УДК 616.8+547.96

ВЛИЯНИЕ ДЕЛЬТА-СОНИНДУЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА НА УРОВЕНЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНОВ КРОВИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ АКУСТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

М.М. Мелконян, С.Х. Егиазарян, Р.М. Симонян, М.А. Бабаян, А.С. Саргсян, С.С. Алексанян, М.А. Симонян

/Ереванский государственный медицинский университет им.М.Гераци, Государственный педагогический институт им.М.Налбандяна, г.Гюмри, Институт биохимии им. Г.Х.Бунятяна НАН РА/
375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: дельта-сониндуцирующий пептид, акустический стресс, металлопротеины крови, липидная пероксидация, супероксидные анионы

В настоящее время важное значение имеет изучение влияния на организм факторов внешней среды, относящихся к группе риска, в том числе воздействия шума высокого уровня, а также применение профилактических мер с целью предотвращения развития патологических изменений в органах и тканях при воздействии стресс-факторов [9,16]. Результаты проведенных нами ранее исследований позволяют предложить в качестве превентивных мер в условиях акустического стресса соединения, обладающие выраженными антиоксидантными свойствами [6]. Показано, что ряд физиологически активных соединений обладают в том числе выраженным антистрессорным действием. К подобным соединениям относится дельта-сониндуцирующий пептид (ДСИП), являющийся гипоталамическим гормоном и специфическим фактором сна [3,15,21]. Интенсивное изучение синтетического ДСИП в физиологических, биологических и поведенческих тестах выявило широкий спектр его биологической активности, не связанной со сном. Полученные данные позволили предположить, что основной функцией ДСИП является антистрессорная [2]. Для ДСИП характерны свойства регуляторного пептида, играющего ключевую роль в гипоталамо-гипофизарной секреции [19] и проявляющего гипногенные [18], противосудорожные [2], психотропные, поведенческие и антистрессорные [7,24] эффекты. Данные литературы свидетельствуют, что внутрибрюшинное введение ДСИП подавляет стресс-индуцированные метаболические сдвиги у крыс в условиях гиподинамического и гипердинамического стресса [7,8], оказывает протективное воздействие на активность Т-киллеров и стабильность мембран эритроцитов, сниженных под действием стресса, снижает интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мозге и периферических органах животных [10,11], повышает устойчивость животных к эмоционально-болевому стрессу [4], а также имеет терморегуляторное действие. Для приведенных стрессорных состояний характерным является развитие оксидативного стресса (таковым является и шумовой стресс), при котором наблюдается нарушение метаболизма активных форм кислорода с характерным изменением эндогенных уровней анти- и прооксидантных металлопротеинов крови [5,6,22].

Целью данной работы является изучение уровней анти- и прооксидантных металлопротеинов в крови животных при остром акустическом стрессе у крыс, выявление зависимости между антистрессорной эффективностью ДСИП и состоянием антиоксидантного статуса.

Материал и методы

Экспериментальные животные (белые беспородные крысы обоих полов массой 180–220*г*), содержавшиеся на обычном рационе в виварииуме, были разделены на 3 группы (по 12 в каждой). Животные I опытной группы (ОГ-1) и II (ОГ-2) подвергались воздействию шума уровнем 91 *дБА* с максимальной энергией в области средних и высоких частот однократно в течение 16 *ч* (острый акустический стресс – ОАС). Крысам ОГ-2 за 1 *ч* до

начала воздействия шума внутрибрюшинно вводили ДСИП в дозе 12 *мкг*/100*г* массы тела. Интактные животные составили контрольную группу (К). Животных всех групп декапитировали под легким эфирным наркозом. Кровь стабилизировали щавелево-кислым натрием. Одновременное выделение и очистка металлопротеинов крови антиоксидантного действия – церулоплазмина–ЦП и трансферрина–ТФ (из сыворотки), супероксиддисмутазы–СОД и каталазы (из плазматической части эритроцитов), цитохромов прооксидантного действия b_5 (из гемолизата), $b_{558}I+b_{558}II$ (из сыворотки крови), $b_{558}III$, $b_{558}IV$ (из мембран эритроцитов) и супрола (из сыворотки крови) осуществлялась методами М.А Симонян и соавт.[12,13] с использованием ионно-обменной хроматографии на целлюлозах DE-52 и КМ-52 ("Whatman"), сефадексе DEAE A-50 ("Pharmacia") и гельфильтрации на биогелях Р-100 и Р-150 ("Reanal"). В качестве количественного показателя была использована величина плотности характерного максимального оптического поглощения: для ЦП – при 610, ТФ – 490, супрола – 430, цитохрома b_5 – 525, цитохромов $b_{558}I$ – IV – 530 *нм*. Активность СОД [23] и каталазы [17] выражали в пересчете на 1 *мл* фракции. Супероксидпродуцирующую активность супрола определяли по проценту прироста плотности оптического поглощения формазана при 560 *нм* в присутствии супрола (3*мг*). Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли методом Владимирова и Арчакова [1]. Оптические спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре "Specord M-40" при длине оптического пути 1 *см*. Статистическую обработку полученных результатов проводили общеизвестным методом вариационной статистики Стьюдента–Фишера с определением критерия M±m и P.

