

БИОХИМИЯ

УДК 612.07.1.612.112.94

В. С. Априкян, академик НАН Армении А. А. Галоян

Антибактериальная активность нового гипоталамического полипептида

(Представлено 24/XII 1998)

Среди фундаментальных проблем современной нейроиммунологии одной из наиболее значимых является проблема гипоталамической регуляции иммунных функций (1). Впервые из гипоталамуса А.А.Галояном и соавт. были выделены и охарактеризованы полипептиды (2) и установлены их первичные структуры (3). Изучена их иммунорегуляторная активность. В частности установлено, что гипоталамические полипептиды (ГП) способны регулировать образование антител (АТ) на Т-зависимые, Т-независимые и поликлональные антигены (АГ) (4,5), клеточно-опосредованный иммунный ответ (6), фагоцитарную (7), антиген-представляющую (8) функции макрофагов (МФ), выработку цитокинов: интерлейкина-1 (9), интерлейкина-2 (8), интерлейкина-6 и фактора некроза опухолей- α (6). Исходя из ключевой роли обнаруженных феноменов в противоинфекционном иммунитете (10), целесообразным представлялось исследование противоинфекционных свойств ГП.

Целью настоящего исследования явилось изучение противоинфекционной активности структурально охарактеризованного пролин-богатого пептида гипоталамуса (PRP) (3) на экспериментальных моделях бактериальных инфекций у мышей.

В экспериментах использовали беспатогенных мышей-гибридов (около 2000) первого поколения (СВАхС57BL/6I)F₁, самок 6 – 8-недельного возраста из питомника "Столбовая" РАМН. ГП получали из фракций низкомолекулярных белков и пептидов гипоталамуса крупного рогатого скота (2). Для моделирования инфекционных патологий мышей инфицировали 18 ч культурами патогенных штаммов микроорганизмов: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella cholerae suis*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*. Выживаемость мышей выражали в процентах выживших животных от общего их количества в опытных и контрольных группах. Постановку сероло-

гических реакций осуществляли в реакции пассивной гемагглютинации (11). Титр АТ выражали в \log_2 . Влияние ГП на рост бактерий в организме инфицированных мышей определяли по степени интенсивности очищения брюшной полости животных от внутрибрюшинно (в/б) инъецированных микроорганизмов (12). Количество колоний жизнеспособных микроорганизмов в отсутствие ГП принимали за 100% (контроль). Влияние ГП выражали в процентах от контроля. Идентификацию МФ в клетках перитонеального экссудата (КПЭ) проводили цитохимически по активности α -нафтил ацетат эстеразы (13). Этиотропное действие ГП оценивали как непосредственное их влияние на рост микроорганизмов в культурах *in vitro*. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

В результате проведенного исследования было установлено, что ГП, инъецированные мышам за 24 ч до их заражения патогенными культурами микроорганизмов в летальных дозах (1-2 ЛД₅₀), в значительной мере предохраняли животных от гибели (рис.1). Так, выживаемость инфицированных мышей под действием однократной инъекции ГП в дозе 10^{-8} г/мышь повышалась в 1,64 – 3,8 ($p < 0,001$) раза; при инфицировании *S.typhi* – в 2,21 раза; при *S.cholerae* – в 2,03 раза; при *S.typhimurium* – в 2,4 раза; при *E.coli* – в 2,18 раза; при *Ps.aeruginosa* – в 3,8 раза; при *Sh.flexneri* – в 1,73 раза; при *Sh.sonnei* – в 1,64 раза; при *St.aureus* – в 2,02 раза; при *Str.pneumoniae* – в 2,17 раза.

