненасыщенных – 16,1 %. Коэффициент насыщенности составляет 5,2. Однако при переходе нерва в состояние функциональной активности наблюдаются изменения в составе свободных жирных кислот, что сопровождается увеличением коэффициента насыщенности на 40,4 % ($p < 0,05$) относительно контроля. При этом наиболее заметные изменения претерпевают миристиновая, пальмитиновая, арахидоновая и арахидоновая жирные кислоты: их содержание возрастает в 1,9; 1,2; 7,0 и 1,8 раз ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контролем, а также олеиновая жирная кислота, уровень которой снижается в 1,9 раза ($p < 0,05$) относительно контрольного нерва (Приложение А, таблица А.3, рисунок 3.6).

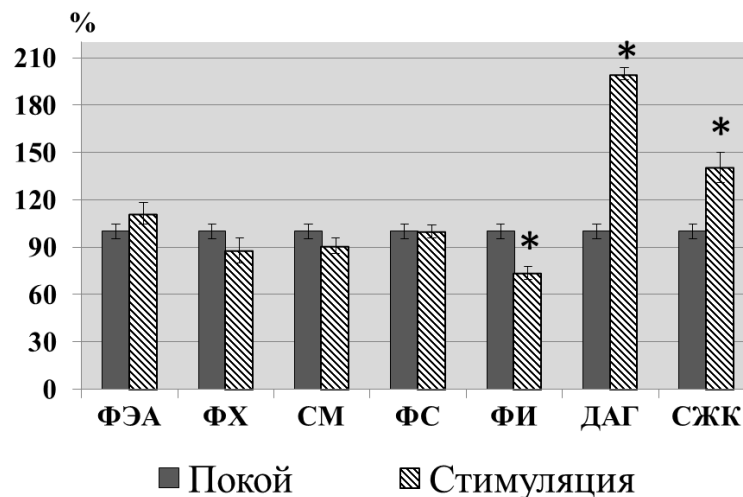


Рисунок 3.6 Изменение коэффициента насыщенности индивидуальных липидных фракций в седалищном нерве крысы при стимуляции (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к покою, $p < 0,05$)

В ходе проведенных нами исследований было показано, что проведение возбуждения по нервному волокну приводит к распаду ФИ, о чем свидетельствует накопление ДАГ. Из литературы известно, что при деполяризации нерва происходит поступление Ca^{2+} через собственно Ca^{2+} -каналы, а также через Na-каналы. Ионы кальция и структурные изменения, происходящие в плазматической мембране нервного волокна при раздражении, активируют фосфоинозитид-специфичную фосфолипазу С (Cocco L., Follo M.Y., Manzoli L. [et al.] Phosphoinositide-specific phospholipase C in health and disease // J Lipid Res. 2015. Vol. 56, Iss. 10. P. 1853–1860), в результате чего происходит увеличение содержания ДАГ. Кроме этого, было показано, что изменения количественного содержания СЖК и жирнокислотного состава ФИ и ДАГ взаимосвязаны и коррелируют между собой. Таким образом, можно предположить, что СЖК образуются в результате метаболизма ФИ, а также из продуктов их распада – из ДАГ. Подтверждением этому являются результаты проведенных нами экспериментов, в ходе которых установлено, что снижение количества индивидуальных жирных кислот во фракции СЖК приводит к увеличению их содержания во фракции ФИ. Известно, что СЖК усиливают поглощение кальция, а ДАГ активирует протеинкиназу С, которая фосфорилирует белки Ca^{2+} -каналов. В этих условиях кальциевые каналы переходят в открытое состояние и Ca^{2+} поступает внутрь нервного волокна. Как известно, кальций является активатором фосфолипазы A_2 , которая гидролизует ДАГ, отщепляя СЖК (Chen W., I.Thielmann, Gupta S. [et al.] Orai1-induced store-operated Ca^{2+} entry enhances phospholipase activity and modulates canonical transient receptor potential channel 6 function in murine platelets // J Thromb Haemost. 2014. Vol. 12, Iss. 14. P. 528–539). Исходя из этого, мы предположили, что в нерве при проведении возбуждения происходит активация кальций-зависимой ФЛ A_2 . Тем не менее, существуют ферменты из семейства ФЛ A_2 , одним из свойств которых является независимость от внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} (Купцова О. С. Фосфолипаза A_2 Роль окисления фосфолипидов *in vitro* и *in vivo* в регуляции фосфолиполиза : дис. ... канд. биол. наук. М., 2001. 58 с; Петросян Е. А., Оноприев В. И., Повиляева Т. Л. [и др.] Оценка состояния эндогенной интоксикации при развитии экспериментального жёлчного перитонита // Вестник хирургии имени И.И. Грекова. 2005. Т. 164, № 4. С. 28–30; Huang W.M., Li Z.Y., Xu Y.J. [et al.] PKG and NHR-49 signalling co-ordinately regulate short-term fasting-induced lysosomal lipid accumulation in *C. elegans* // Biochem J. 2014. Vol. 461, Iss. 3. P. 509–520). Поэтому представлялось целесообразным установление Ca^{2+} -зависимых и Ca^{2+} -независимых форм ФЛ A_2 . Для этого мы провели эксперимент в среде с ЭГТА для связывания внутриклеточного кальция и определения активности Ca^{2+} -независимой ФЛ A_2 в нервном проводнике при возбуждении. Эксперимент показал, что раздражение нерва приводит к увеличению активности кальций-зависимой ФЛ A_2

на 26,2 % ($p < 0,05$) относительно контроля и не вызывает достоверных изменений фосфолипазной активности в среде с ЭГТА (Приложение А, таблица А.4, рисунок 3.7).

Изменение количественного содержания и жирнокислотного состава отдельных липидных фракций объясняется не только активацией липолитических ферментов, но и интенсификацией перекисного окисления липидов, поскольку наличие в составе фосфолипидов ненасыщенных жирных кислот делает их наиболее восприимчивыми к окислению. Известно, что образование продуктов ПОЛ может быть причиной как структурных, так и функциональных нарушений в живой системе (Riffel A.P., de Souza J.A., Santos M.D. [et al.] Systemic administration of vitamins C and E attenuates nociception induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve in rats // Brain Res Bull. 2016. Vol. 121. P. 169–177). Исходя из этого, представляется целесообразным исследование состояния процессов перекисного окисления липидов при возбуждении по определению содержания первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК), а также одного из конечных продуктов перекисаации липидов – малонового диальдегида (МДА). Было показано, что при возбуждении содержание продуктов ПОЛ в седалищном нерве крысы возрастает: уровень ДК и МДА превышает контрольное значение на 20,4 и 27,7 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контролем (Приложение А, таблица А.5, рисунок 3.8). Следовательно, процессы перекисного окисления липидов регистрируются не только в условиях возникновения патологии, но и при физиологических режимах функционирования нерва. Однако незначительное увеличение продуктов перекисного окисления, вероятнее всего, не приводит к инактивации ферментов и различным функциональным нарушениям, которые происходят при усиленном накоплении в клетках продуктов ПОЛ в случае развития патологических состояний.

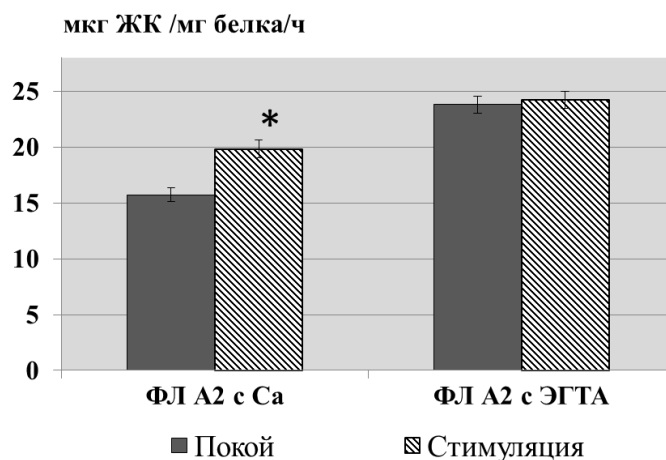


Рисунок 3.7 Динамика изменения активности фосфолипазы A₂ при инкубации седалищного нерва крысы в Ca²⁺-содержащей среде и в среде с ЭГТА при стимуляции (*– достоверность отличия по отношению к покою, $p < 0,05$)

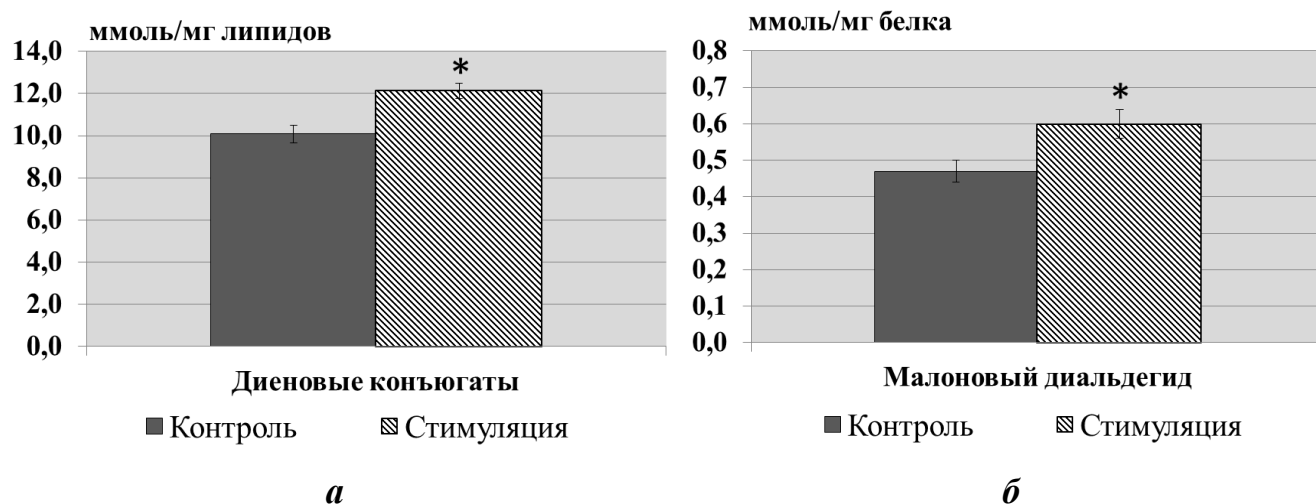


Рисунок 3.8 Динамика изменения концентрации диеновых конъюгатов (*a*) и малонового диальдегида (*б*) в седалищном нерве крысы при стимуляции (*– достоверность отличия по отношению к покою, $p < 0,05$)

Фазовые превращения липидов играют важную роль в жизнедеятельности клетки, поскольку они сопровождаются структурными перестройками липидного бислоя. Известно, что двойной фосфолипидный слой может обеспечивать не только генерацию, но и проведение электрического импульса за счет процессов, сопряженных с изменением фазовых свойств молекул фосфолипидов. Одним из наиболее физиологически значимых последствий фазового перехода мембранных липидов является увеличение ионной проницаемости, которая, как известно, определяет нервную и мышечную возбудимость. Нарушение липидного и жирнокислотного состава бислоя, структурные перестройки, возникающие в результате активации фосфолипаз, и соответствующее изменение физических свойств липидов сопровождаются изменением температуры фазового перехода (Антонов В. Ф. Липидные мембраны при фазовых превращениях / В. Ф. Антонов, Е. Ю. Смирнова, Е. В. Шевченко. М.: Наука, 1992. 136 с; Treuheit N.A., Redhair M., Kwon H. [et al.] Membrane Interactions, Ligand-Dependent Dynamics, and Stability of Cytochrome P4503A4 in Lipid Nanodiscs // Biochemistry. 2016. Vol. 55, №7. P. 1058–1069). Исходя из этого, мы провели исследование изменения фазового состояния липидов при возбуждении с помощью метода дифференциальной сканирующей калориметрии. Эксперимент показал, что в контроле фазовый переход липидов седалищного нерва крысы из геля в жидкокристаллическое состояние происходит при температуре $-31,6$ °С. Стимуляция нерва сопровождается незначительным изменением температуры фазового перехода, которая составляет $-33,8$ °С (рисунок 3.9).

Полученные данные коррелируют с результатами по исследованию изменения жирнокислотного состава липидов нерва в состоянии покоя и при возбуждении, поскольку

температура фазового перехода зависит от длины жирнокислотных цепей и степени их ненасыщенности. С помощью метода газовой хроматографии было показано изменение состава жирных кислот во фракциях ФИ, ДАГ и СЖК. Однако суммарное содержание ненасыщенных жирных кислот всех исследованных липидных фракций не претерпевает существенных изменений. Вероятнее всего, незначительное снижение температуры фазового перехода в нерве при возбуждении объясняется увеличением содержания холестерина, который снижает амплитуду пика фазового перехода и его температуру в результате уменьшения подвижности гидрофобной области бислоя и увеличения вязкости мембраны.

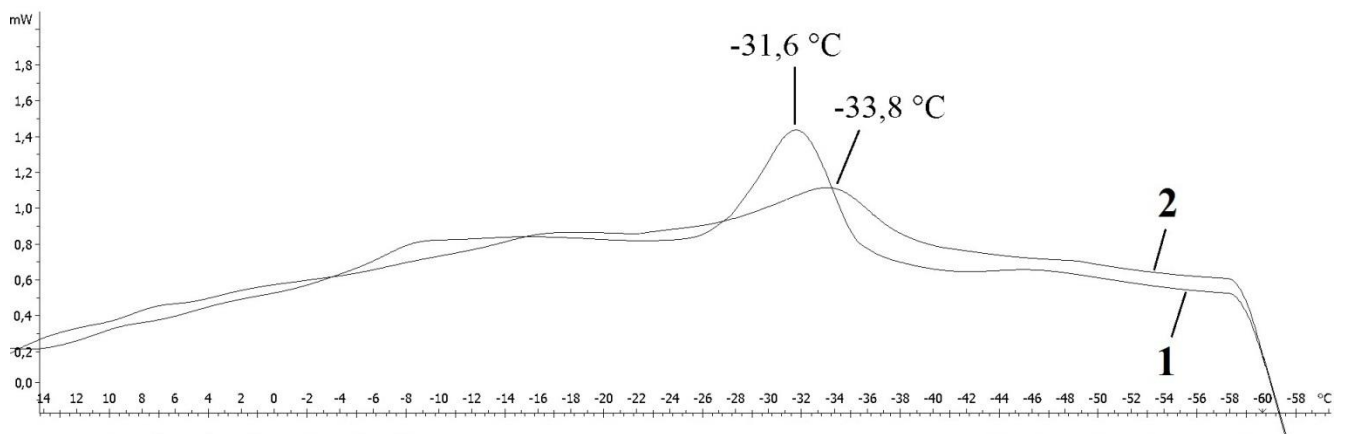


Рисунок 3.9 Кривая дифференциальной сканирующей калориметрии для липидов, выделенных из седалищного нерва крысы в состоянии покоя (1) и при возбуждении (2)

Таким образом, при переходе нерва из состояния покоя в состояние возбуждения наиболее существенные изменения в количественном содержании и жирнокислотном составе происходят во фракциях ФИ, ДАГ и СЖК. Сходный набор жирных кислот во фракции СЖК и ФИ, а также динамика их перераспределения свидетельствует о том, что значительная часть СЖК может образовываться из ФИ в результате активации кальций-зависимой ФЛ A_2 . Следует отметить, что резкие изменения в количественном перераспределении свободных жирных кислот при возбуждении нерва указывает на их активное участие в функционировании нервного волокна. Полученные данные позволяют предположить, что при проведении возбуждения в нерве происходит интенсификация ФИ-цикла, который является полифункциональной системой, влияющей на функционирование мембранных структур за счет изменений состава липидов в полярной и гидрофобной областях бислоя.

3.2. Влияние гиалуроната калия на изменение количественного содержания и жирнокислотного состава индивидуальных фосфолипидов и диацилглицерина в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки

Из литературы известно, что после повреждения нерва центральный и периферический отрезки претерпевают различные изменения. Нервные волокна дегенерируют на небольшом протяжении центрального и на всем протяжении периферического отрезка (Алексеева Е.Б. Регенерация седалищного нерва крысы после кратковременного дозированного вытяжения его центрального отрезка : дис. ... канд. биол. наук. Казань, 2003. 92 с). Вероятно, подобные процессы связаны с нарушением центральной иннервации, благодаря которой осуществляется четкая регуляция и контроль над функциональным состоянием нервных проводников. Поэтому представляется целесообразным исследование глубины развития дегенерационных процессов и влияния гиалуроната калия на процессы регенерации в каждом из отрезков поврежденного нервного волокна.

Как известно, функционирование мембран определяется составом, строением и состоянием образующих ее веществ. Липиды являются одним из основных компонентов мембраны нервных волокон. Особое положение среди мембранных липидов занимают фосфолипиды, которые составляют 60-70 % от общих липидов (Ревин В. В. Роль липидов в процессе проведения возбуждения по соматическим нервам : дис. ... д-ра. биол. наук. Минск, 1990. 364 с). Процессы демиелинизации, наблюдающиеся при патологии соматических нервов, приводят к изменениям в составе фосфолипидов и сопровождаются нарушениями микроструктуры, физико-химических свойств и функционирования мембран нервных проводников. В связи с этим, особый интерес представляет исследование количественного состава фосфолипидов, ответственных за обеспечение физиологического статуса нервных клеток и поддержание функциональной активности клеточных мембран.

Механическая травма седалищного нерва крысы, вызванная его перерезкой, приводит к потере способности проводить потенциал действия до 7 суток эксперимента (рисунок 3.10 *а, б*). При этом наблюдаются значительные изменения в составе липидов. Как видно из таблицы 3.1, перерезка нерва приводит к снижению суммарного содержания фосфолипидов относительно контроля с минимальным значением на 3-и сутки наблюдения в его проксимальном отрезке. К 30-м суткам эксперимента отмечается возрастание исследуемого показателя, который все еще снижен относительно контроля в 1,2 раза. Незначительное увеличение суммарного содержания фосфолипидов к 30-м суткам наблюдения коррелирует с восстановлением способности проведения потенциала действия с небольшой амплитудой (рисунок 3.10 *в*). В серии опытов с гиалуронатом калия (ГК) в концентрации 30 мг/кг наблюдается наиболее выраженное

стабилизирующее действие препарата на восстановление суммарного уровня фосфолипидов на протяжении всего периода эксперимента (Таблица 3.1). Эти данные подтверждаются сокращением сроков восстановления функциональной активности, которая отмечается на фоне действия препарата уже к 7-м суткам наблюдения в проксимальном конце нерва (рисунок 3.10 *г*), а спустя 30 суток потенциал действия в этом варианте опыта приближается к контрольным значениям (рисунок 3.10 *д*).

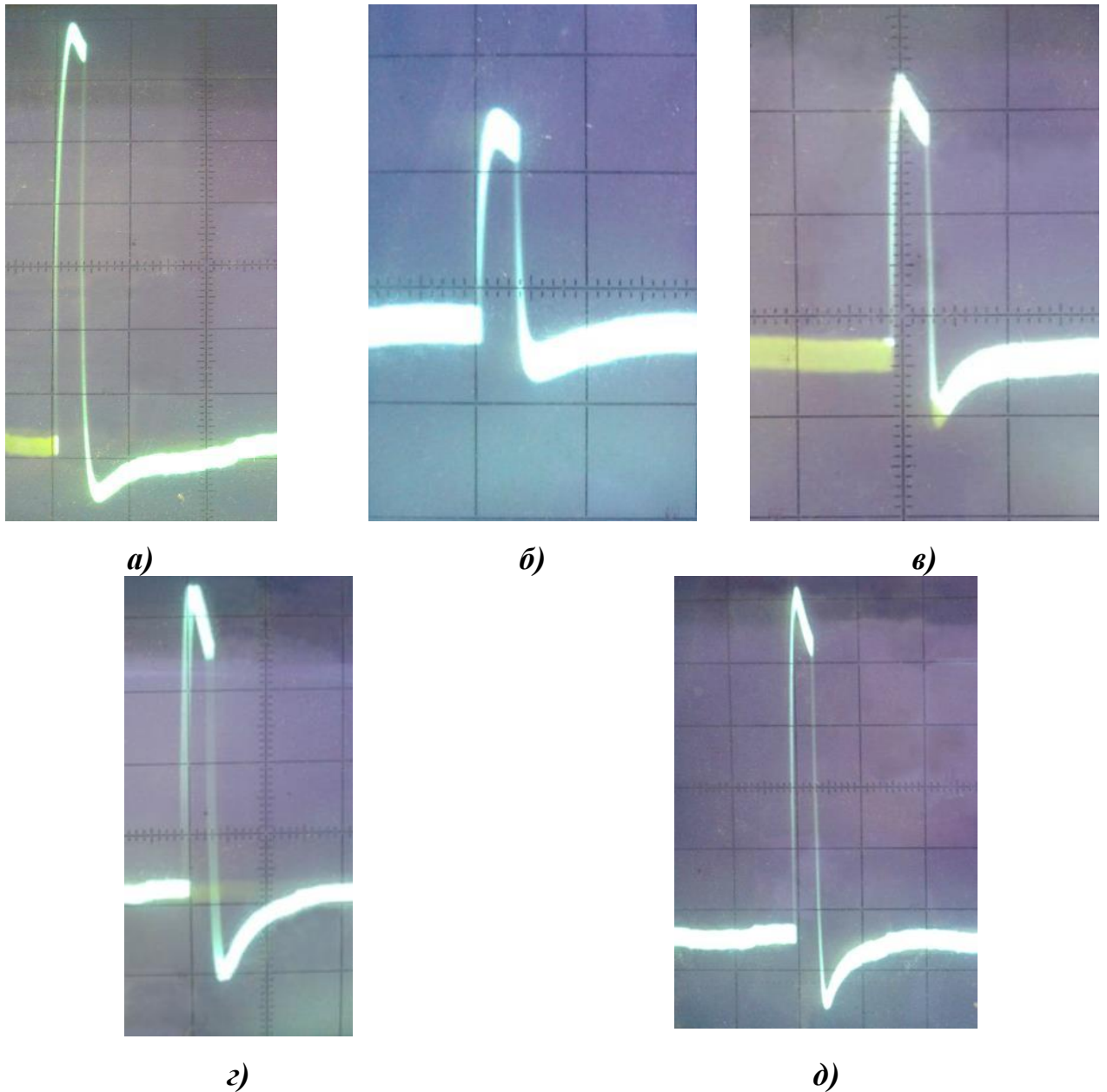


Рисунок 3.10 Потенциал действия седалищного нерва крысы: *а)* контрольный нерв; *б)* проксимальный конец нерва через 7 суток после повреждения; *в)* проксимальный конец нерва через 30 суток после повреждения; *г)* проксимальный конец нерва через 7 суток после повреждения и введения ГК в концентрации 30 мг/кг; *д)* проксимальный конец нерва через 30 суток после повреждения и введения ГК в концентрации 30 мг/кг.

Таблица 3.1 Изменение суммарного содержания индивидуальных фосфолипидных фракций в проксимальном конце седалищного нерва крысы при повреждении и действии гиалуроната калия ($M \pm m$): П+ГК 2 мг/кг – повреждение+гиалуронат калия в концентрации 2 мг/кг; П+ГК 17 мг/кг – повреждение+гиалуронат калия в концентрации 17 мг/кг; П+ГК 30 мг/кг – повреждение+гиалуронат калия в концентрации 30 мг/кг

Варианты опытов	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	10,74±0,48	10,40±0,41	10,41±0,44	10,33±0,46	10,41±0,51
Повреждение	10,11±0,41	8,63±0,38*	8,44±0,35*	8,54±0,41*	8,93±0,36*
П+ГК 2 мг/кг	10,26±0,45	8,74±0,41	8,79±0,32	8,79±0,45	9,14±0,41
П+ГК 17 мг/кг	10,42±0,40	8,85±0,41	8,84±0,41	8,88±0,36	9,29±0,35
П+ГК 30 мг/кг	10,60±0,51	9,09±0,37	9,20±0,39**	9,64±0,45**	10,32±0,51**

*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$

Изменение суммарного содержания фосфолипидов при перерезке нерва и введении ГК обусловлено количественными изменениями индивидуальных фосфолипидных фракций. Было установлено, что в контрольных нервах концентрация ФЭА составляет $232,3 \pm 3,9$ мкг $R_{ФЭА}/мг R_{ФЛ}$. Через 24 часа после повреждения наблюдается снижение его уровня на 41,4 % ($p < 0,05$) относительно контроля. Минимальное содержание ФЭА в проксимальном конце нерва после его перерезки наблюдается на 3 сутки и составляет $108,26 \pm 4,26$ мкг $R_{ФЭА}/мг R_{ФЛ}$. В последующем, к седьмым суткам, происходит увеличение концентрации ФЭА в 1,17 раза относительно повреждения. Увеличение длительности периода после повреждения нерва до 30 суток сопровождается повышением уровня ФЭА, однако он все еще ниже контрольного значения на 36,9 % ($p < 0,05$). Было показано, что при действии ГК в концентрации 30 мг/кг в проксимальном конце нерва уже к первым суткам содержание ФЭА выше на 43,1 % ($p < 0,05$), а к 7-м и 30-м – на 55,6 и 50,0 % ($p < 0,05$) относительно опытной группы с повреждением (Приложение Б, таблица Б.1, рисунок 3.11).

Проведенные исследования показали, что количество ФХ в неповрежденных нервах – $130,28 \pm 4,25$ мкг $R_{ФХ}/мг R_{ФЛ}$. В отличие от ФЭА содержание данной фракции снижается через 12 и 24 ч. – на 45,1 и 58,2 % ($p < 0,05$) соответственно по отношению к контрольной группе. Минимальное содержание ФХ наблюдается на 7 сутки эксперимента, когда его концентрация снижена относительно контроля на 71,9 % ($p < 0,05$). С увеличением послеоперационных сроков до 30 суток уровень ФХ стремится к контрольному значению, но все еще ниже его в 1,5 раза ($p < 0,05$). Использование гиалуроната калия приводит к увеличению содержания ФХ: на протяжении всего эксперимента его концентрация существенно превышает значения по сравнению с травмированным нервом без введения препарата. Наиболее выраженный эффект ГК проявляется в дозе 30 мг/кг на 3 и 7 сутки после травмы, когда содержание ФХ

увеличивается на 98,7 и 97,9 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с повреждением (Приложение Б, таблица Б.2, рисунок 3.12).

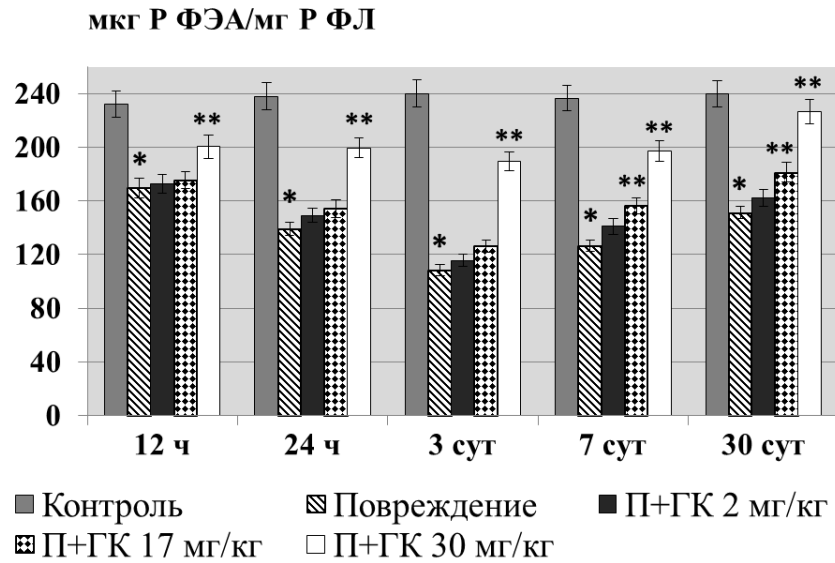


Рисунок 3.11 Динамика изменения концентрации фосфатидилэтаноламина в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия: мкг Р ФЭА/мг Р ФЛ – мкг неорганического фосфора ФЭА/ мг неорганического фосфора всех фосфолипидов; П+ГК 2 мг/кг – повреждение+гиалуронат калия в концентрации 2 мг/кг (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

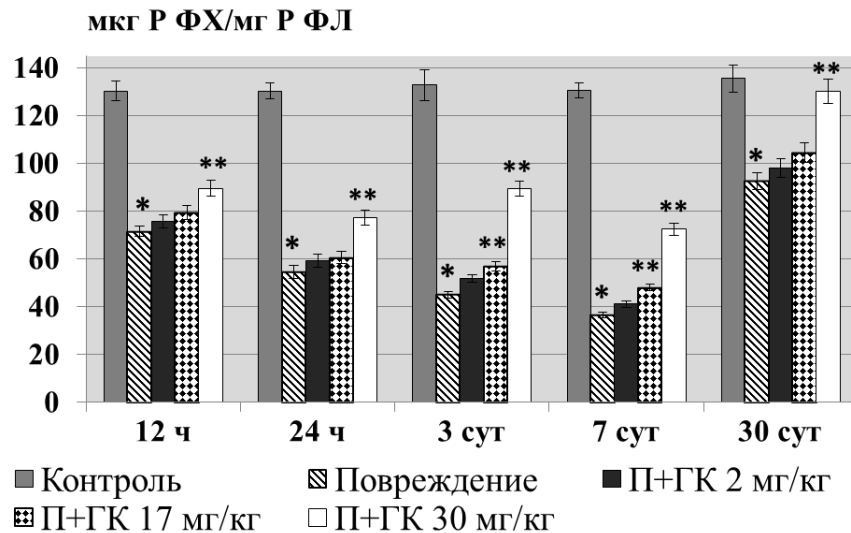


Рисунок 3.12 Динамика изменения концентрации фосфатидилхолина в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Исследование динамики концентрации сфингомиелина показывает существенное его снижение относительно контроля через 12 и 24 часа после перерезки – в 2,2 и 2,5 раза ($p < 0,05$) соответственно. Минимальное значение содержания сфингомиелина, как и в случае с ФХ наблюдается на 7 сутки и составляет $26,1 \pm 0,9$ мкг Р_{СМ}/мг Р_{ФЛ}. К 30-м суткам эксперимента уровень сфингомиелина незначительно повышается до $50,9 \pm 1,7$ мкг Р_{СМ}/мг Р_{ФЛ}, что в 2,8 раза ниже контрольного значения. Введение препарата в максимальной дозе способствует увеличению содержания СМ на протяжении всего периода наблюдения. Следует отметить, что наиболее выраженный эффект гиалуроната калия проявляется на 3-и и 30-е сутки эксперимента: уровень СМ увеличивается на 122,3 и 146,6 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с травмированным нервом без использования препарата (Приложение Б, таблица Б.3, рисунок 3.13).

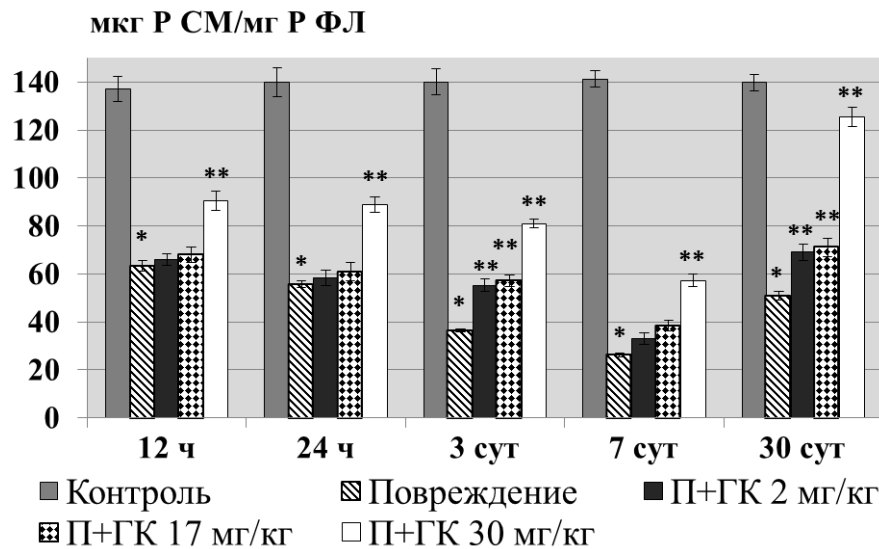


Рисунок 3.13 Динамика изменения концентрации сфингомиелина в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Анализ изменений уровня ФС показывает увеличение его содержания на 16,7 % ($p < 0,05$) через 12 ч после перерезки по сравнению с неповрежденным нервом. В дальнейшем отмечается тенденция к возрастанию уровня ФС в проксимальном конце нерва с максимумом накопления на 3 сутки наблюдения. В этом варианте опыта превышение над уровнем контроля составляет 51,3 % ($p < 0,05$). С увеличением послеоперационного периода до 7 и 30 суток концентрация ФС снижается, но все еще превышает контрольное значение в 1,4 и 1,3 раза ($p < 0,05$) соответственно. Установлено, что через 24 ч. после травмы содержание ФС в вариантах опыта с использованием препарата в концентрации 30 мг/кг снижается относительно опытной группы с повреждением на 16,4 % ($p < 0,05$). В дальнейшем отмечается аналогичная динамика.

Минимальное содержание ФС наблюдается на 3-и сутки эксперимента в концентрации препарата 30 мг/кг: данный показатель снижен относительно опытной группы с повреждением на 23,9 % ($p < 0,05$) (Приложение Б, таблица Б.4, рисунок 3.14).

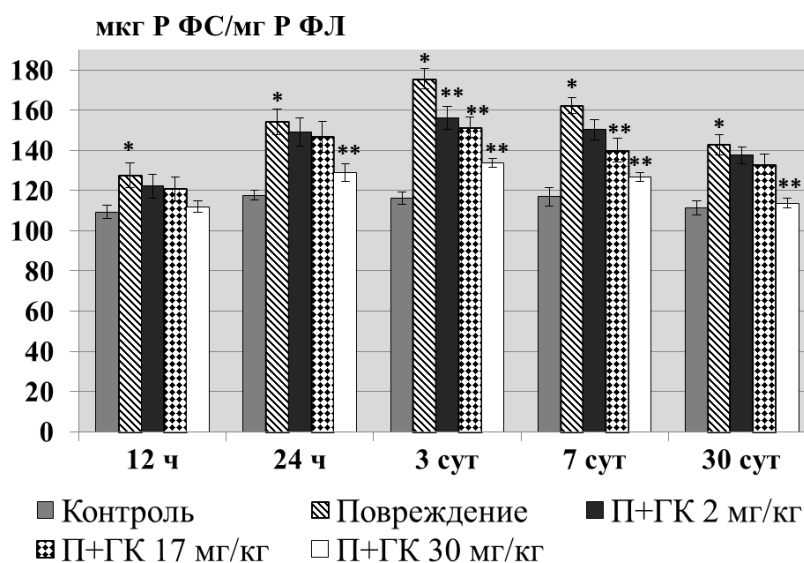


Рисунок 3.14 Динамика изменения концентрации фосфатидилсерина в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*— достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **— достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

В ходе проведенного исследования было установлено, что перерезка нерва сопровождается увеличением концентрации фосфатидилинозитола. Так, на 1 сутки наблюдения уровень ФИ возрастает в 1,7 раза. В дальнейшем прослеживается аналогичная динамика, и максимальное накопление одного из компонентов фосфоинозитидного цикла отмечается к седьмым суткам эксперимента. В этом варианте опыта превышение над уровнем контроля составляет 83,7 % ($p < 0,05$). С увеличением послеоперационных сроков до 30 суток уровень ФИ снижается на 27,9 %, но все еще превышает контрольное значение в 1,4 раза ($p < 0,05$). При действии гиалуроната калия содержание ФИ заметно снижается, причем эти изменения в наибольшей степени проявляются при использовании препарата в концентрации 30 мг/кг. Так, через 24 ч. после травмы уровень ФИ снижен относительно опытной группы с повреждением на 21,1 % ($p < 0,05$), а к 7-м суткам наблюдения данный показатель снижается на 31,5 % ($p < 0,05$) по отношению к травмированному нерву без воздействия препарата. С увеличением послеоперационных сроков до 30 суток уровень ФИ приближается к контрольному значению (Приложение Б, таблица Б.5, рисунок 3.15). Полученные данные коррелируют с изменением уровня ДАГ, минимальное содержание которого наблюдается к 7-м суткам эксперимента. В этом варианте опыта концентрация ДАГ снижается относительно контроля на 63,7 % ($p < 0,05$).

Введение гиалуроната калия подопытным животным не вызывает существенных изменений содержания ДАГ в проксимальном конце нерва после его перерезки, что может свидетельствовать об отсутствии опосредованного через фосфоинозитид-специфичную фосфолипазу С действия гиалуроната калия на восстановление уровня ДАГ (рисунок 3.16).

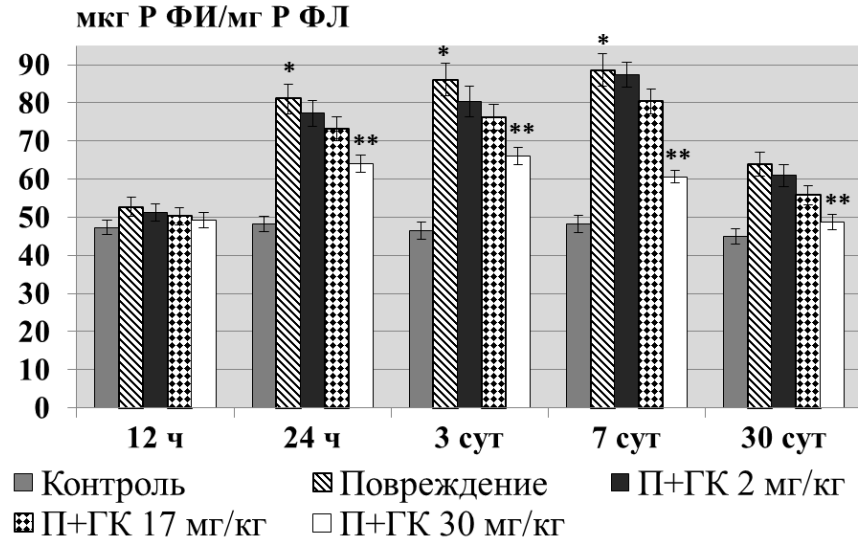


Рисунок 3.15 Динамика изменения концентрации фосфатидинозитола в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

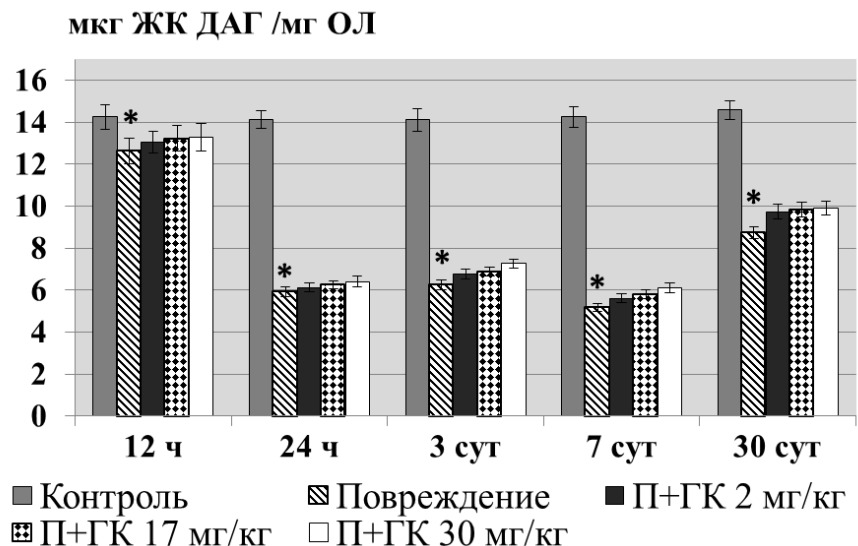


Рисунок 3.16 Динамика изменения концентрации диацилглицерина в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия: мкг ЖК ДАГ/мг ОЛ – мкг жирных кислот диацилглицерина/мг общих липидов (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

В ходе проведенных исследований было установлено, что перерезка нерва сопровождается накоплением в его проксимальном отрезке ФС и ФИ, а также снижением уровня ФЭА, ФХ и СМ. Из литературы известно, что при участии ФС осуществляется транспорт кальция через липидную мембрану за счет образования комплексов с липидами и фосфором. Кроме участия ФС в образовании комплексов с кальцием, он способен создавать дополнительные участки связывания с высоким сродством и фактически являться кальциевым депо в примембранной области (Ревин В. В. Роль липидов в процессе проведения возбуждения по соматическим нервам : дис. ... д-ра. биол. наук. Минск, 1990. 364 с). Однако связывание Ca^{2+} с отрицательно заряженными липидами может приводить к образованию липидных пор в мембране и развитию дегенерационных процессов. Увеличение содержания ФИ и снижение уровня ДАГ в поврежденном нервном проводнике подтверждается ранее проведенными исследованиями, которые свидетельствуют о том, что резкое накопление ФИ и снижение ДАГ при перерезке нерва объясняется инактивацией фосфоинозитид-специфичной фосфолипазы С. При этом увеличение содержания ФИ приводит к возрастанию заряженных групп в мембране, способных связать дополнительное количество Ca^{2+} (Ревин В. В., Московкин А. А., Кольс О. Р. Поглощение Ca^{2+} при деполяризации и перерезке седалищных нервов кролика и крысы // Биологические науки. 1992. № 2. С. 57–60). Как показал эксперимент, в результате перерезки седалищного нерва уровень ФЭА, ФХ и СМ снижается. Вероятнее всего эти изменения связаны с активацией липолитических ферментов, в частности фосфолипазы A_2 , которая катализирует гидролиз фосфолипидов в *sn-2* положении, характерном для полиненасыщенных ЖК (Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А.А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с). В результате этого происходит снижение уровня ФХ и ФЭА и накопление лизофосфолипидов (ЛФХ и ЛФЭА) и свободных жирных кислот. По-видимому, снижение содержания сфингомиелина объясняется распадом миелиновых оболочек в результате протекания валлеровской дегенерации, что также свидетельствует о глубоких нарушениях, происходящих в нерве после его повреждения. Исследования последних лет указывают на то, что в мембранах нервных клеток содержится гиалуроновая кислота, в частности во фракции миелина содержится большое количество гиалуроновой кислоты. Это объясняет участие кислых гликозаминогликанов в осуществлении функций нервной системы (Самойленко А.В. Гиалуроновая кислота в лечении и профилактике цилиохориоидальной отслойки // Глаукома: научно – клинический журнал. 2004. №4. С. 22–26). Таким образом, литературные данные подтверждаются результатами собственных исследований, в ходе которых было установлено, что введение ГК стабилизирует содержание фосфолипидов мембран и способствует восстановлению их состава на протяжении всего периода наблюдения.

Интерес к исследованию жирнокислотного состава мембран нервных проводников объясняется их важной ролью в функционировании клетки. В частности, существование в составе мембран ненасыщенных жирных кислот делает их легко подверженными различным воздействиям, например, перекисному окислению, интенсификация которого может явиться причиной многих нарушений на уровне отдельных ферментных систем и клетки в целом (Ревин В. В. Роль липидов в процессе проведения возбуждения по соматическим нервам : дис. ... д-ра. биол. наук. Минск, 1990. 364 с). Также известно, что многие патологические состояния сопровождаются, прежде всего, изменением количества свободных жирных кислот и жирных кислот фосфолипидов (Шнайдер Н. А., Шаповалова Е. А. Липидный обмен: введение // Вестник Клинической больницы №51. 2008. Т.3, №1–1. С. 17–26). ЖК-состав отдельных фосфолипидных фракций клеточных мембран при патологии периферических нервов может претерпевать существенные изменения, что влияет на микровязкость липидного бислоя и транспорт ионов через мембрану (Когтева Г. С., Безуглов В. В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы // Биохимия. 1998. Т.63, №1. С. 6–15). В связи с этим, представляет интерес исследовать жирнокислотный состав фосфолипидов в проксимальном конце нерва после его перерезки и действия гиалуроната калия.

В составе жирных кислот ФЭА была обнаружена 21 жирная кислота: декановая (10:0), гендекановая (11:0), лауриновая (12:0), тридекановая (13:0), миристиновая (14:0), миристоолеиновая (14:1), пентадекановая (15:0), цис-10-пентадекановая (15:1), пальмитиновая (16:0), пальмитолеиновая (16:1), стеариновая (18:0), элаидиновая (18:1n9t), олеиновая (18:1n9c), линолевая (18:2n6c), линоленовая (18:3n3), арахидиновая (20:0), цис-11,14-эйкозодиеновая (20:2), цис-8,11,14-эйкозатриеновая (20:3n3), арахидоновая (20:4n6), цис-13, 16-докозодиеновая (22:2), лигноцериновая (24:0). Содержание насыщенных жирных кислот во фракции ФЭА составляет 42,7 %, а ненасыщенных – 57,3 %. Коэффициент насыщенности равен 0,8. Через 12 часов после травмы в составе ФЭА проксимального конца нерва повышается доля ненасыщенных жирных кислот: олеиновой – в 1,2 раза, линолевой – в 1,5 раза, цис-8,11,14-эйкозатриеновой – в 11 раз и арахидоновой – в 1,8 раза, в связи с чем происходит снижение коэффициента насыщенности в 2 раза ($p < 0,05$) относительно контрольной группы. Через 24 часа и 3 суток после повреждения нерва существенных изменений не наблюдается. С увеличением послеоперационных сроков до 7 суток соотношение насыщенные/ненасыщенные жирные кислоты меняется: происходит увеличение олеиновой и линолевой жирных кислот, а уровень арахидоновой ЖК все еще превышает контрольное значение в 2,2 раза ($p < 0,05$). Через 30 суток повреждающего воздействия коэффициент насыщенности возрастает и составляет 0,6; что на 27,1 % ниже контрольного уровня. Введение ГК приводит к изменению соотношения насыщенные/ненасыщенные ЖК в составе ФЭА. Уже на 1-е сутки эксперимента накопление

ненасыщенных ЖК замедляется в опытной группе с использованием препарата в концентрации 30 мг/кг. В этих условиях суммарное содержание ненасыщенных ЖК снижается в 1,2 раза относительно опытной группы с повреждением. К 3-м и 7-м суткам наблюдения ГК также стабилизирует колебания насыщенных/ненасыщенных ЖК после перерезки, а спустя 30 суток после перерезки препарат проявляет наиболее выраженное действие в его максимальной концентрации и способствует восстановлению жирнокислотного состава фракции ФЭА (Приложение В, таблица В.1, рисунок 3.17).