Результаты и обсуждение

Шум является одним из физических факторов, относящихся к наиболее опасным в экологическом отношении факторам загрязнения окружающей среды, воздействие которого нарушает гомеостаз организма с развитием целого ряда хронических заболеваний, метаболических нарушений, в том числе нарушения баланса процессов ПОЛ – антиоксидантная система, регулирующих интенсивность метаболизма активных форм кислорода и проявляющихся повышением интенсивности ПОЛ в различных системах организма [18]. Интенсивность изменений ПОЛ в значительной мере обусловлена уровнем и продолжительностью воздействия шума. Так, 16-часовое шумовое воздействие в значительной мере превышает сдвиги, наблюдаемые при 2- часовом [6], при этом наблюдается снижение уровней не только прооксидантных, но и антиоксидантных металлопротеинов в крови животных (таблица). В этих условиях несколько снижаются (до 20%) уровни цитохромов b_{558} различных типов, локализованных во внешних ($b_{558}III$) и внутренних слоях ($b'_{558}IV$) эритроцитов и имеющих резко отличающиеся кислотно-основные характеристики [13]. В указанных условиях эксперимента резко повышается и расход сывороточного липопротеина высокой плотности супрола, что, по-видимому, связано с повышением перекисного окисления собственных фосфолипидных остатков (в результате уровень МДА возрастает). С другой стороны, при шумовом стрессе в ОГ-1 несколько нарушен и метаболизм железа и меди (уровни ЦП, ТФ и цитохромов $b_{558}I+b_{558}II$ заметно снижены), что, возможно, приводит к активированию указанными свободными ионами металлов супрола in vivo с соответственным повышением его $O_2^{\cdot-}$-продуцирующей активности in vitro [15].

Отмечаемое в группе ОГ-1 снижение уровня ключевых антиоксидантных металлопротеинов несколько компенсируется повышением активности другого антиоксидантного фермента–каталазы (таблица). В ОГ-2 под воздействием введенного в профилактических целях в организм ДСИП улучшаются показатели анти- и прооксидантных металлопротеинов мембран эритроцитов и гемолизата. Однако уровни сывороточных металлопротеинов (ЦП, ТФ и цитохромов $b_{558}I+b_{558}II$) продолжают снижаться. Интересно отметить, что ДСИП улучшает показатели супрола (его уровень заметно повышается, снижается содержание МДА и $O_2^{\cdot-}$-продуцирующая активность с приближением этих показателей к норме). Механизм такого явления пока трудно объяснить. Можно лишь

предположить, что адаптационное воздействие ДСИП обусловлено доминирующим влиянием механизмов, ответственных за синтез металлопротеинов, регулирующих интенсивность окислительных процессов в биологических системах, в частности в крови.

Таблица

Уровни металлопротеинов анти- и прооксидантного действия и других биохимических показателей при остром акустическом стрессе в крови подопытных животных

Показатели	ОГ-1	ОГ-2
Цитохром b_5	−13.3±0.2	−4.4±0.3 (P>0.05)
Цитохромы $b_{558}I$+ $b_{558}II$	−32.2±2.4	−41.2±2.8
Цитохром $b_{558}III$	−7.2±0.2	+4.3±0.2 (P>0.05)
Цитохром $b_{558}IV$	−7.9±0.1	+6.7±0.2 (P>0.05)
Цитохром $b_{558}IV$	−20.2±1.8	8.2±0.2
Супрол	−45.2±3.1	−21.4±1.6
Супероксидпродуцирующая активность супрола	−12.1±0.3	−6.4±0.1 (P>0.05)
МДА в супроле	+28.2±1.8	−10.1±1.1
ЦП	−40.1±3.6	−52.2±3.9
ТФ	−31.6±0.4	−48.4±2.4
СОД	−10.2±0.4	+8.1±0.2 (P>0.05)
Каталаза	+20.1±1.6	+14.1±0.5

Примечание. Контрольные показатели приняты за 100%; p<0,05; n=6.