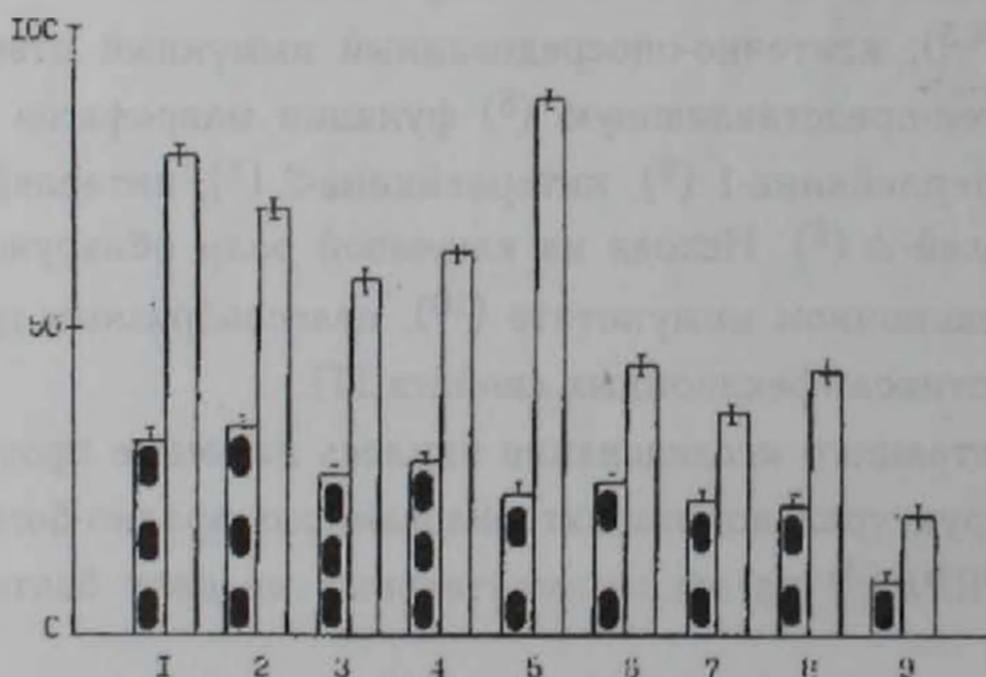


Рис.1. Влияние ГП на выживаемость мышей, зараженных микроорганизмами в летальных дозах. По оси ординат – выживаемость (%). По оси абсцисс – микроорганизмы: 1 – *S.typhimurium*, 2 – *S.cholerae*, 3 – *S.typhi*, 4 – *E.coli*, 5 – *Ps.aeruginosa*, 6 – *Sh.flexneri*, 7 – *Sh.sonnei*, 8 – *St.aureus*, 9 – *Str.pneumoniae*; первые столбики – контроль (без ГП).

Известно, что интенсивность развития и исход инфекционного процесса зависят от времени пребывания возбудителей в инфицированном организме (14). В нашем исследовании ГП, инъецированные мышам, в значительной мере способствовали клиренсу бактерий из брюшной полости (рис.2). Обнаруженный эффект носил дозозависимый характер. Так, ГП в дозах

10^{-7} ; 10^{-8} ; 10^{-9} г/мышь повышали интенсивность клиренса микроорганизмов в 1,48; 2,8; 1,82 ($p < 0,001$) раза соответственно. Учитывая тот факт, что среди КПЭ МФ составляли 91,6%, а также отсутствие у ГП этиотропного эффекта, можно констатировать, что обнаруженный феномен в значительной мере является следствием активации ГП МФ.