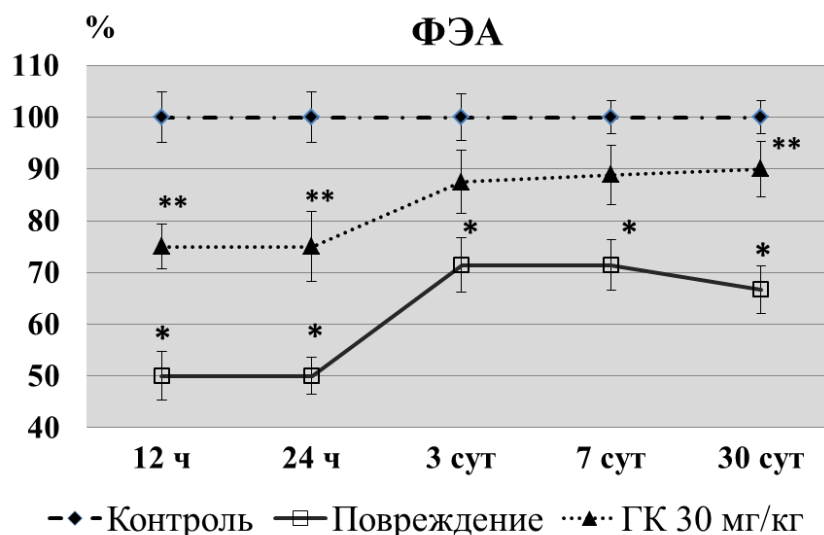


Рисунок 3.17 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ФЭА в проксимальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля): ГК 30 мг/кг – коэффициент насыщенности в опытной группе с введением ГК в концентрации 30 мг/кг (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

В составе фракции ФХ обнаруживаются те же жирные кислоты, что и в составе фракции ФЭА. Однако в сравнении с данной фракцией, в контроле ФХ содержит больше насыщенных ЖК – 68,9 % и меньше ненасыщенных – 31,1 %. Коэффициент насыщенности составляет 2,2. Перерезка седалищного нерва не приводит к существенным изменениям соотношения насыщенные/ненасыщенные ЖК через 12 часов после повреждения. Увеличение времени повреждающего воздействия до 3 суток сопровождается снижением коэффициента насыщенности относительно контроля в 1,5 раза ($p < 0,05$), что свидетельствует об увеличении содержания ненасыщенных и снижении насыщенных ЖК. К 7-м суткам эксперимента наблюдается обратная динамика: коэффициент насыщенности резко возрастает относительно контроля на 44,0 % ($p < 0,05$), что говорит о перераспределении жирных кислот в сторону уменьшения ненасыщенных ЖК. Увеличение повреждающего воздействия до 30 суток не приводит к существенным изменениям: коэффициент насыщенности превышает контроль в 1,4

раза ($p < 0,05$). Введение подопытным животным гиалуроната калия в концентрации 30 мг/кг способствует стабилизации жирнокислотного состава на протяжении всего периода наблюдения. При этом коэффициент насыщенности приближается к контрольному значению за счет снижения доли ненасыщенных жирных кислот и увеличения содержания насыщенных ЖК. (Приложение В, таблица В.2, рисунок 3.18).

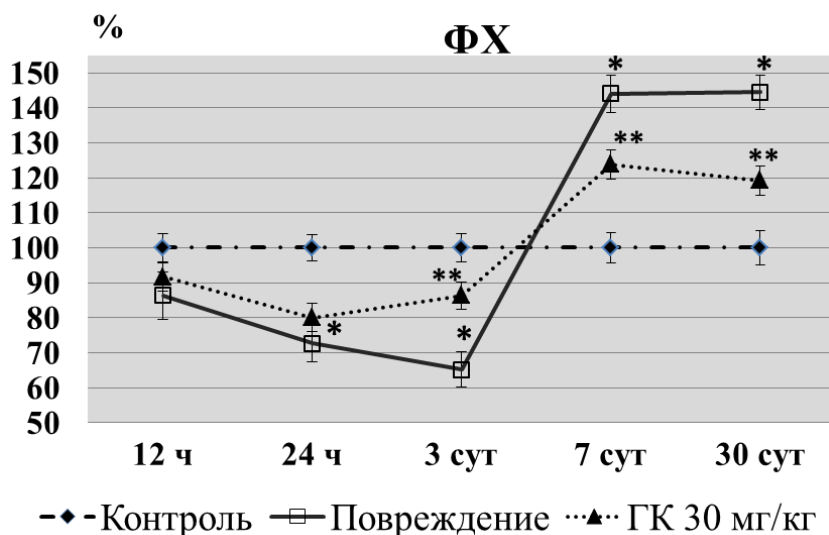


Рисунок 3.18 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ФХ в проксимальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Исследование показало, что во фракции сфингомиелина содержится 21 жирная кислота, из которых доминируют ненасыщенные жирные кислоты (56,4 %). Следует отметить, что основную долю составляют олеиновая и линоленовая ЖК (в сумме 51 %). Из насыщенных пальмитиновая и лигноцериновая в сумме составляют 31,2 % от всех жирных кислот. Коэффициент насыщенности равен 0,8. Через 12 часов после перерезки нерва состав жирных кислот меняется: соотношение насыщенные/ненасыщенные ЖК уменьшается в 2 раза ($p < 0,05$), а к 3-м суткам эксперимента коэффициент насыщенности снижается в 3,5 раза ($p < 0,05$) относительно контроля. Наиболее значительные изменения претерпевают олеиновая, линолевая, линоленовая и арахидоновая ЖК. К 30-м суткам эксперимента отмечается тенденция к увеличению коэффициента насыщенности относительно повреждения. В варианте опыта с гиалуронатом калия через 12 ч после перерезки состав ЖК меняется незначительно. При введении ГК в концентрации 30 мг/кг коэффициент насыщенности увеличивается в среднем на 66,7 и 50,0 % ($p < 0,05$) спустя 24 ч. и 3 суток соответственно после перерезки по сравнению с травмированным нервом без воздействия препарата. К 7 суткам наблюдения соотношение насыщенные/ненасыщенные ЖК не меняется, но с увеличением времени

повреждающего воздействия до 30 суток жирнокислотный состав нормализуется, вследствие чего коэффициент насыщенности приближается к контрольному уровню (Приложение В, таблица В.3, рисунок 3.19).

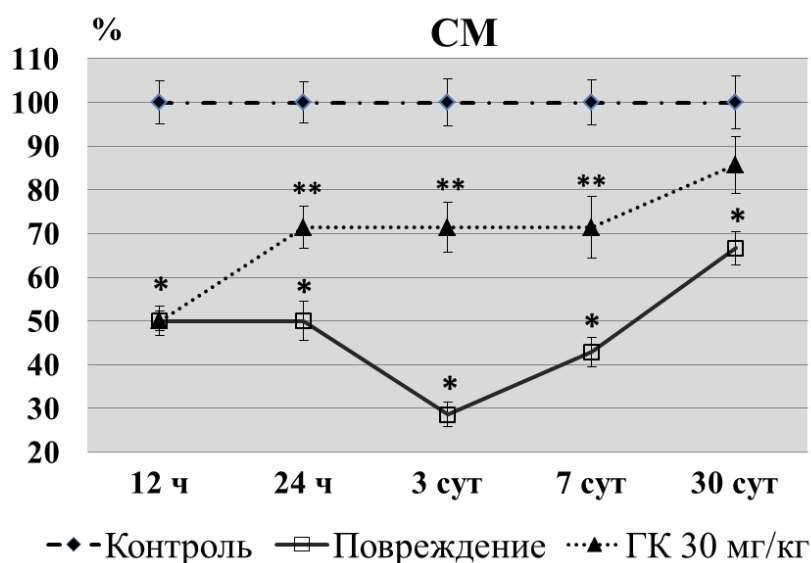


Рисунок 3.19 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности СМ в проксимальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; *— достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **— достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

В составе ФС доля насыщенных жирных кислот составляет 25,4 %, а ненасыщенных – 74,6 %. Величина коэффициента насыщенности равна 0,3. Через 12 часов после перерезки нерва наблюдаются существенные изменения. Появляется линолевая кислота, исчезают декановая и гендекановая. Происходит увеличение содержания насыщенных жирных кислот, главным образом, пальмитиновой на 21,4 % и уменьшение ненасыщенных ЖК: элаидиновой – на 11,7 %, олеиновой – на 21,3 %, линоленовой – на 6,2 % по отношению к контролю. Таким образом, коэффициент насыщенности возрастает в 3 раза ($p < 0,05$). Максимальное увеличение коэффициента насыщенности во фракции ФС наблюдается через 24 ч. после перерезки, превышая контрольное значение в 3,3 раза ($p < 0,05$). В дальнейшем отмечается тенденция к снижению соотношения насыщенные/ненасыщенные ЖК, однако к 30-м суткам эксперимента данный показатель все еще превышает контрольное значение в 2,3 раза ($p < 0,05$). При введении гиалуроната калия коэффициент насыщенности снижается в 1,3 и 2,2 раза через 12 и 24 ч. после травмы относительно опытной группы с перерезкой. Отметим также, что наиболее заметные изменения на протяжении всего эксперимента претерпевают олеиновая и линоленовая жирные кислоты, уровень которых уменьшается при перерезке и возрастает в опытной группе с введением препарата. Кроме этого, содержание цис-8,11,14-эйкозатриеновой и арахидоновой в

этих же условиях, напротив, возрастает и затем при введении ГК уменьшается. Начиная с 3-х суток наблюдения, соотношение насыщенные/ненасыщенные ЖК нормализуется в группе животных с использованием препарата в концентрации 30 мг/кг, и остается близким к контрольному значению до конца эксперимента (Приложение В, таблица В.4, рисунок 3.20).

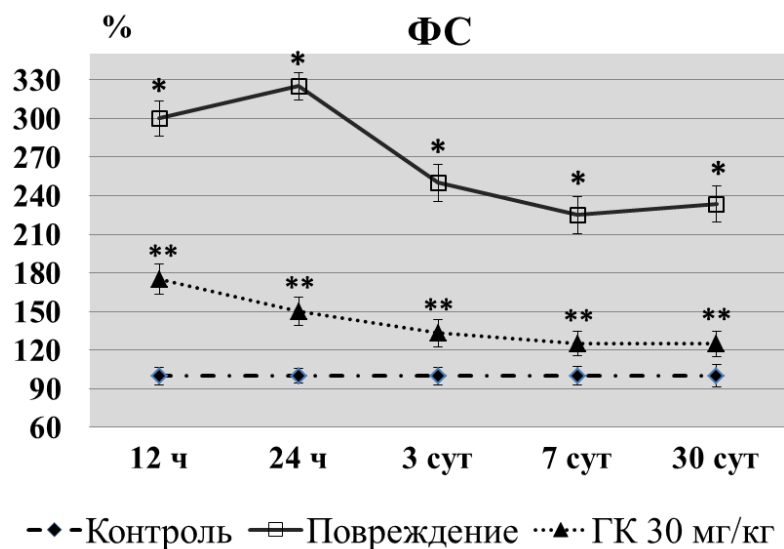


Рисунок 3.20 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ФС в проксимальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; *– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Изучение ЖК состава фосфатидилинозитола показало, что в данной фракции содержатся те же жирные кислоты, что и во фракции ФЭА и ФХ. Однако, в отличие от них, доля ненасыщенных жирных кислот в ФИ составляет 82,7 %, а насыщенных – 17,3 %. Коэффициент насыщенности соответствует 0,2. Через 12 часов после перерезки ЖК состав данной фракции меняется. Эти изменения проявляются в увеличении содержания насыщенных ЖК относительно контроля на 18,6 % ($p < 0,05$), в основном, за счет гендекановой, тридекановой, пентадекановой, пальмитиновой, и стеариновой. При этом содержание ненасыщенных жирных кислот уменьшается, а коэффициент насыщенности увеличивается и составляет 0,6. Максимальное возрастание уровня насыщенных жирных кислот наблюдается на 3-и сутки эксперимента, а с увеличением послеоперационных сроков до 7 суток происходит снижение коэффициента насыщенности. В дальнейшем прослеживается аналогичная динамика, но к 30 суткам эксперимента коэффициент насыщенности все еще превышает контрольное значение в 2,7 раза ($p < 0,05$). Введение подопытным животным ГК в концентрации препарата 30 мг/кг вызывает заметные изменения в перераспределении ЖК через 12, 24 часа, 3 суток и 30 суток после перерезки. Как и в случае с ФС коэффициент насыщенности при повреждении

возрастает, а стабилизирующий эффект ГК проявляется в снижении содержания насыщенных и увеличении количества ненасыщенных жирных кислот (Приложение В, таблица В.5, рисунок 3.21).

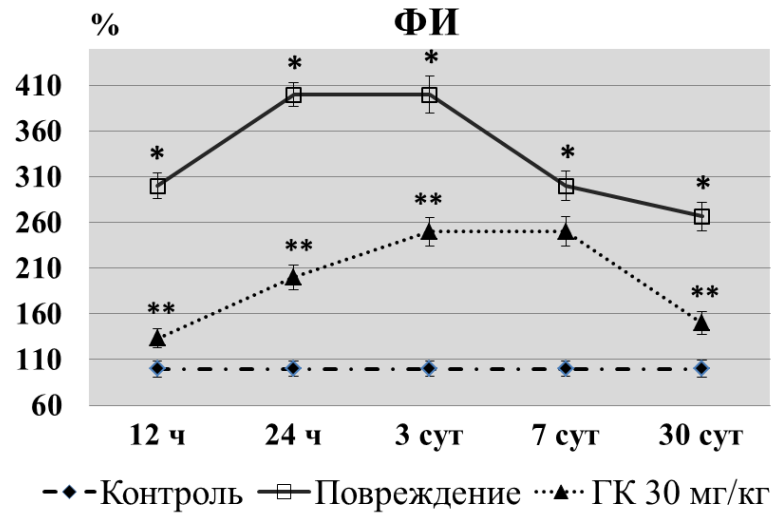


Рисунок 3.21 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ФИ в проксимальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Исследование показало, что во фракции ДАГ содержание насыщенных жирных кислот составляет 83,2 %, а ненасыщенных – 16,8 %. Коэффициент насыщенности равен 5,0. Спустя 7 суток после перерезки нерва во фракции ДАГ наблюдается снижение коэффициента насыщенности в 10,0 раз ($p < 0,05$) относительно контроля. Введение гиалуроната калия подопытным животным вызывает увеличение коэффициента насыщенности в этом варианте опыта в 3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с повреждением в проксимальном конце нерва (рисунок 3.22).

С помощью метода дифференциальной сканирующей калориметрии было установлено, что изменение жирнокислотного состава липидов в проксимальном конце нерва через 7 суток после его перерезки и введения гиалуроната калия коррелирует с изменением температуры фазового перехода липидов в этих вариантах опытов. Эксперимент показал, что спустя 7 суток после перерезки нерва наблюдается снижение температуры фазового перехода липидов до $-38,5$ °С в его проксимальном отрезке. Использование гиалуроната калия в концентрации 30 мг/кг в этот период времени сопровождается увеличением температуры фазового перехода липидов, которая составляет $-34,0$ °С (рисунок 3.23). Полученные данные, вероятнее всего, объясняются возрастанием суммарного содержания ненасыщенных жирных кислот в исследуемых липидных фракциях при повреждении и уменьшением их количества на фоне

действия препарата, поскольку ненасыщенные жирные кислоты снижают температуру кристаллизации липидов.

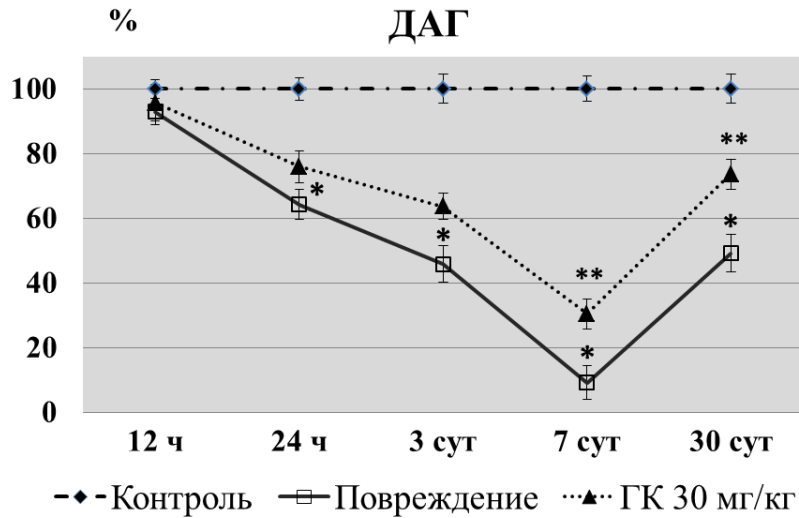


Рисунок 3.22 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ДАГ в проксимальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

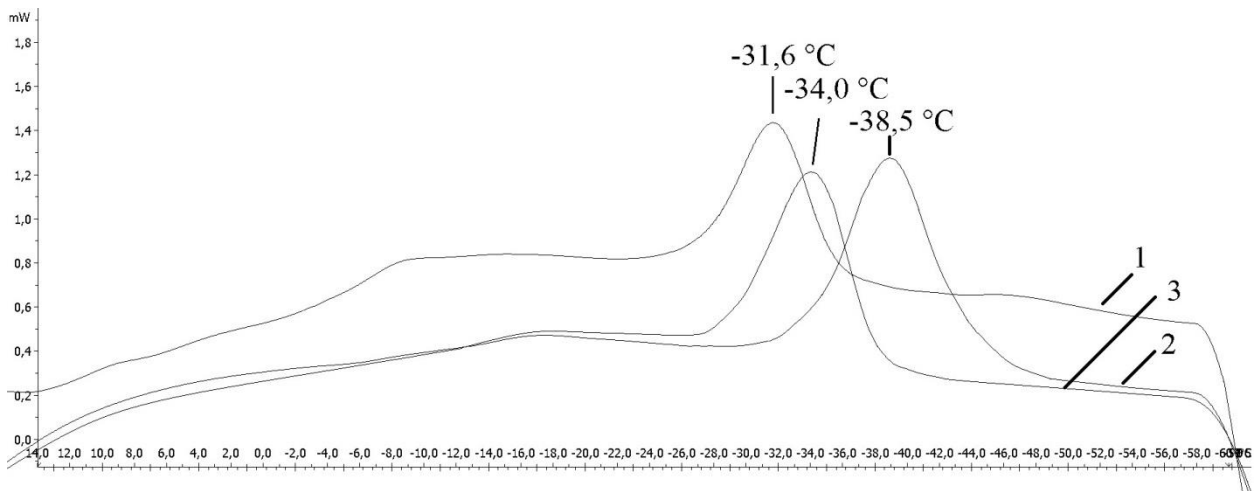


Рисунок 3.23 Кривая дифференциальной сканирующей калориметрии для липидов, выделенных из седалищного нерва крысы в контроле (1), при повреждении (2) и введении гиалуроната калия в концентрации 30 мг/кг (3) спустя 7 суток после перерезки нерва в его проксимальном отрезке

Таким образом, перерезка нерва сопровождается перераспределением жирных кислот фосфолипидов в его проксимальном отрезке, что свидетельствует об активных процессах, происходящих в гидрофобной части мембраны. Введение гиалуроната калия в его максимальной концентрации способствует стабилизации жирнокислотного состава фосфолипидов, тем самым способствуя восстановлению свойств мембран поврежденных нервных проводников.

3.3. Влияние гиалуроната калия на изменение содержания лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки

Известно, что лизофосфолипиды участвуют в развитии различных патологических процессов и оказывают влияние на трансмембранную передачу сигнала, активируя различные сигнальные пути в клетках нервной системы (Грибанов Г.А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов // Вопросы медицинской химии. 1991. Т.37, №4. С. 2–10; Торховская Т. Н., Ипатова О. М., Захарова Т. С. [и др.] Клеточные рецепторы к лизофосфолипидам как промоторы сигнальных эффектов (обзор) // Биохимия. 2007. Т.72, №2. С. 149–158; Uchida H., Nagai J., Ueda H. Lysophosphatidic acid and its receptors LPA1 and LPA3 mediate paclitaxel-induced neuropathic pain in mice // Mol Pain. 2014. Vol. 10. P. 71). Исходя из этого, мы исследовали изменение содержания лизофосфолипидов в проксимальном конце седалищного нерва после его перерезки и действия гиалуроната калия. В ходе проведенного исследования было установлено, что в неповрежденных седалищных нервах крысы содержание лизофосфатидилхолина составляет в среднем 8,4 мкг Р_{ЛФХ}/мг Р_{ФЛ}. Однако уже через 12 ч после травмы отмечается повышение уровня ЛФХ в проксимальном конце нерва в 1,8 раза ($p < 0,05$) относительно контроля. Максимальное накопление лизофосфатидилхолина наблюдается на 3-и сутки эксперимента и составляет в среднем 25,1 мкг Р_{ЛФХ}/мг Р_{ФЛ}. Дальнейшее увеличение послеоперационных сроков до 7 суток сопровождается снижением уровня ЛФХ на 8,2 % относительно опытной группы с перерезкой. Через 30 суток повреждающего воздействия количество ЛФХ снижается, но все еще превышает контрольное значение в 1,8 раза ($p < 0,05$). Введение гиалуроната калия способствует менее выраженному накоплению лизофосфатидилхолина в проксимальном конце седалищного нерва. Установлено, что через 12 ч. после травмы содержание ЛФХ в опытной группе с использованием ГК меняется незначительно. Тем не менее, уже на 1-е сутки эксперимента его уровень в вариантах опыта с использованием препарата в концентрации 30 мг/кг снижается относительно опытной группы с повреждением на 34,4 % ($p < 0,05$). В дальнейшем отмечается аналогичная динамика. Минимальное содержание ЛФХ наблюдается на 7-е и 30-е сутки эксперимента в концентрации препарата 30 мг/кг: уровень ЛФХ снижается относительно поврежденного отрезка нерва на 32,6 и 28,1 % ($p < 0,05$) соответственно (Приложение Г, таблица Г.1, рисунок 3.24).

Во фракции ЛФЭА прослеживается аналогичная динамика. Мы установили, что в контроле концентрация ЛФЭА составляет в среднем 3,1 мкг Р_{ЛФЭА}/мг Р_{ФЛ}. Через 12 часов после повреждения его количество увеличивается в 2,3 раза ($p < 0,05$) относительно контрольного значения. В дальнейшем происходит возрастание содержания лизофосфатидилэтаноламина

относительно контроля с максимумом накопления на 3-и сутки эксперимента. В этом варианте опыта содержание ЛФЭА составляет 14,1 мкг Р_{ЛФЭА}/мг Р_{ФЛ}. С увеличением послеоперационных сроков до 7 суток отмечается уменьшение содержания ЛФЭА на 19,7 %, а к 30-м суткам наблюдения этот показатель снижается, но все еще превышает норму в 1,6 раза ($p < 0,05$). Введение подопытным животным гиалуроната калия в концентрациях 2 мг/кг и 17 мг/кг не оказывает существенного влияния на содержание ЛФЭА через 12, 24 ч и 3 суток после перерезки нерва. Однако его использование в концентрации 30 мг/кг способствует снижению уровня ЛФЭА к первым и третьим суткам эксперимента на 26,7 и 45,3 % ($p < 0,05$) соответственно по отношению к опытной группе с повреждением. Следует также отметить, что содержание ЛФЭА к седьмым суткам эксперимента заметно снижается как в концентрации ГК 17 мг/кг – на 37,0 % ($p < 0,05$), так и в концентрации препарата 30 мг/кг – на 47,4 % ($p < 0,05$). Введение препарата в более высокой концентрации спустя 30 суток после перерезки нерва способствует снижению содержания ЛФЭА, которое приближается к контрольным значениям (Приложение Г, таблица Г.2, рисунок 3.25).

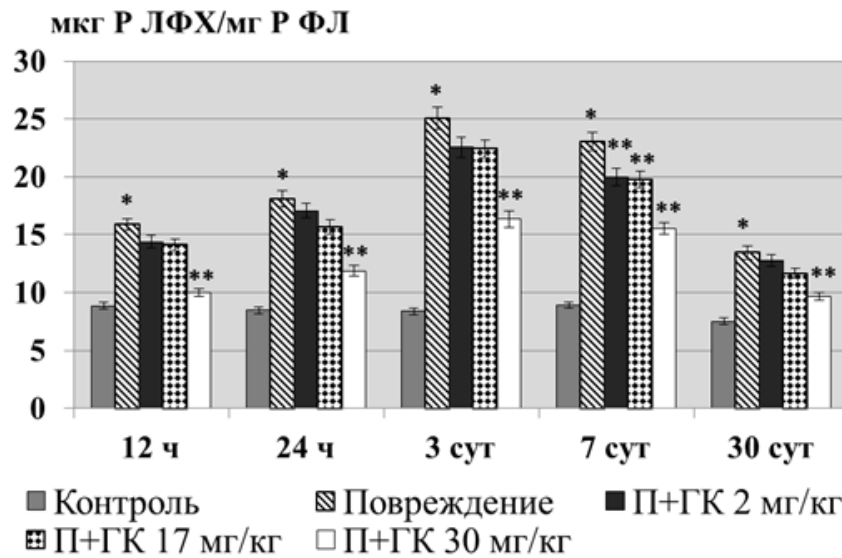


Рисунок 3.24 Влияние гиалуроната калия на содержание ЛФХ в проксимальном конце седалищного нерва крыс после его перерезки (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

По-видимому, накопление лизофосфолипидов при повреждении нерва объясняется увеличением активности фосфолипазы А₂, которая катализирует гидролиз фосфолипидов в основном, в *sn*-2 положении, характерном для полиненасыщенных ЖК (Ревин В.В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с). Для подтверждения

наших предположений мы провели опыты, в которых было изучено изменение содержания СЖК – одного из конечных липидных метаболитов, образующихся под действием ФЛ А₂.

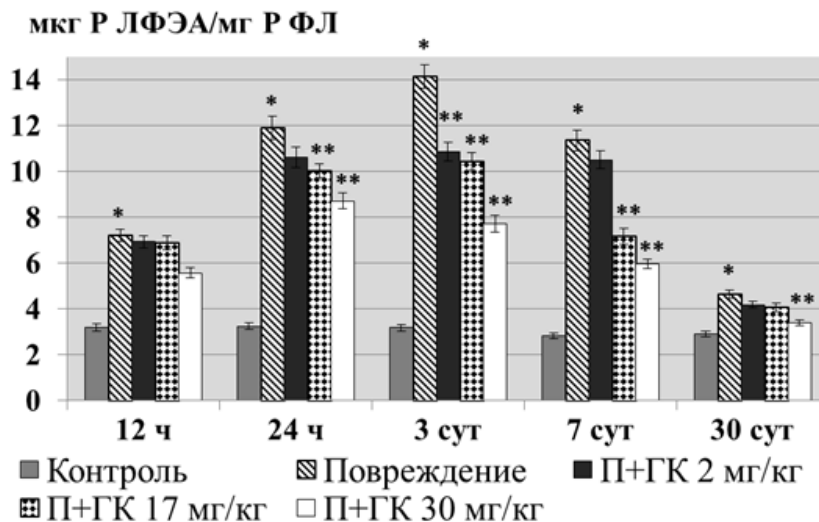


Рисунок 3.25 Влияние гиалуроната калия на содержание ЛФЭА в проксимальном конце седалищного нерва крыс после его перерезки (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Согласно результатам проведенных исследований, содержание СЖК в нервах контрольной группы животных составляет в среднем 19 мкг ЖК/мг ОЛ. При повреждении наблюдаются значительные изменения уровня свободных жирных кислот. Так, через 12 ч. после травмы отмечается возрастание доли СЖК в 2,1 раза ($p < 0,05$) за счет увеличения содержания длинноцепочечных жирных кислот. Однако максимальное накопление свободных жирных кислот происходит на 3-и сутки эксперимента и составляет $61,5 \pm 2,8$ мкг СЖК/мг ОЛ. В дальнейшем, начиная с 7-х суток после перерезки, наблюдается тенденция к снижению уровня СЖК. Так, увеличение длительности периода после повреждения до 30 суток сопровождается уменьшением количества СЖК на 37,8 % ($p < 0,05$) относительно опытной группы с повреждением. Тем не менее, уровень данного показателя по-прежнему значимо отличается от контрольного, превышая его в среднем в 2 раза ($p < 0,05$). Введение гиалуроната калия подопытным животным вызывает заметные изменения во фракции свободных жирных кислот, способствуя стабилизации жирнокислотного состава и снижению количества ненасыщенных жирных кислот, которые, как известно, являются основным субстратом процесса перекисного окисления липидов. В варианте опыта с ГК через 12 ч. после перерезки количество СЖК остается практически таким же, как и в опытной группе с повреждением. По истечении 24-х часов после травмы в данной фракции отмечают заметные изменения: уровень СЖК в опытной группе с ГК в концентрации 30 мг/кг снижается в 1,3 раза ($p < 0,05$) относительно повреждения. Минимальный уровень СЖК отмечается на 7-е и 30-е сутки эксперимента при

введении препарата в концентрации 30 мг/кг: их концентрация снижается на 40,2 и 37,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с повреждением и незначительно превышает контрольное значение (Приложение Г, таблица Г.3, рисунок 3.26).

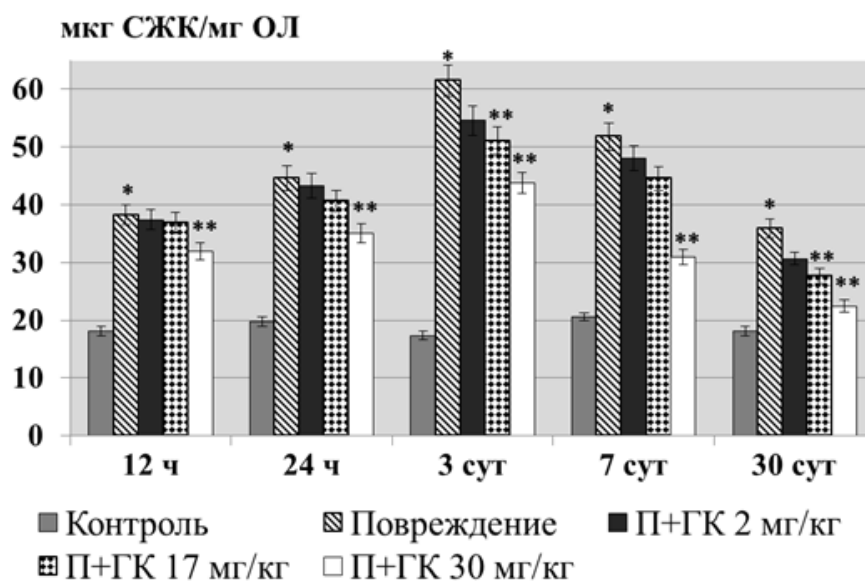


Рисунок 3.26 Влияние гиалуроната калия на изменение содержания СЖК в проксимальном конце седалищного нерва крыс после его перерезки: ОЛ – общие липиды (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Во фракции СЖК наблюдаются не только количественные, но и качественные изменения. В седалищном нерве крысы была идентифицирована 21 СЖК: декановая (10:0), гендекановая (11:0), лауриновая (12:0), тридекановая (13:0), миристиновая (14:0), миристоолеиновая (14:1), пентадекановая (15:0), цис-10-пентадекановая (15:1), пальмитиновая (16:0), пальмитолеиновая (16:1), стеариновая (18:0), элаидиновая (18:1n9t), олеиновая (18:1n9c), линолевая (18:2n6c), линоленовая (18:3n3), арахидиновая (20:0), цис-11, 14-эйкозодиеновая (20:2), цис-8,11,14-эйкозатриеновая (20:3n3), арахидоновая (20:4n6), цис-13,16-докозодиеновая (22:2), лигноцериновая (24:0). Наибольшая доля от всех обнаруженных ЖК принадлежит пальмитиновой и стеариновой – 46,8 и 27,0 % соответственно. На долю ненасыщенных жирных кислот приходится 15 %, а коэффициент насыщенности составляет 5,7. Через 12 часов после перерезки нерва наблюдается увеличение доли ненасыщенных жирных кислот – главным образом, линоленовой и арахидиновой. При этом коэффициент насыщенности снижается в 1,9 раза ($p < 0,05$) относительно контроля. Максимальное возрастание доли ненасыщенных жирных кислот отмечается на 3-и сутки эксперимента и составляет 34,7 % от общей суммы ЖК. Увеличение длительности периода после повреждения до 30 суток приводит к изменению соотношения насыщенные/ненасыщенные ЖК, которое снижается относительно контроля в 2,3

раза ($p < 0,05$). Воздействие гиалуроната калия в его максимальной концентрации приводит к изменению жирнокислотного состава фракции СЖК. Коэффициент насыщенности через 12 ч после травмы в опытной группе с использованием препарата в концентрации 30 мг/кг увеличивается относительно повреждения в 1,6 раза, в основном за счет уменьшения содержания линолевой, цис-8,11,14-эйкозатриеновой и арахидоновой жирных кислот. К 3-м суткам эксперимента при введении препарата в концентрации 30 мг/кг наблюдается снижение содержания олеиновой и арахидоновой ЖК на 72,6 и 33,3 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с повреждением. В этих же условиях при увеличении длительности периода после повреждения до 7 суток содержание ненасыщенных ЖК на 56 % ($p < 0,05$) ниже, чем в поврежденном нерве без воздействия препарата, а к 30-м суткам – на 65,5 % ($p < 0,05$) (Приложение Г, таблица Г.4, рисунок 3.27).

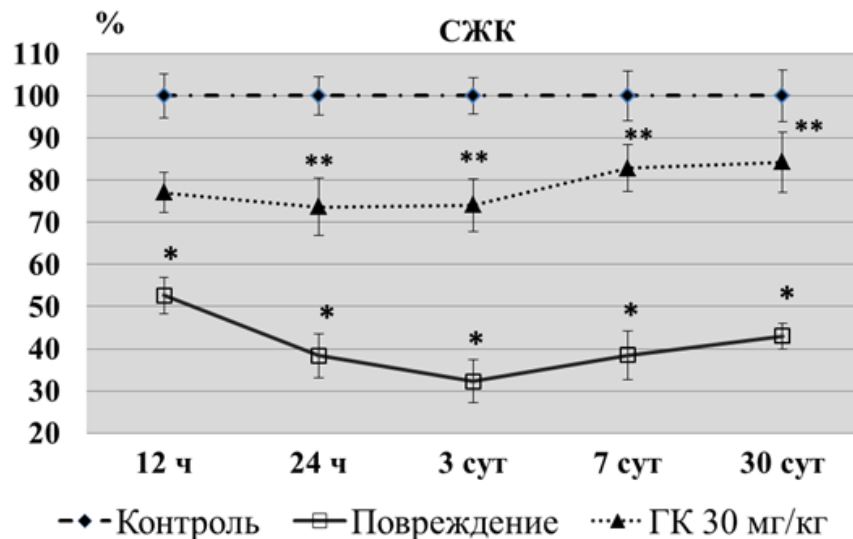


Рисунок 3.27 Изменение коэффициента насыщенности СЖК в проксимальном конце нерва после его перерезки и введения гиалуроната калия (в % от контроля):

ГК 30 мг/кг – коэффициент насыщенности в опытной группе с введением ГК в концентрации 30 мг/кг (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Таким образом, в проксимальном конце нерва при действии гиалуроната калия накопление ненасыщенных ЖК происходит менее активно, чем в травмированном отрезке нерва без действия препарата на протяжении всего периода наблюдения.

В ходе проведенных экспериментов было установлено, что травма нерва, вызванная его перерезкой, сопровождается возрастанием содержания ЛФХ, ЛФЭА и СЖК с максимумом накопления на 3 сутки наблюдения в проксимальном отрезке седалищного нерва крысы. Накопление ЛФЛ и СЖК после перерезки связано с повышением активности фосфолипазы A_2 .

Об этом свидетельствуют данные об участии ФЛ A_2 в процессе ранней дегенерации миелина при валлеровской дегенерации нервов крысы и мышцы (Paul J. A., Gregson N. A. An immunohistochemical study of phospholipase A_2 in peripheral nerve during Wallerian degeneration // J. Neuroimmunol. 1992. Vol. 39, Iss. 1–2. P. 31 – 47; Uemura T., Takamatsu K., Ikeda M. [et al.] Transplantation of induced pluripotent stem cell-derived neurospheres for peripheral nerve repair // Biochem Biophys Res Commun. 2012. Vol. 419, №1. P. 130–135), а также седлищных нервов лягушки (Edstrom A., Briggman M., Ekstrom P. A. Phospholipase A_2 activity is required for regeneration of sensory axons in cultured adult sciatic nerves // J. Neurosci. Res. 1996. Vol. 43, Iss. 2. P.183–189). Также известно, что гиалуроновая кислота играет важную роль в защите фосфолипидов синовиальной жидкости от лизиса, осуществляемого фосфолипазой A_2 (The role of hyaluronic acid in protecting surface-active phospholipids from lysis by exogenous phospholipase $A(2)$ / D.W. Nitzan, U. Nitzan, P. Dan [et al.] // Rheumatology (Oxford). 2001. Vol. 40, Iss. 3. 336–340; Iwanicki J. L., Lu K. W., Taeusch H. W. Reductions of phospholipase $A(2)$ inhibition of pulmonary surfactant with hyaluronan // Exp Lung Res. 2010. Vol. 36, Iss. 3. P. 167–174). Эксперимент показал, что ГК в малых концентрациях практически не влияет на изменение содержания ЛФЛ и СЖК в проксимальном отрезке нервного проводника. Достоверное снижение их уровня отмечается при использовании препарата в концентрации 30 мг/кг. Учитывая данные литературы и результаты собственных исследований, можно сделать предположение, что ускорение регенерационных процессов в поврежденном нервном проводнике на фоне действия гиалуроната калия реализуется через регуляцию активности фосфолипазы A_2 .

3.4. Влияние гиалуроната калия на изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов в проксимальном конце седлищного нерва крысы после его перерезки

Из литературы известно, что при различных патологических состояниях происходит интенсификация процессов перекисного окисления липидов. Накопление перекисных группировок в гидрофобном слое может быть причиной изменения свойств мембраны. В результате этого происходят конформационные изменения в липопротеидных комплексах и в самих фосфолипидах. Это приводит к изменению физических свойств биологических мембран и ферментативных функций липопротеидных комплексов (Ревин В. В. Роль липидов в процессе проведения возбуждения по соматическим нервам : дис. ... д-ра. биол. наук. Минск, 1990. 364 с; Luoma A. M., Kuo F., Cakici O. [et al.] Plasmalogen phospholipids protect internodal myelin from oxidative damage // Free Radic Biol Med. 2015. Vol. 84. P. 296–310). Исходя из этого, представляется целесообразным исследование состояния процессов перекисного окисления

липидов по определению содержания первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК), а также одного из конечных продуктов пероксидации липидов – малонового диальдегида (МДА).

Было установлено, что содержание диеновых конъюгатов в неповрежденном нерве составляет $10,2 \pm 0,2$ ммоль/мг липидов. Через 12 ч. после перерезки уровень ДК практически не меняется, однако спустя 24 ч. после повреждения его концентрация незначительно возрастает. Наиболее выраженное увеличение ДК наблюдается на 3-и сутки эксперимента и составляет $14,2 \pm 0,2$ ммоль/мг липидов. В дальнейшем, к 7 и 30-м суткам наблюдения происходит снижение уровня диеновых конъюгатов на 9,1 % и 12,5 % соответственно по отношению к поврежденному нерву. Содержание ДК при введении ГК в концентрации 30 мг/кг снижается на 10,3 % и 14,2 % ($p < 0,05$) через 24 ч и 3 суток после травмы соответственно по сравнению с повреждением. В дальнейшем отмечается аналогичная динамика, т.е. на протяжении всего эксперимента уровень ДК был ниже в группе животных, которым вводили препарат в его максимальной концентрации (Приложение Д, таблица Д.1, рис 3.28).

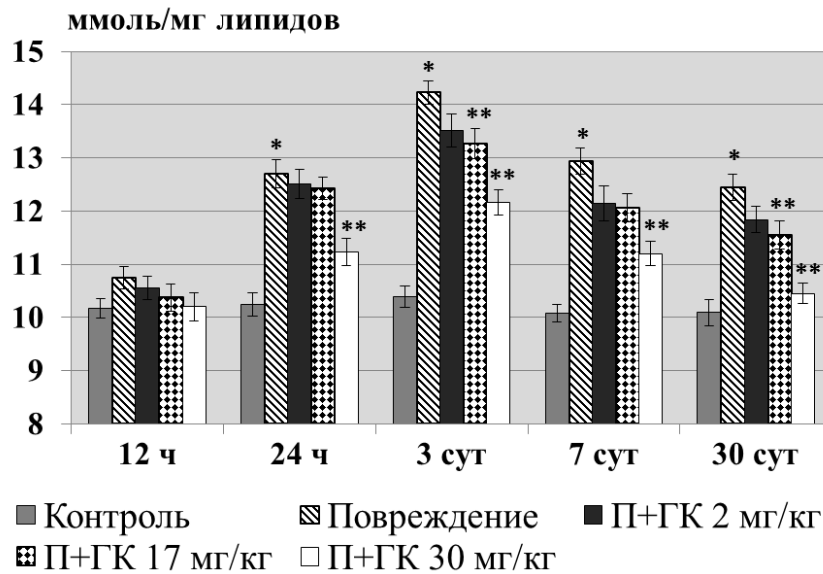


Рисунок 3.28 Динамика изменения концентрации диеновых конъюгатов в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Исследование показало, что при перерезке нерва в его проксимальном отрезке происходит изменение не только количества ДК, но и ТБК - активных продуктов – малонового диальдегида. Концентрация МДА возрастает на 15,8 % ($p < 0,05$) через 12 часов после перерезки по отношению к контрольному значению. Спустя 24 часа прослеживается аналогичная динамика, и уровень МДА увеличивается на 71,7 % ($p < 0,05$) относительно контроля.

Максимальное накопление малонового диальдегида отмечается на 3-и сутки эксперимента, и превышает контрольное значение в 3,1 раза ($p < 0,05$). К 7 суткам наблюдения отмечается тенденция к снижению содержания МДА, но даже спустя 30 суток данный показатель все еще превышает контроль на 82,9 % ($p < 0,05$). В опытной группе с использованием ГК в концентрации 30 мг/кг содержание МДА снижается по сравнению с травмированным нервом на 19,0 % ($p < 0,05$) через 24 ч. после травмы. Спустя 3 суток после перерезки уровень МДА в группе животных с ГК в концентрациях 17 и 30 мг/кг снижается на 25,8 и 53,0 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с повреждением. С увеличением послеоперационных сроков до 7 и 30 суток содержание МДА незначительно превышает контрольное значение в опытной группе с введением ГК в концентрации 30 мг/кг (Приложение Д, таблица Д.2, рис 3.29).

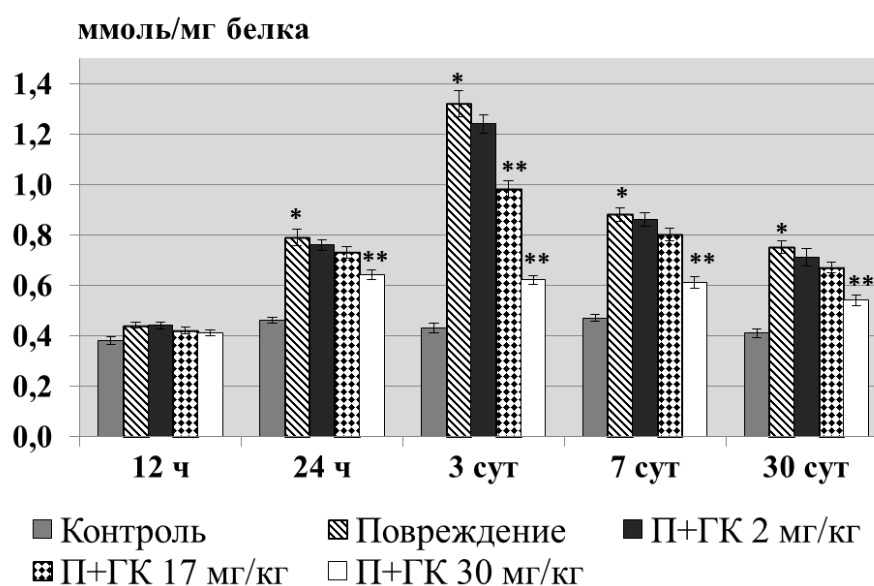


Рисунок 3.29 Динамика изменения концентрации малонового диальдегида в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Известно, что накопление продуктов ПОЛ приводит к инактивации ферментов, нарушению конформации белков, возникновению неселективных ионных каналов, изменению микровязкости, в результате чего становится невозможным нормальное функционирование нервного волокна. В ходе эксперимента было показано, что перерезка нерва приводит к интенсификации процессов перекисного окисления липидов, что выражается в накоплении диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в проксимальном отрезке нервного проводника. Таким образом, учитывая данные литературы и результаты собственных исследований, можно сделать вывод, что липидная фаза мембраны нервных проводников является тем субстратом, от состояния которого зависят как структурные, так и

функциональные характеристики нервного волокна и первичные процессы патологического перерождения начинаются с их окисления. При введении гиалуроната калия интенсивность образования продуктов ПОЛ существенно снижается на протяжении всего эксперимента. Полученные результаты, вероятнее всего, связаны с тем, что гиалуронат калия связывает свободные радикалы, образующиеся в результате ПОЛ и оказывающие повреждающее воздействие на состав мембран соматических нервов.

