УДК 616.36+616.8]:577.156.2

Регуляторное воздействие дельта-сониндуцирующего пептида на перекисное окисление липидов в печени крыс в условиях акустического стресса

Л.М. Айвазян

Кафедра общей и биоорганической химии ЕрГМУ им. М.Гераци

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: стресс, дельта-сониндуцирующий пептид, перекисное окисление липидов, АТФ-аза.

В настоящее время важное значение имеет изучение влияния на организм факторов внешней среды, относящихся к группе риска, в том числе воздействие шума высокого уровня, а также применение профилактических мер с целью предотвращения развития патологических изменений в органах и тканях при воздействии стресс-факторов [11,14]. Для повышения устойчивости организма к данному воздействию представляется перспективным использование одного из эндогенных регуляторных пептидов – дельта-сониндуцирующего пептида (ДСИП), адаптогенный эффект которого установлен при гипо- и гипероксии, гипокинезии, эмоционально-болевом и холодовом стрессах [2, 10, 23, 25, 29, 32, 34, 36].

ДСИП – нонапептид с последовательностью Trp-Ala-Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Glu был выделен в 1977г. Schoenenberger и Monnier и соавт. [27]. В дальнейшем он был обнаружен в разных структурах головного мозга [19,22,31,37]. Введение ДСИП индуцировало появление дельта-волн на электроэнцефалограмме, откуда он и получил свое название [31]. Однако, по мнению ряда авторов, основной функцией ДСИП является антистрессорная [5,16,21,33].

Стресс-протекторное действие ДСИП было описано во многих работах [15,26,35]. Имеются данные, указывающие на прямое подавляющее действие ДСИП на секрецию стрессорных гормонов, что может являться механизмом его антисрессорных эффектов. Sudakov с соавт. описали повышение выживаемости крыс на фоне внутриартериального введения ДСИП в условиях сильного стрессорного воздействия [35]. Внутрибрюшинное введение ДСИП подавляло стресс-индуцированные метаболические сдвиги у крыс в условиях гипокинетического и гипоксического стресса [8,9]. ДСИП повышал электрическую стабильность миокарда и предупреждал нарушения его сократительной способности в условиях иммобилизационного стресса у крыс [1]. Ряд исследований подтвердил снижение стресс-индуцированной активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мозге и периферических органах животных в результате введения ДСИП [12,13,17,18].

Шум является наиболее опасным факторам загрязнения окружающей среды, воздействие которого нарушает гомеостаз организма, в частности, повышает интенсивность ПОЛ в различных органах [6,7]. С этой точки зрения важным является изучение действия ДСИП в условиях акустического стресса и его использование для предотвращения развития патологических изменений в условиях воздействия шума, что и явилось целью данного исследования.

Материал и методы

Экспериментальные животные (белые беспородные крысы обоих полов массой 180–220*г*), содержащиеся на обычном рационе в виварии, были разделены на 5 групп. Животные I и II опытных групп (ОГ-1 и ОГ-2) подвергались воздействию шума уровнем 91 дБА с максимальной энергией в области средних и высоких частот однократно в течение 2 *ч* (острый акустический стресс – ОАС), а животные III и IV группы (ОГ-3 и ОГ-4) – в течение 16 *ч*. Крысам ОГ-2 и ОГ-4 за час 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. Митохондрии печени выделяли по методу Schnaitman и др. [30]. Активность индуцированных процессов ПОЛ в митохондриях определяли по накоплению МДА за 30 *мин* инкубации и выражали в *наномоль* МДА на 1 *мг* белка [3]. При исследовании аскорбатзависимого ПОЛ (АЗП) инкубационная

среда содержала 40 *мМ* трис-HCl (pH 7.4), 0.8 *мМ* аскорбата, 12.10^{-6} *М* соли Мора; при исследовании НАДФ-зависимого ПОЛ (НЗП) –2.10^{-4} *М* пирофосфата натрия, 12.10^{-6} *М* соли Мора, 1 *мМ* НАДФ. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) в митохондриях определяли по методу [3,4] и выражали в *нмоль/мг* белка. Белок в пробах определяли по Lowry [24]. Результаты подвергались статистической обработке с использованием программы SPSS.

