

Корригирующее воздействие дельта-сониндуцирующего пептида на фосфолипидный состав мембран эритроцитов и митохондрий печени в условиях акустического стресса

М.М. Мелконян, Л.М. Айвазян

ЕрГМУ им. М. Гераци, кафедра общей и биоорганической химии
375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: шумовой стресс, дельта-сониндуцирующий пептид, фосфолипиды, эритроцитарные мембраны, митохондрии

Как свидетельствуют результаты многочисленных исследований, обязательным компонентом стресса любой этиологии является интенсификация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) с изменениями качественного набора и количественного содержания мембранных фосфолипидов (ФЛ), сдвигами в уровне инозитолсодержащих ФЛ и компонентов фосфатидилхолинового цикла [15], конформационными изменениями мембраносвязанных белков, приводящими к прямой химической модификации мембранных протеинов – ферментов и рецепторных белков, изменениям их липидного микроокружения [3,14]. В настоящее время с целью профилактики окислительного стресса применяется широкий арсенал соединений, обладающих в том числе выраженными антиоксидантными свойствами. Известно, что дельта-сониндуцирующий пептид (ДСИП) обладает широким профилем нейромодуляторной, антистрессорной активности [8,13]. В связи с этим весьма актуальным является глубокое изучение механизмов антиоксидантного, адаптогенного, корригирующего действия ДСИП на изучаемые биологические системы в условиях острого акустического стресса. Цель настоящего исследования заключалась в изучении изменений качественного и количественного состава ФЛ эритроцитарных мембран (ЭМ) и митохондриальной фракции печени в условиях акустического стресса при применении ДСИП.

Материал и методы

Экспериментальные животные (белые беспородные крысы – самцы массой 180–220г), содержащиеся на обычном рационе в вивариуме, были разделены на 3 группы. Животные II и III опытных групп подвергались

воздействию шума уровнем 91дБА с максимальной энергией в области средних и высоких частот однократно в течение 2 ч (острый акустический стресс); животным III опытной группы за 1ч до начала воздействия шума внутрибрюшинно вводили ДСИП в дозе 12 мкг/100г массы тела. Интактные животные составили контрольную группу. Животных всех групп декапитировали под легким эфирным наркозом. Митохондрии печени выделяли по методу Schnaitman [12], ЭМ – по методу Limber [11]. Экстракция ФЛ из ацетоновых порошков ЭМ и митохондрий проводилась по методу [9] в модификации [4]. Фракционирование индивидуальных ФЛ осуществлялось с помощью одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля марки «КСК» в системе растворителей хлороформ:метанол:аммиак (65:35:5). Идентификация пятен ФЛ проводилась с помощью химически чистых свидетелей производства «Sigma» (США). Минерализация липидного фосфора осуществлялась в среде серной и азотной кислот с последующим пересчетом его содержания в мкг на 1мг ацетонового порошка [6]. Результаты подвергались статистической обработке с использованием программы SPSS.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований состава ФЛ ЭМ показали (табл.1), что в условиях воздействия шума происходят сдвиги в уровне отдельных представителей нейтральных ФЛ, наделенных, как известно, пластическими функциями, и кислых ФЛ, характеризующихся высокой степенью обменяемости [2, 4], в то время как суммарное количество нейтральных и кислых ФЛ практически не изменяется.

Так, в условиях воздействия шума происходит снижение уровня и фосфатидилхолинов (ФХ), фосфатидилэтаноламинов (ФЭА) и монофосфоинозитидов (МФИ) соответственно на 37, 22, 29%, однако содержание сфингомиелинов (СФМ), фосфатидилсеринов (ФС) и кардиолипидов (КЛ) повышается соответственно на 32, 5, 9%. Особенно значимыми, являются сдвиги в содержании лизофосфатидилхолинов (ЛФХ) в ЭМ: наблюдается значительное увеличение их содержания (+51%), что, возможно, связано как с повышением активности фосфолипазы A_2 с выбросом большого количества полиеновых жирных кислот в пул ПОЛ с