3.5. Влияние гиалуроната калия на изменение количественного содержания и жирнокислотного состава индивидуальных фосфолипидов и диацилглицерина в дистальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки

Из классической физиологии известно, что те органы и ткани, которые сохраняют связь с центральными отделами нервной системы, четко регулируют и контролируют свое функциональное состояние. Следует отметить, что в дистальной части нервного проводника из-за исчезновения центральной регуляции происходит полная потеря способности проводить потенциал действия, а также наблюдается усиление скорости окислительных процессов в результате отсутствия регуляторных механизмов. Исходя из этого, мы провели сравнительный анализ изменения фосфолипидного состава в проксимальном и дистальном отрезке нерва при повреждении и действии гиалуроната калия. Как видно из таблицы 3.2, перерезка нерва сопровождается снижением суммарного содержания фосфолипидов в дистальном конце седалищного нерва крысы относительно контроля с минимальным показателем на 7-е сутки наблюдения. Использование гиалуроната калия приводит к восстановлению их уровня. При этом наиболее выраженный эффект ГК проявляется в его максимальной концентрации и при более длительных сроках от начала перерезки.

Таблица 3.2 Изменение суммарного содержания индивидуальных фосфолипидных фракций в дистальном конце седалищного нерва крысы при повреждении и действии гиалуроната калия ($M \pm m$)

Варианты опытов	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	10,74±0,45	10,4±0,44	10,41±0,44	10,33±0,43	10,41±0,44
Повреждение	9,93±0,42	8,76±0,37*	8,54±0,36*	8,34±0,35*	8,64±0,36*
П+ГК 2 мг/кг	9,94±0,42	8,83±0,37	8,65±0,36	8,55±0,36	8,72±0,37
П+ГК 17 мг/кг	10,03±0,42	8,93±0,38	8,66±0,36	8,58±0,36	8,83±0,37
П+ГК 30 мг/кг	10,35±0,43	9,23±0,39	8,93±0,38	9,27±0,39**	9,34±0,39**

*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$

В результате проведенных исследований было установлено, что в дистальном конце нерва содержатся те же фосфолипидные фракции, что и в его проксимальном отрезке. Эксперимент показал, что через 12 и 24 ч после травмы содержание ФЭА в дистальном конце нерва снижается на 13,6 и 26,7 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контрольной группой животных. Спустя 3 суток после перерезки нерва данный показатель уменьшается на 58,0 % ($p < 0,05$) относительно контроля. Однако минимальное снижение содержания ФЭА наблюдается на 7-е сутки эксперимента и составляет в среднем 98,9 мкг Р_{ФЭА}/мгР_{ФЛ}. Увеличение длительности послеоперационного периода до 30 суток сопровождается незначительным увеличением уровня ФЭА, который все еще ниже контрольного значения в 1,8 раза. Введение гиалуроната калия подопытным животным не вызывает существенных изменений через 12 ч после травмы. По истечении 24 ч наблюдается увеличение содержания ФЭА на 23,3 % ($p < 0,05$) в опытной группе с введением препарата в концентрации 30 мг/кг, а к 7-м и 30-м суткам эксперимента – на 23,1 и 24,6 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с травмированным нервом без воздействия препарата (Приложение Е, таблица Е.1, рисунок 3.30).

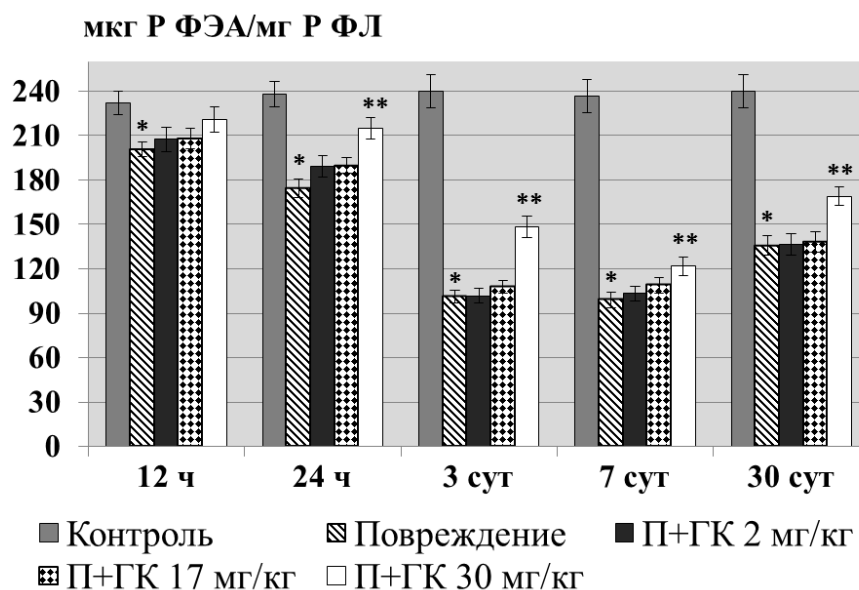


Рисунок 3.30 Динамика изменения концентрации фосфатидилэтаноламина в дистальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

В следующем варианте опытов мы исследовали изменение содержания фракции ФХ. Обнаружено, что спустя 24 ч. после травмы уровень ФХ снижается на 50,3 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Минимальное содержание ФХ приходится на 7-е сутки наблюдения. В этом варианте опыта уровень ФХ снижен относительно контроля на 65,2 % ($p < 0,05$). С увеличением длительности периода после повреждения до 30 суток отмечается незначительное

возрастание исследуемого показателя, который все еще снижен относительно контрольных значений в 1,6 раза. В опытной группе с гиалуронатом калия в концентрации 30 мг/кг наблюдается наиболее выраженное возрастание уровня ФХ. Так, спустя 24 ч после перерезки нерва содержание ФХ увеличивается на 21,8 % ($p < 0,05$) относительно опытной группы с повреждением, а через 3, 7 и 30 суток – на 38,6; 81,0 и 34,5 % ($p < 0,05$) соответственно (Приложение Е, таблица Е.2, рисунок 3.31).

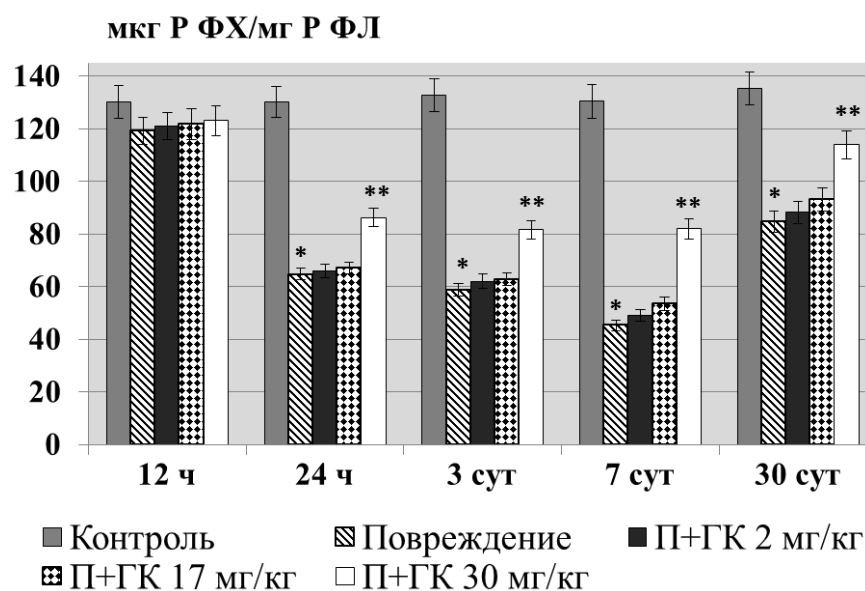


Рисунок 3.31 Динамика изменения концентрации фосфатидилхолина в проксимальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Исследование динамики содержания сфингомиелина показало его существенное снижение спустя 3 суток после перерезки седалищного нерва – в 3,4 раза относительно контроля. Минимальное значение СМ отмечается к 7-м суткам наблюдения: при этом содержание СМ снижено относительно контрольного значения на 83,5 % ($p < 0,05$). С увеличением послеоперационных сроков до 30 суток происходит возрастание исследуемого показателя на 185,4 % ($p < 0,05$) относительно опытной группы с повреждением без использования препарата. Гиалуронат калия проявляет наиболее выраженное действие в концентрации 30 мг/кг, начиная с 3-х суток после перерезки нерва. Так, содержание СМ увеличивается на 110,0 и 59,4 % ($p < 0,05$) на 7-е и 30-е сутки наблюдения соответственно по сравнению с травмированным нервом без воздействия препарата (Приложение Е, таблица Е.3, рисунок 3.32).

Содержание ФС в дистальном конце нервного проводника также претерпевает существенные изменения. Через 24 ч после травмы его уровень возрастает на 32,9 % ($p < 0,05$), а

к 3-м суткам наблюдения – на 48,3 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой животных. При этом на 3 сутки наблюдения отмечается максимальное увеличение содержания ФС, а в дальнейшем его уровень снижается. Установлено, что на 7-е сутки после перерезки нерва концентрация ФС превышает контрольное значение в 1,4 раза ($p < 0,05$), а к 30-м суткам наблюдения – в 1,3 раза ($p < 0,05$). Введение гиалуроната калия в концентрации 30 мг/кг сопровождается снижением содержания ФС на протяжении всего эксперимента. Наиболее выраженный эффект ГК проявляется на 30-е сутки наблюдения и выражается в снижении содержания ФС до контрольных значений (Приложение Е, таблица Е.4, рисунок 3.33).

Согласно результатам проведенного исследования, содержание ФИ в дистальном конце нерва увеличивается в 2,5 раза ($p < 0,05$) относительно контроля через 24 после перерезки нерва. В дальнейшем прослеживается тенденция к возрастанию уровня ФИ с максимальным накоплением к 3-м суткам эксперимента. В этом варианте опыта превышение над уровнем контроля составляет 172,6 % ($p < 0,05$). С увеличением длительности периода после повреждения до 30 суток содержание ФИ снижается, превышая контрольное значение на 75,3 % ($p < 0,05$). При действии гиалуроната калия в дозе 30 мг/кг концентрация ФИ снижается на 15,1 % через 24 ч после травмы относительно опытной группы без воздействия препарата. В дальнейшем отмечается аналогичная динамика: к 7-м суткам эксперимента содержание ФИ снижается в 1,2 раза ($p < 0,05$), а к 30-м суткам – в 1,3 раза ($p < 0,05$) ниже относительно опытной группы с повреждением (Приложение Е, таблица Е.5, рисунок 3.34).

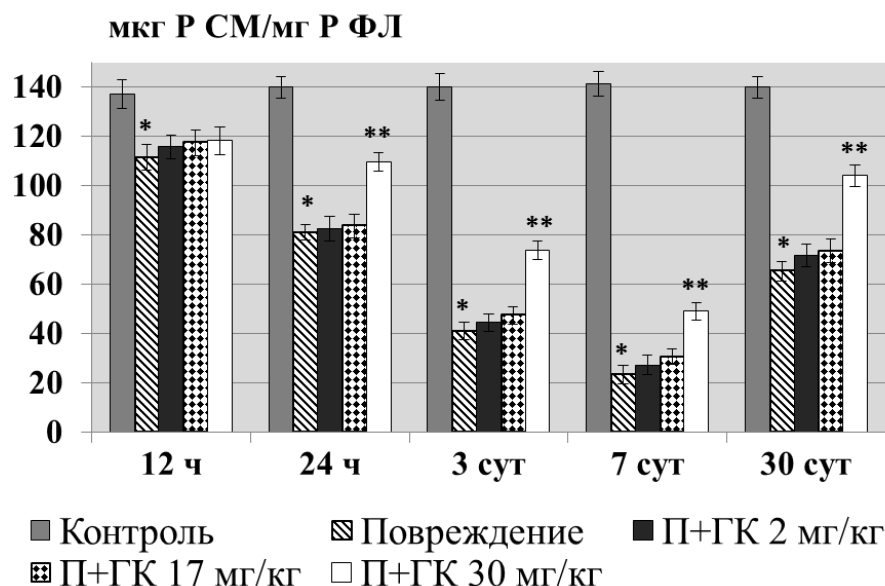


Рисунок 3.32 Динамика изменения концентрации сфингомиелина в дистальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия

(* – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

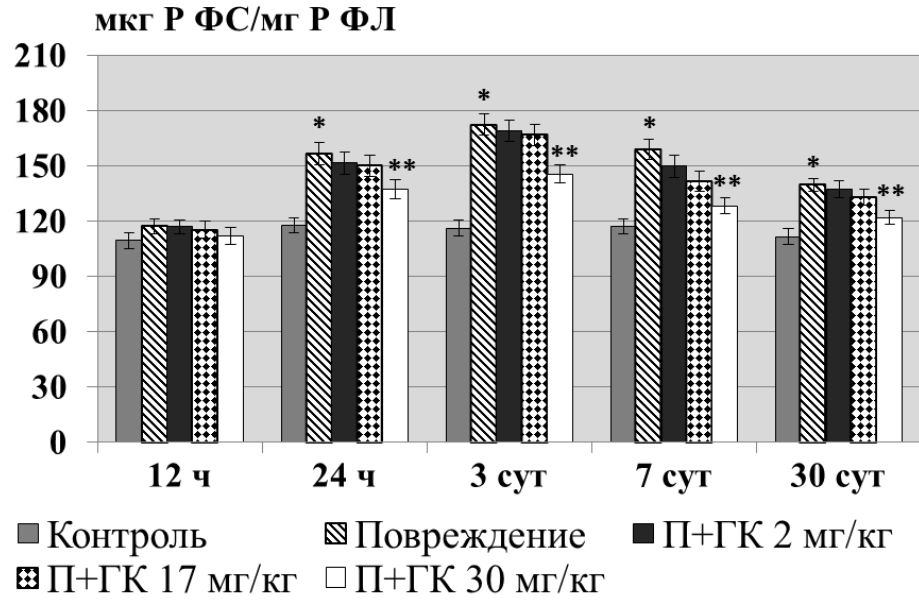


Рисунок 3.33 Динамика изменения концентрации фосфатидилсерина в дистальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

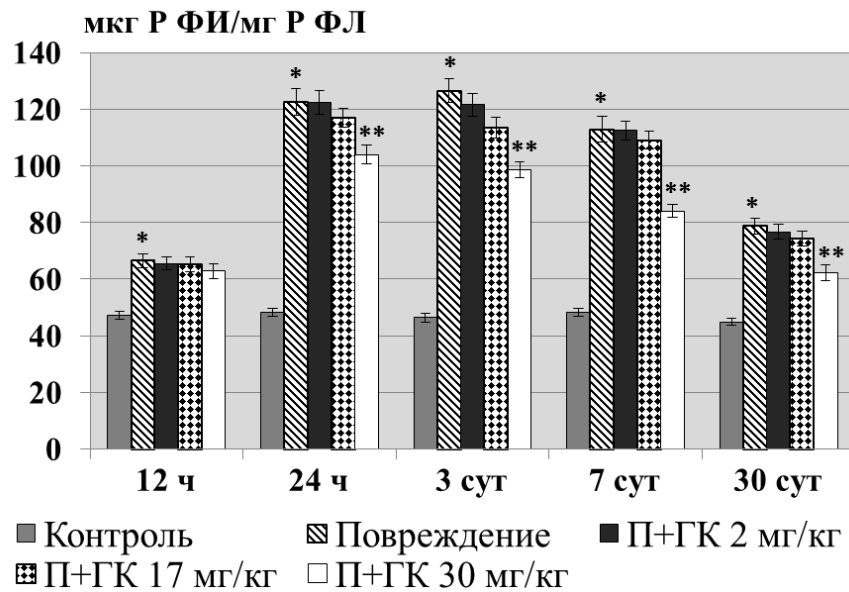


Рисунок 3.34 Динамика изменения концентрации фосфатидилинозитола в дистальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Полученные данные коррелируют с изменением уровня ДАГ, минимальное содержание которого отмечается к 3-м суткам эксперимента. В этом варианте опыта концентрация ДАГ снижается относительно контроля на 73,4 % ($p < 0,05$). Введение гиалуроната калия подопытным животным не вызывает существенных изменений содержания ДАГ в дистальном конце нерва после его перерезки, что может свидетельствовать об отсутствии фосфоинозитид-опосредованного действия гиалуроната калия на восстановление уровня ДАГ (рисунок 3.35).

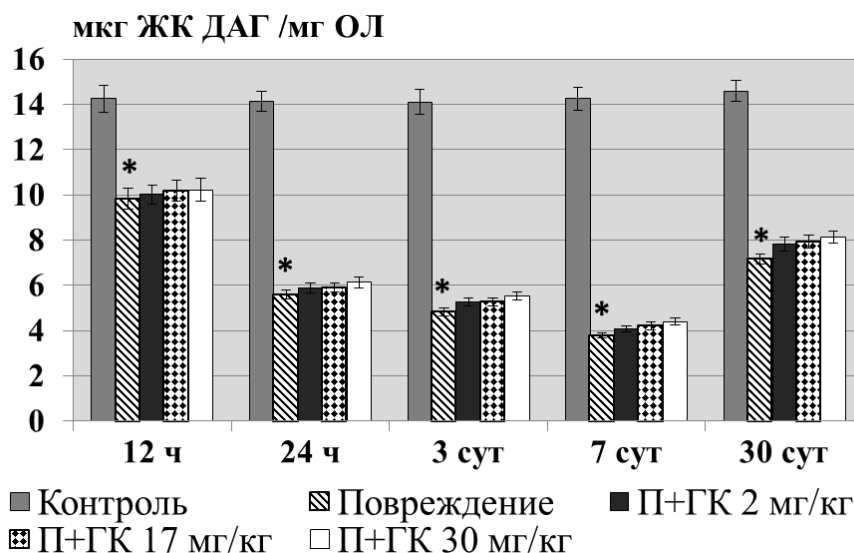


Рисунок 3.35 Динамика изменения концентрации диацилглицерина в дистальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Таким образом, в дистальном конце нерва прослеживается аналогичная динамика изменения содержания отдельных фосфолипидных фракций. Тем не менее, стабилизирующий эффект ГК в дистальном конце седалищного нерва крысы проявляется в меньшей степени по сравнению с его проксимальным отрезком, что объясняется более интенсивным протеканием дегенерационных процессов в этом варианте опыта.

В данной части работы мы исследовали жирнокислотный состав фосфолипидных фракций в дистальном конце нерва. Было обнаружено, что в контроле в изучаемых фракциях содержатся те же жирные кислоты, что и в проксимальном отрезке нерва. Отличия в качественном и количественном составе жирных кислот в разных участках поврежденного нервного проводника наблюдаются в опытной группе с перерезкой и введением гиалуроната калия. Исследование жирнокислотного состава фракции ФЭА показало, что через 12 ч. после травмы происходит снижение коэффициента насыщенности относительно контрольного значения в 2,0 раза ($p < 0,05$) в результате увеличения доли ненасыщенных ЖК. Так, содержание

олеиновой и арахидоновой возрастает в 1,5 раза по отношению к контролю. Через 24 ч и 3 суток после перерезки нерва коэффициент насыщенности снижен относительно неповрежденного нерва в 2,0 и 3,5 раза ($p < 0,05$) соответственно. С увеличением послеоперационных сроков до 7 суток соотношение насыщенные/ненасыщенные ЖК в группе с повреждением снижается и составляет 0,1. Спустя 30 суток повреждающего воздействия коэффициент насыщенности все еще снижен относительно контроля на 55,6 % ($p < 0,05$). Введение ГК в концентрации 30 мг/кг не способствует существенной стабилизации жирнокислотного состава на протяжении 7 суток эксперимента. В дальнейшем, к 30-м суткам эксперимента в опытной группе с ГК в его максимальной концентрации коэффициент насыщенности возрастает по сравнению с повреждением на 50 % ($p < 0,05$), но все еще снижен относительно контроля в 1,5 раза (Приложение Ж, таблица Ж.1, рисунок 3.36).

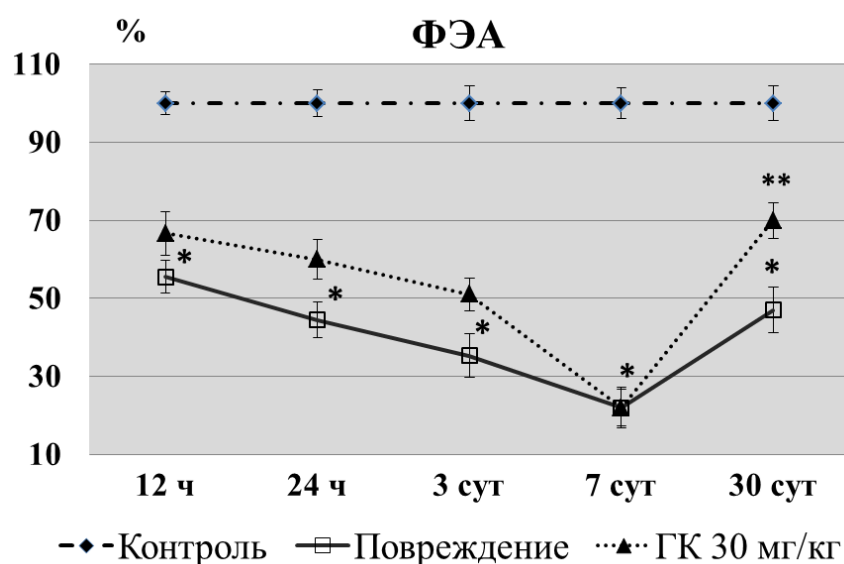


Рисунок 3.36 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ФЭА в дистальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Перерезка нерва вызывает изменения в составе фракции ФХ: через 12 ч., 24 ч., 3 суток и 7 суток после травмы коэффициент насыщенности снижается по отношению к контролю в 1,8; 2,4, 2,5 и 2,9 раза ($p < 0,05$) соответственно. Увеличение длительности периода после перерезки до 30 суток сопровождается изменениями в жирнокислотном составе данной фракции, что выражается в увеличении содержания насыщенных и снижении количества ненасыщенных ЖК. При этом коэффициент насыщенности увеличивается, превышая контрольное значение на 36,0 %. Гиалуронат калия оказывает наиболее выраженное действие в концентрации 30 мг/кг. Следует отметить, что при введении препарата стабилизация жирнокислотного состава

проявляется гораздо раньше по сравнению с повреждением. Так, уже на 7 сутки наблюдения под действием ГК коэффициент насыщенности увеличивается в 4 раза ($p < 0,05$) относительно повреждения, в то время как в опытной группе с перерезкой этот показатель все еще ниже контрольного значения. В дальнейшем, к 30-м суткам эксперимента в опытной группе с ГК в его максимальной концентрации коэффициент насыщенности приближается к контрольным значениям (Приложение Ж, таблица Ж.2, рисунок 3.37).

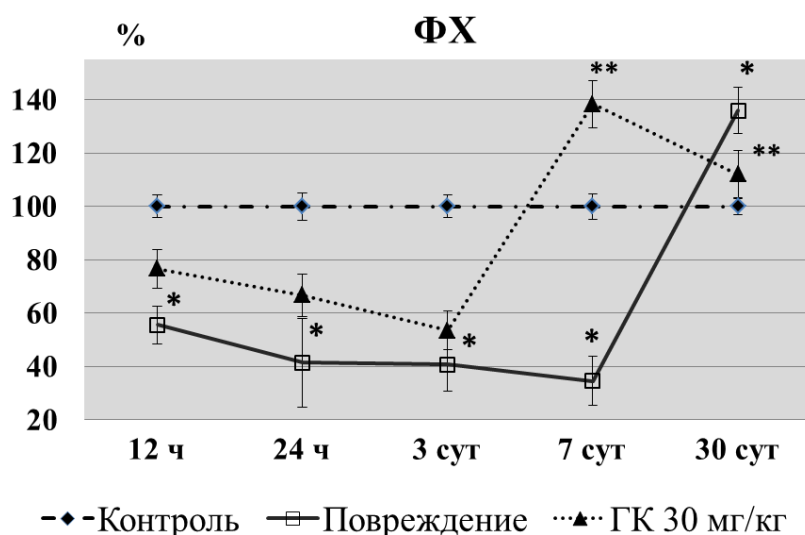


Рисунок 3.37 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ФХ в дистальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

В результате проведенных исследований было установлено, что перерезка нерва приводит к снижению коэффициента насыщенности во фракции СМ в результате увеличения ненасыщенных ЖК. Так, через 12 и 24 ч. коэффициент насыщенности снижается в 2,0 и 3,5 раза соответственно, а спустя 3 суток – в 7,0 раз относительно контрольного нерва. В дальнейшем отмечается стабилизация жирнокислотного состава сфингомиелина, что выражается в возрастании коэффициента насыщенности. Тем не менее, к 7-м и 30-м суткам наблюдения данный показатель все еще превышает контрольное значение в 4,0 и 2,3 раза соответственно. В опытной группе с ГК тенденция к восстановлению ЖК-состава отмечается на 3-и сутки наблюдения. Наиболее заметными эти изменения становятся по истечении 7 суток и 30 суток. В данные временные промежутки коэффициент насыщенности в группе животных с введением ГК в концентрации 30 мг/кг возрастает на 50,0 и 66,7 % соответственно по сравнению с повреждением (Приложение Ж, таблица Ж.3, рисунок 3.38).

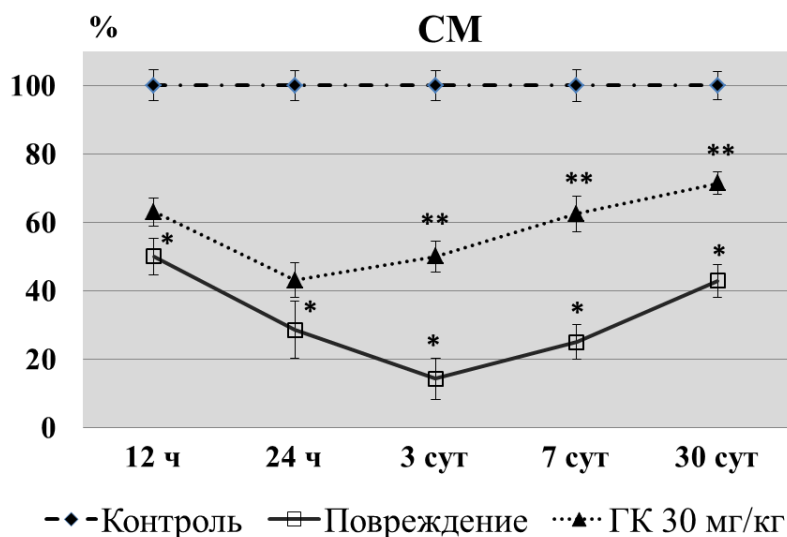


Рисунок 3.38 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности СМ в дистальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

В составе фракции ФС в дистальном конце нерва через 12 ч. после травмы наблюдается увеличение коэффициента насыщенности в 3,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Спустя 24 ч. и 3 суток соотношение насыщенные/ненасыщенные ЖК в травмированном участке нерва возрастает в 4,0 и 4,8 раза ($p < 0,05$) соответственно по отношению к интактному нерву. К 7-м суткам наблюдения данный показатель превышает контрольное значение в 4,5 раза ($p < 0,05$), а к 30-м суткам наблюдения – в 3,0 раза ($p < 0,05$) (Приложение Ж, таблица Ж.4, рисунок 3.39).

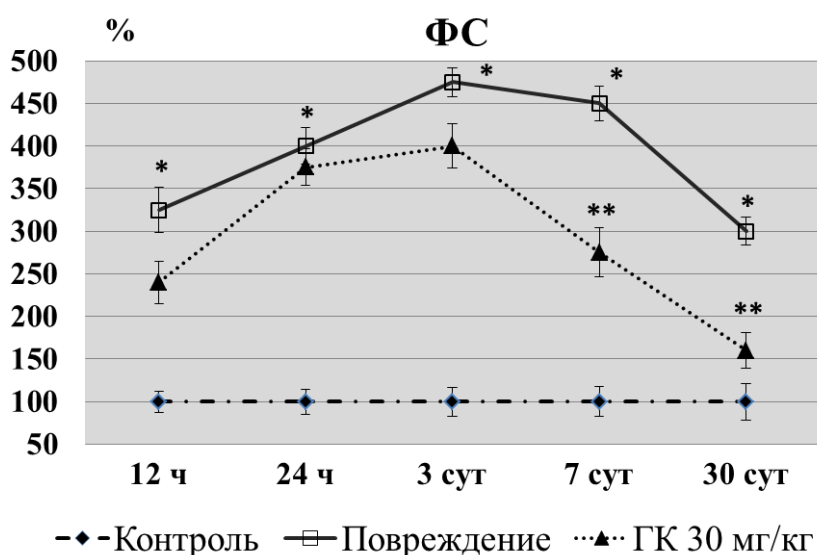


Рисунок 3.39 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ФС в дистальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Введение ГК в концентрации 30 мг/кг сопровождается снижением коэффициента насыщенности во фракции ФС. Так, к 7-м суткам наблюдения введение препарата в концентрации 30 мг/кг способствует снижению коэффициента насыщенности на 38,9 % ($p<0,05$), а спустя 30 суток – на 33,3 % ($p<0,05$) по сравнению с травмированным нервом без воздействия препарата (Приложение Ж, таблица Ж.4, рисунок 3.39).

Исследование ЖК состава фракции ФИ показало, что в отличие от проксимального отрезка нерва в его дистальном конце происходят более выраженные дегенерационные процессы уже на раннем этапе после перерезки. Эти отличия проявляются в существенном увеличении содержания ненасыщенных ЖК через 12 ч. после травмы, в результате чего коэффициент насыщенности возрастает в 4,0 раза ($p<0,05$) по отношению к контролю. В дальнейшем наблюдается еще более выраженное увеличение соотношения ненасыщенные/насыщенные ЖК: спустя 24 часа после травмы коэффициент насыщенности возрастает в 5,3 раза ($p<0,05$), а через 3 суток – в 6,0 раз ($p<0,05$) относительно неповрежденного нерва. К 7-м суткам наблюдения данный показатель снижается по сравнению с третьими сутками после повреждения, однако все еще превышает контрольное значение в 5,3 раза. Спустя 30 суток после перерезки седалищного нерва крысы изменение коэффициента насыщенности не наблюдается и он, по-прежнему, превышает контроль в 4,0 раза ($p<0,05$) (Приложение Ж, таблица Ж.5, рисунок 3.40).

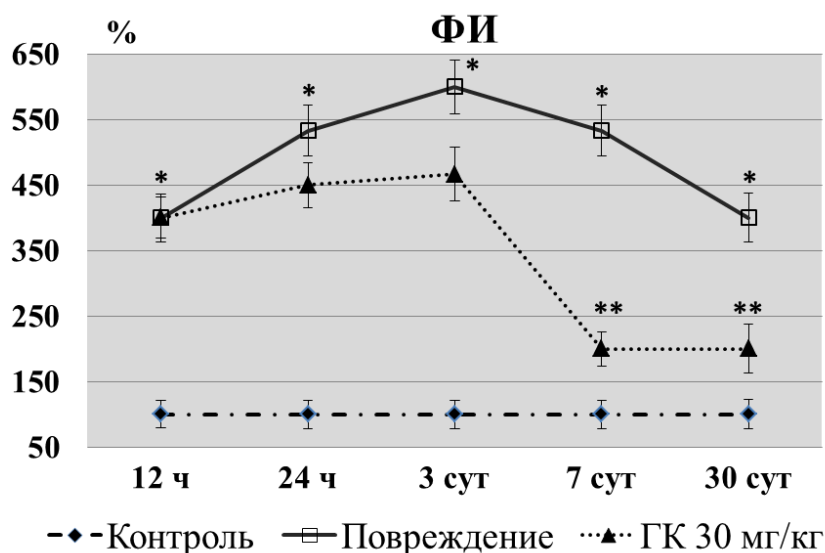


Рисунок 3.40 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ФИ в дистальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к контролю, $p<0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p<0,05$)

Введение подопытным животным ГК в концентрации 30 мг/кг способствует снижению коэффициента насыщенности во фракции ФИ спустя 7 суток после перерезки нерва на 50 %

($p < 0,05$) относительно опытной группы с повреждением. Увеличение длительности послеоперационного периода до 30 суток не сопровождается изменениями в распределении ЖК, и соотношение насыщенные/ненасыщенные ЖК превышает контрольное значение в 2 раза ($p < 0,05$) (Приложение Ж, таблица Ж.5, рисунок 3.40).

Исследование показало, что во фракции ДАГ содержание насыщенных жирных кислот составляет 83,2 %, а ненасыщенных – 16,8 %. Коэффициент насыщенности равен 5,0. При повреждении нерва во фракции ДАГ наблюдается снижение коэффициента насыщенности в 12,5 раз ($p < 0,05$) относительно контроля. Введение гиалуроната калия подопытным животным не вызывает достоверных изменений коэффициента насыщенности по сравнению с повреждением (рисунок 3.41).

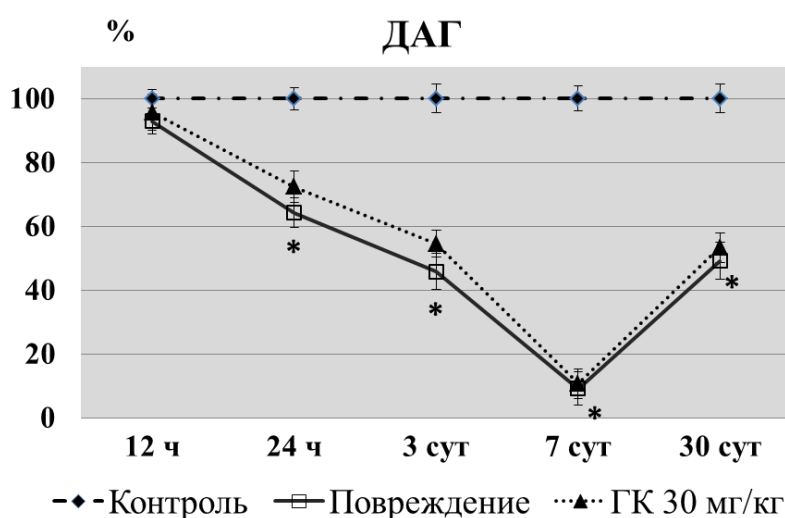


Рисунок 3.41 Влияние гиалуроната калия на изменение коэффициента насыщенности ДАГ в дистальном конце нерва после его перерезки (в % от контроля; * – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

С помощью метода дифференциальной сканирующей калориметрии было показано, что спустя 7 суток после перерезки нерва наблюдается снижение температуры фазового перехода липидов до $-41,5$ °С в его дистальном отрезке. Использование гиалуроната калия в концентрации 30 мг/кг в этот период времени сопровождается повышением температуры фазового перехода липидов, которая составляет $-37,9$ °С (рисунок 3.42).

Полученные данные свидетельствуют о том, что в дистальном конце нерва происходит интенсивное накопление ненасыщенных жирных кислот в исследуемых липидных фракциях, в результате чего отмечается более низкая температура фазового перехода липидов по сравнению с его проксимальным отрезком. Введение гиалуроната калия подопытным животным вызывает повышение температуры фазового перехода липидов в дистальном конце нерва. Однако в его

проксимальном отрезке стабилизирующее действие препарата на восстановление жирнокислотного состава липидов проявляется в большей степени, о чем свидетельствует более выраженное повышение температуры кристаллизации липидов в этом варианте опыта.

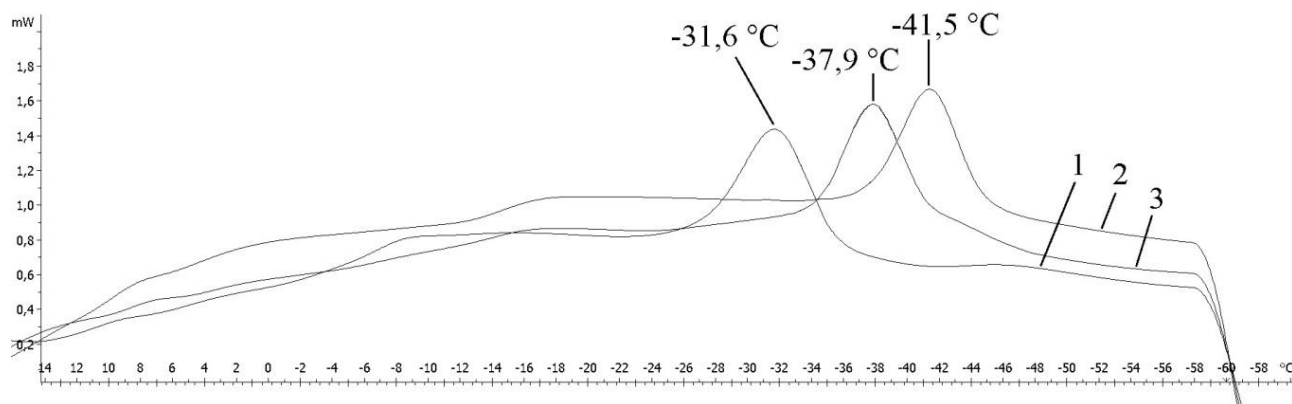


Рисунок 3.42 Кривая дифференциальной сканирующей калориметрии для липидов, выделенных из седалищного нерва крысы в контроле (1), при повреждении (2) и введении гиалуроната калия в концентрации 30 мг/кг (3) спустя 7 суток после перерезки нерва в его дистальном отрезке

Таким образом, в дистальном конце нерва в отличие от его проксимального отрезка максимальное содержание ФИ наблюдается на 3 сутки эксперимента, а минимальный уровень ФЭА отмечается к 7 суткам наблюдения. При исследовании ЖК состава фосфолипидов было выявлено, что в дистальном конце нерва минимальное значение коэффициента насыщенности во фракциях ФЭА и ФХ наблюдается на 3-и и 7-е сутки эксперимента соответственно, а максимальное значение коэффициента насыщенности во фракции ФС отмечается к 3-м суткам наблюдения. Из этого следует, что в дистальном конце нерва дегенерационные процессы протекают намного интенсивнее и носят более продолжительный характер по сравнению с проксимальным отрезком нерва. Использование препарата в концентрации 30 мг/кг сопровождается нормализацией фосфолипидного и жирнокислотного состава, как в проксимальном, так и в дистальном конце нервного проводника. В ходе проведенных исследований было показано, что в дистальном конце нерва, в отличие от его проксимального отрезка гиалуронат калия оказывает менее выраженное действие на восстановление количественного содержания и жирнокислотного состава индивидуальных фосфолипидных фракций.

3.6. Влияние гиалуроната калия на изменение содержания лизофосфолипидов и свободных жирных кислот в дистальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки

В следующем варианте опытов мы исследовали влияние гиалуроната калия на изменение содержания лизофосфолипидов в дистальном конце нерва после его перерезки. Исследование показало, что содержание ЛФХ через 12 и 24 часа после повреждения увеличивается в 1,6 и 2,3 раза ($p < 0,05$) соответственно по отношению к контролю. Максимум накопления лизофосфатидилхолина в дистальном конце нерва наблюдается на 7-е сутки и составляет в среднем 35,9 мкг Р_{ЛФХ}/мг Р_{ФЛ}. К 30-м суткам содержание ЛФХ в дистальном конце нерва незначительно снижается, и превышает контрольное значение в 3,1 раза ($p < 0,05$). Использование препарата в концентрации 30 мг/кг сопровождается снижением уровня ЛФХ через 12 ч. после травмы на 10,2 % ($p < 0,05$) относительно опытной группы с повреждением. К 3-м суткам эксперимента содержание ЛФХ снижается на 31,4 % ($p < 0,05$) по сравнению с травмированным нервом без воздействия препарата. В дальнейшем отмечается аналогичная динамика: на 7-е и 30-е сутки наблюдения уровень ЛФХ в серии опытов с ГК в концентрации 30 мг/кг снижается на 30,4 и 25,3 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с повреждением (Приложение 3, таблица 3.1, рисунок 3.43).

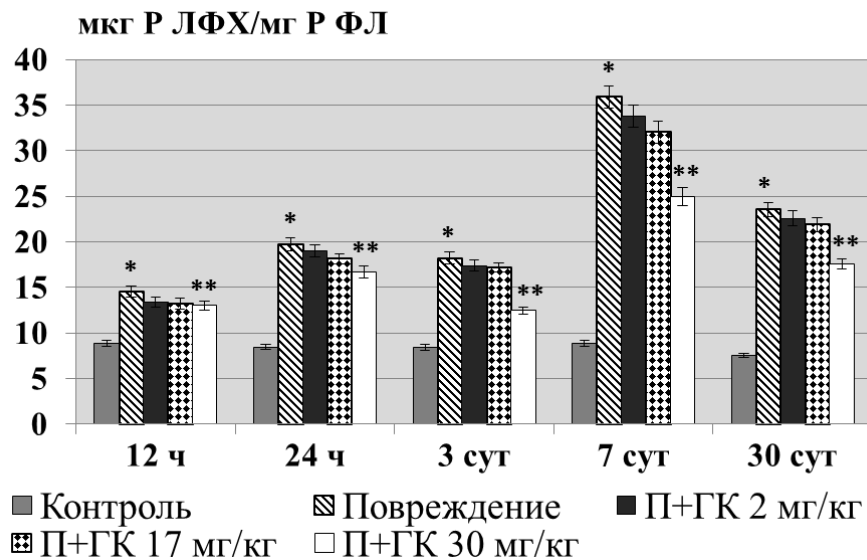


Рисунок 3.43 Влияние гиалуроната калия на содержание ЛФХ в дистальном конце седалищного нерва крыс после его перерезки и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Аналогичная динамика прослеживается при исследовании изменения концентрации лизофосфатидилэтаноламина. Так, уровень ЛФЭА возрастает в 1,9 и 3,4 раза ($p < 0,05$) спустя 12 и 24 часа после перерезки нерва по сравнению с контролем. Максимальное увеличение данного показателя отмечается на 7-е сутки и составляет в среднем 15,0 мкг Р_{ЛФЭА}/мг Р_{ФЛ}. К 30-м суткам эксперимента происходит незначительное снижение уровня ЛФЭА, который превышает контрольное значение в 4,4 раза. Введение гиалуроната калия подопытным животным не вызывает существенных изменений через 12 ч после травмы. По истечении 24 ч наблюдается снижение содержания ЛФЭА на 20,6 % ($p < 0,05$) в опытной группе с введением препарата в концентрации 30 мг/кг, а к 7-м и 30-м суткам эксперимента – на 45,9 и 24,5 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с травмированным нервом без воздействия препарата (Приложение 3, таблица 3.2, рисунок 3.44).

Во фракции СЖК на начальном этапе денервации заметных изменений не наблюдается. Через 24 часа после травмы уровень СЖК возрастает в 2,7 раза и достигает максимума (169,5±3,6 мкг ЖК/мг ОЛ) к 7-м суткам эксперимента. Увеличение послеоперационных сроков до 30 суток не приводит к существенным изменениям, и количество СЖК снижается на 21,6 % относительно опытной группы с повреждением. При введении ГК в концентрации 30 мг/кг наблюдается снижение уровня СЖК: через 3 суток количество свободных жирных кислот уменьшается в 1,3 раза ($p < 0,05$), а с увеличением длительности периода после повреждения до 30 суток уровень СЖК снижается в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с повреждением (Приложение 3, таблица 3.3, рисунок 3.45).