Результаты и обсуждение

Как свидетельствуют результаты исследований, в норме в митохондриях печени интенсивность НЗП значительно более выражена чем АЗП (табл. 1). Данные эксперимента свидетельствуют об активации уровня АЗП и НЗП в митохондриальных мембранах печени, увеличении содержания диеновых конъюгатов в условиях воздействия шума. Отмечается выраженная зависимость интенсивности сдвигов от продолжительности воздействия шума. Более выраженные сдвиги отмечаются при 2-часовом воздействии.

Изучение интенсивности индуцированных процессов ПОЛ при 2-часовом воздействии шума в митохондриях печени выявило достоверное активирование как ферментативного (НЗП), так и неферментативного (АЗП) процессов ПОЛ. Следует отметить, что сдвиги в интенсивности АЗП более выражены (АЗП +12%, НЗП +27% соответственно).

Результаты исследований тех же параметров при более продолжительном воздействии шума свидетельствуют о сохранении характера сдвигов, однако наряду с результатами морфологических исследований эти данные также свидетельствуют о том, что при более продолжительном воздействии (16 *ч*) интенсивность изменений менее выражена, что, возможно, связано с активизацией адаптационных механизмов с удлинением сроков воздействия.

После предварительного внутрибрюшинного введения ДСИП в митохондриях печени крыс, подвергавшихся воздействию шума, интенсивность НЗП значительно отличается от данных, полученных для стрессированных животных: активность процесса резко подавлена и достоверно ниже контрольных величин при 2-часовом воздействии. Однако при 16-часовом воздействии сдвиги незначительны как по отношению к контрольным, так и экспериментальным данным (табл.1). Характер изменений интенсивности АЗП несколько отличается в условиях 2-часового воздействия, в частности, процесс активирован как при воздействии шума, так и на фоне введения ДСИП. Тем не менее, при 16-часовом воздействии шума на фоне введения ДСИП сдвиги недостоверны. Полученные данные свидетельствуют о том, что предварительное введение ДСИП оказывает существенное влияние на интенсивность индуцированных процессов ПОЛ, и эффект его более выражен при кратковременном воздействии шума.

Таблица 1

Интенсивность ПОЛ в печени крыс в условиях острого акустического стресса и на фоне введения ДСИП

Показатель	Контроль	ОГ-1 (шум 2 *ч*)	ОГ-2 (шум+пептид) 2 *ч*	ОГ-3 (шум 16 *ч*)	ОГ-4 (шум+пептид) 16 *ч*
НЗП, *нмоль МДА/мг белка*	5.72±0.27 n=19	6.41±0.32 p<0.001	4.63±0.26 p_1<0.001 p_2<0.001	6.22±0.32 p<0.001	5.91±0.32 p_1<0.1 p_2<0.01
АЗП, нмоль МДА/*мг белка*	3.31± 0.17 n=18	4.22 ± 0.21 p<0.001	3.71 ±0.20 p_1<0.001 p_2<0.001	3.93±0.20 p<0.001	3.41±0.17 p_1<0.1 p_2<0.001
Диеновые конъюгаты, *нмоль/мг* белка	1.00 ±0.06 n=20	1.5 ±0.09 p<0.001	1.30±0.07 p_1<0.001 p_2<0.001	1.40±0.08 p<0.001	1.60±0.09 p_1<0.001 p_2<0.001
Шиффовые основания, *ед/мг*	0.031±0.002 n=19	0.052±0.003 p<0.001	0.041±0.002 p_1<0.001 p_2<0.001	0.063±0.003 p<0.001	0.045±0.003 p_1<0.001 p_2<0.001

Примечание. Здесь и в табл. 2 p_1 – достоверность по отношению к контролю, p_2 – достоверность по отношению к результатам соответствующей группы, подвергавшейся воздействию шума без введения ДСИП.

Изучение содержания одного из первичных продуктов окисления – диеновых конъюгатов свидетельствует об увеличении их уровня под воздействием шума (табл. 1). Более выраженные сдвиги наблюдаются при 2-часовом воздействии шума. Предварительное внутрибрюшинное введение ДСИП приводит к снижению уровня диеновых конъюгатов, но их уровень продолжает оставаться выше контрольных величин (+30%). Подобный характер изменений отмечается и в содержании шиффовых оснований (ШО). Установлено, что под воздействием шума происходит увеличение уровня ШО, причем в отличие от индуцированных процессов ПОЛ изменения более выражены при 16-часовом воздействии шума. Предварительное введение ДСИП в некоторой степени предотвращает рост уровня ШО (145%) по сравнению с показателями, полученными в условиях воздействия шума (203%), однако их уровень превышает контрольные величины.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о значительном изменении интенсивности процессов ПОЛ в митохондриальных мембранах печени, что, несомненно, отражается на структурной организации мембран, учитывая тот факт, что основными субстратами переокисления в мембранах являются полиненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов мембран. Подобные изменения, несомненно, отражаются и на функциональной активности мембран, мембранных ферментов, в частности, важнейших мембрановстроенных липидзависимых ферментов – АТФ-аз.