Полученные результаты позволяют заключить, что предварительное введение ДСИП (группа ОГ-2) регулирует уровни эритроцитарных функционально-структурных металлопротеинов прооксидантного действия, локализованных в мембранах форменных элементов крови и являющихся компонентами системы продуцирования $O_2^{\cdot}$ [19], не оказывая существенного воздействия на плазменные металлопротеины. Стабилизация эритроцитов ДСИП, установленная ранее [10,11], как и при шумовом стрессе, очевидно, связана с регулированием, в первую очередь, уровней металлопротеинов анти- и прооксидантного действия – регуляторов свободнорадикальных окислительных биологических процессов с участием активных форм кислорода, под воздействием которых нарушается микроструктура и стабильность эритроцитарных мембран [20].

Поступила 25.01.00

ԴԵԼՏԱ-ՔՈՒՆ ՀԱՐՈՒՑՈՂ ՊԵՊՏԻԴԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ՄԵՏԱՂԱՊՐՈՏԵԻՆՆԵՐԻ ՄԱԿԱՐԴԱԿԻ ՎՐԱ ՍՈՒՐ ԱԿՈՒՍՏԻԿ ՍԹՐԵՍԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Մ.Մ. Սելքոնյան, Ս.Խ. Եղիազարյան, Ռ.Մ. Սիմոնյան, Մ.Ա. Քաբայան, Հ.Ս. Սարգսյան, Ս.Ս. Ալեքսանյան, Մ.Ա. Սիմոնյան

16 ժ տևողությամբ աղմուկի (91 դԲԱ մակարդակի) հետևանքով դիտվում է ինչպես առնետի արյան պրոօքսիդանտային ազդեցության մետաղապրոտեիների (ցիտոքրոմներ՝ b_5 ստացված հեմոլիզատից, $b_{558}I$ + $b_{558}II$՝ արյան շիճուկից, $b_{558}III$, $b_{558}IV$, $b'_{558}IV$՝ էրիթրոցիտների թաղանթներից և սուպրոսուպերօքսիդդոյացնող լիպոպրոտեին՝ արյան շիճուկից) մակարդակների նվազում, այնպես էլ արյան շիճուկից ստացված հակաօքսիդանտային բնույթի մետաղապրոտեիների (ցերուլոպլազմին – ՑՊ և տրանսֆերին – ՏՖ և հեմոլիզատից ստացված ՍՕԴ) քանակների նվազում: Բացառություն է կազմում կատալազը, որի մակարդակը աճում է մոտ 20%: Դրան զուգընթաց սուպրոլում մալոնային դիալդեհիդի (ՄԴԱ), սուպրոլի $O_2^{\cdot}$ - գոյացնող ակտիվության մակարդակները աճում են համապատասխանաբար՝ 12.1 և 23.2% : Աղմուկից 1 ժ առաջ ներորովայնային ներարկված դելտա-քուն հարուցող պեպտիդը (ԴՔՀՊ) 12մկգ դոզայով հիմնականում կարգավորում է էրիթրոցիտային մետաղապրոտեիների մակարդակները: Սակայն ՑՊ, ՏՖ, ցիտոքրոմներ՝ $b_{558}I$ + $b_{558}II$-ի քանակները ստուգիչ ցուցանիշների համեմատությամբ շարունակում են նվազել: Բացառություն է կազմում սուպրոլը, որի մակարդակը, նրանում ՄԴԱ -ի քանակը և նրա կողմից $O_2^{\cdot}$ -գոյացման ակտիվությունը մոտենում են ստուգիչ ցուցանիշներին:

THE EFFECT OF DELTA-SLEEP INDUCING PEPTIDE ON THE LEVEL OF METALLOPROTEINS IN THE RAT BLOOD AT ACUTE ACOUSTIC STRESS

M.M. Melkonyan, S.Kh. Egiazaryan, R.M. Simonyan, M.A. Babayan, A.S. Sargsyan, S.S.Alexanyan, M.A. Simonyan