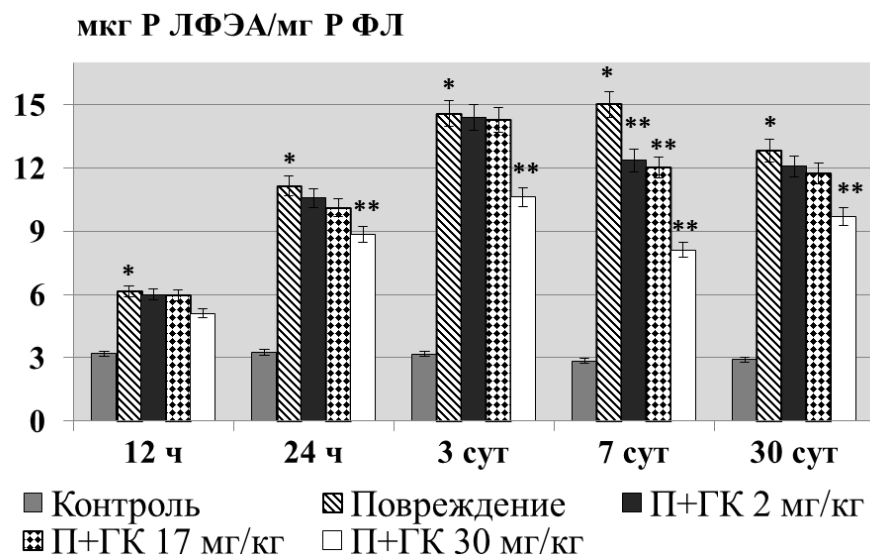


Рисунок 3.44 Влияние гиалуроната калия на содержание ЛФЭА в дистальном конце седалищного нерва крыс после его перерезки и действия гиалуроната калия

(*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

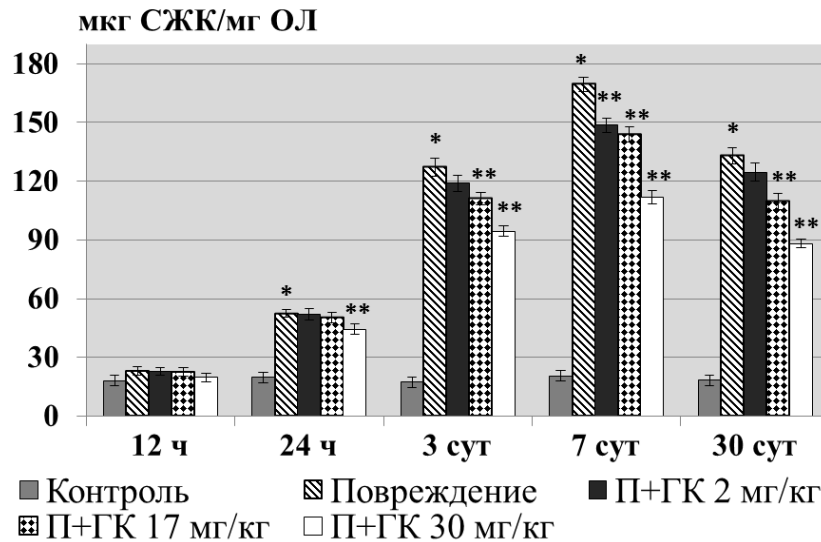


Рисунок 3.45 Влияние гиалуроната калия на изменение содержания СЖК в дистальном конце седалищного нерва крыс после его перерезки и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

В дистальном конце нерва в составе фракции СЖК идентифицированы те же жирные кислоты, что и в проксимальной отрезке нервного проводника. Через 12 ч. после травмы содержание ЖК меняется: концентрация олеиновой и линолевой возрастает в 3,3 и 8,9 раза соответственно по сравнению с контролем, исчезает цис-8,11,14-эйкозатриеновая кислота. В результате коэффициент насыщенности снижается в 5,0 раз ($p < 0,05$) (Приложение 3, таблица 3.4, рисунок 3.46).

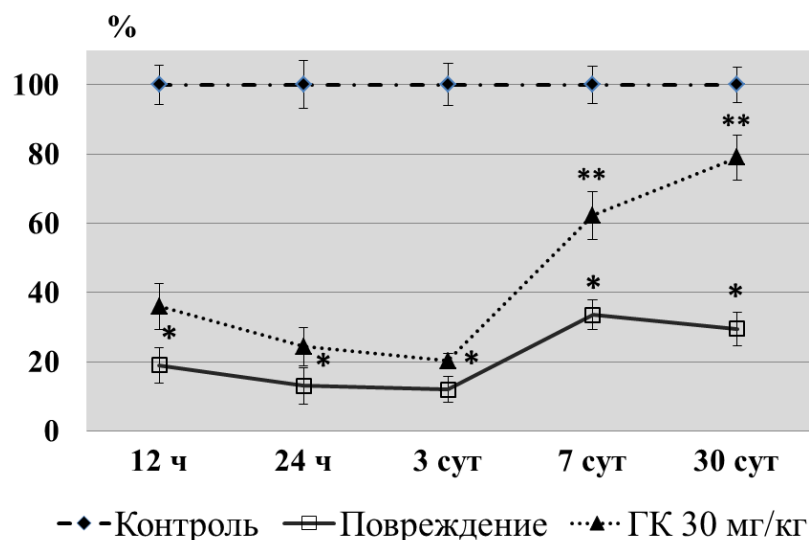


Рисунок 3.46 Изменение коэффициента насыщенности СЖК в дистальном конце нерва после его перерезки и введения гиалуроната калия (в % от контроля; *– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Аналогичная динамика изменения ЖК состава фракции СЖК отмечается до 3-х суток эксперимента, а к 7-м суткам происходит увеличение данного показателя, но он все еще ниже контрольного значения в 3 раза ($p < 0,05$). Спустя 30 суток после перерезки нерва соотношение насыщенные/ненасыщенные ЖК практически не меняется, что свидетельствует о высоком содержании ненасыщенных ЖК. Содержание ненасыщенных СЖК в варианте опыта с ГК превышает контрольное значение через 12, 24 часа и 3 суток после повреждения в 2,3; 3,2 и 3,3 раза. На 7-е сутки эксперимента введение препарата в концентрации 30 мг/кг способствует снижению коэффициента насыщенности в 1,9 раза относительно повреждения ($p < 0,05$), а к 30-м суткам наблюдения этот показатель снижен по сравнению с контролем на 20,3 % ($p < 0,05$) (Приложение 3, таблица 3.4, рисунок 3.46).

Таким образом, в дистальном конце нерва происходят более выраженные изменения в связи с развитием сильных дегенерационных процессов на всем его протяжении, в результате чего стабилизирующее действие гиалуроната калия на восстановление уровня лизофосфолипидов и свободных жирных кислот проявляется в меньшей степени по сравнению с проксимальным концом нерва после его перерезки.

3.7. Влияние гиалуроната калия на изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов в дистальном конце седалищного нерва крысы после его перерезки

Установлено, что через 12 ч после перерезки содержание ДК в дистальном конце нерва крысы возрастает на 17,6 % ($p < 0,05$) по отношению к контрольному уровню. На более длительных сроках после перерезки – спустя 3 суток, данный показатель увеличивается на 167,5 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. При повреждении нервного волокна наблюдается усиление процессов перекисеобразования. Таким образом, при более длительных сроках от начала перерезки интенсивность накопления диеновых конъюгатов усиливается. В дальнейшем отмечается тенденция к снижению содержания ДК на 14,4 и 24,5 % через 7 и 30 суток соответственно по отношению к травмированному нерву без воздействия препарата на 3 сутки наблюдения. Однако, несмотря на это, уровень ДК по-прежнему существенно превышает контрольные значения: в среднем в 2,4 и 2,1 раза ($p < 0,05$) к 7-м и 30-м суткам эксперимента соответственно. При действии гиалуроната калия в концентрации препарата 30 мг/кг содержание ДК снижается, причем наиболее заметные изменения происходят, начиная с 3-х суток эксперимента. Так, спустя 3, 7 и 30 суток уровень ДК снижен в 1,2 раза ($p < 0,05$) относительно опытной группы с повреждением (Приложение И, таблица И.1, рисунок 3.47).

Исследование показало, что перерезка нерва сопровождается существенным возрастанием уровня МДА в его дистальном отрезке. Спустя 12 ч. после травмы содержание

МДА увеличивается на 50% ($p < 0,05$), а по истечении 24 ч. – на 104,2 % ($p < 0,05$) относительно контроля. Максимальное накопление МДА отмечается на 3-и сутки наблюдения и составляет в среднем 1,19 ммоль/мг белка (Приложение И, таблица И.2, рисунок 3.48).

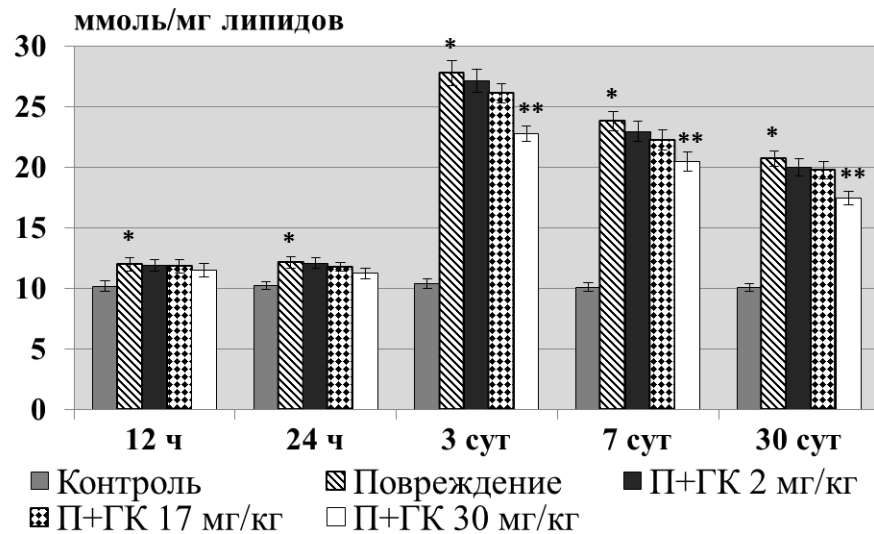


Рисунок 3.47 Динамика изменения концентрации диеновых конъюгатов в дистальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

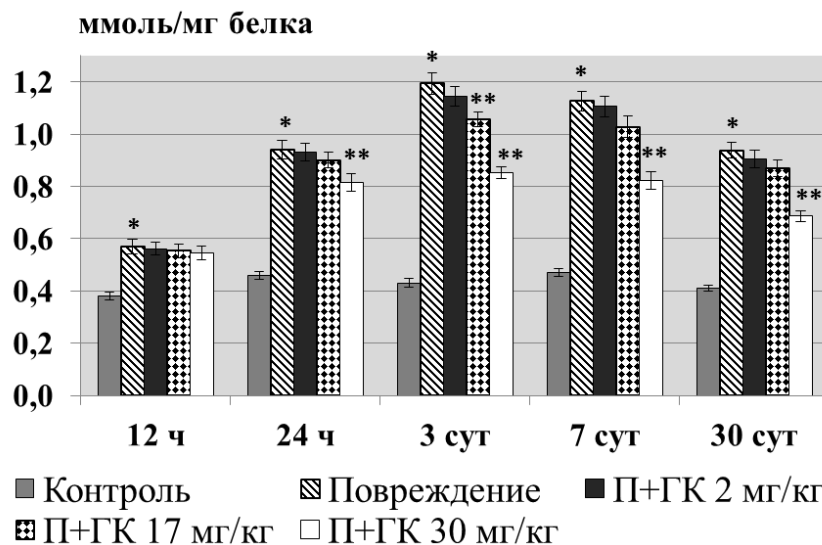


Рисунок 3.48 Динамика изменения концентрации малонового диальдегида в дистальном конце седалищного нерва крысы после его повреждения и действия гиалуроната калия (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Незначительное снижение уровня МДА происходит к 7-м и 30-м суткам эксперимента, однако в эти временные промежутки содержание МДА превышает контрольные значения в 2,4 и 2,3 раза ($p < 0,05$) соответственно. В опытной группе с введением ГК в концентрации 30 мг/кг уровень малонового диальдегида заметно снижается: через 3 суток и 7 суток – на 28,6 и 27,0 % ($p < 0,05$) относительно опытной группы с перерезкой. С увеличением послеоперационных сроков до 30 суток содержание МДА при действии ГК в концентрации 30 мг/кг уменьшается на 26,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с повреждением, превышая контрольное значение в 1,7 раза (Приложение И, таблица И.2, рисунок 3.48).

Таким образом, в результате отсутствия механизмов регуляции и контроля в дистальной части нервного проводника начинают протекать реакции цепного характера, что проявляется в накоплении ДАГ и МДА, уровень которых значительно превышает таковой в проксимальном отрезке поврежденного нерва. Исходя из этого, в дистальном конце нерва из-за отсутствия центральной иннервации стабилизирующее действие гиалуроната калия проявляется в меньшей степени по сравнению с его проксимальным участком.

Глава 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЛИПИДНОГО БИСЛОЯ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ И ВВЕДЕНИИ ГИАЛУРОНАТА КАЛИЯ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЙНИЯ

Установлено, что от состава и физико-химического состояния липидного бислоя в значительной степени зависит функционирование возбудимых образований (Ревин В.В., Юданов М. А., Максимов Г. В. Состав липидов соматических нервов крысы при действии повреждающих факторов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2006. Т.142, №8. С. 155–157; Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с). В проведенных нами исследованиях было показано, что повреждение нервного проводника сопровождается изменением жирнокислотного состава и содержания отдельных фосфолипидных фракций, а также интенсификацией окислительных процессов, в результате чего происходит накопление лизофосфолипидов, свободных жирных кислот и продуктов перекисного окисления липидов. Особый интерес вызывает исследование физико-химического состояния липидного бислоя нервного волокна, которое мы оценивали по отношению интенсивностей полос I_{1060}/I_{1088} и I_{1650}/I_{1445} в спектрах, позволяющих судить о конформации и составе жирных кислот в мембранах нервных волокон (рисунок 4.1).

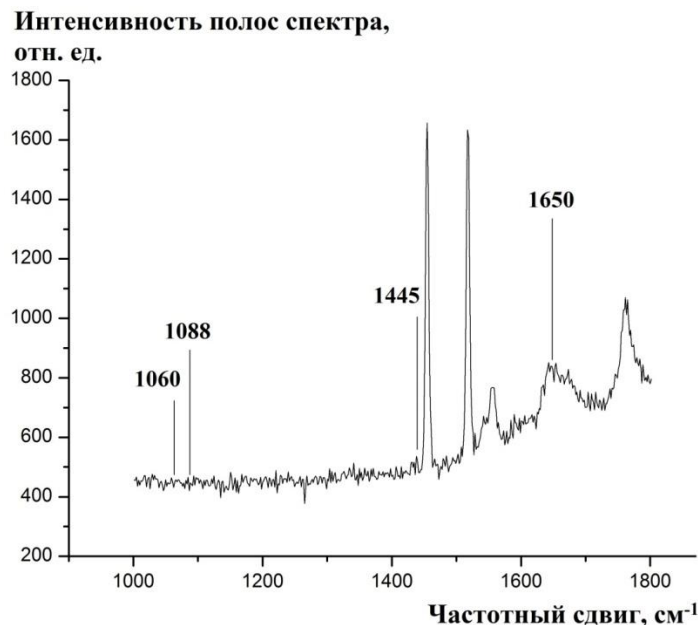


Рисунок 4.1 Спектр комбинационного рассеяния седалищного нервного волокна крысы в контроле в области 1000 – 1800 см⁻¹

Установлено, что отношение интенсивности полос I_{1060}/I_{1088} отражает отношение количества С–С связей жирных кислот в транс-конформации к количеству С–С связей жирных

кислот в гош-конформации (Rooney M.W., Lange Y., Kauffman J.W. Acyl chain organization and protein secondary structure in cholesterol-modified erythrocyte membranes // J Biol. Chem. 1984. Vol. 259, Iss. 13. P. 8281–8285). Результаты проведенных исследований показали, что через 12 и 24 ч после перевязки наблюдается снижение данного показателя на 21,3 % и 31,1 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контрольной группой. Минимальное значение отношения интенсивности полос I_{1060}/I_{1088} отмечается к 3-м суткам эксперимента. В этом варианте опыта снижение данного показателя относительно неповрежденного нерва составляет 44,4 % ($p < 0,05$). В дальнейшем отмечается тенденция к увеличению исследуемого показателя, однако к 30-м суткам наблюдения он все еще ниже контрольного значения в 1,4 раза ($p < 0,05$). Введение ГК в концентрации 30 мг/кг приводит к увеличению данного показателя на 26,0; 35,0; и 41,3 % ($p < 0,05$) по сравнению с повреждением через 24 часа, 3 суток и 7 суток после травмы соответственно. К 30-м суткам наблюдения при введении препарата в его максимальной концентрации данный показатель приближается к контрольным значениям (рисунок 4.2).

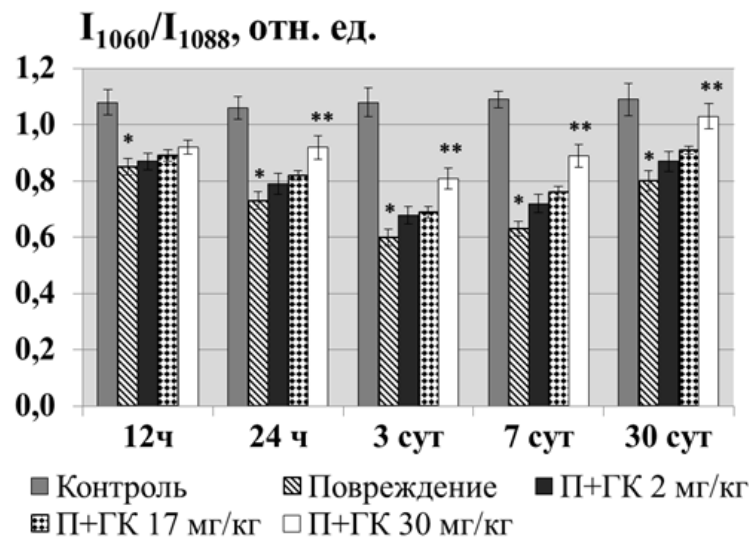


Рисунок 4.2 Изменение отношения интенсивности полос I_{1060}/I_{1088} КР-спектра нервного волокна после повреждения и действия гиалуроната калия

(* – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Об отношении количества $C=C$ связей жирных кислот в цис-конформации к деформационным колебаниям связи $C-CH_3$ между углеродом полиеновой цепи и углеродом боковой метильной цепи можно судить по отношению интенсивности полос I_{1650}/I_{1445} КР-спектра (Fu Y., Frederick T.J., Huff T.B. [et al.] Paranodal myelin retraction in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis visualized by coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy // Journal of Biomedical Optics. 2011. Vol. 16, Iss. 10. P. 106006). Из рисунка 4.3 видно, что повреждение нерва сопровождается увеличением исследуемого показателя с максимальным значением на 3-и сутки наблюдения, что свидетельствует о накоплении ненасыщенных ЖК. В

этом варианте опыта данный показатель превышает контрольное значение на 67,5 % ($p < 0,05$). Увеличение периода после повреждения нерва до 30 суток приводит к снижению данного показателя на 13,3 % ($p < 0,05$) относительно опытной группы с перевязкой, но он все еще выше контрольного значения в 1,3 раза. Введение ГК подопытным животным из расчета 30 мг/кг сопровождается достоверными изменениями исследуемого показателя. Так, спустя 3 и 7 суток после травмы отношение интенсивностей полос I_{1650}/I_{1445} КР-спектра снижается на 17,8 и 21,7 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с повреждением. К 30-м суткам наблюдения на фоне действия препарата данное отношение приближается к контрольному значению.

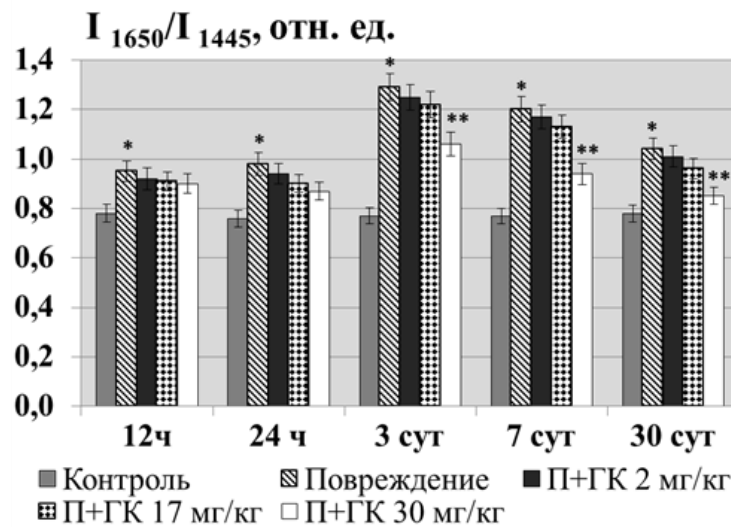


Рисунок 4.3 Изменение отношения интенсивности полос I_{1650}/I_{1445} КР-спектра нервного волокна после повреждения и действия гиалуроната калия (* – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; ** – достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Согласно данным Гриценко Е.Н. ненасыщенные ЖК вызывают разупорядочивание гидрофобной области липидного бислоя, в котором возникают дефекты и индуцируются неспецифические утечки низкомолекулярных соединений через мембрану (Гриценко Е.Н. Пермеабиллизация липидного бислоя при связывании Ca^{2+} с насыщенными длинноцепочечными жирными кислотами: физико-химический механизм и возможность его реализации в митохондриальной мембране : дис. ... канд. биол. наук. Пушино, 2006. 106 с). Также известно, что переход от насыщенных к ненасыщенным ЖК приводит к их меньшему взаимодействию и нарушению компактной упаковки липидного бислоя, способствуя снижению вязкости мембраны (Родионова Н. Н. Роль белков аксо-глиального комплекса в регуляции структуры и вязкости миелина нервного волокна : дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 172 с). Таким образом, изменение конформации и состава ЖК-остатков сопровождается изменением вязкости липидного бислоя мембраны нервного проводника. Из литературы известно, что селективность

ионных каналов нервных клеток зависит от вязкости мембраны, при уменьшении которой повышается активность многих мембранных ферментов, в том числе Ca^{2+} -АТФаза (Родионова Н. Н. Роль белков аксо-глиального комплекса в регуляции структуры и вязкости миелина нервного волокна : дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 172 с). В результате чего увеличивается концентрация внутриклеточного Ca^{2+} , что является пусковым фактором для активации ФЛ A_2 . Известно, что ФЛ A_2 катализирует гидролиз фосфолипидов, в основном в *sn*-2 положении, где обычно локализованы полиненасыщенные жирные кислоты (Ревин В.В., Юданов М.А., Ревина Э. С. [и др.] Изучение изменений содержания диацилглицерина при возбуждении нерва // Биохимия. 2006. Т.71, №10. С. 1354–1359). При гидролизе фосфолипидов происходит накопление лизофосфолипидов и свободных жирных кислот, обладающих детергентным действием по отношению к мембранам (Ревин В. В., Юданов М. А., Максимов Г. В. Состав липидов соматических нервов крысы при действии повреждающих факторов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2006. Т.142, №8. С. 155–157). Увеличение содержания ЛФЛ вносит напряжение в ориентацию жирнокислотных остатков фосфолипидов, приводит к разрыву биологических мембран и другим патологическим изменениям, что сопровождается нарушением конформации жирнокислотных цепей фосфолипидов. Как известно, увеличение доли ненасыщенных жирных кислот, образующихся в результате активации фосфолипазы ФЛ A_2 , вносит значительный вклад в формирование микровязкости нервной ткани, способствуя ее уменьшению. Поэтому увеличение количества ненасыщенных ЖК приводит к разжижению мембран соматических нервов (Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с). Также из литературы известно, что изменение вязкости и состава жирных кислот фосфолипидов мембран может быть обусловлено инициацией процессов перекисного окисления липидов (Курашвили Л. В., Васильков В. Г. Липидный обмен при неотложных состояниях. Пенза: ПИУВ, 2003. 198 с.; Ельский В. Н., Сидун М. С., Кривобок А. Г. [и др.] Коррекция ионолом процессов перекисидации липидов в тканях глаза при синдроме длительного раздавливания // Травма. 2009. Т. 10, № 4. С. 118–121; Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с). Введение гиалуроната калия подопытным животным приводит к восстановлению конформации и состава ЖК-остатков миелинового нервного волокна, что свидетельствует о мембранопротекторном и антиоксидантном действии ГК при повреждении периферических нервов. Кроме этого, гиалуронат калия способствует восстановлению микровязкости нервного волокна, поддержание которой на определенном, оптимальном для клетки и целого организма уровне имеет большое значение при изменении условий их функционирования.

Глава 5. ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФОСФОЛИПАЗЫ А₂ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ И ДЕЙСТВИИ ГИАЛУРОНАТА КАЛИЯ

Как известно, при денервации происходит дисбаланс ферментативных реакций, зависящий от стадии денервационного процесса и затрагивающий все основные направления жизнедеятельности клетки, в том числе белоксинтетическое, энергетическое, регуляторное и др. Общеизвестно, что липолитические ферменты, в частности, фосфолипаза А₂, играют важнейшую роль как в дегенеративных процессах после повреждения нерва, так и при последующем его восстановлении (Edstrom A., Briggman M., Ekstrom P. A. Phospholipase A₂ activity is required for regeneration of sensory axons in cultured adult sciatic nerves // J. Neurosci. Res. 1996. Vol. 43, Iss. 2. P.183–189; Hornfelt M., Ekstrom P. A., Edstrom A. Involvement of axonal phospholipase A₂ activity in the outgrowth of adult mouse sensory axons *in vitro* // Neuroscience. 1999. Vol. 91, Iss. 4. P. 1539–1547; Юданов М. А. Исследование состава липидов соматических нервов крысы при травмировании и действии химических агентов : дис. ... канд. биол. наук. Саранск, 2005. 187 с.; Ревин В. В., Ревина Э. С., Девяткин А. А. [и др.] Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. 220 с). В главах 3, 4 и 5 настоящего исследования мы представили результаты, свидетельствующие о том, что механическая травма нерва сопровождается изменением содержания фосфолипидов, а также нарушением конформации и состава жирных кислот нервного волокна. Кроме этого, повреждение нервного проводника приводит к накоплению лизофосфолипидов и свободных жирных кислот, образующихся при активации фосфолипазы А₂. В связи с этим одним из этапов нашей работы было исследование фосфолипазной активности гомогената нервной ткани после травматического повреждения седалищного нерва и введения подопытным животным гиалуроната калия.

В ходе проведенного исследования было установлено, что в контрольных нервах фосфолипазная активность составляет в среднем 19 мкг жирных кислот/мг белка/час. Через 12 ч. после повреждения нерва происходит увеличение активности ФЛ А₂ в 6,8 раз ($p < 0,05$) по сравнению с неповрежденным нервом. Более выраженная активация фермента была обнаружена через 24 ч и 3 суток после перевязки. Однако максимальное увеличение активности ФЛ А₂ отмечается к 7-м суткам эксперимента: фосфолипазная активность возрастает в 30,7 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Спустя 30 суток после травмы активность ФЛ А₂ снижается в 12,1 раза по сравнению с повреждением, но все еще превышает контрольное значение на 110,1 % ($p < 0,05$). В опытной группе с введением гиалуроната калия фосфолипазная активность также увеличивается, но в меньшей степени по сравнению с травмированным нервом без воздействия препарата. Минимальный уровень активности фермента наблюдается у

животных, которым вводили гиалуронат калия из расчета 30 мг/кг: фосфолипазная активность снижается в 2,2; 2,4 и 1,6 раза ($p < 0,05$) спустя 3, 7 и 30 суток соответственно (рисунок 5.1). Таким образом, введение гиалуроната калия подопытным животным достоверно снижает уровень активности фермента, что позволяет предположить о существовании ФЛ A_2 – опосредованного механизма действия гиалурононовой кислоты.

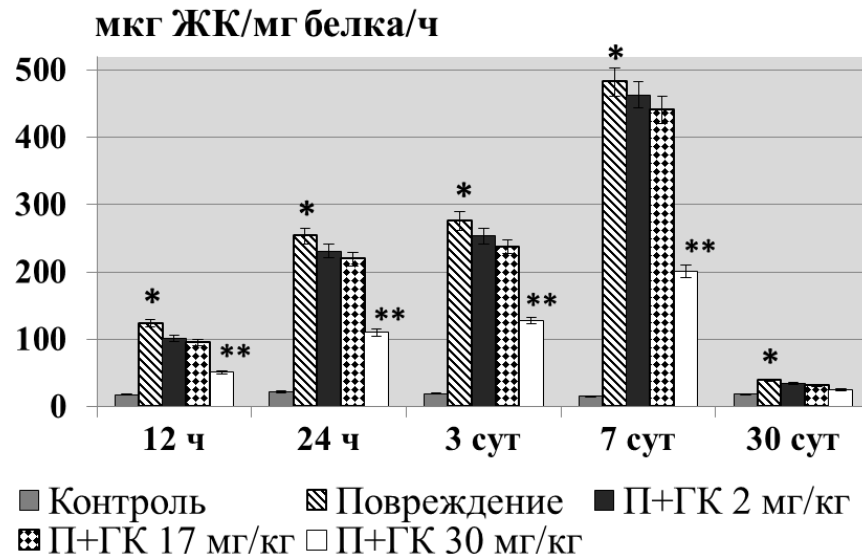


Рисунок 5.1 Динамика изменения активности фосфолипазы A_2 при инкубации седалищного нерва в Ca^{2+} -содержащей среде (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$)

Также известно, что ферменты из семейства фосфолипазы A_2 выделяются в отдельные группы по ряду параметров и свойств, одним из которых является зависимость от внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} . Поэтому представляется целесообразным установление Ca^{2+} -зависимых и Ca^{2+} -независимых форм ФЛ A_2 . Для этого мы провели эксперимент в среде с ЭГТА для связывания внутриклеточного кальция и определения активности Ca^{2+} -независимой фосфолипазы A_2 в поврежденном нервном проводнике. Было установлено, что в среде с ЭГТА активность фосфолипазы A_2 через 12 часов после перевязки превышает контрольное значение в 1,8 раза ($p < 0,05$) относительно контроля. Спустя 3 суток после травмы активность возрастает в 3 раза ($p < 0,05$), однако максимальная фосфолипазная активность в поврежденном седалищном нерве отмечается к 7-м суткам наблюдения и составляет 105 мкг ЖК/мг белка/ч. Таким образом, перевязка седалищного нерва сопровождается быстрым нарастанием активности ФЛ A_2 , а с увеличением послеоперационных сроков до 30 суток фосфолипазная активность снижается, но все еще незначительно превышает

контрольное значение. В группе животных с введением гиалуроната калия достоверного изменения фосфолипазной активности в среде с ЭГТА не наблюдается (рисунок 5.2). Следовательно, в опытной группе с повреждением нервного проводника наблюдается активация как Ca^{2+} -зависимой, так и Ca^{2+} -независимой ФЛ A_2 . Это может указывать на функционирование обеих форм фермента в ходе развития дегенерационных процессов. Тем не менее, в варианте опытов с ГК снижение фосфолипазной активности по сравнению с повреждением наблюдается только в опытной группе с внесением в инкубационную среду ионов Ca^{2+} . В этих же условиях, но в присутствии хелатора ионов Ca^{2+} -ЭГТА не было выявлено достоверных изменений фосфолипазной активности.

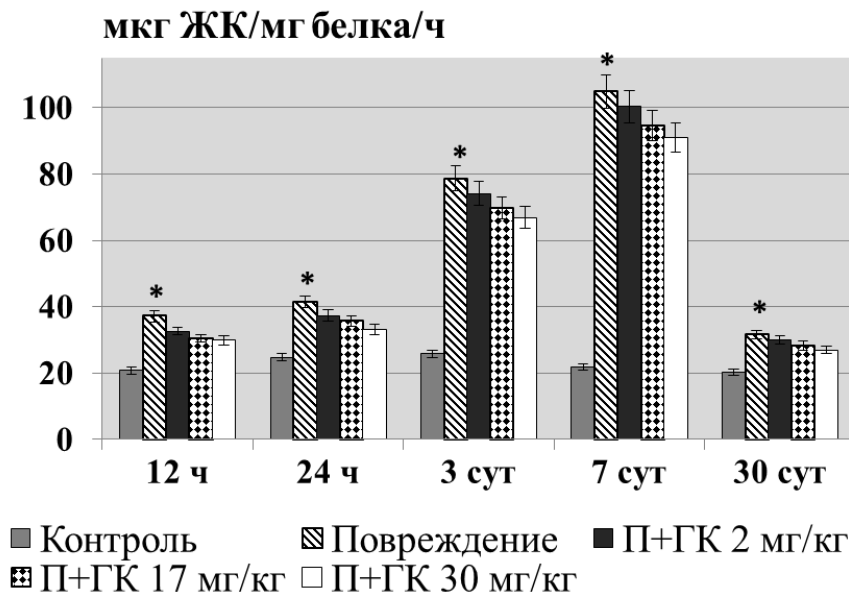


Рисунок 5.2 Динамика изменения активности фосфолипазы A_2 при инкубации седалищного нерва в среде с добавлением хелатирующего агента – ЭГТА (*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$)

Таким образом, результаты наших экспериментов указывают на то, что протекание дегенерационных процессов в нервном проводнике опосредовано функционированием обеих форм ФЛ A_2 . Однако ускорение регенерационных процессов в поврежденном седалищном нерве на фоне введения гиалуроната калия осуществляется, вероятнее всего, Ca^{2+} -зависимым образом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной работе исследовали роль липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденного нервного волокна крысы. В результате проведенных исследований было установлено, что при переходе нерва из состояния покоя в состояние функциональной активности происходит интенсификация метаболизма фосфоинозитидов, процессов перекисного окисления липидов и активация фосфолипазы А₂. С помощью дифференциальной сканирующей калориметрии было показано, что изменение метаболизма липидов коррелирует с изменением физико-химического состояния липидного бислоя. Однако наблюдающиеся изменения липидного состава носят кратковременный характер и не приводят к развитию патологических процессов. Травма нерва, вызванная его перерезкой, сопровождается глубокими дегенерационными процессами, что выражается в существенном увеличении содержания ЛФХ, ЛФЭА и СЖК результате активации фосфолипазы А₂. Кроме этого, при повреждении седалищного нерва наблюдаются изменения фосфолипидного и ЖК состава, что выражается в увеличении содержания фракций ФС и ФИ и снижении уровня ФЭА, ФХ и СМ относительно контроля. В составе фракций ФС и ФИ происходит увеличение содержания насыщенных и снижение ненасыщенных жирных кислот, в результате чего коэффициент насыщенности возрастает. Во фракциях ФЭА, ФХ и СМ коэффициент насыщенности снижается за счет увеличения содержания ненасыщенных ЖК. Эксперимент показал, что ГК в малых концентрациях практически не влияет на изменение содержания и ЖК состава липидов, как в проксимальном, так и в дистальном отрезке нервного проводника. Существенное восстановление их уровня отмечается при использовании препарата в концентрации 30 мг/кг.

В дистальном конце нерва прослеживается аналогичная динамика, однако в результате отсутствия центральной иннервации, дегенерационные процессы в этом отрезке нерва носят более выраженный характер, в результате чего стабилизирующий эффект гиалуроната калия в этом варианте опыта проявляется в меньшей степени.

Кроме исследования изменений в составе фосфолипидов и жирных кислот, с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния и дифференциальной сканирующей калориметрии мы провели оценку физико-химического состояния липидного бислоя нервных волокон. В ходе проведенных экспериментов было показано, что повреждение сопровождается изменением конформации жирных кислот и увеличением суммарного содержания ненасыщенных ЖК, входящих в состав липидов. Как известно, увеличение количества ненасыщенных ЖК приводит к разжижению мембран соматических нервов. Учитывая литературные данные и результаты собственных исследований, мы сделали предположение о

том, что проявление мембранопротекторных свойств ГК реализуется через регуляцию активности мембраносвязанной ФЛ A_2 . В результате проведенных экспериментов было установлено, что повреждение седалищного нерва сопровождается увеличением активности как Ca^{2+} -зависимой, так и Ca^{2+} -независимой ФЛ A_2 . Однако, снижение фосфолипазной активности при введении ГК наблюдается только в серии опытов в Ca^{2+} -содержащей среде. Достоверного изменения активности Ca^{2+} -независимой фосфолипазы A_2 на фоне действия препарата не происходит. Отсутствие изменения активности Ca^{2+} -независимой фосфолипазы A_2 при введении препарата, вероятнее всего, указывает на то, что она не участвует в механизме регенерации нервной ткани. Таким образом, ускорение регенерационных процессов в поврежденном нервном проводнике при действии гиалуроната калия, вероятнее всего, опосредовано функционированием Ca^{2+} -зависимой ФЛ A_2 .

На основании собственных экспериментальных и литературных данных мы предлагаем схему участия липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов (рисунок 6).

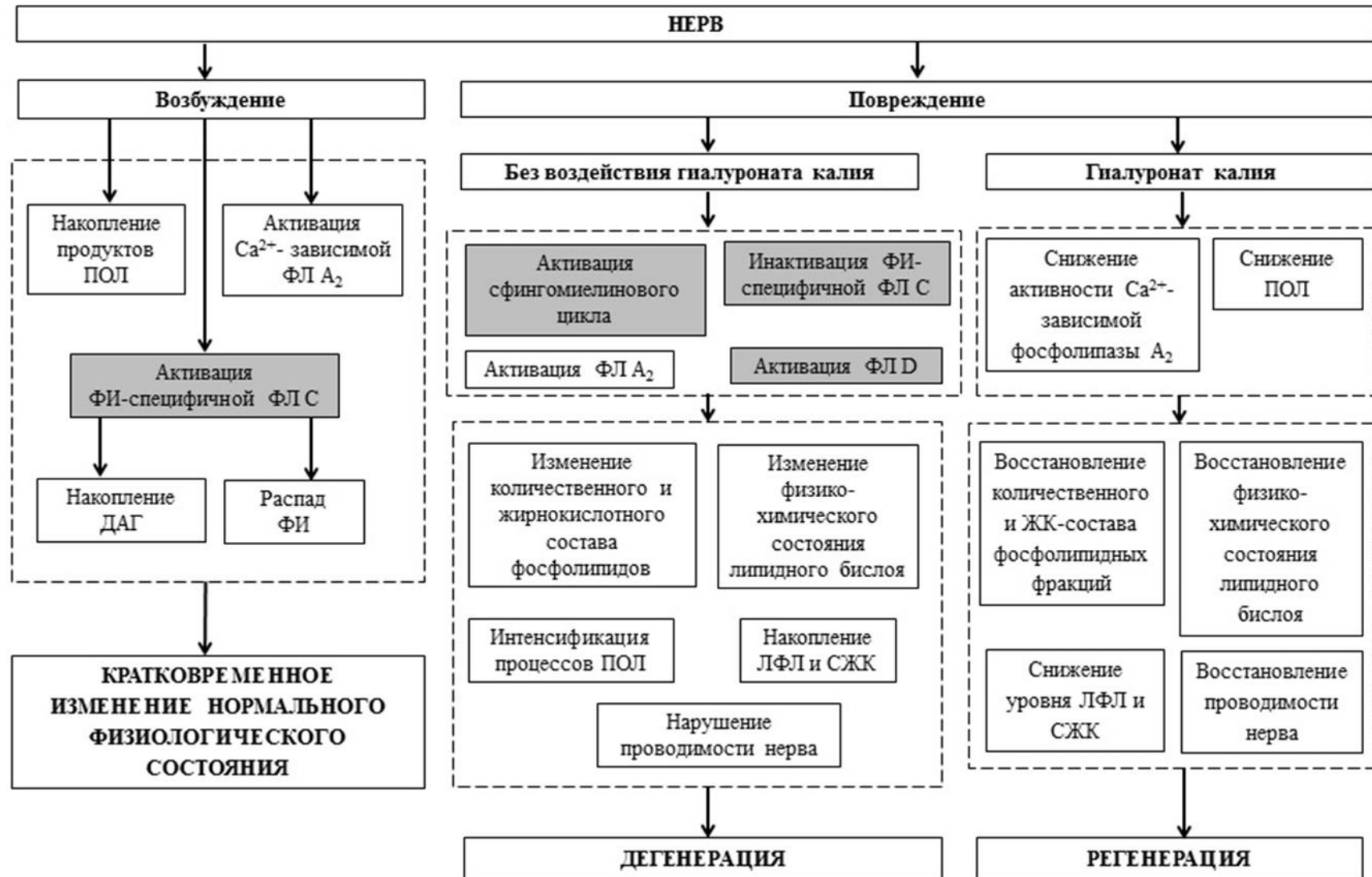


Рисунок 6. Схема участия липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов по данным литературы (серый фон) и результатам собственных исследований (белый фон): ДАГ – диацилглицерин; ЖК-состав – жирнокислотный состав; ЛФЛ – лизофосфолипиды; ПОЛ – перекисное окисление липидов; СЖК – свободные жирные кислоты; ФИ – фосфатидилинозитол; ФИ-специфичная ФЛ С – фосфоинозитид-специфичная фосфолипаза С; ФЛ D – фосфолипаза D; ФЛ A₂ – фосфолипаза A₂.

ВЫВОДЫ

1. В ходе проведенных нами экспериментов было установлено, что в липидном компоненте контрольных соматических нервов крысы содержатся ФЭА, ФХ, СМ, ФС, ФИ, ЛФХ, ЛФЭА и ДАГ. При переходе соматических нервов из состояния покоя в состояние функциональной активности интенсифицируется метаболизм фосфоинозитидов, что выражается в накоплении ДАГ и снижении уровня ФИ и СЖК. Изменения количественного содержания СЖК и жирнокислотного состава ФИ и ДАГ взаимосвязаны и коррелируют между собой. При проведении возбуждения возрастает интенсивность протекания процессов перекисного окисления, что сопровождается накоплением ДК и МДА, а также активацией Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 .

2. При повреждении седалищного нерва крысы наблюдаются изменения фосфолипидного и жирнокислотного состава нервных проводников во фракциях ФС, ФИ, ФЭА, ФХ, СМ и ДАГ. Во фракциях ФЭА, ФХ, СМ и ДАГ отмечается снижение коэффициента насыщенности за счет увеличения содержания ненасыщенных ЖК. Во фракциях ФС и ФИ происходит увеличение коэффициента насыщенности. При этом наблюдается снижение содержания ФЭА, ФХ, СМ и ДАГ и увеличение ФС и ФИ.

3. Показано, что при травме нерва, вызванной его перерезкой, происходит накопление ЛФЛ, СЖК и продуктов перекисного окисления липидов, как в проксимальном, так и в дистальном отрезке нервного проводника.

4. Установлено, что использование гиалуроната калия в концентрации 30 мг/кг подавляет накопление лизофосфолипидов и СЖК, стабилизирует фосфолипидный и ЖК-состав, а также снижает интенсивность образования продуктов ПОЛ, как в проксимальном, так и в дистальном отрезке нервного проводника. Сравнивая глубину изменений в исследуемых участках нерва, следует отметить, что в проксимальном конце нерва они менее выражены, и гиалуронат калия свое стабилизирующее действие на восстановление липидного и жирнокислотного состава оказывает в большей степени именно в этом варианте опыта.

5. С помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния и дифференциальной сканирующей калориметрии выявлено изменение физико-химического состояния бислоя при возбуждении и повреждении соматических нервов крысы. При введении гиалуроната калия наблюдается восстановление микровязкости липидного компонента соматических нервов.

6. Введение гиалуроната калия в концентрации 30 мг/кг приводит к снижению активности Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 и не вызывает достоверных изменений активности Ca^{2+} -независимой фосфолипазы A_2 в седалищном нерве крысы при повреждении. Таким образом, ускорение регенерационных процессов в поврежденном нервном проводнике при

действию гиалуроната калия, вероятнее всего, опосредовано функционированием Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 .

7. Обобщая данные литературы и результаты собственных исследований, можно утверждать, что повреждение нерва сопровождается глубокими изменениями в липидном компоненте соматических нервов, и гиалуроновая кислота является одним из факторов, вызывающих восстановление состава и состояния липидов исследуемых возбудимых образований.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АТФаза – аденозинтрифосфатаза
ВКМ – внеклеточный матрикс
ГТФ – гуанозинтрифосфат
ГХ – газовая хроматография
ДАГ – диацилглицерин
ДК – диеновые конъюгаты
ЖК – жирные кислоты
КР – комбинационное рассеяние
КС – коллатеральный спрутинг
ЛФК – лизофосфатидная кислота
ЛФЛ – лизофосфолипиды
ЛФХ – лизофосфатидилхолин
МДА – малоновый диальдегид
МКА – молекулы клеточной адгезии
МПП – митохондриальный переход проницаемости
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты
ПНС – периферическая нервная система
РС – регенераторный спрутинг
СЖК – свободные жирные кислоты
ТСХ – тонкослойная хроматография
ФИ – фосфатидилинозитол
ФЛ A₂ – фосфолипаза A₂
ФС – фосфатидилсерин
ФХ – фосфатидилхолин
ФЭА – фосфатидилэтаноламин
ЦНС – центральная нервная система
ШК – шванновские клетки
BDNF – мозговой нейротрофический фактор (brain-derived neurotrophic factor)
GDNF – глиальный нейротрофический фактор (glia-derived neurotrophic factor)
НА – гиалуроновая кислота
IL-1 – интерлейкин-1
IL-6 – интерлейкин-6
LIF – лейкоз-ингибирующий фактор (Leukemia Inhibitory Factor)
МАРК – митогенактивируемая протеинкиназа
NGF – фактор роста нервов (nerve growth factor)
NT-3 – нейротрофин-3
NT4/5 – нейротрофин-4/5
TGF -b1 – трансформирующий фактор роста b1 (Transforming Growth Factor – b1)

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Алексеева Е. Б. Регенерация седалищного нерва крысы после кратковременного дозированного вытяжения его центрального отрезка : дис. ... канд. биол. наук / Е. Б. Алексеева: – Казань, 2003. – 92 с.
2. Алесенко А. В. Функциональная роль сфингозина в индукции пролиферации и гибели клеток / А. В. Алесенко // Биохимия. – 1998. – Т. 63, №1. – С. 75–82.
3. Антонов В. Ф. Липидные мембраны при фазовых превращениях / В. Ф. Антонов, Е. Ю. Смирнова, Е. В. Шевченко. – М.: Наука, 1992. – 136 с.
4. Архипова Е. Г. Динамика репаративной регенерации кожного нерва крыс при разной степени его травмирования / Е. Г. Архипова, А. Г. Гретен, В. Н. Крылов // Морфология. – 2007. – Т.131, №3. – С. 30–32.
5. Архипова Е. Г. Репаративная регенерация периферических нервов крыс после механической альтерации фармакологической модификации : дис. ... канд. биол. наук / Е. Г. Архипова: – Нижний Новгород, 2007. – 101 с.
6. Балезина О. П. Влияние блокаторов кальциевых каналов L – типа на активность новообразуемых синапсов мышцы / О. П. Балезина, П. О. Богачева, Т. Ю. Орлова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т.143, №2. – С. 128–131.
7. Балезина О. П. Подавление секреции медиатора в новообразованных моторных синапсах мышцы с участием Ca^{2+} -каналов L-типа и рианодиновых рецепторов / О. П. Балезина, П. О. Богачева // Известия РАН. Серия биологическая. – 2009. №5. – С. 591–597.
8. Биологические мембраны. Методы / У. Г. Эванз, Д. Д. Морре, Э. О’Брайтман [и др.]; под ред. Дж. Финдлея, У. Эванза. – М.: Мир, 1990. – 424 с.
9. Болдырев А.А. Биомембранология: учебное пособие / А.А. Болдырев, Е. И. Кяйвяряйнен, В. А. Илюха. – Петрозаводск: Изд-во Кар НЦ РАН, 2006. – 226 с.
10. Брюховецкий И. С. Механизмы регенерации спинного мозга крыс при трансплантации обкладочных нейроэпителиальных клеток в биополимерном коллагеновом матриксе : дис. ... канд. мед. наук / И. С. Брюховецкий: – Владивосток, 2008. – 109 с.
11. Вастьянов Р. С. Нейротропные эффекты цитокинов и факторов роста / Р. С. Вастьянов, А. А. Олейник // Успехи физиологических наук. – 2007. – Т.38, №1. – С. 39–54.
12. Владимиров Ю. А. Физико-химические основы патологии клетки: роль кальция и фосфолипазы A_2 в повреждении митохондрий при гипоксии / Ю. А. Владимиров. – М.: Изд-во РГМУ, 1998. – С. 36.
13. Возможность доставки фактора роста нервов в мозг в эксперименте *in vivo* / И. А. Джинджихашвили, К. Б. Курахмаева, М. Хосравани [и др.] // Фармация. – 2008. – №5. – С. 51–54.