Результаты исследования активности Mg^{2+}–АТФ-азы, 2.4-ДНФ-АТФ-азы показывают, что у крыс активность Mg^{2+}–АТФ-азы митохондрий печени в норме превышает активность 2.4-ДНФ-АТФ-азы. Под воздействием 2-часового шума отмечается снижение активности 2.4-ДНФ-АТФ-азы и Mg^{2+}–АТФ-азы митохондрий печени, причем сдвиг Mg^{2+}–АТФ-азы более выражен (табл. 2). Известно, что активность фермента в значительной мере обусловлена фосфолипидным окружением, выявлена прямая зависимость между уровнем фосфатидилсерина и активностью АТФ-аз [28]. Возможно, выявленные изменения связаны со структурной реорганизацией мембран, развивающейся в условиях острого стресса. Предварительное введение ДСИП приводит к незначительной активации 2.4-ДНФ-АТФ-азы (110%). Активность Mg^{2+}–АТФ-азы, хотя и подавлена, однако в меньшей степени по сравнению с результатами, полученными при воздействии шума.

Таблица 2

Активность 2,4-ДНФ- и Mg^{2+}– АТФ-аз в митохондриальных мембранах печени в условиях острого акустического стресса и на фоне введения ДСИП

Показатель	Контроль	ОГ-1 (шум 2 ч)	ОГ-2, (шум+пептид 2 ч)
2,4-ДНФ-стимулируемая АТФ-аза	0.76±0.05 n=20	0.63±0.04 p<0.001	0.83±0.04 p_1<0.001 p_2<0.001
Mg^{2+}-стимулируемая АТФ-аза	0.89±0.05 n=19	0.52±0.03 p<0.001	0.61±0.03 p_1<0.001 p_2<0.001

Анализ полученных данных позволяет сделать заключение об определенном регуляторном влиянии ДСИП как на интенсивность процессов ПОЛ, так и на активность АТФ-аз.

Поступила 22.03.02

Դելտա-քուն հարուցող պեպտիդի (ԴՔՀՊ) կարգավորիչ ազդեցությունը առնետների լյարդում լիպիդների գերօքսիդացման պրոցեսների վրա աղմկային սթրեսի պայմաններում

Լ.Ս. Այվազյան

Հետազոտված է դելտա-քուն հարուցող պեպտիդի (ԴՔՀՊ) ազդեցությունը գերօքսիդացման պրոցեսների վրա առնետների լյարդի միտոքոնդրիումներում աղմկային սթրեսի պայմաններում (2 և 16 ժամյա

աղմուկի ազդեցություն): Մասնավորապես ուսումնասիրվել են գերօքսիդացման ընթացքում առաջացող իեների կոնյուգատների, ՇԻՖի հիմքերի քանակները, ֆերմենտային և ոչֆերմենտային օքսիդացման ընթացքի ինտենսիվությունը, ԱԵՖազների ակտիվության փոփոխությունը ԴՔՀՊ-ի ներմուծման պայմաններում: Հետազոտությունների արդյունքները վկայում են ԴՔՀՊ-ի որոշակի կարգավորիչ ազդեցության մասին ուսումնասիրված չափանիշների վրա, որն ավելի արտահայտված է 2 ժամյա սթրեսի պայմաններում:

Regulatory effect of delta sleep-inducing peptide on lipid peroxidation processes in rat liver at acoustic stress

L.M Ayvazyan

The effects of delta sleep-inducing peptide (DSIP) on the intensity of the lipid peroxidation (LPO) processes and activity of ATP-ases of the rat liver mitochondrial membranes under the acoustic stress (2- and 16-hour noise action) conditions were studied. The data obtained testify to the regulatory effect of the DSIP intraperitoneal administration on the lipid peroxidation (LPO) intensity and ATP-ases activity at the acoustic stress. The efficiency of the preventive action is more significant in 2-hour noise action.