активацией процессов свободнорадикального окисления, так и активацией лецитин-холестерин-ацилтрансферазы. Известно, что ЛФХ образуют рыхлые структуры, что определяет их детергентное действие на биомембраны, и вследствие этого могут оказывать мембранотоксическое и мембранолитическое влияние [10]. Вместе с тем установлено, что ЛФХ образуются в клеточных мембранах под воздействием наружных сигналов и влияют на эффект, вызванный этими сигналами. В настоящее время ЛФХ относятся к группе вторичных посредников, образующихся при активации гормоночувствительной цитозольной фос-

Таблица 1

Количественный и качественный состав фосфолипидов (мкг липидного фосфора /мг ацетонового порошка ЭМ) эритроцитарных мембран крыс в условиях острого акустического стресса и на фоне введения ДСИП

Фосфолипиды	Контроль	Шум	Шум+пептид
Монофосфоинозитиды	0.52±0.01	0.37±0.01 $p<0.001$	0.62±0.004 $p_1<0.001$ $p_2<0.001$
Лизофосфатидилхолины	0.61±0.01	0.92±0.01 $p<0.001$	0.70±0.01 $p_1<0.001$ $p_2<0.001$
Сфингомиелины	1.25±0.07	1.65±0.1 $p<0.001$	1.41±0.12 $p_1<0.05$ $p_2<0.01$
Фосфатидилхолины	1.71±0.05	1.07±0.07 $p<0.001$	1.53±0.17 $p_1<0.1$ $p_2<0.005$
Фосфатидилсерины	0.88±0.01	0.92±0.01 $p<0.001$	0.91±0.01 $p_1<0.001$ $p_2<0.01$
Фосфатидилэтаноламины	0.51±0.01	0.40±0.01 $p<0.001$	0.45±0.01 $p_1<0.001$ $p_2<0.001$
Кардиолипиды	0.56±0.02	0.61±0.01 $p<0.001$	0.59±0.01 $p_1<0.005$ $p_2<0.01$
Сумма нейтральных ФЛ (СНФЛ)	4.08±0.08	4.04±0.12 $p<0.5$	4.09±0.26 $p_1<1$ $p_2<1$
Сумма кислых ФЛ (СКФЛ)	1.96±0.021	1.90±0.02 $p<0.002$	2.12±0.014 $p_1<0.001$ $p_2<0.001$
Суммарное количество ФЛ	6.04±0.09	5.94±0.13 $p<0.001$	6.21±0.3 $p_1<0.005$ $p_2<0.01$
СНФЛ/СКФЛ	2.08	2.13	1.93

Примечание. Здесь и в табл. 2 P_1 – достоверность по отношению к контролю, P_2 – достоверность по отношению к результатам соответствующей группы, подвергшейся воздействию шума без введения ДСИП.

фолипазы А₂. Таким образом, хотя нельзя считать механизм действия ЛФХ до конца выясненным, он занял прочное место в списке липидных вторичных мессенджеров и играет важную роль в механизмах регуляции [5].

На фоне введения ДСИП наблюдается тенденция приближения показателей к контрольным величинам, однако не все показатели сохраняют контрольный уровень. В частности, уровень ЛФХ хотя и значительно ниже по сравнению с данными животных, подвергающихся воздействию шума, тем не менее

продолжает оставаться выше контрольных величин (+14%). Подобная тенденция наблюдается в уровне СФМ, ФС и КЛ. Некоторые показатели, сниженные в условиях воздействия шума, на фоне введения ДСИП возрастают, превышая контрольные величины, в частности, уровень МФИ повышается на 19%. Уровни ФХ и ФЭА, выраженно сниженные в условиях воздействия шума, продолжают оставаться ниже контрольных значений, однако сдвиги менее выражены (на 10,5 и 12% соответственно).