14. Голубев В. Г. Применение новых диагностических технологий при повреждении периферических нервов / В. Г. Голубев, Н. А. Еськин, А. И. Крупаткин // Вестник Российской АМН. – 2008. – №8. – С. 40–43.
15. Гольцова Е. Н. Изучение влияния концентрации гиалуроновой кислоты на жизнеспособность мононуклеарных клеток в культуре *in vitro* / Е. Н. Гольцова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – №4. – С. 26.
16. Гомазков О. А. Ростовые и нейротрофические факторы в регуляции трансформации стволовых клеток и нейрогенеза / О. А. Гомазков // Нейрохимия. – 2007. – Т.24, №2. – С. 101–120.
17. Грибанов Г. А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов / Г. А. Грибанов // Вопросы медицинской химии. – 1991. – Т.37, №4. – С. 2–10.
18. Гриценко Е. Н. Пермеабиллизация липидного бислоя при связывании Ca^{2+} с насыщенными длинноцепочечными жирными кислотами: физико-химический механизм и возможность его реализации в митохондриальной мембране : дис. ... канд. биол. наук / Е. Н. Гриценко: – Пушкино, 2006. – 106 с.
19. Деструкция хитозана в растворе под действием фермента гиалуронидазы / В. В. Чернова, В. П. Володина, Е. И. Кулиш [и др.] // Вестник Башкирского университета. – 2009. – Т. 14, №1. – С. 44–47.
20. Дозовая зависимость влияния α -токоферола на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков в печени крыс / Ю. А. Сидорова, Е. В. Иванова, А. Ю. Гришанова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 136, № 7. – С. 45–48.
21. Дятловицкая Э. В. Биоэффektorные сфинголипиды как стимуляторы роста и выживаемости клеток / Э. В. Дятловицкая, А. Г. Кандыба // Биоорганическая химия. – 2004. – Т.30, №3. – С. 227–233.
22. Дятловицкая Э. В. Липиды как биоэффektorы / Э. В. Дятловицкая, В. В. Безуглов // Биохимия. – 1998. – Т.63, №1. – С. 3–5.
23. Дятловицкая Э. В. Роль лизосфинголипидов в регуляции биологических процессов / Э. В. Дятловицкая // Биохимия. – 2007. – Т.72, №5. – С. 596–602.
24. Дятловицкая Э. В. Связь биологических функций сфинголипидов с их химической структурой / Э. В. Дятловицкая // Биоорганическая химия. – 2000. – Т.26, №1. – С. 12–18.
25. Дятловицкая Э. В. Сфинголипидные рецепторы / Э. В. Дятловицкая // Биохимия. – 2008. – Т.73, №2. – С. 149–153.
26. Забненкова О. В. Гиалуроновая кислота: новая эра внутридермальных наполнителей / О. В. Забненкова, А. С. Пирогова, О. Ю. Павленко // Вестник эстетической медицины. – 2009. – Т. 8, №2. – С. 83–88.
27. Зеленин К. Н. Газовая хроматография в медицине / К. Н. Зеленин // Соровский образовательный журнал. – 1996. – №11. – С. 20–25.

28. Значение параметра молекулярной массы гиалуроновой кислоты в препаратах для эстетической медицины / В. Н. Хабаров, П. Я. Бойков, Н. А. Чижова [и др.] // Вестник Эстетической Медицины. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 16–20.
29. Изучение изменений содержания диацилглицерина при возбуждении нерва / В. В. Ревин, М. А. Юданов, Э. С. Ревина [и др.] // Биохимия. – 2006. – Т.71, №10. – С. 1354–1359.
30. Ипатова О. М. Фосфолипиды: механизм действия и применение в клинике / О. М. Ипатова. – М.: Изд-во Эксмо, 2005. – 150 с.
31. Исайкин А. И. Применение нейропротективной терапии при инсультах и черепно-мозговой травме / А. И. Исайкин, Е. А. Чернышова, Н. Н. Яхно // Трудный пациент. – 2012. – Т.10, №11. – С. 18–21.
32. Исламов Р. Р. Механизмы нейропротекторного действия эстрогенов, связанные с экспрессией сосудистого эндотелиального фактора роста / Р. Р. Исламов, В. В. Валиуллин, А. К. Мурашов // Известия РАН. Серия биологическая. – 2007. – №2. – С. 145–156.
33. Исследование биологической совместимости нового биоматериала «Гиаматрикс» / Р. Рахматуллин, О. Бурлуцкая, И. Гильмутдинова [и др.] // Врач. – 2011. – №6. – С. 32–34.
34. Исследование конформации каротиноидов в миелиновом нерве при изменении содержания кислорода / Г. В. Максимов, В. В. Волков, Е. Ю. Паршина [и др.] // Доклады академии наук. – 2007. – Т. 417, №3. – С. 407–409.
35. Карпунин Д. В. Исследование свойств бислойных липидных мембран, содержащих лизолипиды и холестерин: дис. ... кандидата физико-математических наук / Д. В. Карпунин: – М., 2005. – 109 с.
36. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография: в 2 т. Т.2. / Ю. Кирхнер. – М.: Мир, 1981. – 523 с.
37. Клеточные рецепторы к лизофосфолипидам как промоторы сигнальных эффектов (обзор) / Т. Н. Торховская, О. М. Ипатова, Т. С. Захарова [и др.] // Биохимия. – 2007. – Т.72, №2. – С. 149–158.
38. Клиническая эффективность препаратов гиалуроновой кислоты в лечении деформирующего артроза / А. И. Найманн, С. В. Донченко, Л. А. Якимов [и др.] // Успехи биологической химии. – 2013. – Т. 46. – С. 259–302.
39. Когтева Г. С. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы / Г. С. Когтева, В. В. Безуглов // Биохимия. – 1998. – Т.63, №1. – С. 6–15.
40. Козлова Е. Н. Стратегии восстановления утраченных сенсорных связей со спинным мозгом / Е. Н. Козлова // Молекулярная биология. – 2008. – Т. 42, №5. – Р. 820–829.

41. Константинова Н. Б. Роль слияния клеток при репаративной регенерации коры головного мозга: функциональное, морфологическое и цитохимическое исследование : дис. ... канд. биол. наук / Н. Б. Константинова: – Москва, 2009. – 104 с.
42. Коротаева А. А. Секреторная фосфолипаза А₂ группы ПА в плазме крови больных после коронарной ангиопластики: регуляция липидами и липопротеидами : дис. ... докт. биол. наук / А. А. Коротаева: – М., 2009. – 40 с.
43. Коррекция ионолом процессов перекисидации липидов в тканях глаза при синдроме длительного раздавливания / В. Н. Ельский, М. С. Сидун, А. Г. Кривобок [и др.] // Травма. – 2009. – Т. 10, № 4. – С. 118–121.
44. Крюков К. И. Динамика морфологических изменений нейронов тройничного ганглия при компрессионной травме верхнечелюстного нерва крысы / К. И. Крюков, Г. В. Рева, С. С. Едранов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 145, №5. – Р. 597–600.
45. Кудинов А. Р. Роль липидов в процессах нейропластичности и нейродегенерации : дис. ... доктора биол. наук / А. Р. Кудинов: – М., 2007. – 211 с.
46. Купцова О. С. Фосфолипаза А₂ Роль окисления фосфолипидов *in vitro* и *in vivo* в регуляции фосфолиполиза : дис. ... канд. биол. наук / О. С. Купцова: – М., 2001. – 58 с.
47. Курашвили Л. В. Липидный обмен при неотложных состояниях / Л. В. Курашвили, В. Г. Васильков. – Пенза: ПИУВ, 2003. – 198 с.
48. Лизофосфатидная кислота – липидный медиатор с множеством биологических функций. Пути биосинтеза и механизм действия / И. Н. Бердичевец, Т. В. Тяжелова, Х. Р. Шимшилашвили [и др.] // Биохимия. – 2010. – Т.75, №9. – С. 1213–1223.
49. Липидные ингибиторы фосфолипазы А₂ / Н. А. Брагина, В. В. Чупин, В. Г. Булгаков [и др.] // Биоорганическая химия. – 1999. – Т.25, №2. – С. 83–96.
50. Лосева Е. В. Роль интерферона – альфа в регуляции функций нервной системы / Е. В. Лосева, Н. А. Логинова, И. Г. Акмаев // Успехи физиологических наук. – 2008. – Т.39, №2. – С. 32–46.
51. Масгутов Р. Ф. Посттравматическая регенерация седалищного нерва крысы в условиях его тубуляции и вытяжения : дис. ... канд. биол. наук / Р.Ф. Масгутов: – Саранск, 2006. – 88 с.
52. Мельников К. Н. Разнообразие и свойства кальциевых каналов возбудимых мембран / К. Н. Мельников // Психофармакология и биологическая наркология. – 2006. – Т.6 №2. – С. 1139–1155.
53. Мельников К. Н. Кальциевые каналы возбудимых мембран / К. Н. Мельников // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2007. – Т.5 №1. – С. 28–42.

54. Модуляция биоэлектрической активности первичной культуры гиппокампа посредством энзиматического воздействия на внеклеточный матрикс / И. В. Мухина, М. В. Ведунова, Т. А. Сахарнова [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2012. – №1. – С. 7–14.
55. Морозова А. А. Синтез циклических аналогов 4-й петли фактора роста нервов / А. А. Морозова, Н. В. Сумбатьян, В. П. Лезина [и др.] // Биоорганическая химия. – 2008. – Т.34, №5. – С. 617–629.
56. Наноструктурированный материал «Гиаматрикс» / Р. Рахматуллин, О. Бурлуцкая, Л. Адельшина [и др.] // Врач. – 2011. – №5. – С. 22–24.
57. Нарушения невральности проводимости при травматических невропатиях (патогенез, клинические синдромы, диагностика и лечение) / М. М. Одинак, С. А. Живолупов, К. В. Федоров [и др.] // Военно-медицинский журнал. – 2008. – №2. – С. 28–38.
58. Нарушения тканевых превращений лизофосфатидилхолинов при экспериментальном сахарном диабете у белых крыс и особенности корригирующего действия низкоэнергетического лазерного облучения сверхнизкой интенсивности / Е. Б. Бурлакова, К. Г. Карагезян, О. М. Амирханян [и др.] // Доклады академии наук. – 2010. – Т.433, №1. – С. 118–121.
59. Нарушения тканевых превращений лизофосфатидилхолинов при экспериментальном сахарном диабете у белых крыс и особенности корригирующего действия низкоэнергетического лазерного облучения сверхнизкой интенсивности / Е. Б. Бурлакова, К. Г. Карагезян, О. М. Амирханян [и др.] // Доклады академии наук. – 2010. – Т.433, №1. – С. 118–121.
60. Нейропротективный эффект дипептида AVP (4-5)-NH₂ связан с фактором роста нервов и белком теплового шока HSP70 / Т. А. Зенина, Т. А. Гудашева, Я. С. Букреев [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 144, №10. – С. 424–426.
61. Нейропротекторное действие фактора роста нервов у животных / К. Б. Курахмаева, Т. А. Воронина, И. Г. Капица [и др.] // Фармация. – 2008. – №2. – С. 38–40.
62. Нигметзянова М. В. Изменение экспрессии различных типов P2Y-рецепторов в нейронах спинального ганглия L5 в процессе нейроонтогенеза у крыс / М. В. Нигметзянова, И. С. Рагинов // Ученые записки казанского государственного университета. – 2010. – Т.152. – С. 51–54.
63. Олейник А. А. Рецепторы и механизмы реализации нейротропных эффектов цитокинов и факторов роста / А. А. Олейник, Р. С. Вастьянов // Успехи физиологических наук. – 2008. – Т.39, №2. – С. 47–54.
64. Особенности клеточного состава эндоневрия седалищного нерва при distractionном остеосинтезе бедра у собак / В. И. Шевцов, Н. А. Щудло, М. М. Щудло [и др.] // Морфология. – 2007. – Т.132, №4. – С. 39–43.

65. Особенности развития денервационно – реиннервационного процесса при травматических невралгиях и плексопатиях / М. М. Одинак, С. А. Живолупов, Н. А. Рашидов [и др.] // Вестник Российской военно – медицинской академии. – 2007. – Т.4, №20. – С. 130–140.
66. Особенности регенерации роговицы при применении биопластического материала на основе гиалуроновой кислоты / В. Н. Канюков, А. А. Стадников, О. М. Трубина [и др.] // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2012. – Т. 148, №12. – С. 76–79.
67. Оценка состояния эндогенной интоксикации при развитии экспериментального жёлчного перитонита. / Е. А. Петросян, В. И. Оноприев, Т. Л. Повиляева [и др.] // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. – 2005. – Т. 164, № 4. – С. 28–30.
68. Перспективы применения нанотехнологий в клинической неврологии / Р. Д. Сейфулла, З. А. Суслина, Е. В. Куликова [и др.] // Технологии. Перспективы применения нанотехнологий в клинической неврологии. – 2008. – Т.2, №2. – С. 35–42.
69. Попелянский А. Ю. Болезни периферической нервной системы: руководство для врачей / Ю. А. Попелянский – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – С. 10–25.
70. Проказова Н. В. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки / Н. В. Проказова, Н. Д. Звездина, А. А. Коротаева // Биохимия. – 1998. – Т.63, №1. – С. 38–46.
71. Псориаз: патогенетическая значимость фосфолипазы A_2 у больных псориазом / А. Б. Рахматов, У. З. Муратова, К. И. Файзиев [и др.] // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – 2004. – № 2. – С. 16–18.
72. Пуздрова В. А. Влияние хронической гипотензии на адренергическое нервное сплетение подкожной артерии голени крысы и его регенерацию после повреждения бедренного нерва / В. А. Пуздрова, Р. А. Каргина-Терентьева, О. С. Тарасова // Морфология. – 2008. – Т.133, №4. – С. 15–19.
73. Рагинов И. С. Регенерация нейронов чувствительного узла спинномозгового нерва : дис. ... докт. биол. наук / И. С. Рагинов: – Саранск, 2006. – 161 с.
74. Развитие нейродегенеративных процессов во флексорном и экстензорном ответвлениях седалищного нерва после его раздавливания; регенерация под действием обогащенного пролином пептида / А. Л. Минасян, А. В. Азнаурян, И. Б. Меликсетян [и др.] // Нейрохимия. – 2011. – Т.28, №4. – С. 315–322.
75. Ревин В. В. Жирнокислотный состав индивидуальных фосфолипидов нерва краба при покое и при проведении возбуждения / В. В. Ревин, В. П. Мокринский, О. Р. Кольс // Биохимия. – 1987. – Вып. 52, № 8. – С. 1270–1273.

76. Ревин В. В. Изучение активности фосфоинозитид-специфичной фосфолипазы С в нерве кролика в состоянии покоя и при возбуждении / В. В. Ревин, С. М. Набокина, И. А. Анисимова // Биохимия. – 1996. – Т.61, №5. – С. 815–819.
77. Ревин В. В. Поглощение Ca^{2+} при деполяризации и перерезке седалищных нервов кролика и крысы / В. В. Ревин, А. А. Московкин, О. Р. Кольс // Биологические науки. – 1992. – № 2. – С. 57–60.
78. Ревин В. В. Роль липидов в процессе проведения возбуждения по соматическим нервам : дис. ... д-ра биол. наук / В. В. Ревин: – Минск, 1990. – 364 с.
79. Ревин В. В. Состав липидов соматических нервов крысы при действии повреждающих факторов / В. В. Ревин, М. А. Юданов, Г. В. Максимов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т.142, №8. – С. 155–157.
80. Родионова Н. Н. Роль белков аксо-глиального комплекса в регуляции структуры и вязкости миелина нервного волокна : дис. ... канд. биол. наук / Н. Н. Родионова: – М., 2010. – 172 с.
81. Роль липидов в функционировании возбудимых биологических мембран / В. В. Ревин, Э. С. Ревина, А. А. Девяткин [и др.]. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. – 220 с.
82. Роль секреторной фосфолипазы A_2 в развитии атеросклероза / А. И. Каминный, Т. О. Павлунина, Ю. А. Шувалова [и др.] // Атеросклероз и дислипидемии. – 2012. – № 4. – С. 63–64.
83. Руднов В. А. Нутритивная поддержка при сепсисе: существуют ли аргументы в пользу специального протокола? / В. А. Руднов // Анестезиология и реаниматология. – 2006. – № 6. – С. 9–12.
84. Руководство к практическим занятиям по общей гистологии / Т. В. Харитоновна, Н. А. Плотникова, С. П. Кемайкин [и др.]. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2006. – 147 с.
85. Руководство по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов / Под ред. С.Н. Быковского. – М.: Изд-во Перо, 2014. – 656 с.
86. Рябикина Е. В. Совершенствование интенсивной комплексной терапии больных с послеоперационным перитонитом : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е. В. Рябикина: – Ростов-на-Дону, 2009. – 23 с.
87. Самойленко А.В. Гиалуроновая кислота в лечении и профилактике цилиохориоидальной отслойки / А. В. Самойленко // Глаукома: научно – клинический журнал.– 2004. №4. – С. 22–26.
88. Севастьянов В.И. Биоматериалы, системы доставки лекарственных веществ и биоинженерия / В. И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2009. – Т.11, №3. – С. 69–78.

89. Сергеев С. М. Стимуляция посттравматической регенерации периферического нерва в зоне диастаза : экспериментально-морфологическое исследование : автореферат дис. ... канд. мед. наук / С. М. Сергеев: – Саранск, 2009. – 24 с.
90. Серяков В. И. Регенерация периферического нерва после микрохирургического шва под влиянием D, L – карнитина : дис. ... канд. мед. наук / В. И. Серяков: – Челябинск, 2007. – 211 с.
91. Современные методы биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
92. Сотников О. С. Проблема слияния отростков нейронов / О. С. Сотников, Г. И. Рыбакова, И. А. Соловьева // Морфология. – 2007. – Т.132, №5. – С. 18–22.
93. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот [и др.]. – М.: Мир, 1991. – 544 с.
94. Стимуляция посттравматической регенерации седалищного нерва крысы с помощью плазмиды, экспрессирующей сосудистый эндотелиальный фактор роста и основной фактор роста фибробластов / Р. Ф. Масгутов, И. И. Салафутдинов, А. А. Богов [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. VI, №3. – С. 67–70.
95. Суркова С. М. Метаболизм липидов головного мозга при эндотоксикозе : дис. ... канд. мед. наук / С. М. Суркова: – Саранск, 2006. – 117 с.
96. Суслина З. А. Неврология и нейронауки – прогноз развития / З. А. Суслина, С. Н. Иллариошкин, М. А. Пирадов // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2007. – Т.1, №1. – С. 5–9.
97. Ткачук В. А. Фосфоинозитидный обмен и осцилляция ионов Ca^{2+} / В. А. Ткачук // Биохимия. – 1998. – Т.63, №1. – С. 47–56.
98. Транскрипционная активность ядерного фактора каппа в (NF- κ B) в посттравматических чувствительных нейронах (гистохимическое исследование) / С. В. Гущина, О. В. Волкова, П. П. Кругляков [и др.] // Морфология. – 2010. – Т.137, №2. – С. 18–22.
99. Туровский Е. А. Агонист специфическое участие SOC и ARC-каналов и $iPLA_2$ в регуляции входа Ca^{2+} при колебательных ответах в адипоцитах / Е. А. Туровский, Н. П. Каймачников, В. П. Зинченко // Биологические мембраны. – 2013. – Т. 30, № 5–6. – С. 491–498.
100. Федяков А. Г. Экспериментально-клиническое обоснование применения биополимерных материалов в хирургии периферических нервов : дис. ... канд. мед. наук / А. Г. Федяков: – Москва, 2010. – 97 с.
101. Хабаров В. Н. Гиалуроновая кислота: получение, свойства, применение в биологии и медицине / В. Н. Хабаров, П. Я. Бойков, М. А. Селянин. – М.: Практическая медицина, 2012. – 224 с.

102. Хама-Мурад А. Х. Вторичное повреждение при мозговом инсульте и возможность восстановления функций мозга (роль цитокинов, нейротрофических факторов, адгезионных молекул) / А. Х. Хама-Мурад, Л. И. Павлинова, А. А. Мокрушин // *Нейрохимия*. – 2007. – Т.24, №2. – С. 121–131.
103. Харченко Е. П. Пластичность и регенерация мозга / Е. П. Харченко, М. Н. Клименко // *Неврологический журнал*. – 2006. – Т.11, №6. – С. 37–45.
104. Харченко Е. П. Пластичность и регенерация мозга / Е. П. Харченко, М. Н. Клименко // *Неврологический журнал*. – 2006. – Т.11, №6. – С. 37–45.
105. Химическая модификация гиалуроновой кислоты и ее применение в медицине / Н. Н. Сигаева, С. В. Колесов, П. В. Назаров [и др.] // *Вестник Башкирского университета*. – 2012. – Т.17, №3. – С. 1220–1241.
106. Холестерин и липидные плотки в плазматической мембране нервного окончания и мембране синаптических везикул / А. М. Петров, К. Е. Кудряшова, Ю. Г. Одношивкина [и др.] // *Нейрохимия*. – 2011. – Т.28, №1. – С. 19–25.
107. Цитиколин в лечении ишемических нарушений мозгового кровообращения / М. А. Домашенко, М. Ю. Максимова, Д. В. Сергеев [и др.] // *Неврология*. – 2013. – №4. – С. 1540–1542.
108. Чайковский А. В. Фундаментальные аспекты перспектив использования препаратов гиалуронидазы в регенеративной медицине и гематологии / А. В. Чайковский, Г. Н. Зюзьков // *Сибирский онкологический журнал*. – 2011. – Т.17, №3. – С. 119
109. Шарыпова Н. Г. Механизмы повреждений плазматических мембран лимфоцитов крови у больных опийной наркоманией в состоянии абстинентного синдрома : дис. ... канд. мед. наук / Н. Г. Шарыпова: – Томск, 2004. – 173 с.
110. Швалев В. Н. Развитие морфоклинических представлений о нейротканевых связях: роль тучных клеток в нервной трофике / В. Н. Швалев // *Казанский медицинский журнал*. – 2010. – Т.91, №5. – С. 687–689.
111. Шнайдер Н. А. Липидный обмен: введение / Н. А. Шнайдер, Е. А. Шаповалова // *Вестник Клинической больницы №51*. – 2008. – Т.3, №1–1. – С. 17–26.
112. Юданов М. А. Исследование состава липидов соматических нервов крысы при травмировании и действии химических агентов : дис. ... канд. биол. наук / М. А. Юданов: – Саранск, 2005. – 187 с.
113. Якимов Л. А. Использование искусственной синовиальной жидкости при лечении остеоартроза / Л. А. Якимов, А. И. Найманн, И. А. Текеев // *Кафедра травматологии и ортопедии*. – 2013. – Т. 1, № 5. – С. 11–13.

114. A homeostatic model of neuronal firing governed by feedback signals from the extracellular matrix / V. Kazantsev, S. Gordleeva, S. Stasenko [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol.7, Iss. 7. – P. e41646.
115. A transgenic rat expressing green fluorescent protein (GFP) in peripheral nerves provides a new hindlimb model for the study of nerve injury and regeneration / A. M. Moore, G. H. Borschel, K. A. Santosa [et al.] // *Journal of neuroscience methods*. – 2012. – Vol. 204, Iss. 1. – P. 19–27.
116. Allodi I. Specificity of peripheral nerve regeneration: interactions at the axon level / I. Allodi, E. Udina, X. Navarro // *Prog. Neurobiol.* – 2012. – Vol. 98, Iss. 1. – P. 16–37.
117. Application of topical pharmacological agents at the site of peripheral nerve injury and methods used for evaluating the success of the regenerative process / A.Y. Mekaj, A. A. Morina, C. I. Bytyqi [et al.] // *J Orthop Surg Res*. – 2014. – Vol. 9. – P. 94.
118. Axon regeneration in peripheral nerves is enhanced by proteoglycan degradation / M. L. Groves, R. McKeon, E. Werner [et al.] // *Experimental Neurology*. – 2005. – Vol. 195, Iss. 2. – P. 278–292.
119. BD™ PuraMatrix™ peptide hydrogel seeded with Schwann cells for peripheral nerve regeneration / A. M. McGrath, L. N. Novikova, M. Wiberg [et al.] // *Brain Research Bulletin*. – 2010. – Vol. 83, Iss. 5. – P. 207–213.
120. Bechler M. E. A PLA1-2 punch regulates the Golgi complex / M.E. Bechler, P. de Figueiredo, W. J. Brown // *J. Neurobiology*. – 2012. – Vol. 22, Iss. 2. – P. 116–124.
121. Bioactive bilayered dressing for compromised epidermal tissue regeneration with sequential activity of complementary agents / F. Reyes-Ortega, A. Cifuentes, G. Rodríguez [et al.] // *Acta Biomater.* – 2015. – Vol. 23. – P. 105–115.
122. Biodegradable hyaluronic acid hydrogels to control release of dexamethasone through aqueous Diels-Alder chemistry for adipose tissue engineering / M. Fan, Y. Ma, Z. Zhang [et al.] // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. – 2015. – Vol. 56. – P. 311–317.
123. Biological characterization of the Amazon coral *Micrurus spixii* snake venom: Isolation of a new neurotoxic phospholipase A2 / A. L. Terra, L. S. Moreira-Dill, R. Simões-Silva [et al.] // *Toxicon*. – 2015. – Vol. 103. – P. 1–11.
124. Bligh E. Rapid method of total lipid extraction and purification / E. Bligh, W. Dyer // *Can. J. Biochem. Physiol.* – 1959. – Vol. 37, Iss. 8. – P. 911–917.
125. Cafferty W. B. Axonal growth therapeutics: regeneration or sprouting or plasticity? / W. B. Cafferty, A. W. McGee, S. M. Strittmatter // *Trends Neurosci.* – 2008. – V. 31, №5. – P. 215–220.
126. Carlson B. M. Principles of regenerative biology / B. M. Carlson. – San Diego: Academic Press, 2007. – 379 p.

127. Characteristics of high-molecular-weight hyaluronic acid as a brain-derived neurotrophic factor scaffold in periodontal tissue regeneration / K. Takeda, N. Sakai, H. Shiba [et al.] // *Tissue Engineering*. – 2011. – Vol. 17, Iss.7-8. – P. 955–965.
128. Carrier D. Raman spectroscopic study of the interaction of poly-L-lysine with dipalmitoylphosphatidylglycerol bilayers / D. Carrier, M. Pézolet // *Biophys J*. – 1984. – Vol. 46, Iss.4. – P. 497–506.
129. Collins M. N. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering – A review / M. N. Collins, C. Birkinshaw // *Carbohydrate Polymers*. – 2013. – Vol. 92, Iss. 2. – P. 1262–1279.
130. Construction of tissue engineered nerve grafts and their application in peripheral nerve regeneration / X. Gu, F. Ding, Y. Yang [et al.] // *Progress in neurobiology*. – 2011. – Vol. 93, Iss. 2. – P. 204–230.
131. Controlled release of nerve growth factor from heparin-conjugated fibrin gel within the nerve growth factor-delivering implant / J. Y. Lee, S. M. Kim, M. J. Kim // *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. – 2014. – Vol. 40, Iss. 1. – P. 3–10.
132. Deister C. Effects of collagen 1, fibronectin, laminin and hyaluronic acid concentration in multi-component gels on neurite extension / C. Deister, S. Aljabari, C. E. Schmidt // *J. Biomater. Sci. Polymer Ed.* – 2007. – Vol. 18, Iss. 8. – P. 983–997.
133. Defects of Lipid Synthesis Are Linked to the Age-Dependent Demyelination Caused by Lamin B1 Overexpression / H. Rolyan, Y.Y. Tyurina, M. Hernandez [et al.] // *J Neurosci*. – 2015. – Vol. 35, Iss. 34. P. – 12002–12017.
134. Determination of modification degree in BDDE-modified hyaluronic acid hydrogel by SEC/MS / B. Yang, X. Guo, H. Zang [et al.] // *Carbohydr Polym*. – 2015. – Vol. 131. – P. 233–239.
135. Development of Injectable Hyaluronic Acid/Cellulose Nanocrystals Bionanocomposite Hydrogels for Tissue Engineering Applications / R. M. Domingues, M. Silva, P. Gershovich [et al.] // *Bioconjug Chem*. – 2015. – Vol. 26, Iss. 8. – P. 1571–1581.
136. Different dynamin blockers interfere with distinct phases of synaptic endocytosis during stimulation in motoneurons / P. Linares-Clemente, J. L. Rozas, J. Mircheski [et al.] // *J Physiol*. – 2015. – Vol. 593, Iss. 13. – P. 2867–2888.
137. Edstrom A. Phospholipase A₂ activity is required for regeneration of sensory axons in cultured adult sciatic nerves / A. Edstrom, M. Briggman, P. A. Ekstrom // *J. Neurosci. Res*. – 1996. – Vol. 43, Iss. 2. – P.183–189.
138. EFF-1-mediated regenerative axonal fusion requires components of the apoptotic pathway / B. Neumann, S. Coakley, R. Giordano-Santini [et al.] // *Nature*. – 2015. – Vol. 517, Iss. 7533. – P. 219–222.

139. Effect of Erythropoietin on Peripheral Nerve Regeneration / M. Ozkan, N. Gokmen, O. Yilmaz [et al.] // *Journal of Neurological Sciences*. – 2010 – Vol. 27, Iss. 1. – P. 35–42.
140. Effects of Hedysari Polysaccharides on regeneration and function recovery following peripheral nerve injury in rats / S. Y. Wei, P. X. Zhang, N. Han [et al.] // *The American Journal of Chinese Medicine*. – 2009. – Vol. 37, Iss.1. – P. 57–67.
141. Engineering bi-layer nanofibrous conduits for peripheral nerve regeneration / Y. Zhu, A. Wang, S. Patel [et al.] // *Tissue Engineering Part C Methods*. – 2011. – Vol. 17, Iss. 7. – P. 705–715.
142. Erythropoietin-derived nonerythropoietic Peptide ameliorates experimental autoimmune neuritis by inflammation suppression and tissue protection / Y. Liu, B. Luo, F. Han [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, Iss. 3. – P. 1–11.
143. Extracellular vesicles from a muscle cell line (C2C12) enhance cell survival and neurite outgrowth of a motor neuron cell line (NSC-34) / R. D. Madison, C. McGee, R. Rawson [et al.] // *J Extracell Vesicles*. – 2014. – Iss. 3. – P. 1–9.
144. Fibrillin-2 is dispensable for peripheral nerve development, myelination and regeneration / M. A. Chernousov, K. Baylor, R. C. Stahl [et al.] // *Matrix Biology*. – 2010. – Vol. 29, Iss. 5. – P. 357–368.
145. Gaudet D.A. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury / D.A. Gaudet, P.G. Popovich, M.S. Ramer // *Journal of Neuroinflammation*. – 2011. – Iss. 8. – P. 1–13.
146. Ge L. Electrical resonance with voltage-gated ion channels: perspectives from biophysical mechanisms and neural electrophysiology / L. Ge, X.D. Liu // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2016. – Vol. 37, Iss. 1. – P. 67–74.
147. Ginsenoside Rg1 promotes peripheral nerve regeneration in rat model of nerve crush injury / J. Ma, W. Li, R. Tian [et al.] // *Neuroscience Letters*. – 2010. – Vol. 478, Iss. 2. – P. 66–71.
148. Gu J. Effect of Draconis Sanguis-containing serum on NGF, BDNF, CNTF, LNGFR, TrkA, GDNF, GAP-43 and NF-H expressions in Schwann cells / J. Gu, X. R. He, Y. L. Han // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. – 2015. – Vol. 40, Iss. 7. – P. 1392–1395.
149. Handloser D. Separation of phospholipids by HPTLC – an investigation of important parameters / D. Handloser, V. Widmer, E. Reich // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. – 2008. – Iss. 31. – P. 1857–1870.
150. Harris J. B. Secreted phospholipases A₂ of snake venoms: effects on the peripheral neuromuscular system with comments on the role of phospholipases A₂ in disorders of the CNS and their uses in industry / J. B. Harris, T. Scott-Davey // *Toxins (Basel)*. – 2013. – Vol. 5, Iss. 12. – P. 2533–2537.

151. High and low molecular weight hyaluronic acid differentially influence macrophage activation / J. E. Rayahin, J. S. Buhrman, Y. Zhang [et al.] // *ACS Biomater Sci Eng.* – 2015. – Vol. 1, Iss. 7. – P. 481–493.
152. Hooks S. B Role of Ca²⁺-independent phospholipase A₂ in cell growth and signaling / S. B. Hooks, B. S. Cummings // *Biochemical Pharmacology.* – 2008. – Vol. 76, Iss. 9. – P. 1059–1067.
153. Hornfelt M. Involvement of axonal phospholipase A₂ activity in the outgrowth of adult mouse sensory axons in vitro / M. Hornfelt, P. A. Ekstrom, A. Edstrom // *Neuroscience.* – 1999. – Vol. 91, Iss. 4. – P. 1539–1547.
154. Hyaluronan accumulates around differentiating neurons in spinal cord of chicken embryos / Z. Mészár, S. Felszeghy, G. Veress [et al.] // *Brain Research Bulletin.* – 2008. – Vol. 75, Iss. 4. – P. 414–418.
155. Hyaluronan accumulates in demyelinated lesions and inhibits oligodendrocyte progenitor maturation / S. A. Back, T. M. Tuohy, H. Chen [et al.] // *Nat. Med.* – 2005. – Vol. 11, №9. – P. 966–972.
156. Hyaluronan tetrasaccharide promotes regeneration of peripheral nerve: In vivo analysis by film model method / K. Torigoe, H. F. Tanaka, H. Ohkochi [et al.] // *Brain research.* – 2011. – №1385. – P.87–92.
157. Hyaluronic Acid Based Hydrogels Attenuate Inflammatory Receptors and Neurotrophins in Interleukin-1 β Induced Inflammation Model of Nucleus Pulposus Cells / I. L. Isa, A. Srivastava, D. Tiernan [et al.] // *Biomacromolecules.* – 2015. – Vol. 16, Iss. 6. – P. 1714–1725.
158. Hyaluronic acid prevents peripheral nerve adhesion / K. Ikeda, D. Yamauchi, N. Osamura [et al.] // *The British Association of Plastic Surgeons.* – 2003. – Vol. 56, Iss. 4. – P. 342–347.
159. Improved method for synthesis of cysteine modified hyaluronic acid for in situ hydrogel formation / X. Zhang, P. Sun, L. Huangshan [et al.] // *Chem Commun (Camb).* – 2015. – Vol. 51, Iss. 47. – P. 9662–9665.
160. Inhibition of LINGO-1 promotes functional recovery after experimental spinal cord demyelination / Y. Zhang, Y. P. Zhang, B. Pepinsky [et al.] // *Exp Neurol.* – 2015. – Vol. 266. – P. 68–73.
161. Isacke M. C. The hyaluronan receptor, CD44 / M. C. Isacke, H. Yarwood // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2002. – Vol. 34, Iss. 7. – P. 718–721.
162. Ishikawa R. Actin dynamics in filopodia of nerve growth cone / R. Ishikawa, K. Kohama // *Биологические мембраны.* – 2003. – Т. 20, №1. – P. 16–20.
163. Iwanicki J. L. Reductions of phospholipase A(2) inhibition of pulmonary surfactant with hyaluronan / J. L. Iwanicki, K. W. Lu, H. W. Tausch // *Exp Lung Res.* – 2010. – Vol. 36, Iss. 3. – P. 167–174.

164. Khoshakhlagh P. Photoreactive interpenetrating network of hyaluronic acid and Puramatrix as a selectively tunable scaffold for neurite growth / P. Khoshakhlagh, M. J. Moore // *Acta Biomater.* – 2015. – Vol. 16. – P. 23–35.
165. Knaing Z. Z. Advances in natural biomaterials for nerve tissue repair / Z. Z. Knaing, C. E. Schmidt // *Neuroscience letters.* – 2012. – № 519. – P. 103–114.
166. Lai J. Y. Influence of Pre-Freezing Temperature on the Corneal Endothelial Cytocompatibility and Cell Delivery Performance of Porous Hyaluronic Acid Hydrogel Carriers / J. Y. Lai // *Int J Mol Sci.* – 2015. – Vol. 16, Iss. 8. – P. 18796–18811.
167. Li G. Tailoring of chitosan scaffolds with heparin and γ -aminopropyltriethoxysilane for promoting peripheral nerve regeneration / G. Li, L. Zhang, Y. Yang // *Colloids Surf B Biointerfaces.* – 2015. – Vol. 134. – P. 413–422.
168. Lipid binding defects and perturbed synaptogenic activity of a Collybistin R290H mutant that causes epilepsy and intellectual disability / T. Papadopoulos, R. Schemm, H. Grubmüller [et al.] // *J Biol Chem.* – 2015. – Vol. 290, Iss. 13. – P. 8256–8270.
169. Low molecular weight hyaluronan activates cytosolic phospholipase A₂ α and eicosanoid production in monocytes and macrophages / M. Sokolowska, L. Y. Chen, M. Eberlein [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2014. – Vol. 289, №7. – P. 4470–4488.
170. Marinetti G. V. *New Biochemical Separations* / G. V. Marinetti. – Princeton: Van Norstrand, 1964. – 339 p.
171. Masaki T. Biological role of dystroglycan in Schwann cell function and its implications in peripheral nervous system diseases / T. Masaki, K. Matsumura // *Journal of biomedicine and biotechnology.* – 2010. – Vol. 2010. – P. 1–17.
172. Membrane Interactions, Ligand-Dependent Dynamics, and Stability of Cytochrome P4503A4 in Lipid Nanodiscs / N.A. Treuheit, M. Redhair, H. Kwon [et al.] // *Biochemistry.* – 2016. – Vol. 55, №7. – P. 1058–1069.
173. Michalski B. Long-term changes in neurotrophic factor expression in distal nerve stump following denervation and reinnervation with motor or sensory nerve / B. Michalski, J. R. Bainf, M. Fahnstock // *Journal of neurochemistry.* – 2008. – Vol. 105, Iss. 4 – P. 1244–1252.
174. Moldovan M. Persistent abnormalities of membrane excitability in regenerated mature motor axons in cat / M. Moldovan, C. Krarup // *J. Physiol.* – 2004. – Vol. 560, Iss. 3. – P. 795–806.
175. Morphological and morphometric analyses of crushed sciatic nerves after application of a purified protein from natural latex and hyaluronic acid hydrogel / V. C. Barreiros, F. J. Dias, M. M. Iyomasa [et al.] // *Growth Factors.* – 2014. – Vol. 32, Iss. 5. – P. 164–170.
176. Morrison W. R. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol / W. R. Morrison, L. M. Smith // *J. Lipid Res.* – 1964. – Iss. 5. – P. 600–608.

177. MRI evaluation of injectable hyaluronic acid-based hydrogel therapy to limit ventricular remodeling after myocardial infarction / S. M. Dorsey, J. R. McGarvey, H. Wang [et al.] // *Biomaterials*. – 2015. – Vol. 69. – P. 65–75.
178. Multilayered, Hyaluronic Acid-Based Hydrogel Formulations Suitable for Automated 3D High Throughput Drug Screening of Cancer-Stromal Cell Cocultures / B. J. Engel, P. E. Constantinou, L. K. Sablatura [et al.] // *Adv Healthc Mater*. – 2015. – Vol. 4, Iss. 11. – P. 1664–1674.
179. Naidu M. The role of cells, neurotrophins, extracellular matrix and cell surface molecules in peripheral nerve regeneration / M. Naidu // *Malaysian Journal of Medical Sciences*. – 2009. – Vol. 16, Iss. 2. – P. 10–14.
180. Nanostructured guidance for peripheral nerve injuries: a review with a perspective in the oral and maxillofacial area / S. Sivoella, G. Brunello, N. Ferrarese [et al.] // *Int. J. Mol. Sci*. – 2014. – Vol. 15, Iss. 2. – P. 3088–3117.
181. The role of hyaluronic acid in protecting surface-active phospholipids from lysis by exogenous phospholipase A(2) / D.W. Nitzan, U. Nitzan, P. Dan [et al.] // *Rheumatology (Oxford)*. – 2001. – Vol. 40, Iss. 3. – P. 336–340.
182. NGF induces the expression of group IIa secretory phospholipase A₂ in PC12 cells: the newly synthesized enzyme is addressed to growing neuritis / V. Nardicchi, M. Ferrini, F. Pilolli [et al.] // *Mol Neurobiol*. – 2014. – Vol. 50, Iss. 1. – P. 15–25.
183. Ocular Inserts for Sustained Release of the Angiotensin-Converting Enzyme 2 Activator, Diminazene Aceturate, to Treat Glaucoma in Rats / G. Foureaux, J. R. Franca, J. C. Nogueira [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10, Iss. 7. – P. e0133149.
184. Oliveira M. J. High concentration of phosphorus is a distinctive feature of myelin. An X-Ray elemental microanalysis study using freeze-fracture scanning electron microscopy of rat sciatic nerve / M. J. Oliveira, A. P. Águas // *Microsc Res Tech*. – 2015. – Vol. 78, Iss. 7. – P. 537–539.
185. Orail-induced store-operated Ca(2+) entry enhances phospholipase activity and modulates canonical transient receptor potential channel 6 function in murine platelets / W. Chen, I. Thielmann, S. Gupta [et al.] // *J Thromb Haemost*. – 2014. – Vol. 12, Iss. 14. – P. 528–539.
186. Paranodal myelin retraction in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis visualized by coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy / Y. Fu, T.J. Frederick, T.B. Huff [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2011. – Vol. 16, Iss. 10. – P. 106006
187. Park J. S. Effect of hyaluronic acid-carboxymethylcellulose solution on perineural scar formation after sciatic nerve repair in rats / J. S. Park, J. H. Lee, C. S. Han [et al.] // *Clinics in Orthopedic Surgery*. – 2011. Vol. 3, Iss. 4. – P. 315–324.

188. Paul J. A. An immunohistochemical study of phospholipase A₂ in peripheral nerve during Wallerian degeneration / J. A. Paul, N. A. Gregson // *J. Neuroimmunol.* – 1992. – Vol. 39, Iss. 1–2. – P. 31–47.
189. Peripheral Nerve Regeneration - an Appraisal of the Current Treatment Options / D. Cinteza, I. Persinaru, B. M. Maciuceanu Zarnescu [et al.] // *Maedica (Buchar).* – 2015. – Vol. 10, Iss. 1. – P. 65–68.
190. Phosphoinositide-specific phospholipase C in health and disease / L. Cocco, M.Y. Follo, L. Manzoli [et al.] // *J Lipid Res.* – 2015. – Vol. 56, Iss. 10. – P. 1853–1860.
191. Phosphoinositide Modulation of Heteromeric Kv1 Channels Adjusts Output of Spiral Ganglion Neurons from Hearing Mice / K. E. Smith, L. Browne, D. L. Selwood [et al.] // *J Neurosci.* – 2015. – Vol. 35, Iss. 32. – P. 11221–11232.
192. Pizzi M. A. Matrix metalloproteinases and proteoglycans in axonal regeneration / M. A. Pizzi, M. J. Crowe // *Experimental Neurology.* – 2007. – Vol. 204, Iss. 2. – P. 496–511.
193. PKG and NHR-49 signalling co-ordinately regulate short-term fasting-induced lysosomal lipid accumulation in *C. elegans* / W. M. Huang, Z. Y. Li, Y. J. Xu [et al.] // *Biochem J.* – 2014. – Vol. 461, Iss. 3. – P. 509–520.
194. Plasmalogen phospholipids protect internodal myelin from oxidative damage / A. M. Luoma, F. Kuo, O. Cakici [et al.] // *Free Radic Biol Med.* – 2015. – Vol. 84. – P. 296–310.
195. Poly(Trimethylene Carbonate-co-ε-Caprolactone) Promotes Axonal Growth / D. N. Rocha, P. Brites, C. Fonseca [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, Iss. 2. – P. e88593.
196. Ponomarenko O. V. Correction of neurotrophic disorders in patients, suffering consequences of a spinal cord and peripheral nerves trauma / O. V. Ponomarenko // *Klin Khir.* – 2014. – Iss. 8. – P. 62–64.
197. Price R. D. Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence / R. D. Price, M. G. Berry, H. A. Navsaria // *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery.* – 2007. – Vol. 60, Iss. 10. – P. 1110–1119.
198. Prognostic utility of secretory phospholipase A₂ in patients with stable coronary artery disease / M. L. O'Donoghue, Z. Mallat, D. A. Morrow [et al.] // *Clin. Chem.* – 2011. – Vol. 57, Iss. 9. – P. 1311–1317.
199. Protective effects of phosphatidylcholine on oxaliplatin-induced neuropathy in rats / S. T. Kim, Y. H. Chung, H. S. Lee [et al.] // *Life Sci.* – 2015. – Vol. 130. – P. 81–87.
200. Protein-fluctuation-induced water-pore formation in ion channel voltage-sensor translocation across a lipid bilayer membrane / S.P Rajapaksha, N. Pal, D. Zheng [et al.] // *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* – 2015. – Vol. 92, Iss. 5-1. – P. 052719.

201. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, Iss. 1. – P. 265–275.
202. Reich E. A standardized approach to modern high performance thin-layer chromatography (HPTLC) / E. Reich, A. Schibli // *J. Planar Chromatogr.* – 2004. – Vol. 6, Iss. 17. – P. 438–443.
203. Rooney M.W. Acyl chain organization and protein secondary structure in cholesterol-modified erythrocyte membranes / M.W. Rooney, Y. Lange, J.W. Kauffman // *J Biol Chem.* – 1984. – Vol. 259, Iss. 13. – P. 8281–8285.
204. Satkauskas S. Local protein synthesis in axonal growth cones / S. Satkauskas, D. Bagnard // *Cell adhesion and Migration.* – 2007. – Vol.1, Iss. 4. – P. 179–184.
205. Schlaepfer C.H. Excitable Membranes and Action Potentials in Paramecia: An Analysis of the Electrophysiology of Ciliates / C.H. Schlaepfer, R. Wessel // *J Undergrad Neurosci Educ.* – 2015. – Vol. 14, Iss. 1. – P. A82–86.
206. Schopfer L. M. Analytical approaches for monitoring exposure to organophosphorus and carbamate agents through analysis of protein adducts / L. M. Schopfer, O. Lockridge // *Drug Test. Analysis.* – 2012. – Vol. 4, Iss. 3–4. – P. 246–261.
207. Shim S. Roles of channels and receptors in the growth cone during PNS axonal regeneration / S. Shim, G. Ming // *Exp. Neurol.* – 2010. – Vol. 223, Iss. 1. – P. 38–44.
208. Šribar J. Understanding the molecular mechanism underlying the presynaptic toxicity of secreted phospholipases A(2): an update / J. Šribar, J. Oberčkal, I. Križaj // *Toxicol.* – 2014. – Vol. 89. – P. 9–16.
209. Stimulation of neurite outgrowth using positively charged hydrogels / M. Dadsetan, A. M. Knight, L. Lu [et al.] // *Biomaterials.* – 2009. – Vol. 30, Iss. 23 – 24. – P. 3874–3881.
210. Sustained growth factor delivery promotes axonal regeneration in long gap peripheral nerve repair / L. E. Kokai, D. Bourbeau, D. Weber [et al.] // *Tissue engineering.* – 2011. – Vol. 17, Iss. 9–10. – P. 1263–1275.
211. Synthetic and natural inhibitors of phospholipases A₂: their importance for understanding and treatment of neurological disorders / W. Y. Ong, T. Farooqui, G. Kokotos [et al.] // *ACS Chem Neurosci.* – 2015. – Vol. 6, Iss. 6. – P. 814–831.
212. Systemic administration of vitamins C and E attenuates nociception induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve in rats / A.P. Riffel, J.A. de Souza, M.D. Santos [et al.] // *Brain Res Bull.* – 2016. – Vol. 121. – P. 169–177.
213. Taveggia C. Signals to promote myelin formation and repair / C. Taveggia, M. L. Feltri, L. Wrabetz // *Nat.Rev.Neurol.* – 2010. – Vol. 6, Iss. 5. – P. 276–287.

214. The effects of hyaluronic acid hydrogels with tunable mechanical properties on neural progenitor cell differentiation / S. K. Seidlits, Z. Z. Khaing, R. R. Petersen [et al.] // *Biomaterials*. – 2010. – Vol. 31, Iss. 14. – P. 3930–3940.
215. The neuromuscular activity of *Bothriopsis bilineata smaragdina* (forest viper) venom and its toxin Bbil-TX (Asp49 phospholipase A2) on isolated mouse nerve-muscle preparations / R. S. Floriano, T. Rocha, V. C. Carregari [et al.] // *Toxicon*. – 2015. – Vol. 96. – P. 24–37.
216. The promotion of functional recovery and nerve regeneration after spinal cord injury by lentiviral vectors encoding Lingo-1 shRNA delivered by Pluronic F-127 / H. F. Wu, J. S. Cen, Q. Zhong [et al.] // *Biomaterials*. – 2013. – Vol. 34, Iss. 6. – P. 1686–1700
217. The role of neurotrophins in axonal growth, guidance, and regeneration / M. G. Lykissas, A. K. Batistatou, K. A. Charalabopoulos [et al.] // *Current Neurovascular Research*. – 2007. – Vol. 4, Iss. 2. – P. 143–151.
218. The use of fiber-reinforced scaffolds cocultured with Schwann cells and vascular endothelial cells to repair rabbit sciatic nerve defect with vascularization / H. Gao, Y. You, G. Zhang [et al.] // *Biomed Res Int*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–7.
219. Transplantation of induced pluripotent stem cell-derived neurospheres for peripheral nerve repair / T. Uemura, K. Takamatsu, M. Ikeda [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2012. – Vol. 419, №1. – P. 130–135.
220. Tucker B. A. Laminin and growth factor receptor activation stimulates differential growth responses in subpopulations of adult DRG neurons / B. A. Tucker, M. Rahimtula, K. M. Mearow // *European Journal of Neuroscience*. – 2006 – Vol. 24, Iss. 3. – P. 676–690.
221. Type II secretory phospholipase A₂ and prognosis in patients with stable coronary heart disease: mendelian randomization study / L. P. Breitling, W. Koenig, M. Fischer [et al.] // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, Iss. 7. – P. e22318.
222. Uchida H. Lysophosphatidic acid and its receptors LPA1 and LPA3 mediate paclitaxel-induced neuropathic pain in mice / H. Uchida, J. Nagai, H. Ueda // *Mol Pain*. – 2014. – Vol. 10. – P. 71.
223. Vaskovsky V. E. A universal reagent for phospholipids analysis / V. E. Vaskovsky, E. Y. Kostevsky, J. Vasendin // *J. Chromatogr*. – 1975. – Vol. 114, Iss. 1. – P. 129–141.
224. Yong N. Upregulation of matrix metalloproteinase-9 dependent on hyaluronan synthesis after sciatic nerve injury / N. Yong, C. Guoping // *Neuroscience Letters*. – 2008. – Vol. 444, Iss. 3. – P. 259–263.
225. Yu W. M. Laminins in Peripheral Nerve Development and Muscular Dystrophy / W. M. Yu, H. Yu, Z. L. Chen // *Molecular Neurobiology*. – 2007. – Vol. 35, Iss. 3. – P. 288–297.

Приложение А

Таблица А.1 Изменение содержания индивидуальных фосфолипидов в седалищном нерве крысы при стимуляции, мкг Р ФЛ инд /мг Р ФЛ об (M±m)

Варианты опытов	ФЭА	ФХ	ФС	СМ	ФИ	ЛФХ	ЛФЭА
Покой	236,56 ±4,81	128,53 ±5,41	120,01 ±5,21	137,39 ±5,38	50,36 ±3,26	9,64 ±0,77	6,86 ±0,69
Стимуляция (100 имп/с; 5 мин.)	216,77 ±4,22*	122,95 ±4,66	124,81 ±5,41	133,88 ±5,79	35,08 ±2,36*	9,9 ±0,48	6,58 ±0,68

*– достоверность отличия по отношению к покою, p<0,05

Таблица А.2 Изменение содержания диацилглицерина и свободных жирных кислот в седалищном нерве крысы при стимуляции, мкг ЖК/мг ОЛ (M±m)

Варианты опытов	ДАГ	СЖК
Покой	14,25±0,54	22,39±0,82
Стимуляция (100 имп/с; 5 мин.)	18,73±0,73*	12,7±0,82*

*– достоверность отличия по отношению к покою, p<0,05

Таблица А.3 Изменение коэффициента насыщенности индивидуальных липидных фракций в седалищном нерве крысы при стимуляции (в % от контроля): П – покой, С – стимуляция

	ФЭА		ФХ		СМ		ФС		ФИ		ДАГ		СЖК	
	П	С	П	С	П	С	П	С	П	С	П	С	П	С
С10:0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,2	0,1	1	0,5	1,1	0,0	0,2	0,3	0	0,0
С11:0	0	0,1	0,7	0,8	0,2	0,0	0,8	1,4	0,1	1,3	0,1	0,4	0,5	0,2
С12:0	0,4	0,0	0	0,0	0	0,3	0,3	0,2	0,5	0,4	0,6	0,9	0,5	0,2
С13:0	0,2	0,4	0,9	1,0	0,3	0,5	0	0,0	1,1	0,4	0,2	0,7	0,3	0,4
С14:0	0,9	1,6	2,4	1,2	1	3,0	1,6	0,2	4,7	7,1	4,6	5,2	4,1	7,9
С14:1	0,4	0,3	0,7	0,8	0,2	0,3	0,4	0,0	0,8	0,0	0,3	0,2	0,1	0,2
С15:0	0,9	0,3	3	4,0	1,7	0,6	0,6	1,5	0,1	0,6	1,7	2,1	3,7	2,5
С15:1	0	0,1	0,3	0,3	0,3	0,0	0,1	1,0	11,6	6,9	0,1	0,2	0,5	0,2
С16:0	20,2	23,7	45,8	42,7	7,5	7,0	3,7	0,6	2,6	1,8	42,2	43,5	42,3	52,8
С16:1	1,9	1,0	0,9	1,0	4,4	1,2	0,6	0,5	0,5	0,0	0,4	0,1	0,5	0,3
С18:0	18,3	17,7	18,5	18,7	1,1	1,8	16,9	13,8	1,8	0,5	32,7	36,8	31,2	21,4
С18:1n9t	5,1	7,8	2,2	2,4	0,2	0,2	13,9	13,4	12,1	19,7	9,3	5,7	0	0,0
С18:1n9c	42,9	36,4	18	20,9	27,1	30,9	52	55,5	13,8	38,4	0,5	0,2	10,3	5,3
С18:2n6c	2,6	3,5	2,5	2,7	1,6	2,4	0	0,6	29,4	20,3	3,1	1,8	2,8	3,0
С18:3n3	0,1	0,1	1,3	1,4	23,9	24,9	5,9	5,1	0,2	0,4	0,3	0,1	0,1	0,1
С20:0	0,4	0,1	0,2	0,2	7,6	6,3	1	2,0	0,3	0,1	0,8	0,9	0,2	1,4
С20:2	0	0,0	0,1	0,1	0,3	0,0	0	0,0	0	0,0	0,2	0,1	0,1	0,1
С20:3n3	0,1	0,1	0,4	0,4	0,5	0,6	0,7	2,8	14,7	0,7	0,9	0,2	0,7	1,2
С20:4n6	5,5	6,7	1,5	0,9	1,9	1,1	0,5	0,9	1,2	0,9	1,1	0,4	0,9	1,6
С22:2	0	0,0	0,5	0,5	0	0,7	0	0,0	0	0,3	0,6	0,2	0,1	0,1
С24:0	0	0,0	0	0,0	20	17,9	0	0,0	3,4	0,1	0,1	0,0	1,1	1,2
Энас	41,40	43,99	71,6	68,5	39,6	37,6	25,9	20,2	15,7	12,3	83,2	90,8	83,9	88,0
Эненас	58,60	56,01	28,4	31,5	60,4	62,4	74,1	79,8	84,3	87,7	16,8	9,2	16,1	12,0
Кнас	0,71	0,79	2,5	2,2	0,66	0,60	0,3	0,3	0,19	0,14*	4,95	9,87*	5,2	7,3*

*– достоверность отличия по отношению к покою, p<0,05

Таблица А.4 Динамика изменения активности фосфолипазы А₂ при инкубации седалищного нерва крысы в Са²⁺-содержащей среде и в среде с ЭГТА при стимуляции, мкг ЖК/мг белка/ч (M±m)

Варианты опытов	ФЛ А ₂ с Са	ФЛ А ₂ с ЭГТА
Покой	15,71±0,62	23,79±0,77
Стимуляция (100 имп/с; 5 мин.)	19,82±0,77*	24,22±0,76

*– достоверность отличия по отношению к покою, p<0,05

Таблица А.5 Динамика изменения концентрации диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в седалищном нерве крысы при стимуляции (M±m)

Варианты опытов	ДК, ммоль/мг липидов	МДА, ммоль/мг белка
Покой	10,08±0,43	0,47±0,03
Стимуляция (100 имп/с; 5 мин.)	12,14±0,52*	0,60±0,04*

*– достоверность отличия по отношению к покою, p<0,05

Приложение Б

Таблица Б.1 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации фосфатидилэтаноламина в проксимальном конце седалищного нерва крысы, мкг $P_{ФЭА}/мг P_{ФЛ}$ ($M \pm m$)*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	232,27±9,68	237,97±10,03	240,05±10,08	236,57±9,63	239,98±9,81
Повреждение	169,48±7,31*	139,40±4,96*	108,26±4,26*	126,8±4,57*	151,23±5,62*
П+ГК 2 мг/кг	172,76±7,19	149,05±5,13	115,67±4,41	140,95±6,12	162,27±6,21
П+ГК 17 мг/кг	175,59±6,25	154,10±6,51	126,31±4,58	156,32±6,07**	181,28±7,15**
П+ГК 30 мг/кг	200,39±8,87**	199,51±7,24**	189,45±7,13**	197,30±7,55**	226,76±9,08**

Таблица Б.2 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации фосфатидилхолина в проксимальном конце седалищного нерва крысы, мкг $P_{ФХ}/мг P_{ФЛ}$ ($M \pm m$)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	130,28±4,25	130,27±3,4	132,69±6,35	130,46±3,21	135,43±5,7
Повреждение	71,53±2,2*	54,61±2,7*	45,02±1,3*	36,61±1,25*	92,55±3,65*
П+ГК 2 мг/кг	75,62±2,65	59,14±2,8	51,79±1,55	41,03±1,35	98,05±3,85
П+ГК 17 мг/кг	79,38±2,8	60,58±2,7	56,9±1,8**	47,92±1,35**	104,44±4,15
П+ГК 30 мг/кг	89,56±3,2**	77,31±3,2**	89,45±3,1**	72,44±2,55**	130,04±5,15**

Таблица Б.3 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации сфингомиелина в проксимальном конце седалищного нерва крысы, мкг $P_{СМ}/мг P_{ФЛ}$ ($M \pm m$)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	136,98±5,3	139,92±6,15	139,96±5,38	141,21±3,45	139,82±3,46
Повреждение	63,33±2,1*	55,62±1,5*	36,43±0,75*	26,11±0,89*	50,91±1,7*
П+ГК 2 мг/кг	65,94±2,3	58,29±2,14	55,29±1,5**	32,89±0,4	69,09±3,4**
П+ГК 17 мг/кг	68,01±3,2	60,91±2,78	57,20±1,3**	38,43±0,36	71,03±1,9**
П+ГК 30 мг/кг	90,61±4,05**	88,82±3,1**	80,98±1,84**	57,29±2,6**	125,53±4,13**

Таблица Б.4 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации фосфатидилсерина в проксимальном конце седалищного нерва крысы, мкг $P_{ФС}/мг P_{ФЛ}$ ($M \pm m$)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	109,3±3,2	117,72±5,25	116,11±3,1	116,96±4,6	111,4±3,64
Повреждение	127,57±6,25*	154,34±6,3*	175,73±5,15*	162,43±3,95*	142,93±5,03*
П+ГК 2 мг/кг	122,28±6	149,07±7,1	156,30±5,7**	150,29±4,9	137,52±4,1
П+ГК 17 мг/кг	120,90±5,9	146,87±7,7	151,57±4,95**	139,99±5,9**	133,08±5,1
П+ГК 30 мг/кг	111,90±2,8	128,96±4,6**	133,80±2,3**	126,83±2,15**	113,77±2,3**

Таблица Б.5 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации фосфатидилинозитола в проксимальном конце седалищного нерва крысы, мкг $P_{ФИ}/мг P_{ФЛ}$ ($M \pm m$)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	47,31±1,85	48,23±2,1	46,38±2,3	48,20±2,3	44,95±2,1
Повреждение	52,68±2,45	81,08±3,9*	86,07±4,25*	88,56±4,25*	63,9±3,05*
П+ГК 2 мг/кг	51,22±2,35	77,24±3,45	80,37±4,0	87,39±3,35	60,94±2,95
П+ГК 17 мг/кг	50,28±2,2	73,25±3,15	76,13±3,4	80,37±3,2	55,78±2,45
П+ГК 30 мг/кг	49,13±2,0	64,01±2,2**	65,96±2,3**	60,64±1,6**	48,80±2,02**

Приложение В

Таблица В.1 Влияние гиалуроната калия на ЖК-состав фракции ФЭА в проксимальном конце нерва (в % от суммы кислот): К - контроль, П - повреждение, П+2ГК - повреждение + гиалуронат калия в концентрации 2 мг/кг, П+17ГК - повреждение + гиалуронат калия в концентрации 17 мг/кг, П+30ГК - повреждение + гиалуронат калия в концентрации 30 мг/кг

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	0	0	0	0,5	0	0,4	0,2	0,5	0,3	0,3	0,1	0,2	0	0	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2	0,3
С11:0	0	0	0,1	0,6	0	0,3	0	0,2	0	0	0	0,2	0,2	0,3	0	0,0	0	0	0	0,1	0	0,1	0	0
С12:0	0,2	0,1	0,4	0,5	0,6	0,6	0,3	0,3	0,1	0	0,5	0,4	0,1	0	0,6	0,7	0,7	0,6	0,1	0	0,5	0,4	0,5	0,5
С13:0	0	0	0	0,2	0,5	0,7	0	0,3	0,4	0,4	0,1	0,1	0,8	0,8	0,3	0,4	0	0	0	0	0,1	0,2	0,1	0,1
С14:0	1,3	0,8	0,9	0,5	1,2	0	1,9	1,6	0,9	0,8	1,6	1,5	0,7	0,5	2,1	2,3	0,9	1,5	2	2,5	1	1,5	2,2	2,4
С14:1	0,4	0,4	0,5	0,8	0,7	0,9	0,2	0,5	0,8	1	0,3	0,5	0,7	0,9	0,1	0,2	0,6	0,3	0,3	0,1	0,7	0,5	0,2	0,1
С15:0	0,6	0,3	0,3	0,1	0,4	0,2	0,9	0,7	0,5	0,1	0,8	0,5	0,4	0,2	0,9	0,8	0,5	0,3	1,3	1	0,3	0,1	0,4	0,3
С15:1	0	1,9	0	1,6	0	1,5	0	1,4	1,1	3,3	0,5	2,5	0,9	2,9	0	1,2	0	0,1	0,2	0,4	0,4	0,6	0	0,1
С16:0	23,3	17,8	19,8	15,8	22,1	18,3	25,4	22,4	20,4	15,8	26,4	22	21,5	17,6	25,8	16,5	19,6	15,6	24,6	21,1	20,4	16,1	24,7	23,2
С16:1	1,6	1,9	2,2	2,6	1,9	2,2	2,4	2,7	1,2	0,8	1,8	1,5	1,1	0,6	0,9	0,9	1,9	0,5	1,2	0,4	1,8	1,1	0,7	0,4
С18:0	16,9	8,9	19	11,7	13,6	6,8	15,6	9,6	19,6	12,7	15,2	10,5	19,3	16,7	15,1	16,4	19,7	14,3	14,8	11,2	19,7	16,3	14,6	12,6
С18:1п9т	5,6	0	6,2	1,5	6,5	2,1	4,7	0,6	5,4	0	6	2,3	5,4	2,5	5,9	5,1	5,5	0	6,1	2,6	5,2	2,6	6,4	5,9
С18:1п9с	40,3	48,9	36,4	44,3	42,6	49,6	39,5	45,9	42	52	38,2	46,3	42,7	48,9	37,2	41,7	44,1	55,5	38,1	45,5	43,4	51,1	38	42,3
С18:2п6с	2,8	4,3	4,1	4,4	2,4	2,9	3,1	3,3	2,5	0,8	3	1,4	1,9	0,2	3,5	3,1	2,4	0,1	3,1	1,9	2	1	3,2	2,5
С18:3п3	0,1	0,1	0,4	0,8	0,3	0,6	0,7	1	0	0,3	0,4	0,7	0,5	0,7	0,3	0,6	0,1	0,1	0	0,1	0,4	0,5	0,1	0,1
С20:0	0,4	0,2	0,9	1,1	0,5	0,6	0,2	0,3	0,6	0,3	0,3	0,1	0,2	0	0,3	0,1	0,4	0	0,6	0,5	0,2	0	0,5	0,4
С20:2	0	0	0	1,1	0	1,3	0	1,2	0	0	0	0,1	0	0,1	0	0,0	0	0	0	0,1	0	0,1	0	0
С20:3п3	0,1	1,1	0,6	1,4	0,1	1,9	0,1	0,7	0	1,1	0,1	0	0,1	0	0,1	0,6	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1
С20:4п6	6,4	11,8	8,2	9,3	6,6	7,9	4,8	5,9	4,2	10,1	4,7	9	3,5	6,2	6,7	9,0	3,4	10,6	7,2	12	3,7	7,5	8,1	8,7
С22:2	0	0,6	0	0,5	0	0,5	0	0,2	0	0,1	0	0	0	0,5	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0
С24:0	0	0,9	0	0,7	0	0,7	0	0,7	0	0,1	0	0,2	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Σнас	42,7	29,0	41,4	31,7	38,9	28,6	44,5	36,6	42,8	30,5	45,0	35,7	43,2	36,5	45,3	37,5	41,9	32,4	43,7	36,7	42,3	34,8	43,2	39,8
Σпенас	57,3	71,0	58,6	68,3	61,1	71,4	55,5	63,4	57,2	69,5	55,0	64,3	56,8	63,5	54,7	62,5	58,1	67,6	56,3	63,3	57,7	65,2	56,8	60,2
Кнас	0,8	0,4	0,7	0,5	0,6	0,4	0,8	0,6	0,8	0,4	0,8	0,6	0,8	0,6	0,8	0,6	0,7	0,5	0,8	0,6	0,7	0,5	0,8	0,7

Продолжение таблицы В.1

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	0,1	0,1	0	0,1	0	0,2	0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2
С11:0	0	0	0,1	0,3	0	0,1	0,3	0,3	0,2	0,2	0	0	0,4	0,4	0,1	0
С12:0	0,4	0,5	0	0,1	0,4	0,5	0,5	0,5	0,3	0,3	0,6	0,4	0,1	0	0,6	0,5
С13:0	0,2	0,2	0,4	0,5	0,5	0,6	0,1	0,1	0,9	0,9	0,1	0	0,3	0,2	0,1	0,1
С14:0	0,9	2,4	1,6	2,9	1,1	2,2	1,9	2,3	3,1	3,1	4,5	2,5	4,1	2,2	1,4	0,9
С14:1	0,4	0	0,3	0	0,7	0,5	0,6	0,5	0,3	0,3	0	0,2	0,4	0,6	0,4	0,5
С15:0	0,9	0,5	0,3	0	0,5	0,2	0,1	0	0,6	0,6	1,4	1,2	0,4	0,2	0,5	0,4
С15:1	0	0,3	0,1	0,3	0,4	0,6	0,2	0,2	0,8	0,8	0,6	0	0,5	0	0,1	0
С16:0	20,2	15,6	27,2	23,1	21,8	18,2	25,9	25,5	21,2	16,9	26,5	26	24,5	24,8	26,3	26,2
С16:1	1,9	0,4	1	0,2	3,5	3	1,2	1	0,4	0,4	0,3	1,3	1	1,5	1,2	1,4
С18:0	18,3	11,5	14,8	9,8	17,4	12,8	18,2	16,1	19,5	15,9	23,3	19,3	17,2	13,8	18,9	18,6
С18:1n9t	5,1	0	5,9	1	5	0,8	5,2	4,7	1	1,0	0,5	4,8	1,9	5,3	5,1	5,5
С18:1n9c	42,9	52,3	37,9	45,7	39,2	45,8	42,5	42,7	40	47,8	34,5	37,7	39,9	43,1	37,6	38,1
С18:2n6c	2,6	0,7	3,5	2	4,4	3,4	1,7	1,4	0	0	0,3	2,6	0,2	2,1	2,3	2,9
С18:3n3	0,1	0	0,1	0	0,1	0,2	0,1	0,1	0	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
С20:0	0,4	2	0,1	1,5	0,1	1,2	0	0,4	0	0	0,1	0,3	0,4	0,6	0,5	0,5
С20:2	0	0,3	0	0,1	0	0,1	0	0	0,1	0,1	0,4	0,3	0,1	0	0	0
С20:3n3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0	0	0,1	0	0,1	0,1	0,1
С20:4n6	5,5	11,8	6,6	11,5	4,8	9	1,4	3,7	11,5	11,6	6,5	3,1	7,9	4,8	4,5	4
С22:2	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0,2	0,1	0	0
С24:0	0	1,3	0	0,7	0	0,5	0	0,3	0	0	0,1	0	0,2	0	0	0
Σнас	41,4	34,1	44,5	39,0	41,8	36,5	47,0	45,6	45,9	38,0	56,8	49,8	47,8	42,3	48,6	47,4
Σненас	58,6	65,9	55,5	61,0	58,2	63,5	53,0	54,4	54,1	62,0	43,2	50,2	52,2	57,7	51,4	52,6
Кнас	0,7	0,5	0,8	0,6	0,7	0,6	0,9	0,8	0,9	0,6	1,3	1,0	0,9	0,7	1,0	0,9

Таблица В.2 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции ФХ в проксимальном конце нерва (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
С10:0	0	0	0	0	0,1	0,1	0,4	0,4	0	0	0,1	0,1	0,2	0,2	0	0,1	0,5	0,4	0,2	0,2	0	0,2	0,3	0,3
С11:0	0,1	0,1	0,1	0	0,3	0,3	0,5	0,4	0,2	0,1	0	0,0	0,2	0,2	0	0	0,9	0,6	0	0,1	0,3	0,3	0,5	0,5
С12:0	0,1	0	0,3	0,4	0	0,1	0	0,0	0,3	0,2	0,4	0,3	0	0,0	0,4	0,3	0,2	0,2	0,5	0,4	0,1	0,0	0	0,0
С13:0	0	0	0,1	0,2	0,4	0,5	0,2	0,3	0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0,1
С14:0	1,6	0,5	1,1	0,4	1,3	0,7	2,8	2,4	2,1	1,7	1,2	0,8	1,6	1,4	1,6	1,4	2,4	1,2	1,2	0,4	2,3	1,2	1,2	0,8
С14:1	0,1	0,3	0,4	0,5	0,3	0,4	0,3	0,4	0,5	1,0	0,3	0,7	0,5	0,7	0	0,4	0,5	0,6	0,6	0,6	0,8	0,8	0,8	0,8
С15:0	1,1	0,7	1,9	1,5	0,8	0,7	0,6	0,5	1	0,9	2,3	2,0	1,2	1,0	0,3	0,4	3,2	2,4	2,4	1,7	0,5	0,2	1,6	1,4
С15:1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,0	0,3	0,2	0,4	0,2	0,5	0,3	0	0,0	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,9	0,8	0,7	0,7
С16:0	48,6	44,9	45,4	42,6	50,9	48,1	47,2	45,6	49,7	42,5	49,5	42,4	46,1	40,6	51,8	45,1	46,5	40,3	49,8	42,2	51,3	43,0	46	43,8
С16:1	0,5	0,4	0,7	0,6	0,3	0,2	0,6	0,5	0,7	0,7	0,2	0,3	0,6	0,6	0,7	0,8	0,9	1,3	1,2	1,4	0,7	0,9	0,8	0,8
С18:0	16,9	17,1	19,6	19,4	15,5	15,4	18,7	18,2	14,6	15,0	14,5	14,8	18,7	18,3	16	18,5	15,5	15,2	15,4	14,6	14,7	14,1	18,6	17,9
С18:1n9t	2,3	2,3	1,8	1,8	3,2	3,1	2,1	2,1	3,6	1,7	1,6	0,2	3,2	2,1	1,6	1,2	2,6	0,5	3,1	1,2	2	0,9	1,7	1,1
С18:1n9c	20,4	21,7	22,2	25,8	19,7	22,8	20,9	22,0	17,7	26,2	22	32,7	18,3	26,6	21,3	25,4	19,6	32,0	19	29,5	19,5	28,9	20	24,4
С18:2n6c	3,2	3,1	2,3	2,6	2,8	3,2	3	3,1	3,8	1,2	2,7	0,6	4,4	2,5	2,5	1,6	3,7	1,1	2,5	0,3	4	2,1	4,1	3,4
С18:3n3	0,7	0,6	0,5	0,4	0,9	0,7	0,2	0,0	0,5	0,2	1	0,7	0,6	0,3	0	0,0	0,9	0,2	0,9	0,6	0,4	0,2	0,2	0,1
С20:0	0,5	0,5	0,8	0,7	0,1	0,3	0,2	0,3	0,5	0	0,9	0,4	0,5	0,0	0,9	0,4	0,5	0,0	0,8	0,3	0,9	0,5	0,3	0,2
С20:2	0	0	0	0,5	0	0,4	0	0,1	0,2	0,2	0	0,0	0,5	0,6	0	0,1	0,2	0,2	0,5	0,4	0,1	0,2	0	0,0
С20:3n3	0,1	0	0,2	0,7	0	0,3	0,1	0,1	0,3	0,4	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0	0,2	0	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4
С20:4n6	3,2	5,8	2,1	1,6	2,8	2,9	1,4	2,2	3,4	7,1	1,9	2,9	2,7	4,7	1,6	2,7	1	3,1	0,7	5,1	0,4	4,9	2,6	3,1
С22:2	0,5	0,8	2,1	0,4	0,5	0,1	0,5	0,6	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5	0,4	0,5	0	0,5	0,1	0,3	0,0	0,3	0,2
С24:0	0	1,2	0,3	0,2	0	0	0	0,7	0	0,6	0	0,5	0	0,0	0	0,5	0	0,1	0	0,1	0,5	0,2	0	0,0
Σнас	68,9	64,9	69,3	65,3	69,4	66,0	70,6	68,7	68,4	60,9	69,0	61,5	68,6	61,8	71,3	67,0	69,7	60,3	70,5	60,2	70,8	60,1	68,5	65,0
Σненас	31,1	35,1	30,7	34,7	30,6	34,0	29,4	31,3	31,6	39,1	31,0	38,5	31,4	38,2	28,7	33,0	30,3	39,7	29,5	39,8	29,2	39,9	31,5	35,0
Кнас	2,2	1,9	2,3	1,9	2,3	1,9	2,4	2,2	2,2	1,6	2,2	1,6	2,2	1,6	2,5	2,0	2,3	1,5	2,4	1,5	2,4	1,5	2,2	1,9

Продолжение таблицы В.2

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	0,1	0,1	0	0	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,2
С11:0	0,7	0,6	0,3	0,2	0,5	0,4	0	0	0,2	0,1	0	0,1	0,3	0,3	0,5	0,5
С12:0	0	0,3	0,4	0,6	0	0,1	0,6	0,9	0,6	0,7	0,6	0,9	0,5	0,8	0	0,0
С13:0	0,9	1,1	0	0,2	0,6	0,9	0,6	0,7	0	0,1	0,5	0,7	0,6	0,7	0,6	0,6
С14:0	2,4	1,3	1,1	0,1	3,9	3,1	2,9	2,5	3,8	3,5	1,2	0,8	0,7	0,2	2,4	2,4
С14:1	0,7	0,8	0,5	0,6	0	0,1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,8	0,9	0,4	0,4	0,6	0,6
С15:0	3	4,8	1,9	3,3	2	3,6	0,4	0,6	3,2	5,7	3,6	5,9	3,6	6,1	0,9	1,5
С15:1	0,3	0,2	0,5	0,5	0	0,0	0,2	0,2	0,7	1,5	0	0,7	1	1,8	0,3	0,8
С16:0	45,8	46,9	52	53,7	44	48,3	47,5	49,3	44,9	40,9	46,2	42,3	46,4	44,8	46,9	48,0
С16:1	0,9	1,2	0,4	0,6	0,4	0,6	0,8	0,9	0,6	0,5	0,9	0,8	0,9	0,7	0,8	0,8
С18:0	18,5	19,9	14,8	16,1	15,5	17,7	15,6	16,4	18,2	28	18,7	28,5	18,7	25,0	19,6	21,0
С18:1n9t	2,2	0	1,6	0,2	3,4	2,0	3,1	2,8	1,8	0	1,5	0,1	2	0,9	1,9	1,6
С18:1n9c	18	15,3	19,5	15,9	22	15,1	23,1	20,2	19	12,9	19,2	12,4	17,8	12,6	17,3	14,4
С18:2n6c	2,5	1	2,7	1,5	5,1	4,4	1,3	1,1	3	0,6	2,1	0,0	2,5	1,0	4,9	4,8
С18:3n3	1,3	1	1,2	1,0	0,2	0,0	0,9	0,6	0,5	0	1,1	0,7	1,7	1,4	0,5	0,4
С20:0	0,2	2,1	0,3	1,9	0	1,5	0,2	0,9	0,7	0,2	0,7	0,4	0,3	0	0,9	0,8
С20:2	0,1	0,1	0	0,1	0	0	0	0,1	0	0	0	0,0	0	0,1	0	0,0
С20:3n3	0,4	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0	0	0,6	0,1	0,5	0	0,3	0,1	0,0
С20:4n6	1,5	1,6	2,2	2,3	1,6	0,9	1,8	1,3	1,7	4	2,1	4,0	1,8	2,2	1,1	0,6
С22:2	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5	0,2	0,5	0,4	0,5	0	0,5	0	0,5	0,1	0,5	0,4
С24:0	0	1,1	0	0,8	0	0,8	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0,4
Σнас	71,6	78,2	70,8	77,0	66,7	76,5	68,0	71,9	71,9	79,6	71,7	79,9	71,4	78,4	72,0	75,5
Σненас	28,4	21,8	29,2	23,0	33,3	23,5	32,0	28,1	28,1	20,4	28,3	20,1	28,6	21,6	28,0	24,5
Кнас	2,5	3,6	2,4	3,3	2,0	3,3	2,1	2,6	2,6	3,9	2,5	4,0	2,5	3,6	2,6	3,1

Таблица В.3 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции СМ в проксимальном конце нерва (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
С10:0	0	0	0	0,1	0,2	0,1	0,4	0,2	0,1	0,2	0	0,1	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0	0	0,1
С11:0	0,2	0,3	0	0,1	0	0	0,1	0,1	0	0,5	0,5	0,2	0,1	0,1	0	0	0,1	0	0,1	0	0,2	0,1	0,3	0,2
С12:0	0,3	0,4	0,1	0	0,4	0,2	0	0	0,3	0,1	1	0,6	0,3	0,1	0,6	0,4	0	0	0	0	0,1	0,1	0,5	0,3
С13:0	0	0	0	0	0,1	0	0,2	0,1	0,8	0,4	0,8	0,4	0	0	0,1	0,1	1,5	0,6	0,9	0,7	0	0,2	0,1	0
С14:0	1,2	1,6	0,6	0,3	0,2	0,1	0,6	0,3	0,7	0,3	1,3	0,9	1,9	1,1	0,3	0,2	0,2	0	0,3	0,1	1,4	1,2	0,2	0,1
С14:1	0,4	0,5	0,5	0,4	1,8	2,6	0,2	0,7	1,4	2,6	0,2	0,7	0,3	0,5	0,1	0,4	0,8	2,2	0,5	1,6	0,1	0,7	0,2	0,5
С15:0	1	1,3	0,1	0	1	0,5	1,2	0,8	1,8	1,2	1,2	0,6	0,6	0,3	1,7	1,1	0,8	0,1	0,9	0,6	1,4	0,9	2,7	1,4
С15:1	0,4	0,5	0	2,7	1,4	3,5	0,5	2,9	0,2	3,6	0	2,8	0,4	2,4	0,3	1,8	0	4,5	0	4,1	0,5	3,9	0,2	3,3
С16:0	12,8	12,0	9,7	7,5	7,6	3,4	11,5	9,3	7	4,2	8	4,7	8,1	5,2	7,6	6,2	10,9	4,9	7,9	6,3	10,9	8,7	8,2	7,5
С16:1	1,6	2,1	1,8	2,1	3,1	2,7	1,1	1,8	2,4	3,6	3,2	6,3	2	5,9	2,3	5,1	1,3	2,1	2,4	3,4	1,1	2,5	1,4	2,3
С18:0	1,1	1,4	1,6	1,2	0,9	0,5	2,5	1,6	1,2	0,2	2,3	0,9	0,8	0,2	1,2	1	2,9	1,3	2	1,1	3	1,9	3,3	2,1
С18:1n9t	0	0	0	0,8	1,6	2,9	1,1	2,3	0,7	2,1	0,9	2,9	1,7	2,5	0,3	0,8	0,5	2,3	0,2	1,4	0,3	1,1	0,2	0,8
С18:1n9c	26,2	33,3	28,8	31,2	26,5	30,6	27,5	28,9	30,9	33,7	26,5	31,6	24,9	30,8	30,9	31,3	32,5	36,7	26,9	30,1	26,4	27,9	30,1	32,7
С18:2n6c	0,8	1,0	0,6	2,9	1,1	2,7	2,4	4,1	0,3	2,1	1	2	1,2	1,7	0,6	0,8	0,1	2,2	0,9	2,9	1,4	3,7	0,1	1,5
С18:3n3	24,8	31,5	25,9	29,1	24,4	26,1	23	26,2	24,2	25,9	23,2	24,9	23,5	24,8	22,6	22,9	23,3	27,1	27,5	29,4	22,8	26,4	24	24,4
С20:0	8,6	11,2	9,1	5,9	7,4	5,3	10,6	6,1	8,2	5,2	8,7	6,3	6,4	5,2	10,2	10	6,8	5,2	10	6,8	9,8	7,8	7,3	6,5
С20:2	0	0	0	0,7	0,8	1,7	0	0,3	0,4	0,7	0	0,3	0,5	0,8	0,2	0,3	0	0,6	0	0,5	0,1	0,4	0	0,1
С20:3n3	0,8	1,0	0,8	1,6	0,2	1,3	0,4	0,8	0,3	0,6	1,3	1,4	0,3	0,7	0,8	1	0,5	0,7	0,4	0,2	0,5	0,3	1,1	1,2
С20:4n6	1,4	1,8	1,4	2,9	2,3	2,6	0,7	1,9	1,4	2,9	1,4	2,1	3,5	4,6	1,1	1,5	1,4	3,9	1,4	2,7	0,9	2,1	2,1	1,6
С22:2	0	0	0	0,6	0,5	0,5	0	0,3	0	0,3	0,2	0,4	0	0,2	0	0,1	0	0,5	0	0,6	0	0,3	0	0
С24:0	18,4	0	19	9,9	18,5	12,7	16,0	11,3	17,7	9,6	18,3	9,9	23,1	12,7	18,8	14,8	16,2	5,0	17,5	7,4	19	9,8	18,0	13,4
Σнас	43,6	28,2	40,2	25,0	36,3	22,8	43,1	29,8	37,8	21,9	42,1	24,6	41,7	25,1	40,8	34,0	39,6	17,2	39,8	23,1	45,9	30,7	40,6	31,6
Σненас	56,4	71,8	59,8	75,0	63,7	77,2	56,9	70,2	62,2	78,1	57,9	75,4	58,3	74,9	59,2	66,0	60,4	82,8	60,2	76,9	54,1	69,3	59,4	68,4
Кнас	0,8	0,4	0,7	0,3	0,6	0,3	0,8	0,4	0,6	0,3	0,7	0,3	0,7	0,3	0,7	0,5	0,7	0,2	0,7	0,3	0,8	0,4	0,7	0,5

Продолжение таблицы В.3

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0	0,1	0,1	0	0,3	0,2
С11:0	0,2	0,1	0	0	0,1	0	0	0,1	0,1	0	0,2	0,1	0	0,1	0,1	0,1
С12:0	0	0	0,3	0,2	0,1	0,1	0	0	0	0	0,1	0,1	0,9	0,6	0,1	0,1
С13:0	0,3	0,2	0,5	0,2	0,6	0,4	0,6	0,5	0,5	0,2	0	0,2	0,3	0,2	0,7	0,6
С14:0	1	0,7	2,4	1,6	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,8	0,4	0,1	0	0,1	0,1
С14:1	0,2	0,6	0,3	0,8	1,8	2,2	0,9	1,1	0,8	1,6	0,2	0,8	0,3	0,9	0,4	0,8
С15:0	1,7	1,1	0,6	0,2	0,7	0,4	0,3	0,1	0,7	0,2	0	0	0,6	0,4	0	0
С15:1	0,3	3,7	0	3,3	0,1	2,8	1,7	3,9	0,2	2,4	0,6	3,1	1,5	3,2	0,6	0,9
С16:0	7,5	4,9	7,3	4,8	12,1	9,7	7,8	7,1	7,6	4,7	7	5,4	11,6	8,1	11,1	9,6
С16:1	4,4	3,5	1,2	2,3	1,1	1,6	1,5	2,1	1,8	2,9	1,3	2,1	1,7	2,3	1,2	1,8
С18:0	1,1	0,5	1,7	1,1	2,8	1,7	0,7	0,4	2,8	1,9	3,4	1,9	1,1	0,9	1	0,9
С18:1n9t	0,2	1,3	0,2	1,2	0,2	1	0,4	0,7	0,3	1,5	0,3	0,9	0,3	0,8	0,6	1,3
С18:1n9c	27,1	29,3	31,3	32,4	25,3	26,3	30,5	31,7	31,4	32,7	32,5	35,2	25,7	28,3	30,6	31,4
С18:2n6c	1,6	4,2	2,3	6,8	0,7	2,9	1,4	2,3	0,7	2,1	1,4	2,5	1,1	2,1	1,3	1,9
С18:3n3	23,9	26,4	24	25,1	23,8	27,4	23,5	24,9	23,4	24,3	23	26,2	24,4	27,1	23,3	24,3
С20:0	7,6	5,2	6,6	5,2	9,9	7,2	10,6	8,4	5,9	4,6	8	5,6	11,4	9,3	7,4	6,7
С20:2	0,3	0,8	0	0,4	0	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,7	0,1	0,1	0	0,3
С20:3n3	0,5	0,9	0,6	0,8	1,7	2,4	0,1	0,3	0,9	1,3	0,4	0,6	0,6	1,1	0,1	0,4
С20:4n6	1,9	4,1	1,6	2,5	1,4	2,7	0,4	0,8	1,4	2,4	1,6	2,5	1,4	3,7	1,1	1,5
С22:2	0	0,7	0,7	0,9	0	0,1	0	0,2	0	0,6	0,6	0,9	0	0,5	0	0
С24:0	20	11,7	18,3	10,1	17,3	10,8	19	15,2	20,9	16,3	18,4	10,7	16,8	10,3	20	17,1
Σнас	39,6	24,5	37,8	23,5	43,9	30,5	39,4	31,9	38,9	28,1	37,9	24,5	42,9	29,9	40,8	35,4
Σненас	60,4	75,5	62,2	76,5	56,1	69,5	60,6	68,1	61,1	71,9	62,1	75,5	57,1	70,1	59,2	64,6
Кнас	0,7	0,3	0,8	0,3	0,8	0,4	0,7	0,5	0,6	0,4	0,6	0,3	0,8	0,4	0,7	0,6

