

УДК 612.8.015

## ВЛИЯНИЕ ЭНДОГЕННЫХ ОЛИГОПЕПТИДНЫХ ЛИГАНДОВ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ГРУППЫ S-100 НА ПОВЕДЕНИЕ

ШЕРСТНЕВ В. В., КОЧЕТКОВ И. В., БЕЛЯЕВ С. В., ЛЫСОВА Н. П.,  
ДОЛГОВ О. Н., ПОЛЕТАЕВ А. Б.

Большой интерес, вызываемый естественными физиологически активными олигопептидами, возможность клинического применения этих высокоактивных и избирательно действующих молекулярных факторов [1—3] обуславливают необходимость разработки новых подходов к поиску олигопептидных регуляторов определенных функций и «поведенчески» активных олигопептидов. В работах последних лет указывалось на теоретическую возможность тесного структурно-функционального взаимодействия между системами нейроспецифических белков, рассматриваемых в качестве узловых компонентов молекулярной организации интегративной деятельности мозга [4], и олигопептидами, индуцирующими и/или модулирующими различные формы врожденного и приобретенного поведения [5—6]. Однако экспериментальной проверке данное положение практически не подвергалось, не проводился поиск синтезирующихся в нервной ткани олигопептидов, который основывался бы на их взаимодействии с теми или иными нейроспецифическими белками.

В данной работе исследовали «поведенческую» активность выделенных нами естественных олигопептидов, взаимодействующих с нейроспецифическими белками группы S-100.

Выделение и иммобилизация белков главной фракции S-100 на CNBr-сефарозе, а также получение суммарной олигопептидной фракции, экстрагировавшейся из мозга быка 0,5 М уксусной кислотой при 60°, и затем из нее фракций олигопептидов-катионов ( $\text{P}^+$ ) и олигопептидов-анионов ( $\text{P}^-$ ) (каждая из которых, по данным изотахофореза, состояла не менее чем из 3—4 компонентов) были описаны ранее [7].

Фракции  $\text{P}^+$  и  $\text{P}^-$ , растворенные в 0,15 М NaCl, вводили в левый боковой желудочек мозга беспородных крыс-самцов массой 150—200 г под легким эфирным наркозом. Каждое животное получало по 100 мкг материала фракций  $\text{P}^+$  либо  $\text{P}^-$  в объеме 20 мкл. Контрольным крысам вводили по 20 мкл 0,15 М раствора NaCl. Спустя 12 и 36 ч, а также через 14 суток после 1-кратной инъекции животных помещали последовательно в камеру I для тестирования ориентировочно-исследователь-

ской активности, а затем в камеру II, используемую для выработки условного рефлекса пассивного избегания темноты у крыс и тестирования его сохранения [8].

Камера I представляла собой параллелепипед (размеры  $300 \times 200 \times 120$  мм), изготовленный из непрозрачного материала. «Потолок» камеры имел 20 ( $5 \times 4$ ) отверстий округлой формы диаметром 15 мм. В течение 4-минутного сеанса пребывания животных в камере I регистрировали: а) латентный период первого заглядывания в отверстие; б) общее число заглядываний в отверстия камеры. За 15 мин, что животные находились в камере II, регистрировали: а) латентный период первого перехода крысы из освещенного отсека в темный; б) скорость покидания темного отсека, то есть скорость избегления от действия тока; в) число заходов в темный отсек за сеанс; г) время, проводимое животными непосредственно у перехода из светлого отсека в темный, без попыток захода в последний (время заглядывания в «наказуемый» отсек). Каждая группа состояла из 10 животных. Статистическая обработка временных показателей проводилась по критерию Стьюдента, а числа заходов—по критерию Пирсона.

Поведение крыс всех групп в камере I было весьма сходным. Достоверных отличий в показателях поведенческой активности животных обнаружено не было, что указывает на отсутствие выраженных влияний олигопептидных лигандов S-100 на уровень ориентировочно-исследовательской активности животных.

Поведение животных в камере II отличалось у разных групп по следующим показателям: процент животных, совершивших переход из светлого отделения камеры в темное, характеризовался выраженной тенденцией к повышению по сравнению с контрольными крысами через 36 ч после введения  $\Pi^+$  и особенно  $\Pi^-$  ( $p < 0,1$ ). Тестирование через 14 дней после введения испытуемых пептидов выявило разнонаправленные по сравнению с контролем изменения этого показателя—животные группы  $\Pi^+$  совершали меньше, а  $\Pi^-$ —больше переходов в темное отделение; отличия между животными, получавшими  $\Pi^+$  и  $\Pi^-$ , достигали уровня значимости ( $p < 0,01$ ). Общее время заглядывания животных в «наказуемый» темный отсек камеры не только различалось по своим значениям у разных групп, но и претерпевало различную динамику. Так, через 12 ч после введения пептидов, исходные значения этого параметра у крыс группы  $\Pi^+$ , как и у контрольных животных, были низкими, резко возрастали (в 5—10 раз) через 36 ч и вновь снижались примерно до исходного уровня к 14 дню. У животных группы  $\Pi^-$  этот параметр был в 2—3 раза выше, чем у других групп в первый сеанс ( $p < 0,05$ ), а затем прогрессивно снижался от сеанса к сеансу (рис. 1, 2).