Литература

1. *Архангельская М.И., Драхонтова Д.* Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1995, т. 119, с. 342.
2. *Бондаренко Т.И., Кричевская А.А., Крупенникова Е.Ю. и др.* Физиол. журн. СССР, 1985, т.71, 3, с. 279.
3. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
4. *Гаврилов В.В., Мишкорудная М.И.* Лаб. дело, 1983, 3, с.33.
5. *Ковальзон В.М.* Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1994, т.30, 2, с. 112.
6. *Мелконян М.М., Межлумян Л.М., Мелик-Агаева Е.А.* Нейрохимия, 1996, т.13, 2, с.134.
7. *Мелконян М.М., Мкртчян А.Р., Закарян Г.В. и др.* Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии, 1997, т.1, с. 221.
8. *Менджерицкий А.М., Лысенко А.В., Ускова Н.И. и др.* Нейрохимия, 1995, 12, 1, с.58.
9. *Менджерицкий А.М., Лысенко А.В., Ускова Н.И. и др.* Нейрохимия, 1996, т.13, 1, с.23.
10. *Менджерицкий А.М., Ускова Н.И., Повилайтите П.Е.* Проблемы нейрохимии. Л., 1991.
11. *Ничков С., Кривицкая Г.Н.* Акустический стресс и цереброви сцеральные нарушения. М., 1969.
12. *Рихирева Г.Т., Маклецова М.Г., Менджерицкий А.М. и др.* Изв. РАН, сер. биол., 1993,т.329, 2, с.243.
13. *Сазонтова Т.Г., Голанцова Н.Е., Колмыкова С.Н. и др.* Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1996, т. 121, с.229.
14. V Междунар. конф. «Биоантиоксидант». Тез. докл. М., 1998.
15. *Bjartell A.* Delta Sleep-Inducing Peptide: a Mammalian Regulatory Peptide. Lund: Grahns Boktrycker, 1990, p. 9.
16. *Bondarenko T.I. et al.* Biull. Eksp. Biol. Med., 1998 Sep, 126 (9), 325.
17. *Bondarenko T.I. et al.* Ross. Fiziol. Zh. im. Sechenova, 1999 Aug, 85 (8), 1080.
18. *Bondarenko T.I. et al.* Ross. Fiziol. Zh. im. Sechenova, 1999 May, 85 (5), 671.
19. *Borbley A.A.* J. Neural. Transm., 1986, Suppl. 21, p 243.
20. *Duggan D.E.* Arch. Biochem. Biophys., 1959, 84, p.116.
21. Endogeneous Sleep Factors. Eds. Inoue S., Kruger J. The Hague: SPB Acad. Publ., 1990.
22. *Hosli E., Schoenenberger G.A., Hosli L.* Brain Res., 1983, 279, 2, p. 374.
23. *Khvatova E.M. et al.* FEBS Lett., 1995, Jul 17; 368(2): 367.
24. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* Biol. Chem., 1951, 193,1, p. 265.
25. *Mendzheritskii A.M.* Biokhimia, 1995 Apr; 60(4): 585.
26. *Mendzheritskii A.M. et al.* Vopr. Med. Khim., 1995, Sep-Oct; 41(5): 16.
27. *Monnier J.L., Dudler L., Gachter R., Schoenenberger G.A.* Neurosci. Lett., 1977, 6, p.9.
28. *Papahadjopoulus D., Kimelberg H.* Progr. surface. Sci., 1973, 4, p.141.
29. *Rikhireva et al.* Izv. Acad. Nauk. Ser. Biol., 1995, Mar-Apr;119(2): 142.
30. *Schnaitman G., Ervin V., Greenwalt. J.* Cell. Biol., 1967, 32, p.719.
31. *Schoenenberger G.A.* Europ. J. Neurol., 1984, 23, 2, p. 321.
32. *Shustanova T.A. et al.* Biull. Eksp. Biol. Med., 1999 Sep; 128 (9): 317.
33. *Sudakov K.V. et a.l* Ross. Fiziol. Zh. im. I. M. Sechenova, 2000 Jun; 86 (6): 617.
34. *Sudakov K.V. et al.* Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. im. I.P. Pavlova, 1995 Sep-Oct; 45 (5): 982.
35. *Sudakov K.V., Coghlan J.P., Kotov A.V. et al.* Annals NY Acad. Sci.,1995, 771, p.240.
36. *Ulianinskii L.S.* Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk, 1995: 16(11); 21.
37. *Yehuda S., Carasso R.* Intern. J. Neurosci., 1988. 38, 2, p. 345.