Таблица В.4 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции ФС в проксимальном конце нерва (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
C10:0	0,8	0	1,2	0,5	0,7	0	0,5	0	1,4	0,7	0,7	0	0,8	0,1	1	0,5	0,8	0	1,4	0,7	0,7	0	1,1	0,8
C11:0	0,9	0	0,7	0	0,6	0	1,3	0,8	0,9	0,1	2,3	1,4	1,5	0,6	0,8	0,1	0,9	0	0,8	0,1	1,1	0,3	0,7	0,4
C12:0	0	0	0,8	0,8	0,4	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,3	0,3	0,8	0,9	0	0	0	0,2	0	0,1	0,5	0,5	0,2	0,2
C13:0	0	0	0,4	0,5	0	0,1	0	0	0	0,1	0	0,1	0,2	0,2	0,6	0,7	0,1	0,4	0	0	0	0	0	0,1
C14:0	0,5	1,1	0,2	0,7	1,7	2,1	0,3	0,5	0,3	1	1,1	1,6	0	0,5	0,3	0,5	0,3	1,7	1,9	3,1	0,8	1,8	1,7	2
C14:1	0	0	0	0,1	0,6	0,7	0,2	0,2	0,9	0,9	0	0,1	0	0	0	0,1	0	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0	0,1
C15:0	0,3	16	1,7	14,2	0	5,2	1,6	5,4	1,7	8,8	1,1	7,8	2	8,5	1,7	3,6	0,6	9,6	0,2	8,9	1,5	9,9	0,9	5,3
C15:1	0,6	9,3	0,2	8,6	2,3	10,5	0,3	5,2	2,8	12,5	0,3	9,4	1,6	10,5	0,2	2,7	0,1	12,2	2,4	14,1	0,3	11,6	2	3,7
C16:0	2,4	23,8	6,2	23,9	5,5	23,1	1	16,3	1,3	23,6	4	23,9	1,6	20,6	4	19,2	4	27,4	1,5	24,2	1,7	24,1	0,8	4,2
C16:1	0,4	0	0,3	0,1	0,3	0	1,3	1,1	1,3	1	0,9	0,6	0,4	0,1	0,6	0,3	0,7	0,3	0,2	0	0,8	0,6	0,8	0,7
C18:0	18,7	4,8	19,9	7,9	14,3	5,9	21,3	17,4	17,2	1,4	18,4	3,5	17	2,3	16,4	10,4	19,8	1,2	18,5	0,2	19,9	2,1	16,1	13,6
C18:1n9t	15,3	3,6	12,5	2,1	16,4	7,6	14	7,8	13,4	0,5	13,7	3,6	16,8	7	13,4	8,3	15,9	0,8	15,2	0,4	15	0,5	17,1	11,6
C18:1n9c	49,9	28,6	46,8	28,2	48,7	33,6	51,6	39,4	46,6	28,8	48,8	32,4	48,5	34,4	51,4	40,3	48,4	18,9	47	21,6	51,5	27,9	47,6	43
C18:2n6c	0	2,2	0,2	2,3	0	2	0	1,1	1,3	5,1	0	3	0	2,5	0	1,1	0	5,7	0	5,4	0	5,6	0	1,3
C18:3n3	6,2	0	5	0	5,4	0,6	4	1,6	5,8	0,1	5,3	0	5,5	0,7	5,6	4,3	6,2	0,4	6,5	1,1	4,9	0	7	5,3
C20:0	1,8	2,8	2,5	3,2	1,8	1,9	1,2	0,2	3,3	5,9	0,9	3,2	1,6	3,5	1,8	2,8	1,3	8,4	2	7,6	0,3	5,6	1,8	3,2
C20:2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C20:3n3	1,2	4,7	0,6	4	0,6	3,4	0,3	1,3	0,8	5,2	1,2	5,2	1,2	5	1,2	2,7	0,5	8	1,9	7,8	0,5	5,9	1,2	2,1
C20:4n6	1	3,1	0,8	2,8	0,7	2,4	0,6	1,2	0,4	3,6	1	3	0,5	2,3	1	2,2	0,4	4,7	0,3	4,1	0,2	3,3	1	2,3
C22:2	0	0	0	0,1	0	0,1	0	0	0	0,1	0	0,4	0	0,3	0	0,1	0	0	0	0,3	0	0	0	0,1
C24:0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
Σнас	25,4	48,3	33,6	51,7	25,0	39,1	27,7	41,1	26,7	42,2	28,8	42,3	25,5	37,2	26,6	37,9	27,8	48,9	26,3	44,9	26,5	44,3	23,3	29,8
Σненас	74,6	51,5	66,4	48,3	75,0	60,9	72,3	58,9	73,3	57,8	71,2	57,7	74,5	62,8	73,4	62,1	72,2	51,1	73,7	55,1	73,5	55,7	76,7	70,2
Кнас	0,3	0,9	0,5	1,1	0,3	0,6	0,4	0,7	0,4	0,7	0,4	0,7	0,3	0,6	0,4	0,6	0,4	1,0	0,4	0,8	0,4	0,8	0,3	0,4

Продолжение таблицы В.4

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	1	0,4	0,6	0	1,7	1	1	0,3	1,2	0,5	0,8	0,1	1,2	0,8	0,9	0,8
С11:0	0,8	0,2	1,6	0,9	0,8	0,1	0,5	0,1	0,9	0,2	1,2	0,4	0,6	0,3	0,5	0,1
С12:0	0,3	0,4	0,3	0,4	0,6	0,7	0,3	0,3	0	0,1	0,3	0,4	0,1	0,1	0,2	0,2
С13:0	0	0,4	0	0,3	0,3	0,4	0,1	0,1	0,2	0,5	0	0,3	0,3	0,5	0	0,1
С14:0	1,6	2,8	0,3	1,4	0,5	1,3	2,2	2,3	0,2	1,2	0,8	1,7	1,5	1,7	1,5	1,7
С14:1	0,4	0,5	0	0,1	0	0,1	0	0,0	0,3	0,3	0,2	0,2	0	0,1	0	0
С15:0	0,6	7,9	1,7	8,9	0,1	7,1	0,7	1,0	0	7,2	0,9	7,9	1,8	8,5	1,9	3,4
С15:1	0,1	6,3	1,1	6,5	0,9	6,2	0,4	1,0	1,2	7,1	0,1	5,7	0,2	5,3	0,3	2
С16:0	3,7	26,2	0,7	21,4	2,1	20,7	2,9	3,5	3,7	24,4	3,6	22	2,1	19,8	2,2	7,6
С16:1	0,6	0,3	0,6	0,5	0,8	0,6	0,3	0,2	0,6	0,2	0,5	0,2	0,4	0,1	0,6	0,5
С18:0	16,9	2,1	16,8	3,7	21	9,3	18,1	24,1	17,1	3,1	16,1	2,4	20,6	8,7	18,7	15,5
С18:1n9t	13,9	3,3	12,2	3,7	14,2	7	13,4	11,3	15	5,2	14	9,1	12,5	8	15,3	13,9
С18:1n9c	52	25,6	51,2	26	47,2	22,9	52,4	46,5	51,4	29,3	52,7	31,1	50,6	29,6	47,7	43,7
С18:2n6c	0	4,9	0,5	4,6	0,2	3,4	0	1,0	0	4,4	0	4,1	0,2	4	0	0
С18:3n3	5,9	0,5	6,9	3	4,3	0,7	5,1	4,3	6	1	5,6	1,1	4,8	0,9	7,2	6,2
С20:0	1	5,7	2,3	6,5	3,5	8,4	1,4	1,8	0,9	5	1,8	4,4	1,3	3,4	1,5	1,7
С20:2	0	0	0	0,1	0,3	0,4	0	0,0	0,1	0,1	0	0,1	0	0	0,3	0,4
С20:3n3	0,7	7,8	2,2	7,3	1	5,6	0,9	1,5	0,8	7,1	0,4	5,3	1,1	5,5	0,7	1,2
С20:4n6	0,5	4,5	1	4,7	0,5	4	0,3	0,7	0,4	3,1	1	3,5	0,7	2,6	0,5	1
С22:2	0	0,1	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0
С24:0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Σнас	25,9	46,2	24,3	43,5	30,6	49,0	27,2	33,5	24,2	42,2	25,5	39,6	29,5	43,8	27,4	31,1
Σненас	74,1	53,8	75,7	56,5	69,4	51,0	72,8	66,5	75,8	57,8	74,5	60,4	70,5	56,2	72,6	68,9
Кнас	0,3	0,9	0,3	0,8	0,4	1,0	0,4	0,5	0,3	0,7	0,3	0,7	0,4	0,8	0,4	0,5

Таблица В.5 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции ФИ в проксимальном конце нерва (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
C10:0	0,3	0	0,2	0	0,7	0,5	0,1	0	1,2	0,9	0,3	0	1	0,7	1,2	0,9	0,3	0,1	0,3	0,1	0,2	0	0,4	0,3
C11:0	0,2	1,3	1,9	2,9	0,1	0,9	1,4	1,3	1	2,5	1,1	2,5	0	1,3	0,8	1,5	0,9	0,8	0,6	0,4	0,8	0,7	0,7	0,6
C12:0	0,4	0	0,3	0,1	0,8	0,7	1	0,8	0,1	3	1,7	4,5	0,2	2,9	0,1	2,2	0,2	3,6	0	3,1	0	2,8	1,5	2,4
C13:0	0,9	2,9	1,7	3,5	1,5	3,1	0,7	1,3	2,6	5,9	0,6	3,9	3	6,1	3,6	5,8	0,2	4,1	2,6	6,3	0,2	3,6	3,3	5,4
C14:0	5	4,1	6,9	6,2	4,3	3,6	6,3	5,9	2,9	2,3	7,6	6,9	3,2	3,1	7,4	7,3	4,8	0	4,7	0,4	4,1	0	3,3	1,8
C14:1	0	2,6	0,7	2,9	1,4	3,5	0,5	1,7	0,9	3,9	0,7	3,4	0,3	2,7	0	1,1	0	4,7	0	4,3	1,4	5,4	0,4	1,8
C15:0	0,8	1,5	0,5	1,1	3,1	3,5	0,4	0,6	0,4	1,5	0,4	1,1	2,6	3,1	0,2	0,3	2,5	4,6	3,2	4,9	2,4	3,8	0,2	0,7
C15:1	8,7	0,6	7,5	1,5	9,4	3,7	6,5	3,1	10,4	1,8	8,3	0,4	6,9	0	7,3	4,3	9,6	0,9	7,6	0,1	7,6	0,6	6,5	1,9
C16:0	3,3	13,9	4,7	13,5	2,2	10,2	5,8	10,3	1,4	14,2	5,6	17,2	4,2	13	1,5	4,5	4,7	19,7	5,6	20,3	1,2	14,1	0,9	7,1
C16:1	0	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,7	0,9	0,7	1,3	0	0,5	0,9	1,3	0	0,2	0	0,3	0	0,3	0,9	1,1	0,4	0,5
C18:0	3	10,8	2,6	9,4	3,9	8	2,3	5,5	4,2	12,7	0,9	8	4,8	10,1	2,2	4,3	1,9	12,7	1,2	11,6	2,1	11,2	2,6	7,4
C18:1n9t	10,3	41,5	8,2	34,2	8,7	33,7	8,9	19,1	9,4	42,6	8,3	38,1	8,5	35,9	13	22,2	5,4	40,9	6,4	41,1	6,6	41	12,4	17,7
C18:1n9c	14,2	2,9	15,8	5,1	13,4	4,4	15,6	12,2	12,5	0	13,3	1,6	13,1	2,7	12,1	6,6	17,3	3,4	16	2,7	16,7	3,6	12,3	6,9
C18:2n6c	33,8	1,2	30,9	2,9	36,2	10,9	32,5	21,1	33,3	0,5	32,1	2	36,4	7,1	35,5	27	33,1	0,5	33	1	34,9	3,8	31,2	26,3
C18:3n3	0	0	0,6	0,7	0,3	0,5	0,2	0,3	0	0,1	0,6	0,7	0,2	0,2	0,3	0,3	0,8	0,9	0	0,1	0	0	0,4	0,5
C20:0	0	0	0,2	0,2	0	0,1	0	0	0,3	0,3	0,5	0,6	0	0	0	0,1	0	0,1	0	0,2	0,6	0,7	0,1	0,1
C20:2	0	0	0	0,1	0	0	0,5	0,6	0,2	0,2	0	0	0,1	0,3	0	0	0	0,1	0,5	0,5	0,2	0,2	0	0
C20:3n3	14,1	10,4	13	10,2	11,3	8,6	12,9	11,1	14	0,1	13,2	0,9	11,3	3,6	11,8	7,9	14,1	0,1	13,9	0	14,1	1,3	15	10,2
C20:4n6	1,6	4,2	1,1	3,5	0,4	2,6	1	2	1,1	5,2	1,4	5,2	1,1	4,3	0,5	1,2	0,8	2,5	1,1	2,5	1,6	2,6	2	2,4
C22:2	0	0,2	0	0,1	0	0,1	0	0	0	0,1	0,6	1,1	0	0,4	0	0,3	0	0	0	0,1	0	0	0	0
C24:0	3,4	1,4	3,0	1,4	2,1	0,9	2,7	2,2	3,4	0,9	2,8	1,4	2,2	1,2	2,5	2,0	3,4	0	3,3	0	4,4	3,5	6,4	6,0
Σнас	17,3	35,9	22,0	38,3	18,7	31,5	20,7	27,9	17,5	44,2	21,5	46,1	21,2	41,5	19,5	28,9	18,9	45,7	21,5	47,3	16,0	40,4	19,4	31,6
Σненас	82,7	64,1	78,0	61,7	81,3	68,5	79,3	72,1	82,5	55,8	78,5	53,9	78,8	58,5	80,5	71,1	81,1	54,3	78,5	52,7	84,0	59,6	80,6	68,2
Кнас	0,2	0,6	0,3	0,6	0,2	0,5	0,3	0,4	0,2	0,8	0,3	0,9	0,3	0,7	0,2	0,4	0,2	0,8	0,3	0,9	0,2	0,7	0,2	0,5

Продолжение таблицы В.5

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	1,1	1,2	0	0,1	0,6	0,7	0,5	0,4	0,2	0	0,3	0,2	0,6	0,5	0,3	0,4
С11:0	0,1	0	0,9	0,8	0,1	0	0,8	0,7	0,8	0,7	0,1	0	0,1	0	0	0,0
С12:0	0,5	2,6	0,3	2,1	0,8	2,4	0,8	1,7	0,9	2,7	0,3	1,9	1,9	3,6	0,1	1,0
С13:0	1,1	3,1	0,3	1,9	0,4	1,4	0,1	0,7	0,1	0,2	0	0,8	0,2	0,8	0,6	0,8
С14:0	4,7	0,3	4,8	0,6	4,1	0,2	7,6	4,9	6,9	2,7	4,3	0,7	6,4	3	2,1	2,7
С14:1	0,8	4,9	0	4	0,2	3,8	0,3	1,9	0,6	4,1	1,3	4,5	0,8	4	0,6	2,3
С15:0	0,1	2,3	0,4	2,4	2,9	4,6	2,6	3,9	2,7	4,4	2,6	4,1	0,1	2,1	0,1	0,4
С15:1	11,6	3,7	8,2	0,5	11,1	4,3	11,6	9,8	7,2	1,8	6,6	1	6,2	1	11,1	19,7
С16:0	2,6	15,4	1,2	13,2	1,5	12,5	1,9	10,5	6,4	19,1	0,9	13,1	6	16,4	1,7	6,4
С16:1	0,5	0,9	0	0,4	0,3	0,6	0	0,1	0,3	0,5	0,8	0,9	0,3	0,4	0,2	0,6
С18:0	1,8	12,1	4,7	14,9	2,7	12,3	2,3	7,4	2,1	12	5,9	13,2	4,6	10,8	5,3	5,7
С18:1n9t	12,1	43	13,4	44,1	8,9	39,4	8,2	14,1	8,6	36,9	6,6	34	8,5	34,6	12,4	7,4
С18:1n9c	13,8	0,4	16,5	3,4	16,5	3,5	12,6	5,1	15,4	2,5	15,8	3,4	15,5	4	12,6	2,2
С18:2n6c	29,4	6,1	31,3	8,2	31,1	9,6	32,3	27,3	31,2	8,7	30,2	10,9	30,9	12,4	33	2,6
С18:3n3	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	0,5	0,3	0,3	0,6	0,6	0,8	0,9	0,2	0,2	0	0,2
С20:0	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,3	0,6
С20:2	0	0,1	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0,3	0,4	0	0	0	0,0
С20:3n3	14,7	0,8	13,6	0,2	13,3	0,1	13	6,1	13,5	0,3	16,3	3,8	12,7	1,5	14,6	37,2
С20:4n6	1,2	2,6	0,6	2	1,6	2,7	3,4	3,8	0,5	1,6	2,9	3,8	1,2	1,8	1,6	3,3
С22:2	0	0	0,2	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0,0
С24:0	3,4	0	3,2	0,4	3,4	1,3	1,7	1,2	2	1,1	3,9	2,3	3,8	2,7	3,4	6,2
Σнас	15,7	37,3	15,9	36,5	16,6	35,5	18,3	31,5	22,1	43,0	18,4	36,4	23,7	40,0	13,9	24,4
Σненас	84,3	62,7	84,1	63,5	83,4	64,5	81,7	68,5	77,9	57,0	81,6	63,6	76,3	60,0	86,1	75,6
Кнас	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2	0,5	0,3	0,8	0,2	0,6	0,3	0,7	0,2	0,3

Приложение Г

Таблица Г.1 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации лизофосфатидилхолина в проксимальном конце седалищного нерва крысы, мкг Р_{ЛФХ}/мг Р_{ФЛ} (M±m): П+ГК 2 мг/кг – повреждение+гиалуронат калия в концентрации 2 мг/кг; П+ГК 17 мг/кг – повреждение+гиалуронат калия в концентрации 17 мг/кг; П+ГК 30 мг/кг – повреждение+гиалуронат калия в концентрации 30 мг/кг

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	8,86±0,31	8,46±0,32	8,39±0,28	8,88±0,26	7,52±0,27
Повреждение	15,89±0,52*	18,09±0,69*	25,08±0,98*	23,03±0,77*	13,45±0,56*
П+ГК 2 мг/кг	14,39±0,55	17,07±0,62	22,57±0,89	20,00±0,75**	12,76±0,49
П+ГК 17 мг/кг	14,12±0,48	15,67±0,61	22,44±0,75	19,76±0,74**	11,65±0,43
П+ГК 30 мг/кг	9,99±0,32**	11,86±0,45**	16,35±0,69**	15,52±0,49**	9,67±0,32**

*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$

Таблица Г.2 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации лизофосфатидилэтаноламина в проксимальном конце седалищного нерва крысы, мкг Р_{ЛФЭА}/мг Р_{ФЛ} (M±m)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	3,19±0,16	3,25±0,14	3,19±0,13	2,84±0,12	2,92±0,11
Повреждение	7,22±0,28*	11,90±0,51*	14,14±0,52*	11,36±0,45*	4,66±0,18*
П+ГК 2 мг/кг	6,94±0,27	10,61±0,45	10,85±0,41**	10,52±0,37	4,19±0,15
П+ГК 17 мг/кг	6,88±0,31	10,04±0,31**	10,42±0,39**	7,16±0,34**	4,08±0,17
П+ГК 30 мг/кг	5,58±0,22	8,72±0,35**	7,73±0,37**	5,97±0,21**	3,41±0,12**

*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$

Таблица Г.3 Динамика показателя суммы жирных кислот во фракции СЖК ткани проксимального конца седалищного нерва крыс после его повреждения, мкг СЖК/мг ОЛ

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	18,11±0,78	19,77±0,79	17,33±0,75	20,56±0,71	18,18±0,82
Повреждение	38,26±1,74*	44,63±2,13*	61,49±2,76*	51,76±2,44*	35,96±1,65*
П+ГК 2 мг/кг	37,41±1,69	43,3±2,11	54,56±2,58	48,01±2,11	30,7±1,12
П+ГК 17 мг/кг	36,87±1,77	40,61±1,82	51,09±2,32**	44,56±2,08	27,65±1,29**
П+ГК 30 мг/кг	31,92±1,48**	35,13±1,64**	43,84±1,82**	30,95±1,33**	22,45±1,09**

*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$

Таблица Г.4 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции СЖК в проксимальном конце нерва после перерезки (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
С10:0	0	0,3	0,4	0,3	0,1	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0,1	0	0	0	0
С11:0	0,5	0,4	0,2	0,2	0,3	0,3	0	0,1	0,4	0	0,7	0,3	0,6	0,3	0,2	0,1	1,1	0,6	0,8	0,5	0,4	0,2	0,9	0,8
С12:0	0,4	0,7	0,5	0,9	0,3	0,7	0,7	0,7	0,8	1,3	0,2	0,6	0,2	0,6	0,5	0,9	0,2	0,2	0,6	0,4	0,7	0,7	0,3	0,3
С13:0	0,1	0	0	0	0,1	0,1	0,3	0,5	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,6	0,6	0,7	0,1	0,1	0,4	0,4
С14:0	5,3	3,8	6,7	5,8	7,2	6,4	6,3	7,9	6,2	6,2	3,6	3,3	7,5	7,3	6,4	6,3	8,2	9,6	4,1	5,1	2,9	3,6	3,6	5,5
С14:1	0,1	0	0,3	0,2	0,4	0,2	0,2	0,4	0,5	0,7	0,3	0,5	0,7	0,8	0,2	0,2	0,6	0,6	0,3	0,3	0,1	0,1	0,3	0,3
С15:0	2,4	1,8	3,5	1,5	3,7	1,9	1,4	2,0	1,5	0,1	4,1	2,3	1,9	0,3	1,6	1	1,5	0	1,8	0,4	4,5	3,6	1,9	1,2
С15:1	0,1	0	0,5	0,5	0,6	0,5	0,2	0,2	0,9	1	0,4	0,4	0,9	0,9	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1
С16:0	46,8	36,6	49,2	42,6	50,1	45,6	45,9	34,1	51,5	35,1	43,9	31,6	44,7	36	49,7	46,3	43,7	23,3	49	30,9	43,1	33,6	52,1	43,8
С16:1	0,3	0	0,6	0,3	0,6	0,4	0,1	0,2	0,2	0,3	0,5	0,5	0,8	0,7	0,7	0,6	0,5	0,4	0,2	0	0,5	0,4	0,3	0,3
С18:0	27	28,4	26,1	31,5	23,1	28,3	29,2	35,1	22,5	26,7	30,3	27,3	29,7	28,5	24,7	24,8	28,1	30,9	25,6	27,4	29,2	30,2	22,7	25,8
С18:1n9t	0	0	0	0,1	0	0	0,1	0,1	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0,2	0	0,1	0	0
С18:1n9c	8,2	7,5	5,1	7	6,9	6,7	7,5	10,5	6,8	13,8	7,3	17,5	7,4	10,2	7,6	5,5	6,9	29,6	7,1	17,4	8,2	13,4	9,6	8,1
С18:2n6c	3,6	7,8	4,2	4,4	4	4,7	3,5	3,6	3,9	10,9	3,1	10,6	2,5	8,5	4,1	10,3	3,8	0,4	4,4	9,6	3,6	1	2,9	8,6
С18:3n3	0,1	0,6	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,8	0,1	0,8	0,2	0,7	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2	0,1
С20:0	0,5	1,2	0,3	1	0,2	0,5	0,7	0,4	0,7	0,3	0,9	0,6	0,4	0,1	0,3	0,2	0,4	0	0,6	0,4	1,3	1,2	0,5	0,5
С20:2	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
С20:3n3	0,7	2,6	0,1	0,5	0,2	0,6	0,4	0,6	0,4	0	0,6	0,4	0,7	0,6	0,4	0,4	0,7	0	0,5	2,2	0,7	2,6	0,4	0,3
С20:4n6	1,7	6,5	1	1,7	0,9	1,3	1,5	1,4	1,3	2,4	1,4	2,5	0,9	3,5	1,3	1,5	1,4	3	1,6	3,1	2	7,3	1,6	2
С22:2	0,1	0	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0
С24:0	2	1,8	1	1,2	1	1,4	1,4	1,8	1,9	0	2,3	0,4	0,4	0,1	1,4	0,9	1,7	0	2	0,5	2,2	1,5	2	1,8
Σнас	85,0	75,0	87,9	85,0	86,1	85,2	86,0	82,6	85,7	69,8	86,1	66,5	85,7	73,5	85,1	80,8	85,4	65,3	85,1	66,4	84,4	74,7	84,4	80,1
Σненас	15,0	25,0	12,1	15,0	13,9	14,8	14,0	17,4	14,3	30,2	13,9	33,5	14,3	26,5	14,9	19,2	14,6	34,7	14,9	33,6	15,6	25,3	15,6	19,9
Кнас	5,7	3,0	7,3	5,7	6,2	5,8	6,1	4,7	6,0	2,3	6,2	2,0	6,0	2,8	5,7	4,2	5,8	1,9	5,7	2,0	5,4	3,0	5,4	4,0

Продолжение таблицы Г.4

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	0	0,1	0	0,1	0	0	0	0	0	1,0	0	0,8	0	0,7	0	0
С11:0	0,5	0	0,3	0	0,5	0,3	0	0,1	0,4	0,2	0,4	0,1	0,7	0,5	0	0,1
С12:0	0,5	0,3	0,2	0,1	0,3	0,1	0,4	0,5	0,8	0,9	0,1	0,1	0,2	0,1	0,4	0,5
С13:0	0,3	0,2	0,5	0,4	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,3	0,7	0,9	0,1	0,2	0,2	0,3
С14:0	4,1	4,7	6,7	7,2	7,7	8,1	3,7	3,6	6,6	6,8	6,7	5,9	3,6	2,5	3,7	7,9
С14:1	0,1	0	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,4	1,4	0,1	0,8	0,1	0,7	0,1	0,1
С15:0	3,7	1,5	3,2	1,2	2,1	0,4	0,6	1,2	2,6	0,3	2,3	0,1	4,5	2,3	0,6	2,3
С15:1	0,5	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0	0,5	0,1	0,4	0	0,2	0,2	0,3
С16:0	42,3	22,7	44,3	34,3	50,4	43,6	47,3	49,3	44,1	27,5	49,1	33,7	49,7	36,7	47,3	44,4
С16:1	0,5	0,3	0,4	0,3	0,1	0,1	0,4	0,4	0,6	0,9	0,1	0,3	0,1	0,2	0,4	0,3
С18:0	31,2	32,4	23,7	20,7	23,1	24,1	30,4	27,4	27,4	28,6	24,6	17,6	24,7	16,1	30,4	26,6
С18:1n9t	0	0,1	0	0,1	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0
С18:1n9c	10,3	25,3	5,8	13,9	9,6	14,6	7,1	7,8	6,1	6,9	6,9	15,9	9,3	16,3	7,1	6,5
С18:2n6c	2,8	0	5,4	7,9	3,1	0,7	1,9	3,3	4,9	7,3	4,1	12,2	2,4	9,6	1,9	4,5
С18:3n3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
С20:0	0,2	1,2	1,8	2,5	0,2	0,6	0,6	0,7	0,5	0,0	0,4	0,1	0,3	0,2	0,6	0,4
С20:2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
С20:3n3	0,7	0,1	1,6	3,4	0,5	0,3	0,7	0,7	0,9	0,8	0,6	1,5	0,7	0,7	0,7	1,9
С20:4n6	0,9	6,9	2	2,1	1,1	4,1	2	1,9	1,9	11,5	1,6	4,9	1,5	6,3	2	0,6
С22:2	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,1
С24:0	1,1	3,5	3,3	5	0,6	2,4	4,2	2,3	2,3	4,8	1,9	4,4	1,8	6,4	4,2	3
Σнас	83,9	66,6	84,0	71,5	85,0	79,7	87,4	85,3	84,8	70,5	86,2	63,7	85,6	65,7	87,4	85,5
Σненас	16,1	33,4	16,0	28,5	15,0	20,3	12,6	14,7	15,2	29,5	13,8	36,3	14,4	34,3	12,6	14,5
Кнас	5,2	2,0	5,3	2,5	5,7	3,9	6,9	5,8	5,6	2,4	6,2	1,8	5,9	1,9	6,9	5,9

Приложение Д

Таблица Д.1 Динамика изменения концентрации диеновых конъюгатов в проксимальном конце седалищного нерва крыс после его повреждения, ммоль/ мг липидов ($M \pm m$): *– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	10,17±0,18	10,25±0,22	10,39±0,20	10,08±0,16	10,09±0,25
Повреждение	10,74±0,21*	12,7±0,26*	14,23±0,22*	12,94±0,24*	12,45±0,25*
П+ГК 2 мг/кг	10,55±0,22	12,51±0,28	13,52±0,31	12,14±0,33	11,84±0,24
П+ГК 17 мг/кг	10,37±0,26	12,42±0,21	13,27±0,28**	12,06±0,26	11,55±0,26**
П+ГК 30 мг/кг	10,2±0,27	11,23±0,25**	12,16±0,24**	11,2±0,23**	10,45±0,19**

Таблица Д.2 Динамика изменения концентрации малонового диальдегида в проксимальном конце седалищного нерва крыс после его повреждения, ммоль/ мг белка ($M \pm m$)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	0,38±0,015	0,46±0,012	0,43±0,018	0,47±0,014	0,41±0,017
Повреждение	0,44±0,011	0,79±0,032*	1,32±0,051*	0,88±0,028*	0,75±0,024*
П+ГК 2 мг/кг	0,44±0,013	0,76±0,021	1,24±0,036	0,86±0,027	0,71±0,033
П+ГК 17 мг/кг	0,42±0,014	0,73±0,024	0,98±0,032**	0,8±0,025	0,67±0,021
П+ГК 30 мг/кг	0,41±0,012	0,64±0,020**	0,62±0,019**	0,61±0,024**	0,54±0,022**

Приложение Е

Таблица Е.1 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации фосфатидилэтаноламина в дистальном конце седалищного нерва крысы, мкг Р_{ФЭА}/мг Р_{ФЛ} (M±m)

*– достоверность отличия по отношению к контролю, p<0,05; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, p<0,05

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	232,27±8,01	237,97±8,3	240,05±11,34	236,57±11,23	239,98±11,48
Повреждение	200,66±4,79*	174,46±6,11*	100,92±4,29*	98,9±5,06*	135,68±6,48*
П+ГК 2 мг/кг	207,36±8,07	189,39±7,27	101,87±4,83	103,27±5,1	136,43±7,23
П+ГК 17 мг/кг	207,98±7,2	189,73±5,18	107,89±4,52	108,92±5,17	138,07±7,12
П+ГК 30 мг/кг	220,91±8,53	215,02±7,25**	148,2±7,32**	121,78±6,28**	169,06±6,13**

Таблица Е.2 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации фосфатидилхолина в дистальном конце седалищного нерва крысы, мкг Р_{ФХ}/мг Р_{ФЛ} (M±m)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	130,28±6,11	130,28±6,01	132,69±6,23	130,46±6,32	135,43±6,37
Повреждение	119,26±5,16	64,8±2,24*	58,92±2,35*	45,38±2,07*	84,73±4,14*
П+ГК 2 мг/кг	121,03±5,05	66,05±2,5	62,08±2,7	49,15±2,16	88,26±4,11
П+ГК 17 мг/кг	121,76±5,79	67,09±2,17	62,85±2,27	53,51±2,58	93,27±4,36
П+ГК 30 мг/кг	123,24±5,68	86,29±3,54**	81,63±3,48**	82,14±3,83**	113,96±5,42**

Таблица Е.3 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации сфингомиелина в дистальном конце седалищного нерва крысы, мкг Р_{СМ}/мг Р_{ФЛ} (M±m)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	136,98±5,75	139,92±4,34	139,96±5,32	141,21±4,94	139,82±4,33
Повреждение	111,33±5,23*	80,9±3,07*	41,02±3,52*	23,34±3,77*	65,26±4,09*
П+ГК 2 мг/кг	115,7±4,74	82,64±4,97	44,49±3,56	27,26±3,98	71,67±4,65
П+ГК 17 мг/кг	117,3±5,4	83,64±4,68	47,32±3,42	30,49±3,16	73,52±4,65
П+ГК 30 мг/кг	118,15±5,79	109,6±3,78**	73,69±3,77**	49,01±3,66**	103,99±4,33**

Таблица Е.4 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации фосфатидилсерина в дистальном конце седалищного нерва крысы, мкг Р_{ФС}/мг Р_{ФЛ} (M±m)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	109,3±4,17	117,72±4,16	116,11±4,14	116,96±4,18	111,4±4,16
Повреждение	117±4,28	156,44±6,16*	172,19±5,89*	158,86±5,35*	139,58±3,58*
П+ГК 2 мг/кг	116,82±3,67	151,35±6,18	168,89±5,76	149,57±5,98	137,04±4,48
П+ГК 17 мг/кг	115,15±4,51	150,06±5,78	166,59±5,66	141,57±5,66	132,67±4,31
П+ГК 30 мг/кг	111,76±4,38	137,1±5,18**	145,35±4,81**	128,19±4,13**	121,81±3,87**

Таблица Е.5 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации фосфатидилинозитола в дистальном конце седалищного нерва крысы, мкг Р_{ФИ}/мг Р_{ФЛ} (M±m)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	47,31±1,47	48,23±1,51	46,38±1,72	48,2±1,31	44,95±1,29
Повреждение	66,56±2,46*	122,43±4,67*	126,44±4,21*	112,84±4,53*	78,76±2,8*
П+ГК 2 мг/кг	65,49±2,33	122,36±4,29	121,54±4,14	112,42±3,45	76,74±2,63
П+ГК 17 мг/кг	65,21±2,57	116,92±3,3	113,5±3,57	109,05±3,17	74,31±2,56
П+ГК 30 мг/кг	62,86±2,64	103,91±3,32**	98,7±2,79**	83,95±2,27**	62,35±2,82**

Приложение Ж

Таблица Ж.1 Влияние гиалуроната калия на ЖК-состав фракции ФЭА в дистальном конце нерва (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
С10:0	0	0,2	0	0,2	0	0,2	0,2	0,4	0,3	0,2	0,1	0,3	0	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3
С11:0	0	0,0	0,1	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,2	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
С12:0	0,2	0,6	0,4	0,5	0,6	0,4	0,3	0,8	0,1	0,7	0,5	0,8	0,1	0,8	0,6	0,6	0,7	0,7	0,1	0,6	0,5	0,4	0,5	0,7
С13:0	0	0,3	0	0,2	0,5	0,2	0	0,4	0,4	0,5	0,1	0,5	0,8	0,5	0,3	0,4	0	0,5	0	0,4	0,1	0,3	0,1	0,3
С14:0	1,3	2,6	0,9	2,4	1,2	2,2	1,9	2,9	0,9	2,8	1,6	2,8	0,7	2,8	2,1	2,6	0,9	1,4	2	1,6	1	1,4	2,2	2,7
С14:1	0,4	0,0	0,5	0,0	0,7	0,0	0,2	0,0	0,8	0,0	0,3	0,0	0,7	0,0	0,1	0,0	0,6	0,0	0,3	0,1	0,7	0,3	0,2	0,2
С15:0	0,6	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,9	0,8	0,5	0,2	0,8	0,3	0,4	0,3	0,9	0,4	0,5	0,2	1,3	0,6	0,3	0,5	0,4	0,6
С15:1	0	0,5	0	0,4	0	0,4	0	0,3	1,1	0,7	0,5	0,6	0,9	0,6	0	0,5	0	0,9	0,2	0,7	0,4	0,6	0	0,3
С16:0	23,3	10,2	19,8	10,8	22,1	11,4	25,4	15,2	20,4	10,0	26,4	10,2	21,5	10,2	25,8	10,5	19,6	7,9	24,6	8,9	20,4	9,6	24,7	16,4
С16:1	1,6	0,3	2,2	0,5	1,9	0,8	2,4	0,5	1,2	0,3	1,8	0,4	1,1	0,4	0,9	0,5	1,9	1,9	1,2	1,5	1,8	1,6	0,7	0,7
С18:0	16,9	9,5	19	10,7	13,6	11,6	15,6	7,5	19,6	9,2	15,2	9,0	19,3	9,0	15,1	9,7	19,7	5,2	14,8	5,7	19,7	6,7	14,6	7,9
С18:1n9t	5,6	0,0	6,2	0,0	6,5	0,0	4,7	0,0	5,4	0,0	6	0,0	5,4	0,0	5,9	0,0	5,5	2,8	6,1	3,3	5,2	3,9	6,4	0,0
С18:1n9c	40,3	57,5	36,4	56,8	42,6	56,0	39,5	54,1	42	57,8	38,2	57,4	42,7	57,4	37,2	57,2	44,1	55,7	38,1	55,1	43,4	54,3	38	54,6
С18:2n6c	2,8	0,5	4,1	0,9	2,4	1,1	3,1	0,4	2,5	0,4	3	0,6	1,9	0,6	3,5	0,8	2,4	4,4	3,1	4,0	2	3,8	3,2	0,8
С18:3n3	0,1	0,0	0,4	0,1	0,3	0,2	0,7	0,0	0	0,0	0,4	0,3	0,5	0,3	0,3	0,1	0,1	0,0	0	0,0	0,4	0,0	0,1	0,0
С20:0	0,4	2,7	0,9	2,1	0,5	1,7	0,2	2,9	0,6	2,9	0,3	2,7	0,2	2,7	0,3	2,6	0,4	0,9	0,6	0,7	0,2	0,7	0,5	2,2
С20:2	0	0,4	0	0,3	0	0,3	0	0,4	0	0,3	0	0,3	0	0,3	0	0,3	0	0,3	0	0,2	0	0,2	0	0,2
С20:3n3	0,1	0,1	0,6	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
С20:4n6	6,4	12,6	8,2	12,2	6,6	11,7	4,8	10,6	4,2	12,1	4,7	12,0	3,5	12,0	6,7	11,8	3,4	16,1	7,2	15,8	3,7	15,0	8,1	12,0
С22:2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
С24:0	0	1,7	0	1,4	0	1,2	0	2,7	0	1,8	0	1,6	0	1,6	0	1,6	0	0,8	0	0,5	0	0,5	0	0,0
Σнас	42,7	28,1	41,4	28,7	38,9	29,4	44,5	33,6	42,8	28,3	45,0	28,2	43,2	28,2	45,3	28,6	41,9	17,8	43,7	19,2	42,3	20,2	43,2	31,1
Σненас	57,3	71,9	58,6	71,3	61,1	70,6	55,5	66,4	57,2	71,7	55,0	71,8	56,8	71,8	54,7	71,4	58,1	82,2	56,3	80,8	57,7	79,8	56,8	68,9
Кнас	0,8	0,4	0,7	0,4	0,6	0,4	0,8	0,5	0,8	0,4	0,8	0,4	0,8	0,4	0,8	0,4	0,7	0,2	0,8	0,2	0,7	0,3	0,8	0,5

Продолжение таблицы Ж.1

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	0,1	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,4
С11:0	0	0,0	0,1	0,0	0	0,0	0,3	0,0	0,2	0,0	0	0,2	0,4	0,2	0,1	0,2
С12:0	0,4	0,6	0	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5	0,3	0,6	0,6	0,4	0,1	0,4	0,6	0,8
С13:0	0,2	0,3	0,4	0,3	0,5	0,3	0,1	0,2	0,9	0,3	0,1	0,5	0,3	0,5	0,1	0,5
С14:0	0,9	0,9	1,6	0,9	1,1	1,0	1,9	1,0	3,1	2,5	4,5	2,1	4,1	2,4	1,4	2,8
С14:1	0,4	0,1	0,3	0,1	0,7	0,2	0,6	0,1	0,3	0,0	0	0,3	0,4	0,5	0,4	0,3
С15:0	0,9	0,5	0,3	0,5	0,5	0,5	0,1	0,6	0,6	0,4	1,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4
С15:1	0	0,4	0,1	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,8	0,7	0,6	0,5	0,5	0,5	0,1	0,5
С16:0	20,2	1,7	27,2	2,1	21,8	2,6	25,9	1,8	21,2	11,5	26,5	10,8	24,5	10,8	26,3	14,8
С16:1	1,9	0,8	1	0,8	3,5	0,9	1,2	0,9	0,4	0,5	0,3	0,9	1	0,8	1,2	0,9
С18:0	18,3	2,2	14,8	2,2	17,4	2,2	18,2	2,3	19,5	9,2	23,3	12,0	17,2	12,0	18,9	12,0
С18:1n9t	5,1	3,7	5,9	3,7	5	3,8	5,2	3,9	1	0,0	0,5	0,7	1,9	0,7	5,1	0,7
С18:1n9c	42,9	73,7	37,9	73,5	39,2	73,5	42,5	74,1	40	57,1	34,5	54,4	39,9	54,4	37,6	49,4
С18:2n6c	2,6	1,1	3,5	1,3	4,4	1,5	1,7	1,2	0	0,7	0,3	1,2	0,2	1,2	2,3	1,2
С18:3n3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,0	0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0
С20:0	0,4	1,3	0,1	1,3	0,1	1,1	0	1,2	0	2,4	0,1	1,8	0,4	1,8	0,5	1,8
С20:2	0	0,4	0	0,4	0	0,4	0	0,3	0,1	0,3	0,4	0,2	0,1	0,2	0	0,2
С20:3n3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,1	0,1	0,1
С20:4n6	5,5	9,9	6,6	9,8	4,8	9,4	1,4	9,8	11,5	12,2	6,5	11,3	7,9	10,9	4,5	11,1
С22:2	0	0,3	0	0,3	0	0,3	0	0,1	0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0	0,0
С24:0	0	1,6	0	1,4	0	1,1	0	1,4	0	1,3	0,1	1,9	0,2	1,9	0	1,9
Σнас	41,4	9,2	44,5	9,3	41,8	9,3	47,0	9,1	45,9	28,4	56,8	30,4	47,8	30,7	48,6	35,6
Σненас	58,6	90,8	55,5	90,7	58,2	90,7	53,0	90,9	54,1	71,6	43,2	69,6	52,2	69,3	51,4	64,4
Кнас	0,7	0,1	0,8	0,1	0,7	0,1	0,9	0,1	0,9	0,4	1,3	0,4	0,9	0,4	1,0	0,6

Таблица Ж.2 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции ФХ в дистальном конце нерва (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
C10:0	0	0,1	0	0,0	0,1	0,2	0,4	0,3	0	0,4	0,1	0,4	0,2	0,3	0	0,3	0,5	0,3	0,2	0,3	0	0,4	0,3	0,3
C11:0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,3	0,1	0,5	0,1	0,2	0,1	0	0,1	0,2	0,1	0	0,1	0,9	0	0	0,1	0,3	0,2	0,5	0,2
C12:0	0,1	0,2	0,3	0,1	0	0,5	0	0,4	0,3	0,3	0,4	0,1	0	0,2	0,4	0,1	0,2	0,1	0,5	0,0	0,1	0,1	0	0,3
C13:0	0	0,8	0,1	0,5	0,4	0,2	0,2	0,5	0	0,3	0,1	0,6	0,1	0,5	0,3	0,5	0	0,5	0,2	0,7	0,2	0,4	0	0,6
C14:0	1,6	1,2	1,1	1,6	1,3	2,1	2,8	2,0	2,1	1,5	1,2	1,1	1,6	1,4	1,6	1,4	2,4	0,6	1,2	0,6	2,3	1,1	1,2	0,8
C14:1	0,1	0,9	0,4	1,0	0,3	0,4	0,3	1,6	0,5	0,6	0,3	0,4	0,5	1,1	0	0,4	0,5	0,8	0,6	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8
C15:0	1,1	1,5	1,9	1,7	0,8	1,6	0,6	1,8	1	3,7	2,3	3,4	1,2	2,2	0,3	3,6	3,2	3,7	2,4	3,7	0,5	4,2	1,6	4,7
C15:1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,4	1,3	0,5	1,1	0	1,2	0,3	0,9	0,4	2,1	0,5	2,3	0,9	1,8	0,7	2,5
C16:0	48,6	37,6	45,4	40,5	50,9	41,2	47,2	45,1	49,7	31,7	49,5	33,4	46,1	34,4	51,8	39,5	46,5	38,1	49,8	39,6	51,3	39,6	46	40,0
C16:1	0,5	0,9	0,7	1,0	0,3	1,1	0,6	1,6	0,7	0,6	0,2	0,4	0,6	0,5	0,7	0,3	0,9	0,8	1,2	0,6	0,7	0,5	0,8	0,8
C18:0	16,9	17,7	19,6	18,4	15,5	17,5	18,7	19,7	14,6	17,1	14,5	15,0	18,7	16,9	16	15,9	15,5	8,8	15,4	7,3	14,7	7,6	18,6	13,4
C18:1n9t	2,3	1,7	1,8	1,3	3,2	1,6	2,1	1,9	3,6	0,1	1,6	0,4	3,2	0,5	1,6	0,8	2,6	0,3	3,1	0,9	2	0,7	1,7	0,6
C18:1n9c	20,4	24,8	22,2	22,9	19,7	22,1	20,9	15,8	17,7	25,3	22	31,0	18,3	23,5	21,3	25,1	19,6	28,2	19	29,3	19,5	27,0	20	23,3
C18:2n6c	3,2	1,4	2,3	1,5	2,8	1,4	3	2,1	3,8	1,1	2,7	1,2	4,4	1,4	2,5	2,1	3,7	1,1	2,5	1,1	4	0,9	4,1	0,7
C18:3n3	0,7	0,5	0,5	0,6	0,9	0,4	0,2	0,9	0,5	0,6	1	0,4	0,6	0,3	0	0,4	0,9	0,9	0,9	0,8	0,4	0,7	0,2	0,2
C20:0	0,5	0,7	0,8	0,6	0,1	0,5	0,2	0,2	0,5	0,3	0,9	0,2	0,5	0,4	0,9	0,2	0,5	0,5	0,8	0,7	0,9	0,4	0,3	0,3
C20:2	0	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,1	0,2	0,1	0	0,2	0,5	0,1	0	0,0	0,2	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0	0,1
C20:3n3	0,1	0,9	0,2	0,4	0	0,2	0,1	0,3	0,3	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0	0,1	0	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3
C20:4n6	3,2	4,2	2,1	4,9	2,8	5,9	1,4	2,6	3,4	14,7	1,9	10,4	2,7	14,8	1,6	8,2	1	13,0	0,7	11,1	0,4	13,0	2,6	10,1
C22:2	0,5	4,5	2,1	3,0	0,5	2,9	0,5	2,9	0,5	0,2	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5	0	0,3	0,1	0,3	0,2
C24:0	0	0,2	0,3	0	0	0,1	0	0	0	0,0	0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,1	0	0,0
Σнас	68,9	60,0	69,3	63,3	69,4	63,8	70,6	70,0	68,4	55,4	69,0	54,3	68,6	56,4	71,3	61,6	69,7	52,5	70,5	70,3	70,8	54,1	68,5	60,6
Σпенас	31,1	40,0	30,7	37,7	30,6	36,2	29,4	30,0	31,6	44,6	31,0	45,7	31,4	44,6	28,7	38,4	30,3	47,5	29,5	29,7	29,2	45,9	31,5	39,4
Кнас	2,2	1,5	2,3	1,7	2,3	1,8	2,4	2,3	2,2	1,2	2,2	1,2	2,2	1,3	2,5	1,6	2,3	1,1	2,4	1,1	2,4	1,2	2,2	1,5