Таблица 2

Количественный и качественный состав фосфолипидов (мкг липидного фосфора /мг ацетонового порошка сухого веса ткани) митохондриальной фракции печени крыс в условиях острого акустического стресса и на фоне введения ДСИП

Фосфолипиды	Контроль	Шум	Шум+пептид
Монофосфоинозитиды	0.61±0.01	0.79±0.04 p<0.001	0.53±0.01 p ₁ <0.001 p ₂ <0.001
Лизофосфатидилхолины	0.56±0.01	0.99±0.08 p<0.001	0.63±0.01 p ₁ <0.001 p ₂ <0.001
Сфингомиелины	0.71±0.01	0.71±0.01 p<1	0.71±0.01 p ₁ <1 p ₂ <1
Фосфатидилхолины	3.62±0.15	2.29±0.11 p<0.001	2.91±0.1 p ₁ <0.001 p ₂ <0.001
Фосфатидилсерины	1.3±0.09	1.17±0.12 p<0.1	1.51±0.16 p ₁ <0.05 p ₂ <0.005
Фосфатидилэтанолламины	1.68±0.06	1±0.1 p<0.001	2.32±0.1 p ₁ <0.001 p ₂ <0.001
Кардиолипиды	0.96±0.02	0.83±0.01 p<0.001	1.17±0.11 p ₁ <0.05 p ₂ <0.01
Сумма нейтральных ФЛ (СНФЛ)	6.57±0.14	4.99±0.14 p<0.001	6.57±0.08 p ₁ <1 p ₂ <0.001
Сумма кислых ФЛ (СКФЛ)	2.87±0.08	2.79±0.12 p<0.5	3.21±0.21 p ₁ <0.01 p ₂ <0.005
Суммарное количество ФЛ	9,44±0.12	7.78±0.20 p<0.001	9.78±0.2 p ₁ <0.05 p ₂ <0.001
СНФЛ/СКФЛ	2.29	1.79	2.05

Отношение суммы нейтральных фосфолипидов к сумме кислых фосфолипидов (СНФЛ/СКФЛ), не претерпевшее достоверных сдвигов у стрессированных животных, при введении ДСИП снижается ниже контрольных значений. Вероятно, это связано с формированием структуры мембран, менее подверженной ПОЛ. Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что ДСИП имеет регуляторное воздействие на содержание отдельных представителей ФЛ в ЭМ, оказывая мембраностабилизирующее влияние на структурное состояние ЭМ крыс в условиях воздействия шума. О мембраностабилизирующем воздействии ДСИП свидетельствуют и данные, полученные в условиях холодового стресса [7].

Анализ фосфолипидного состава митохондриальной фракции печени крыс (табл. 2) также выявил значительные изменения в условиях воздействия шума. Так, было отмечено резкое увеличение уровня ЛФХ (+77%). Подобные, однако менее выраженные сдвиги, наблюдаются и в содержании МФИ (+29%). Уровень же ФХ и ФЭА резко снижается соответственно на 37 и 41%. Эти данные коррелируют с данными, полученными нами ранее при изучении интенсивности ПОЛ в печени крыс [1].

Изучение уровня ФС и КЛ показало, что в условиях воздействия шума происходит незначительное снижение уровня ФС (на 10%) и КЛ (на 13,5%). Таким образом, в условиях острого акустического стресса происходит достоверное снижение СНФЛ (-24%, $P < 0.001$) митохондриальной фракции печени и соответ-

ственно коэффициента СНФЛ/СКФЛ.

Сдвиги в содержании ФЛ митохондриальных мембран печени отмечаются также в условиях воздействия шума на фоне предварительного введения ДСИП. Однако интенсивность изменений менее выражена, а направленность сдвигов в ряде случаев имеет противоположный характер. При этом уровень СФМ практически не изменяется как в условиях стресса, так и на фоне введения ДСИП, а уровень МФИ, повышенный у стрессированных животных, на фоне введения ДСИП ниже контрольных значений (-13%).

Изучение содержания ФС, ФЭА, КЛ показало, что предварительное введение ДСИП приводит к повышению их содержания соответственно на 16, 38 и 22%.