A marked decrease in the level of rat blood metalloproteins of prooxidant action (cytochromes: b5, isolated from hemolysates, $b_{558}I+b_{558}II$ – from blood serum, $b_{558}III$ $b_{558}IV$, $b'_{558}IV$, obtained from membranes of erythrocytes, and suprol-superoxide generating lipoprotein), as well as metalloproteins of antioxidant action (ceruloplasmin-CP and transferrin-TF) obtained from blood serum and Cu, Zn-superoxidedismutase (SOD) – from hemolysates, has been observed in result of noise (91dBA, 16 hours duration) action. The exception is catalase, obtained from hemolysates, the level of which as well as that of malonic dialdehyde (MDA) and O_2^- - generating activity of suprol increases. The preliminary (1 hour before the noise action) intraperitoneal injection of delta-sleep inducing peptide in dose 12*mkg* per kg keeps the levels of metalloproteins from erythrocytes near the control levels.

Simultaneously the levels of CP, TF and serum cytochromes decrease compared with the control animals. Suprol is an exception as its level decreases less on the background of peptide injection; the amount of MDA and O_2^- -producing activity of suprol reveal tendency to maintain the control values.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю.Ф., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биомембранах. М., 1972.
2. *Зиганшин Р.Х., Свиряев В.И., Василевский Б.В. и др.* Бионеорган. химия, 1994, 20. 8-9, с. 899.
3. *Ковальзон В.М.* Журнал эволюц. биохимии и физиологии, 1994, 30, 2, с. 112.
4. *Коплик Е.В., Ведяев Д.Ф., Михалева И.И.* ДАН СССР, 1980, 267, с. 230.
5. *Мелконян М.М., Симонян М.А., Овеян Г.А. и др.* Нейрохимия, 1999, 16, с. 26.
6. *Мелконян М.М., Мкртчян А.Р., Овеян Г.А. и др.* Сб. тр. Междунар.симп. "Проблемы биохимии, радиационной и космич. биологии", т.I, М., Дубна, 1997, с.221.
7. *Менджерицкий А.М., Ускова Е.А., Маклецова М.Г. и др.* В.кн.: Макро- и микроуровни организации мозга, т.9, М., 1990, с. 240.
8. *Менджерицкий А.М., Лысенко А.В., Ускова Н.И и др.* Нейрохимия, 1996, 13, 1, с. 23.
9. *Ничков С., Кривицкая Г.Н.* Акустический стресс и цереброви сцеральные нарушения. М., ГДР, 1969.
10. *Рихирева Г.Т., Маклецова М.Г., Менджерицкий А.М. и др.* Изв. РАН, 1993, 329, 2, с. 243.
11. *Сезанова Т.Г., Голанцова Н.Е., Калмыкова С.Н. и др.* Бюлл. эксп. биол. мед., 1996, 121, с. 229.
12. *Симонян М.А., Симонян Г.М., Мелконян Р.В.* Лицензия изобр. N341, 1997, Патентное управл. РА, Ереван.
13. *Симонян М.А., Галоян А.А., Симонян Г.М., Мелконян Р.В.* ДНАН РА, 1997, 97,62.
14. *Симонян Г.М., Бабаян М.А., Симонян Р.М. и др.* Биологический журнал Армении, 1999, 52, с. 18.
15. *Стрекалова Т.В.* Нейрохимия, 1998, 15, 3, с. 227.
16. V Междунар. конф. "Биоантиоксидант". Тез. докл. М., 1998.
17. *Abei H.* Methods of Enzymatic Analysis, 1974, 2, p. 673.
18. *Barbely A.A., Tolber I.* Physiol.Rev., 1989, 62, p. 605.
19. *Batot G., Paclet M.H., Dousierre J. et al.* Biochem. Biophys. Acta, 1998, 1406, p. 188.
20. *Broccio M., Della Rovere F., Granata A.* Anticancer Res., 1998, 18, p. 1075.
21. *Inoue S., Kruger I.* (Eds.) SPB Acad.Publ., 1990, p. 310.
22. *Melkonyan M.M., Karageuzyan K.G., Hoveyan G.A. et al.* Proceeds of the 11th European Society for Neurochemistry Meeting,1996, Groningen, Netherlands, p. 761.
23. *Nishikimi M., Rao N.A., Jagi K.* Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 461, p. 849.
24. *Sudakov K.V., Coghlan J.P., Kotov A.V. et al.* Annals N-Y Acad.Sci., 1995, 771, p. 240.