Продолжение таблицы Ж.2

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
C10:0	0,1	0,6	0	1,0	0,2	1,3	0,2	0,8	0,3	0,7	0,2	1,1	0,3	0,4	0,2	0,5
C11:0	0,7	0,1	0,3	0,2	0,5	0,0	0	0,4	0,2	0,3	0	0	0,3	0,1	0,5	0,1
C12:0	0	0,5	0,4	1,0	0	0,9	0,6	0,7	0,6	0,8	0,6	0,5	0,5	0,4	0	0,4
C13:0	0,9	1,1	0	1,3	0,6	1,2	0,6	0,9	0	1,3	0,5	1,6	0,6	1,2	0,6	0,4
C14:0	2,4	0,4	1,1	0,2	3,9	0,5	2,9	1,1	3,8	0,5	1,2	1,4	0,7	1,4	2,4	2,1
C14:1	0,7	1,4	0,5	1,6	0	1,6	0,3	0,9	0,3	1,4	0,8	1,1	0,4	0,9	0,6	0,8
C15:0	3	0,1	1,9	1,0	2	1,2	0,4	1,8	3,2	0,3	3,6	0,2	3,6	0,3	0,9	0,9
C15:1	0,3	6,4	0,5	10,5	0	10,3	0,2	4,0	0,7	9,5	0	9,4	1	8,5	0,3	1,7
C16:0	45,8	38,8	52	67,3	44	63,3	47,5	51,6	44,9	63,8	46,2	61,6	46,4	60,2	46,9	49,2
C16:1	0,9	1,5	0,4	2,7	0,4	1,4	0,8	1,8	0,6	2,3	0,9	2,6	0,9	1,3	0,8	0,9
C18:0	18,5	4,4	14,8	7,7	15,5	10,6	15,6	20,8	18,2	8,0	18,7	8,5	18,7	10,6	19,6	19,9
C18:1n9t	2,2	0,2	1,6	0	3,4	1,1	3,1	2,9	1,8	0,2	1,5	1,2	2	1,2	1,9	1,9
C18:1n9c	18	27,4	19,5	0,1	22	0,3	23,1	6,5	19	3,9	19,2	5,5	17,8	6,8	17,3	15,7
C18:2n6c	2,5	2,1	2,7	3,2	5,1	3,8	1,3	4,2	3	2,5	2,1	3,2	2,5	2,7	4,9	2,6
C18:3n3	1,3	0,4	1,2	0,6	0,2	0,5	0,9	0,3	0,5	0,7	1,1	0,8	1,7	0,6	0,5	0,9
C20:0	0,2	0,3	0,3	0,4	0	0,3	0,2	0,1	0,7	1,3	0,7	0,9	0,3	0,7	0,9	0,4
C20:2	0,1	0,1	0	0,2	0	0,0	0	0,1	0	0,3	0	0,1	0	0,1	0	0,0
C20:3n3	0,4	0,5	0,1	0,6	0,1	0,5	0	0,4	0	0,0	0,1	0	0	0,1	0,1	0,5
C20:4n6	1,5	13,7	2,2	0,2	1,6	0,7	1,8	0,7	1,7	0,6	2,1	0,4	1,8	2,1	1,1	0,1
C22:2	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5	1,2	0,5	0,1	0,5	0,2	0,5	0,5
C24:0	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0	0,2	0	0	0	0,1	0	0,3
Σнас	71,6	46,2	70,8	80,0	66,7	79,5	68,0	78,1	71,9	77,3	71,7	75,8	71,4	75,4	72,0	74,3
Σненас	28,4	53,8	29,2	20,0	33,3	20,5	32,0	21,9	28,1	22,7	28,3	24,2	28,6	24,6	28,0	25,7
Кнас	2,5	0,9	2,4	4,0	2,0	3,9	2,1	3,6	2,6	3,4	2,5	3,1	2,5	3,1	2,6	2,9

Таблица Ж.3 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции СМ в дистальном конце нерва (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
С10:0	0	0,4	0	0,8	0,2	0,4	0,4	0,8	0,1	0,8	0	1	0,4	0,9	0,3	0,5	0	1,1	0,2	1	0,1	0,9	0	0,9
С11:0	0,2	0,8	0	0,9	0	0,9	0,1	0,7	0	0,9	0,5	0,7	0,1	0,7	0	0,2	0	0,9	0,1	0,8	0,2	0,7	0,3	0,6
С12:0	0,3	0	0,1	0	0,4	0	0	0,3	0,3	0	1	0,1	0,3	0,4	0,6	0,4	0,1	0,5	0	0,4	0,1	0,4	0,5	0,3
С13:0	0	0,5	0	0,7	0,1	0,7	0,2	0,4	0,8	0,7	0,8	0,7	0	0,6	0,1	0,4	0	0,8	0,9	0,5	0	0,5	0,1	0,4
С14:0	1,2	2,1	0,6	2,7	0,2	0,8	0,6	1,7	0,7	1,9	1,3	2,5	1,9	1,7	0,3	2,1	0,7	1,6	0,3	0,7	1,4	0,7	0,2	0,9
С14:1	0,4	0,1	0,5	0,4	1,8	0,7	0,2	0,7	1,4	1,2	0,2	0,9	0,3	0,8	0,1	1,3	0,9	2,2	0,5	1,2	0,1	1,2	0,2	1,7
С15:0	1	3,6	0,1	3,7	1	3,2	1,2	4,1	1,8	1,4	1,2	3,7	0,6	3,4	1,7	1,5	0,2	3,1	0,9	1,1	1,4	1	2,7	1,6
С15:1	0,4	4,9	0	4,9	1,4	4,8	0,5	3,3	0,2	4,8	0	4,8	0,4	4,7	0,3	3,1	0	5,6	0	5,2	0,5	5,1	0,2	2,0
С16:0	12,8	11,1	9,7	9,6	7,6	9,8	11,5	10,7	7	5,4	8	5	8,1	5,9	7,6	7,7	10,1	2,1	7,9	2,7	10,9	3,1	8,2	4,5
С16:1	1,6	0,8	1,8	1,2	3,1	0,9	1,1	2,1	2,4	0,7	3,2	1,3	2	1,3	2,3	2,2	1,4	0,3	2,4	0,4	1,1	0,9	1,4	1,2
С18:0	1,1	0,9	1,6	0,6	0,9	1,7	2,5	3,0	1,2	0,8	2,3	1,2	0,8	0,9	1,2	1,6	1,8	0,3	2	1,1	3	1	3,3	0,8
С18:1n9t	0	1,4	0	1,5	1,6	1,3	1,1	1,2	0,7	3,7	0,9	3,5	1,7	3,8	0,3	5,1	0	4,8	0,2	4,2	0,3	7,2	0,2	0,7
С18:1n9c	26,2	38,9	28,8	39,7	26,5	39,2	27,5	21,6	30,9	42,3	26,5	41,9	24,9	40,7	30,9	27,1	29,3	42,3	26,9	43	26,4	42,9	30,1	50,2
С18:2n6c	0,8	3,9	0,6	3,8	1,1	4,6	2,4	6,7	0,3	6,3	1	5,7	1,2	6,3	0,6	10,7	0,4	9,1	0,9	9,6	1,4	8,5	0,1	2,2
С18:3n3	24,8	15,5	25,9	16,8	24,4	18	23	26,6	24,2	14,4	23,2	14,2	23,5	13,7	22,6	18,3	26,7	15,9	27,5	16,7	22,8	17,4	24	16,6
С20:0	8,6	5,3	9,1	3,7	7,4	4,7	10,6	7,2	8,2	2,7	8,7	2,5	6,4	2,8	10,2	2,9	9,9	1,3	10	1,6	9,8	2,6	7,3	4,1
С20:2	0	0,9	0	1,4	0,8	1,3	0	1,3	0,4	0,9	0	1	0,5	1,1	0,2	0,6	0	0,8	0	0,9	0,1	0,8	0	0,4
С20:3n3	0,8	0,2	0,8	0,1	0,2	0,2	0,4	1,0	0,3	0,2	1,3	0,4	0,3	1,2	0,8	1,5	0,6	0,1	0,4	0,1	0,5	0,1	1,1	0,2
С20:4n6	1,4	4,2	1,4	3,9	2,3	3,1	0,7	2,1	1,4	5,9	1,4	5,1	3,5	5,3	1,1	6,3	1,1	6,3	1,4	6,1	0,9	4,1	2,1	1,5
С22:2	0	0,3	0	0,4	0,5	0,2	0	0,3	0	0,4	0,2	0,6	0	0,4	0	0,6	0	0,5	0	0,6	0	0,5	0	0,2
С24:0	18,4	4,2	19	3,2	18,5	3,5	16,0	4,5	17,7	4,6	18,3	3,2	23,1	3,4	18,8	6,0	16,8	0,4	17,5	2,1	19	0,4	18,0	8,7
Σнас	43,6	28,9	40,2	25,9	36,3	25,7	43,1	33,3	37,8	19,2	42,1	20,6	41,7	20,7	40,8	23,3	39,6	12,1	39,8	12,0	45,9	11,3	40,6	22,9
Σпенас	56,4	71,1	59,8	74,1	63,7	74,3	56,9	66,7	62,2	80,8	57,9	79,4	58,3	79,3	59,2	76,7	60,4	87,9	60,2	88,0	54,1	88,7	59,4	77,1
Кнас	0,8	0,4	0,7	0,3	0,6	0,3	0,8	0,5	0,6	0,2	0,7	0,3	0,7	0,3	0,7	0,3	0,7	0,1	0,7	0,1	0,8	0,1	0,7	0,3

Продолжение таблицы Ж.3

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	0,2	0,9	0,1	0,8	0,2	0,8	0,3	0,7	0,3	0,8	0	0,7	0,1	0,6	0,3	0,4
С11:0	0,2	0,8	0	0,9	0,1	1	0	0,8	0,1	0,9	0,2	0,6	0	0,5	0,1	0,6
С12:0	0	0	0,3	0,1	0,1	0	0	0,2	0	0	0,1	0,1	0,9	0,8	0,1	0,3
С13:0	0,3	0,7	0,5	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,5	0,8	0	0,8	0,3	0,6	0,7	0,1
С14:0	1	3,8	2,4	2,2	0,1	1,9	0,1	1,1	0,1	2,1	0,8	1,8	0,1	1,5	0,1	1,2
С14:1	0,2	2,3	0,3	2	1,8	1,5	0,9	1,5	0,8	2,6	0,2	1,9	0,3	1,6	0,4	0,9
С15:0	1,7	3,6	0,6	3,9	0,7	3,1	0,3	1,9	0,7	3,1	0	3,2	0,6	2,7	0	1,8
С15:1	0,3	4,1	0	4,1	0,1	3,6	1,7	1,2	0,2	3,5	0,6	3,7	1,5	3,3	0,6	1,8
С16:0	7,5	6,1	7,3	6,3	12,1	7,1	7,8	8,9	7,6	8,7	7	9,2	11,6	8,9	11,1	9,2
С16:1	4,4	0,3	1,2	0,5	1,1	0,7	1,5	0,8	1,8	0,5	1,3	0,4	1,7	0,5	1,2	1
С18:0	1,1	0,4	1,7	1	2,8	0,6	0,7	1,4	2,8	0,4	3,4	0,3	1,1	0,6	1	1,1
С18:1n9t	0,2	5,9	0,2	5,8	0,2	6,7	0,4	4,3	0,3	2,1	0,3	2,4	0,3	1,1	0,6	0,7
С18:1n9c	27,1	40,2	31,3	38,7	25,3	38,4	30,5	35,7	31,4	36,8	32,5	38,9	25,7	39,5	30,6	34,1
С18:2n6c	1,6	5,7	2,3	6,3	0,7	6,1	1,4	1,6	0,7	3,6	1,4	4,1	1,1	3,9	1,3	2,8
С18:3n3	23,9	14,8	24	16,1	23,8	16,9	23,5	17,6	23,4	19,7	23	18,8	24,4	20,1	23,3	19,7
С20:0	7,6	2,5	6,6	2,7	9,9	3,9	10,6	4,6	5,9	4,1	8	6,4	11,4	5,6	7,4	7,4
С20:2	0,3	0,9	0	1,1	0	1,3	0,2	0,6	0,2	0,7	0,2	0,7	0,1	0,7	0	0,4
С20:3n3	0,5	0,1	0,6	0,2	1,7	0,3	0,1	0,3	0,9	0,1	0,4	0,4	0,6	0,5	0,1	0,5
С20:4n6	1,9	6	1,6	5,7	1,4	4,6	0,4	2,2	1,4	5,1	1,6	3,3	1,4	2,7	1,1	2,3
С22:2	0	0,9	0,7	0,8	0	0,8	0	0,8	0	0,6	0,6	0,7	0	0,5	0	0,5
С24:0	20	0	18,3	0,2	17,3	0	19	13,2	20,9	3,8	18,4	1,6	16,8	3,8	20	13,2
Σнас	39,6	18,8	37,8	18,7	43,9	19,1	39,4	33,4	38,9	24,7	37,9	24,7	42,9	25,6	40,8	35,3
Σненас	60,4	81,2	62,2	81,3	56,1	80,9	60,6	66,6	61,1	75,3	62,1	75,3	57,1	74,4	59,2	64,7
Кнас	0,7	0,2	0,8	0,2	0,8	0,2	0,7	0,5	0,6	0,3	0,6	0,3	0,8	0,3	0,7	0,5

Таблица Ж.4 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции ФС в дистальном конце нерва (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
C10:0	0,8	0,1	1,2	0,8	0,7	0,9	0,5	0,8	1,4	0,7	0,7	1,1	0,8	1,3	1	0,4	0,8	1,3	1,4	1,7	0,7	1,8	0,4	0,7
C11:0	0,9	3,1	0,7	2,5	0,6	2,3	1,3	1,9	0,9	2	2,3	1,4	1,5	1,2	0,8	1,4	0,9	1,8	0,8	2	1,1	1,5	0,7	0,7
C12:0	0	0,6	0,8	0,8	0,4	0,7	0,5	0,5	0,6	1	0,3	1	0,8	1	0	0,6	0	1,1	0	0,8	0,5	0,8	1,5	0,6
C13:0	0	1,4	0,4	1,7	0	1,4	0	1,3	0	2,2	0	2,3	0,2	2,1	0,6	1,5	0,1	2,5	0	2,1	0	2,2	3,3	1,5
C14:0	0,5	5,6	0,2	5,5	1,7	5,6	0,3	3,5	0,3	5,8	1,1	5,9	0	6,2	0,3	2,9	0,3	5,8	1,9	5,7	0,8	5,2	3,3	2,5
C14:1	0	0	0	0,4	0,6	0,4	0,2	0,2	0,9	0,3	0	0,3	0	0,3	0	0,4	0	0,8	0,2	0,4	0,3	0,6	0,4	0,4
C15:0	0,3	1,2	1,7	0	0	0,1	1,6	0,8	1,7	0	1,1	0,4	2	0,3	1,7	0,8	0,6	0,8	0,2	0,8	1,5	0,6	0,2	1,0
C15:1	0,6	2,7	0,2	2,4	2,3	2,9	0,3	2,1	2,8	3,1	0,3	2,2	1,6	2,1	0,2	1,2	0,1	2,9	2,4	2,6	0,3	2,2	6,5	1,9
C16:0	2,4	14,5	6,2	20,3	5,5	19,6	1	22,3	1,3	20,3	4	19,8	1,6	20,3	4	21,3	4	28,8	1,5	26,3	1,7	27,1	0,9	24,1
C16:1	0,4	2,8	0,3	2,4	0,3	3,1	1,3	0,9	1,3	3,4	0,9	3,2	0,4	2,6	0,6	1,7	0,7	1,4	0,2	1,2	0,8	1,8	0,4	1,0
C18:0	18,7	29,3	19,9	21,4	14,3	21,1	21,3	20,4	17,2	27,2	18,4	28,6	17	26,7	16,4	28,1	19,8	23,7	18,5	24,4	19,9	22,9	2,6	23,0
C18:1n9t	15,3	7,3	12,5	8,4	16,4	8,7	14	9,7	13,4	5,7	13,7	7,3	16,8	5,5	13,4	4,6	15,9	5,9	15,2	5,2	15	4,6	12,4	10,0
C18:1n9c	49,9	27,4	46,8	26,9	48,7	29,1	51,6	26,4	46,6	25,1	48,8	23,3	48,5	26,4	51,4	27,5	48,4	20,1	47	24,1	51,5	25	12,3	26,9
C18:2n6c	0	0,3	0,2	0,7	0	0,4	0	0,4	1,3	0,2	0	0,3	0	0,5	0	0,2	0	0,3	0	0	0	0,3	31,2	0,2
C18:3n3	6,2	1,2	5	2,6	5,4	0,7	4	5,6	5,8	0	5,3	0,1	5,5	0,4	5,6	3,4	6,2	0	6,5	0,4	4,9	1,3	0,4	3,3
C20:0	1,8	0,5	2,5	0,8	1,8	1,5	1,2	2,3	3,3	0,7	0,9	0,6	1,6	0,6	1,8	2,1	1,3	0	2	0,5	0,3	0,3	0,1	0,5
C20:2	0	0,3	0	0,5	0	0,5	0	0,1	0	0,4	0	0,4	0	1	0	0,5	0	1,2	0	0,4	0	0,4	0	0,4
C20:3n3	1,2	0,1	0,6	0	0,6	0,2	0,3	0,7	0,8	0,2	1,2	0,9	1,2	0,6	1,2	0,9	0,5	1,4	1,9	1,3	0,5	0,9	15	1,1
C20:4n6	1	1,1	0,8	1,1	0,7	0,2	0,6	0	0,4	0,2	1	0,1	0,5	0,2	1	0,2	0,4	0,1	0,3	0	0,2	0,2	2	0,1
C22:2	0	0	0	0,3	0	0,1	0	0	0	0,4	0	0,3	0	0,3	0	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,2	0	0,3
C24:0	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0	0,1	0	1,1	0	0,5	0	0,4	0	0,2	0	0	0	0	0	0,1	6,4	0
Σнас	25,4	56,8	33,6	54,3	25,0	53,7	27,7	53,9	26,7	61,0	28,8	61,6	25,5	60,1	26,6	59,3	27,8	65,8	26,3	64,3	26,5	62,5	19,4	54,5
Σпенас	74,6	43,2	66,4	45,7	75,0	46,3	72,3	46,1	73,3	39,0	71,2	38,4	74,5	39,9	73,4	40,7	72,2	34,2	73,7	35,7	73,5	37,5	80,6	45,5
Кнас	0,3	1,3	0,5	1,2	0,3	1,2	0,4	1,2	0,4	1,6	0,4	1,6	0,3	1,5	0,4	1,5	0,4	1,9	0,4	1,8	0,4	1,7	0,2	1,2

Продолжение таблицы Ж.4

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	1	1,2	0,6	1,7	1,7	1,2	1	0,6	1,2	1,2	0,8	0,7	1,2	1,3	0,9	0,7
С11:0	0,8	2,2	1,6	1,6	0,8	1,6	0,5	1	0,9	1,7	1,2	2	0,6	1,1	0,5	1,4
С12:0	0,3	0,9	0,3	0,8	0,6	0,5	0,3	0,5	0	0,9	0,3	1	0,1	1	0,2	0,7
С13:0	0	2,5	0	2,3	0,3	2	0,1	1,7	0,2	3,4	0	3,3	0,3	3,1	0	1,5
С14:0	1,6	5	0,3	4,5	0,5	4,5	2,2	2,1	0,2	5,3	0,8	4,9	1,5	4,3	1,5	0,5
С14:1	0,4	0,7	0	0,7	0	0,4	0	0,6	0,3	0,9	0,2	1,2	0	0,9	0	0,3
С15:0	0,6	0,5	1,7	0,4	0,1	0,5	0,7	0,6	0	0,5	0,9	0,4	1,8	0,3	1,9	0,6
С15:1	0,1	3,4	1,1	3,4	0,9	2,8	0,4	1,3	1,2	2,2	0,1	2	0,2	1,3	0,3	0,6
С16:0	3,7	22,3	0,7	22,6	2,1	23,1	2,9	25,6	3,7	20,5	3,6	20	2,1	22,6	2,2	18,7
С16:1	0,6	1	0,6	1,5	0,8	0,8	0,3	0,5	0,6	1,5	0,5	1,5	0,4	1,2	0,6	0,7
С18:0	16,9	28,9	16,8	21,8	21	20,6	18,1	19,3	17,1	20,1	16,1	21,4	20,6	18,6	18,7	18,8
С18:1n9t	13,9	6,4	12,2	8,3	14,2	6,8	13,4	6,9	15	5,5	14	6,4	12,5	8,8	15,3	11,6
С18:1n9c	52	20,4	51,2	24,1	47,2	26,4	52,4	31,2	51,4	31,3	52,7	28,7	50,6	28,7	47,7	34,1
С18:2n6c	0	0,5	0,5	0,5	0,2	0,2	0	0,3	0	0,4	0	0,6	0,2	0,9	0	0,5
С18:3n3	5,9	1,4	6,9	2,2	4,3	2,9	5,1	5,1	6	2,1	5,6	2,6	4,8	3,1	7,2	6,3
С20:0	1	0,7	2,3	1	3,5	1,1	1,4	1	0,9	0,8	1,8	0,3	1,3	0,3	1,5	1,9
С20:2	0	0,4	0	0,3	0,3	0,3	0	0,3	0,1	0,4	0	0,6	0	0,4	0,3	0,3
С20:3n3	0,7	1	2,2	1,6	1	1,3	0,9	0,8	0,8	1,2	0,4	1,2	1,1	0,7	0,7	0,5
С20:4n6	0,5	0,3	1	0,1	0,5	2,9	0,3	0,2	0,4	0	1	0,7	0,7	0,3	0,5	0,2
С22:2	0	0,1	0	0,2	0	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,3	0	0,2	0	0,1
С24:0	0	0,2	0	0,4	0	0	0	0,3	0	0	0	0,2	0	0,9	0	0
Σнас	25,9	64,4	24,3	57,1	30,6	55,1	27,2	52,7	24,2	54,4	25,5	54,2	29,5	53,5	27,4	44,8
Σненас	74,1	35,6	75,7	42,9	69,4	44,9	72,8	47,3	75,8	45,6	74,5	45,8	70,5	46,5	72,6	55,2
Кнас	0,3	1,8	0,3	1,3	0,4	1,2	0,4	1,1	0,3	1,2	0,3	1,2	0,4	1,2	0,4	0,8

Таблица Ж.5 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции ФИ в дистальном конце нерва (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
C10:0	0,3	0	0,2	0,2	0,6	0,7	0,1	0,2	1,2	0,1	0,3	0,3	1	0,6	1,2	0,0	0,3	1,8	0,3	1	0,2	0,9	0,4	0,8
C11:0	0,2	0	1,9	0,3	0,3	0,1	1,4	0	1	0,2	1,1	0,1	0	0,1	0,8	0,6	0,9	0,3	0,6	0,3	0,8	0,2	0,7	0,3
C12:0	0,4	0,2	0,3	0,1	1,4	0,8	1	0,3	0,1	0,1	1,7	0,7	0,2	0,5	0,1	0,6	0,2	0	0	0,4	0	0,1	1,5	0,7
C13:0	0,9	2,4	1,7	2,1	1,1	1,5	0,7	1,5	2,6	3,6	0,6	3	3	4,1	3,6	3,0	0,2	4,2	2,6	3,2	0,2	3,9	3,3	2,6
C14:0	5	1,5	6,9	1,4	6,4	4,3	6,3	3,9	2,9	0,2	7,6	0,1	3,2	0,3	7,4	1,0	4,8	0,8	4,7	0,6	4,1	1,2	3,3	2,5
C14:1	0	3,8	0,7	3,7	0,4	1,4	0,5	1	0,9	4,3	0,7	4,2	0,3	4,1	0	2,7	0	6,4	0	5,3	1,4	5,2	0,4	4,5
C15:0	0,8	2,7	0,5	2,9	0,8	3,1	0,4	1,8	0,4	2,6	0,4	2	2,6	3	0,2	2,4	2,5	2,4	3,2	2	2,4	2,6	0,2	2,3
C15:1	8,7	1,3	7,5	1,6	9,9	9,4	6,5	3,8	10,4	1,7	8,3	0,9	6,9	0,9	7,3	6,6	9,6	0	7,6	0,9	7,6	2,1	6,5	4,1
C16:0	3,3	28,9	4,7	27,7	5,3	2,2	5,8	27,8	1,4	28,4	5,6	28,6	4,2	25,4	1,5	27,1	4,7	29,6	5,6	29,8	1,2	28,5	0,9	24,4
C16:1	0	0,8	0,2	1	0,2	0,2	0,7	0,8	0,7	0,8	0	0,8	0,9	0,8	0	0,6	0	1,1	0	0,9	0,9	0,9	0,4	0,8
C18:0	3	18,3	2,6	18,7	3,3	3,9	2,3	17,3	4,2	24,7	0,9	23,6	4,8	24,6	2,2	8,5	1,9	25,5	1,2	26,6	2,1	26,1	2,6	22,8
C18:1n9t	10,3	0,7	8,2	1	9,1	8,7	8,9	7,5	9,4	1	8,3	0,4	8,5	1,5	13	1,4	5,4	0,4	6,4	0	6,6	0,7	12,4	2,8
C18:1n9c	14,2	1,4	15,8	2,3	17,2	13,4	15,6	5,9	12,5	2,1	13,3	2	13,1	1,3	12,1	2,8	17,3	7,2	16	9,4	16,7	9,3	12,3	9,6
C18:2n6c	33,8	29,4	30,9	27,1	36,9	36,2	32,5	23,4	33,3	21,3	32,1	25,1	36,4	25,9	35,5	32,3	33,1	12,3	33	11,7	34,9	11,9	31,2	12,3
C18:3n3	0	0,4	0,6	0,7	0,2	0,3	0,2	0,2	0	0,8	0,6	0,7	0,2	0,6	0,3	0,6	0,8	0,7	0	0,7	0	0,7	0,4	0,4
C20:0	0	0	0,2	0,3	0	0	0	0	0,3	0,1	0,5	0,3	0	0,3	0	0,1	0	0,1	0	0,4	0,6	0,2	0,1	0,1
C20:2	0	0,8	0	0,7	0,6	0	0,5	0,6	0,2	0	0	0	0,1	0,3	0	0,0	0	0	0,5	0,1	0,2	0,1	0	0,3
C20:3n3	14,1	0,2	13	0,5	1,3	11,3	12,9	0,8	14	2,1	13,2	2,5	11,3	2,3	11,8	2,3	14,1	0,2	13,9	2,4	14,1	0,8	15	3,7
C20:4n6	1,6	6,7	1,1	6,7	0,6	0,4	1	1,3	1,1	4,7	1,4	3,4	1,1	3,2	0,5	4,5	0,8	6,9	1,1	4,1	1,6	4	2	3,6
C22:2	0	0	0	0,7	0	0	0	0,1	0	0,1	0,6	0,1	0	0	0	0,0	0	0	0	0,2	0	0,4	0	0,1
C24:0	3,4	0,5	3,0	0,3	4,4	2,1	2,7	1,8	3,4	1,1	2,8	1,2	2,2	0,2	2,5	3,0	3,4	0,1	3,3	0	4,4	0,2	6,4	1,3
Σнас	17,3	54,5	22,0	54,0	23,6	18,7	20,7	54,6	17,5	61,1	21,5	59,9	21,2	59,1	19,5	46,2	18,9	64,8	21,5	64,3	16,0	63,9	19,4	57,8
Σпенас	82,7	45,5	78,0	46,0	76,4	81,3	79,3	45,4	82,5	38,9	78,5	40,1	78,8	40,9	80,5	53,8	81,1	35,2	78,5	35,7	84,0	36,1	80,6	42,2
Кнас	0,2	1,2	0,3	1,2	0,3	0,2	0,3	1,2	0,2	1,6	0,3	1,5	0,3	1,4	0,2	0,9	0,2	1,8	0,3	1,8	0,2	1,8	0,2	1,4

Продолжение таблицы Ж.5

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
C10:0	1,1	1,4	0	1,3	0,6	1,1	0,5	0,7	0,2	1,2	0,3	1,1	0,6	1,2	0,3	0,8
C11:0	0,1	0	0,9	0,5	0,1	0,5	0,8	0,2	0,8	1	0,1	0,9	0,1	0,8	0	0,5
C12:0	0,5	0,3	0,3	0,1	0,8	0,2	0,8	0,5	0,9	0,2	0,3	0,1	1,9	0,1	0,1	0,3
C13:0	1,1	3,9	0,3	3,3	0,4	3,3	0,1	2,8	0,1	3,5	0	3,4	0,2	3,2	0,6	1,8
C14:0	4,7	0,5	4,8	1,1	4,1	0,5	7,6	5,3	6,9	0,3	4,3	0,8	6,4	0,8	2,1	3,7
C14:1	0,8	5,1	0	5	0,2	4,5	0,3	1,4	0,6	4,8	1,3	4,5	0,8	4,2	0,6	1,5
C15:0	0,1	13,9	0,4	9,4	2,9	11,4	2,6	8,6	2,7	5,7	2,6	5,4	0,1	5	0,1	2,2
C15:1	11,6	3,2	8,2	2,9	11,1	3,3	11,6	7,8	7,2	3,4	6,6	4	6,2	4,5	11,1	6,2
C16:0	2,6	20,9	1,2	18,1	1,5	17,2	1,9	10,8	6,4	14,6	0,9	14,1	6	13,5	1,7	7,4
C16:1	0,5	0,9	0	0,8	0,3	0,7	0	0,6	0,3	1,1	0,8	0,6	0,3	0,5	0,2	0,8
C18:0	1,8	19,4	4,7	18,5	2,7	18,1	2,3	13,2	2,1	15,8	5,9	17,5	4,6	17,2	5,3	8,4
C18:1n9t	12,1	5,2	13,4	6,2	8,9	6,2	8,2	6,0	8,6	3,2	6,6	2,1	8,5	4,6	12,4	8,7
C18:1n9c	13,8	4,1	16,5	7,4	16,5	6,9	12,6	6,1	15,4	6	15,8	6,6	15,5	7,3	12,6	14,8
C18:2n6c	29,4	12,3	31,3	16,9	31,1	16,2	32,3	23,6	31,2	26,9	30,2	26,4	30,9	25,4	33	34,4
C18:3n3	0,2	0,8	0,3	0,7	0,4	0,7	0,3	0,3	0,6	1,1	0,8	0,9	0,2	0,7	0	0,9
C20:0	0,3	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0	0,2	0	0,6	0,1	0,5	0	0,4	0,3	0,1
C20:2	0	0,1	0	0,1	0	0	0	0	0	0,5	0,3	0,3	0	0,5	0	0
C20:3n3	14,7	3,5	13,6	3,3	13,3	2,9	13	8,6	13,5	3	16,3	3,3	12,7	4,2	14,6	3,1
C20:4n6	1,2	3,3	0,6	3,2	1,6	3	3,4	1,3	0,5	6,1	2,9	5,5	1,2	4,3	1,6	2,3
C22:2	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0,2	0	0	0	0,1
C24:0	3,4	0,9	3,2	0,9	3,4	1,1	1,7	2	2	0,9	3,9	1,8	3,8	1,7	3,4	2
Σнас	15,7	61,5	15,9	53,5	16,6	53,7	18,3	44,3	22,1	43,8	18,4	45,6	23,7	43,9	13,9	27,2
Σненас	84,3	38,5	84,1	46,5	83,4	44,4	81,7	55,7	77,9	56,2	81,6	54,4	76,3	56,2	86,1	72,8
Кнас	0,2	1,6	0,2	1,2	0,2	1,2	0,2	0,8	0,3	0,8	0,2	0,8	0,3	0,8	0,2	0,4

Приложение 3

Таблица 3.1 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации лизофосфатидилхолина в дистальном конце седалищного нерва крысы, мкг Р_{ЛФХ}/мг Р_{ФЛ} (M+m)

*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	8,86±0,37	8,46±0,26	8,39±0,32	8,88±0,31	7,52±0,23
Повреждение	14,5±0,68*	19,66±0,75*	18,18±0,67*	35,89±1,18*	23,56±0,75*
П+ГК 2 мг/кг	13,37±0,55	19±0,68	17,4±0,61	33,76±1,22	22,57±0,84
П+ГК 17 мг/кг	13,18±0,61	18,14±0,58	17,21±0,52	32,01±1,22	21,85±0,79
П+ГК 30 мг/кг	13,02±0,47**	16,74±0,65**	12,48±0,36**	24,98±0,97**	17,59±0,56**

Таблица 3.2 Влияние гиалуроната калия на изменение концентрации лизофосфатидилэтаноламина в дистальном конце седалищного нерва крысы, мкг Р_{ЛФЭЛ}/мг Р_{ФЛ} (M+m)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	3,19±0,13	3,25±0,14	3,19±0,13	2,84±0,12	2,92±0,12
Повреждение	6,13±0,26*	11,14±0,47*	14,57±0,61*	15,01±0,63*	12,83±0,54*
П+ГК 2 мг/кг	6±0,25	10,57±0,44	14,38±0,6	12,36±0,52	12,08±0,51
П+ГК 17 мг/кг	5,96±0,25	10,11±0,42	14,28±0,6	12,02±0,5	11,73±0,49
П+ГК 30 мг/кг	5,1±0,21	8,84±0,37**	10,62±0,45**	8,12±0,34**	9,69±0,41**

Таблица 3.3 Динамика показателя суммы жирных кислот во фракции СЖК ткани дистального конца седалищного нерва крыс после его повреждения, мкг СЖК/мг ОЛ

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	18,11±2,76	19,77±2,61	17,33±2,66	20,56±2,72	18,18±2,56
Повреждение	22,94±2,08	52,55±2*	127,1±4,7*	169,46±3,59*	132,95±4,25*
П+ГК 2 мг/кг	22,62±1,93	51,95±2,87	119,01±4,17	148,59±3,69**	124,55±4,61
П+ГК 17 мг/кг	22,51±2,04	50,31±2,61	111,13±3,33**	143,81±3,83**	109,67±3,95**
П+ГК 30 мг/кг	19,64±1,96	44,31±2,73**	94,38±2,74**	111,87±3,36**	88,09±2,12**

Таблица 3.4 Влияние гиалуроната калия на ЖК состав фракции СЖК в дистальном конце нерва после перерезки (в % от суммы кислот)

	12 часов								24 часа								3 суток							
	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК	К	П	К	П+ 2ГК	К	П+ 17ГК	К	П+ 30ГК
С10:0	0	0,8	0,4	1,5	0,1	1	0,1	0,7	0	0,0	0	0,1	0	0,5	0	0,2	0	0,4	0	0,9	0	0,8	0	0,4
С11:0	0,5	0,0	0,2	0,4	0,3	0,1	0	0,2	0,4	0,1	0,7	0,1	0,6	1,2	0,2	0	1,1	0,1	0,8	0,1	0,4	0,9	0,9	0
С12:0	0,4	1,5	0,5	0,8	0,3	1,9	0,7	0,8	0,8	1,5	0,2	1,7	0,2	1,3	0,5	2,1	0,2	0,8	0,6	0,5	0,7	1,3	0,3	0,9
С13:0	0,1	0,0	0	0,6	0,1	0,1	0,3	1,9	0,2	0,0	0,1	1,1	0,3	0,1	0,3	1,2	0,5	0,6	0,6	0,5	0,1	0,6	0,4	1,4
С14:0	5,3	3,1	6,7	1,6	7,2	4,5	6,3	1,3	6,2	4,4	3,6	2,1	7,5	6,4	6,4	3,4	8,2	6,7	4,1	6,3	2,9	2,8	3,6	5,1
С14:1	0,1	0,0	0,3	0,9	0,4	0,5	0,2	0,6	0,5	1,0	0,3	1,3	0,7	0,8	0,2	1,3	0,6	0	0,3	1,6	0,1	0,2	0,3	1,4
С15:0	2,4	0,7	3,5	2	3,7	0,6	1,4	0,9	1,5	0,6	4,1	3,7	1,9	4,5	1,6	5	1,5	0,6	1,8	0,2	4,5	0,1	1,9	1
С15:1	0,1	0,0	0,5	0,6	0,6	0,3	0,2	1,7	0,9	1,0	0,4	1,1	0,9	2,2	0,3	1,4	0,4	0	0,3	0,4	0,2	1,5	0,1	0,6
С16:0	46,8	10,4	49,2	12,3	50,1	19,1	45,9	29,2	51,5	23,2	43,9	16,6	44,7	20,5	49,7	29,3	43,7	14,4	49	14,8	43,1	20,3	52,1	30,6
С16:1	0,3	0,0	0,6	0,4	0,6	0,2	0,1	1	0,2	1,2	0,5	1,1	0,8	0,9	0,7	1,4	0,5	0,8	0,2	2,1	0,5	0,4	0,3	0,7
С18:0	27	43,4	26,1	33,8	23,1	26,9	29,2	34,7	22,5	20,9	30,3	37,9	29,7	29,2	24,7	26,6	28,1	23,9	25,6	18,2	29,2	12,7	22,7	18,9
С18:1n9t	0	0,1	0	0,1	0	0	0,1	3,5	0	0,4	0	0,3	0	0,2	0	0,1	0	0,9	0	2,4	0	1,2	0	0,8
С18:1n9c	8,2	13,9	5,1	10,5	6,9	12,6	7,5	10,1	6,8	23,9	7,3	13,6	7,4	15,8	7,6	10,8	6,9	40,6	7,1	29,6	8,2	29,3	9,6	14,2
С18:2n6c	3,6	18,6	4,2	16,3	4	16,3	3,5	7	3,9	15,6	3,1	12,1	2,5	7,4	4,1	13,6	3,8	0,8	4,4	3,9	3,6	6,2	2,9	18,3
С18:3n3	0,1	0,9	0,1	4,9	0,1	1,5	0,3	0,9	0,1	0,9	0,1	1,1	0,2	0,5	0,1	0,2	0,1	0,3	0,3	1,1	0,1	9,8	0,2	0
С20:0	0,5	1,9	0,3	1,4	0,2	4,6	0,7	0,3	0,7	0,0	0,9	0	0,4	0,4	0,3	0,8	0,4	0	0,6	0	1,3	0	0,5	0,5
С20:2	0,1	0,0	0,1	0	0,1	0,3	0,1	0	0,1	0,5	0,1	0,4	0,1	0,6	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,7	0,1	0,1
С20:3n3	0,7	0,0	0,1	5,6	0,2	1,2	0,4	0,4	0,4	0,1	0,6	0,1	0,7	0,4	0,4	0,6	0,7	0,1	0,5	0,3	0,7	0,4	0,4	1,2
С20:4n6	1,7	3,7	1	4,5	0,9	6,3	1,5	3,3	1,3	4,3	1,4	5,6	0,9	6,4	1,3	1,3	1,4	8,8	1,6	16,9	2	10,3	1,6	3,6
С22:2	0,1	0,1	0,1	0,9	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0,1	0,1
С24:0	2	0,9	1	0,9	1	1,9	1,4	1,4	1,9	0,3	2,3	0	0,4	0,7	1,4	0,5	1,7	0,2	2	0,1	2,2	0,5	2	0,2
Σнас	85,0	62,7	87,9	55,3	86,1	60,7	86,0	71,4	85,7	51,1	86,1	63,3	85,7	64,8	85,1	69,1	85,4	47,7	85,1	41,6	84,4	40,0	84,4	59,0
Σпенас	15,0	37,3	12,1	44,7	13,9	39,3	14,0	28,6	14,3	48,9	13,9	36,7	14,3	35,2	14,9	30,9	14,6	52,3	14,9	58,4	15,6	60,0	15,6	41,0
Кнас	5,7	1,7	7,3	1,2	6,2	1,5	6,1	2,5	6,0	1,0	6,2	1,7	6,0	1,8	5,7	2,2	5,8	0,9	5,7	0,7	5,4	0,7	5,4	1,4

Продолжение таблицы 3.4

	7 суток								30 суток							
	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК	К	П	К	П+2ГК	К	П+17ГК	К	П+30ГК
С10:0	0	0,6	0	0,8	0	1,3	0	1,9	0	1,8	0	2,6	0	1,9	0	0,6
С11:0	0,5	0	0,3	1,2	0,5	1,4	0	0	0,4	0	0,4	1,4	0,7	0,6	0	0,5
С12:0	0,5	0,1	0,2	1	0,3	1,8	0,4	0,7	0,8	0,1	0,1	0,2	0,2	0	0,4	1,3
С13:0	0,3	0,2	0,5	0,1	0,1	0,7	0,2	2,1	0,1	0,9	0,7	2,7	0,1	2	0,2	0,4
С14:0	4,1	6,1	6,7	7,8	7,7	4,3	3,7	2,6	6,6	0,8	6,7	2,4	3,6	1	3,7	4,2
С14:1	0,1	0,1	0,3	0	0,2	0,4	0,1	1,3	0,4	1,7	0,1	2,1	0,1	2,3	0,1	1,6
С15:0	3,7	0,2	3,2	2	2,1	0,1	0,6	1	2,6	0,2	2,3	0,2	4,5	0,2	0,6	0,2
С15:1	0,5	0	0,2	0,9	0,1	1	0,2	1,1	0	0,8	0,1	2,1	0	1,6	0,2	0,9
С16:0	42,3	20	44,3	24,1	50,4	25,3	47,3	34,3	44,1	32,9	49,1	24,2	49,7	28,4	47,3	31,4
С16:1	0,5	0	0,4	0,6	0,1	1,5	0,4	0,8	0,6	0,1	0,1	1,1	0,1	1,6	0,4	0,5
С18:0	31,2	31,8	23,7	29,3	23,1	21,6	30,4	33,4	27,4	23,3	24,6	26,9	24,7	22,6	30,4	41,2
С18:1n9t	0	0,9	0	1	0	1,7	0	0,2	0	0,2	0	1	0	0,1	0	0,2
С18:1n9c	10,3	25,6	5,8	18,6	9,6	16,9	7,1	10,3	6,1	19,3	6,9	15,2	9,3	19,1	7,1	6,9
С18:2n6c	2,8	0,5	5,4	0,7	3,1	6,5	1,9	2,9	4,9	0,3	4,1	0,3	2,4	0,4	1,9	2,0
С18:3n3	0,1	0	0,1	0,1	0,1	1	0,1	0,1	0,3	0	0,1	0,6	0,1	1,9	0,1	0,4
С20:0	0,2	2,9	1,8	2,4	0,2	2,1	0,6	1,6	0,5	0,1	0,4	0	0,3	0,1	0,6	0,8
С20:2	0,1	0,8	0,1	0,7	0,1	0,2	0,1	0,3	0	0	0,1	0,8	0,1	0,5	0,1	0,1
С20:3n3	0,7	0,1	1,6	0,3	0,5	0,2	0,7	1,3	0,9	0,1	0,6	0,1	0,7	2,1	0,7	1,1
С20:4n6	0,9	5,6	2	4,5	1,1	8,9	2	2,6	1,9	8,1	1,6	8,1	1,5	6,3	2	1,7
С22:2	0,1	0	0,1	0	0,1	0	0	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,7
С24:0	1,1	4,5	3,3	3,9	0,6	3,1	4,2	1,4	2,3	9,3	1,9	7,9	1,8	7,2	4,2	3,6
Σнас	83,9	66,4	84,0	72,6	85,0	61,7	87,4	79,0	84,8	69,4	86,2	68,5	85,6	64,0	87,4	84,1
Σненас	16,1	33,6	16,0	27,4	15,0	38,3	12,6	21,0	15,2	30,6	13,8	31,5	14,4	36,0	12,6	15,9
Кнас	5,2	2,0	5,3	2,6	5,7	1,6	6,9	3,8	5,6	2,3	6,2	2,2	5,9	1,8	6,9	5,3

Приложение И

Таблица И.1 Динамика изменения концентрации диеновых конъюгатов в дистальном конце седалищного нерва крыс после его повреждения, ммоль/ мг липидов ($M \pm m$)

*– достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$; **– достоверность отличия по отношению к повреждению, $p < 0,05$

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	10,17±0,43	10,25±0,32	10,39±0,39	10,08±0,35	10,09±0,31
Повреждение	11,96±0,56*	12,12±0,46*	27,79±1,03*	23,78±0,78*	20,69±0,66*
П+ГК 2 мг/кг	11,87±0,49	12,07±0,43	27,11±0,95	22,95±0,83	19,98±0,74
П+ГК 17 мг/кг	11,79±0,54	11,75±0,38	26,08±0,78	22,24±0,85	19,74±0,71
П+ГК 30 мг/кг	11,49±0,56	11,21±0,44	22,75±0,66**	20,47±0,8**	17,43±0,56**

Таблица И.2 Динамика изменения концентрации малонового диальдегида в дистальном конце седалищного нерва крыс после его повреждения, ммоль/ мг белка ($M \pm m$)

	12 часов	24 часа	3 суток	7 суток	30 суток
Контроль	0,38±0,02	0,46±0,01	0,43±0,02	0,47±0,02	0,41±0,01
Повреждение	0,57±0,03*	0,94±0,04*	1,19±0,04*	1,13±0,04*	0,94±0,03*
П+ГК 2 мг/кг	0,56±0,02	0,93±0,03	1,14±0,04	1,11±0,04	0,9±0,03
П+ГК 17 мг/кг	0,55±0,03	0,9±0,03	1,06±0,03**	1,03±0,04	0,87±0,03
П+ГК 30 мг/кг	0,55±0,03	0,81±0,03**	0,85±0,02**	0,82±0,03**	0,69±0,02**