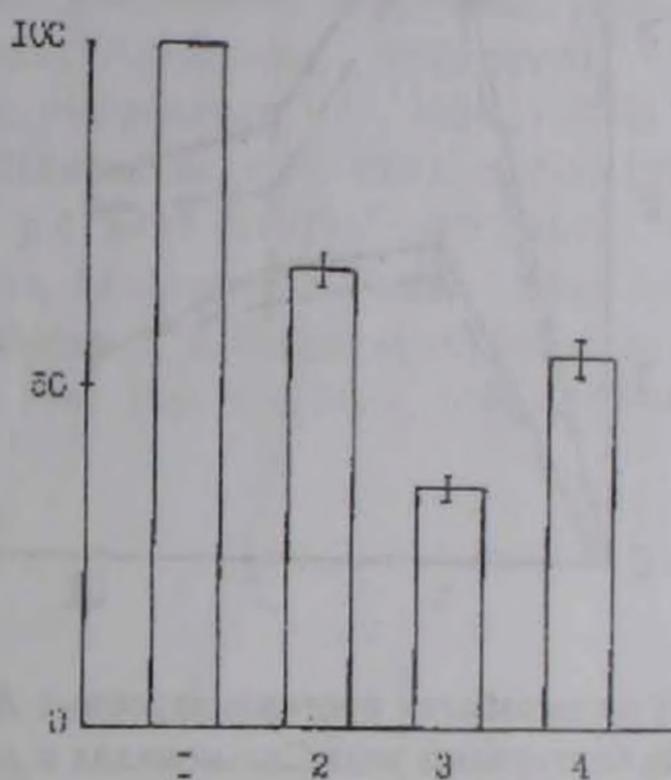


Рис.2. Влияние ГП на интенсивность клиренса бактерий (*S.typhimurium*) брюшной полости мышей. По оси ординат – процент колониеобразующих бактерий. По оси абсцисс – дозы ГП (г/мышь):

1 – контроль (без ГП), 2 – 10^{-7} , 3 – 10^{-8} , 4 – 10^{-9} .

Известно, что в экспрессии приобретенного иммунитета к бактериям основная роль помимо МФ принадлежит специфическим АГ (15). В нашем исследовании ГП, инъецированные однократно в/б в дозе 10^{-8} г/мышь, способствовали повышению выработки противомикробных АГ у мышей, инфицированных бактериями рода Сальмонелла в летальных дозах (рис.3). Так, титры АГ повышались под действием ГП на всех сроках наблюдения в 1,42 ($p < 0,05$) – 2,19 ($p < 0,001$) раза. При инфицировании мышей *S.typhimurium* или *S.cholerae suis* на 5-е сутки наблюдения под влиянием ГП имело место повышение анителообразования в 2,17 и 2,19 ($p < 0,001$) раза соответственно; на 10-е сутки – в 1,48 и 1,42 ($p < 0,05$) раза соответственно; на 21-е сутки – в 1,84 и 1,66 ($p < 0,001$) раза соответственно. Максимальная стимуляция выработки противосальмонеллезных АГ под влиянием ГП отмечалась на 5-е сутки наблюдения – в момент максимального развития индуктивной фазы иммунного ответа АГ. Это положение согласуется с ранее установленным нами фактом относительно способности ГП проявлять наибольшую стимуляцию антителогенеза в индуктивный период иммунного ответа на различные немикробные АГ в различных тест-системах (4,5).