Полученные данные свидетельствуют о том, что исследуемые иммобилизованные белки группы S-100 биоспецифически взаимодействуют с рядом неидентифицированных олигопептидных лигандов, являющихся, вероятно, видонеспецифичными: последнее заключение основывается на данных о модуляции поведения крыс пептидами, выделявшимися из

ткани мозга быков; причем активность исследовавшихся факторов была выражена при использовании их в дозах, не превышающих десятков нг/животное. Следует отметить также продолжительность (не менее 2 недель) изменений в поведении крыс, получавших однократные инъекции олигопептидов-лигандов S-100. Учитывая, что сроки жизни (полураспада) олигопептидов *in vivo* не превышают минут-десятков минут [9], столь длительные поведенческие эффекты, по-видимому, подразумевают наличие стойких и медленнообратимых метаболических изменений в ЦНС, индуцируемых исследуемыми пептидами.

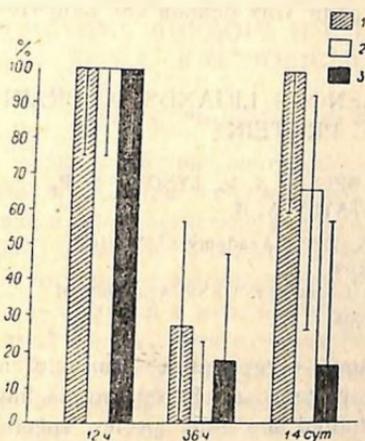


Рис. 1

Рис. 1. Процент животных, совершивших переход из освещенного отделения камеры в затемненное. 1—животные группы П<sup>-</sup>; 2—животные контрольной группы; 3—животные группы П<sup>+</sup>

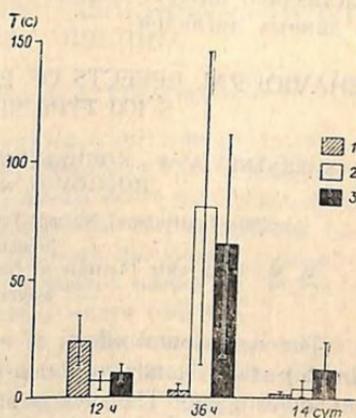


Рис. 2

Рис. 2. Общее время заглядывания животных в затемненное отделение камеры. Обозначения те же, что и на рис. 1

Интересно, что эти олигопептиды, не влияя заметно на двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность животных (эксперименты в камере I), модифицировали эмоционально окрашенное поведение избегания, обусловленное получением ими отрицательных (болевых) стимулов в камере II.

Пока преждевременно делать какие-либо однозначные заключения о характере изменений поведения животных, индуцируемых олигопептидными лигандами нейроспецифических белков группы S-100. Но в качестве рабочего предположения можно допустить, что лиганды анионной природы (П<sup>-</sup>), вероятно, подавляют страх перед получением болевой раздражения и, возможно, нарушают процессы хранения и/или воспроизведения навыков. Пептиды-катионы (П<sup>+</sup>) оказывают, по-видимому, противоположные поведенческие эффекты, усиливая страх и/или восприимчивость к боли, и стимулируют процессы памяти.

Обращает на себя внимание различие в длительности эффектов  $P^+$  и  $P^-$ . Последствия введения  $P^-$  отмечались на протяжении нескольких суток после введения, в то время как изменения в поведении, обусловленные действием  $P^+$ , сохранялись, по крайней мере, в течение двух недель.

Полученные данные, на наш взгляд, являются свидетельством перспективности поиска и выделения новых «поведенчески» активных олигопептидов на основе их способности к биоспецифическому взаимодействию с теми или иными нейроспецифическими белками и, кроме того, представляют интерес в плане изучения роли этих белков как акцепторов данных лигандов.

## BEHAVIOURAL EFFECTS OF ENDOGENOUS LIGANDS OF BRAIN S-100 TYPE SPECIFIC PROTEINS

SHERSTNEV V. V., KOCHETKOV N. V., BELYEV S. V., LYSOVA N. P.,  
DOLGOV O. N., POLETAYEV A. B.

Anokhin Institute of Normal Physiology, USSR Academy of Medical  
Sciences, Moscow

M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, USSR Academy of  
Sciences, Moscow

The behavioural effects of endogenous oligopeptides (anionic and cationic)—the ligands of brain-specific proteins of S-100 group—have been investigated. The oligopeptides studied are non species specific, exert biological activity in nanogram doses and affect first of all fear and alarm-related forms of behaviour. It's concluded that use of immobilized brain-specific proteins for affinity sorbtion and isolation of endogenous oligopeptides is an effective approach for detection and study of new biologically active oligopeptides.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Guillemin R.* Science, 202, 4366, 390—402, 1978.
2. *Шерстнев В. В., Полетаев А. Б., Долгов О. Н.* Успехи физиол. наук, 10, 3, 66—86, 1979.
3. *Neizil M. E., Cassaigne M. A., Lacoste A. M.* Bul. Soc. Pharm. Bordeaux, 119, 3, 149—182, 1980.
4. *Долгов О. Н., Полетаев А. Б., Шерстнев В. В.* Успехи физиол. наук, 11, 3, 47—65, 1980.
5. *Варгания Г. А.* Физиол. человека, 3, 5, 789—795, 1977.
6. *Guttman H. N., Matwihin G., Weller M.*—In: Memory and transfer of Information, ed. H. P. Zippel, N. V., Acad. Press, p. 111—117, 1973.
7. *Полетаев А. Б., Беляев С. В., Лысова Н. П.* Биохимия, 47, 8, 1349—1353, 1982.
8. *Van Wiersma G., Tjeerd B., De Wied D.* Behav. Biol., 18, 3, 325—333, 1976.
9. *Witter A.* Biochem. Pharmacol, 24, 22, 2025—2030, 1975.

Институт нормальной физиологии  
им. П. К. Анохина, Москва  
Институт биоорганической химии  
им. М. М. Шемякина, Москва

Поступила 18. V 1982