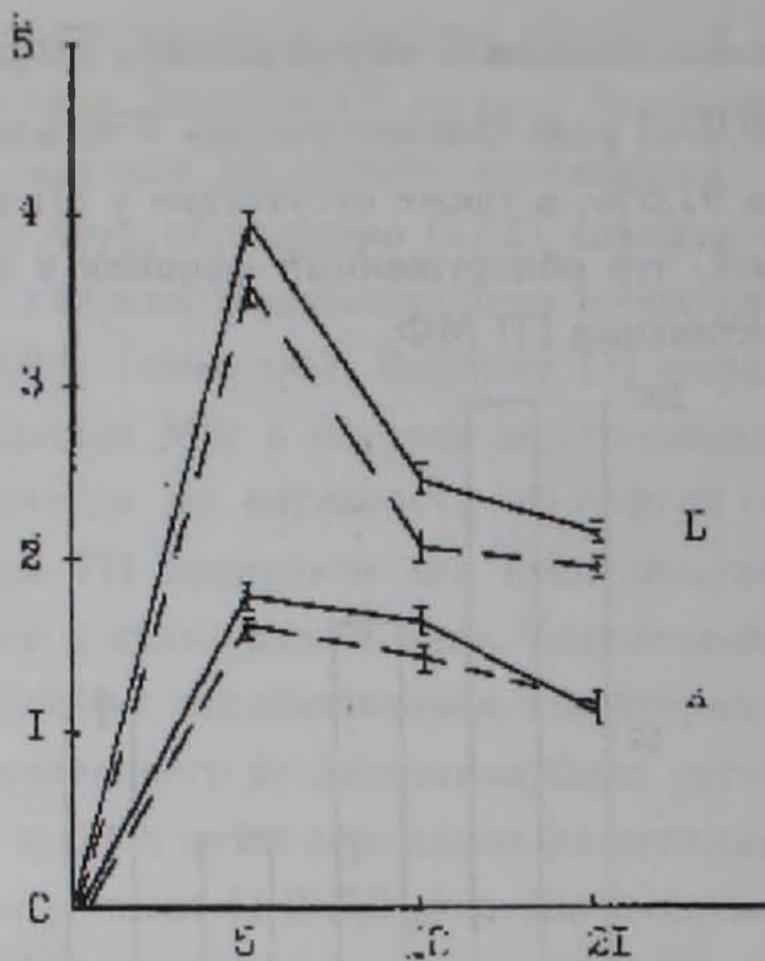


Рис.3. Влияние ГП на выработку противомикробных АТ в крови мышей, инфицированных бактериями рода Сальмонелла в летальных дозах. По оси ординат – титр анти-О-АТ ($10g_2$). До оси абсцисс – дни наблюдения. А – контроль (без ГП), Б – ГП, пунктир – *S.cholerae suis*, прямая линия – *S.typhimurium*.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют, что ГП обладают выраженной противоинойфекционной активностью. ГП повышают выживаемость животных, инфицированных различными микроорганизмами в летальных дозах, защищая их от гибели, стимулируют выработку противомикробных АТ и способствуют ускорению интенсивности элиминации бактерий из организма зараженных животных.

Институт биохимии им. Г.Х.Бунятына НАН Армении

Վ. Ս. ԱՊՐԻԿՅԱՆ, Հայաստանի ԳԱԱ ակադեմիկոս Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ

Հիպոթալամուսային նոր պոլիպեպտիդի հակաբակտերիական ակտիվությունը

Հետազոտել ենք հիպոթալամուսային նոր պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի (ՀՊ) հակաբակտերիական հատկությունները լաբորատոր մկների բազմազան բակտերիական վարակների մոդելներում:

Հայտնաբերել ենք, որ ՀՊ ունի ցայտունորեն արտահայտված հակաբակտերիական ակտիվություն: ՀՊ միկրոօրգանիզմներով վարակված կենդանիներին ներարկման դեպքում պաշտպանում է նրանց անկումից՝ բարձրացնելով կենսակայունությունը, խթանում է հակամիկրոբային հակամարմինների առաջացումը արյան մեջ ու նպաստում է միկրոօրգանիզմների էլիմինացիայի ուժգնության արագացմանը վարակված կենդանիների օրգանիզմներից:

ЛИТЕРАТУРА – ՉՐԱՇԱԿՆԵՐՅՈՒՆ

- ¹ *J.E.Blalock*, *Immunol. Today*, v.15, №11, p.504-511 (1994). ² *А.А.Галоян*, Проблемы эндокринологии и гормонотерапии, №3, с.111-118, 1964. ³ *А.А.Галоян*, Нейрохимия, т.15, №1, с.3-11 (1998). ⁴ *В.С.Априкян, К.А.Галоян*, Нейрохимия, т.11, №2, с.212-217 (1992). ⁵ *В.С.Априкян, К.А.Галоян*, Нейрохимия, т.12, №3, с.14-18 (1995). ⁶ *В.С.Априкян, К.А.Галоян, А.А.Галоян*, Нейрохимия, т.15, №2, с.189-195 (1998). ⁷ *В.С.Априкян, К.А.Галоян, А.А.Галоян*, Нейрохимия, т.15, №1, с.80 (1998). ⁸ *В.С.Априкян, К.А.Галоян*, Нейрохимия, т.11, №3-4, с.27-33 (1992). ⁹ *В.С.Априкян, К.А.Галоян, А.А.Галоян*, Нейрохимия, т.11, №3-4, с.34-38 (1992). ¹⁰ *P.C.L.Beverley*, *Immunol. Today*, v.18, №9, p.413-415 (1997). ¹¹ *S.V.Boyden*, *J. Exp. Med.*, v.93, №1, p.107-115 (1951). ¹² *D.Briles, J.Lehmeyer, C.Fennan*, *Infect. Immun.*, v.33, №2, p.380-388 (1981). ¹³ *O.Sonne, K.Pedersen, K.Kudahl et al.*, *Scand. Immunol.*, v.33, №2, p.231-235 (1991). ¹⁴ *G.A.W.Rook*, *Proc. Roy. Soc. Med.*, v.69, p.442-444 (1976).