Таким образом, на фоне введения ДСИП уровень СНФЛ, сниженный в условиях воздействия шума, повышается до нормы, а уровень СКФЛ превышает контрольные значения (+12%), и соответственно наблюдается смещение коэффициента СНФЛ/СКФЛ в сторону контрольных величин.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что предварительное внутрибрюшинное введение ДСИП животным в условиях острого акустического стресса оказывает регуляторное воздействие на качественный и количественный состав фосфолипидов и на отношение СНФЛ/СКФЛ как в митохондриальной фракции печени, так и эритроцитарных мембранах.

Поступила 23.06.02

ԴՆԵՐԱ-ՔՐՈՆ ԽԱՐՈՑՈՂ ԱՆԱՄԻԴԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐԻՋ ԱՊՂԵԳՈՒՅՈՒՆՆԵՐ ԷՐԻՅՐՈՑԻՎԱՅԻՆ ԹԱՊԱՆՔՆԵՐԻ ԵՎ լՅԱՐՈՂԻ ՄԻԿՐՈՑՈՆՈՂԻՏՈՒՄՆԵՐԻ ՖՈՍՖՈԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԿԱԳՄԻ ՎՐԱ ԱՊՄԿԱՅԻՆ ՍՐՔԵՍԻ ԱՅԱՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Մ. Մ. ՄԵԼՔՈՆՅԱՆ, Լ.Մ. ԱՅԿԱԳՅԱՆ

Հետազոտված է դՆԵՐԱ-ՔՐՈՆ ԽԱՐՈՑՈՂ ԱՆԱՄԻԴԻ (ԴԶՀՊ) ազդեցությունը առնետների լյարդի միտոքոնդրիումների, էրիթրոցիտների ԹԱՊԱՆՔՆԵՐԻ ՂԻԿԵՐՈՒՄՈՒՄՆԵՐԻ (ՖԼ) ռադիկալ և քանակական կազմի վրա աղմկային սրբեսի պայմաններում (2 ժամյա աղմուկի ազդեցություն, 91 dBA):

Հետազոտությունների արդյունքները վկայում են ԴԶՀՊ-ի որոշակի կանխարգելիչ ազդեցության մասին սրբեսի պայմաններում առաջացող տեղաշարժերի վրա:

Correction of the phospholipids content of erythrocytes and liver mitochondrial membranes by the delta-sleep inducing peptide at acoustic stress conditions

M.M. Melkonyan, L.M. Ayvazyan

The effects of delta sleep-inducing peptide (DSIP) on the content of phospholipids (PL) in the rat erythrocyte membranes (EM) and liver mitochondrial fractions under acoustic stress (2-hour high level noise action, 91 dBA) conditions has been studied. The data obtained testify to

the preventive effect of the intraperitoneal administration of DSIP on the quantitative and qualitative contents of PL of erythrocyte membranes and liver mitochondrial fractions in experimental animals in conditions of acute acoustic stress.

Литература

1. Айвазян Л.М. Медицинская наука Армении, 2002, 2, с. 24.
2. Антонов В.Ф. В кн.: Липиды и ионная проницаемость мембран. М., 1982, с. 81.
3. Ерин А.Н., Гуляева Н.В., Никушкин Е.В. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1994, 10, с. 343.
4. Карагезян К.Г. В кн.: Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван, 1972.
5. Проказова Н.В., Звездина Н.Д., Коротаева А.А. Биохимия, 1998, т.63, 1, с.38.
6. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. Липидный и энергетический обмен (учебное пособие). Л., 1982, с.101.
7. Шустанова Т.А., Милутина Н.П., Бондаренко Т.И., Михалева И.И. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1999, т.128, 9, с.317.
8. Bondarenko T.I., Miliutina N.P., Shustanova T.A., Mikhaleva I.I. Ross. Fiziol. Zh. Im. Sechenova, 1999, Aug. 85, 8, p. 1080.
9. Folch J. J. Biol. Chem., 1942, 146, p. 35.
10. Jackson M.J., Jones D.A., Harris E.J. Biosci. Rep., 1984, 4, 7, p. 581.
11. Limber G.K., Roy Davis, Seymour Bakerman. Blood, 1970, 36, p. 111.
12. Schnaitman G., Ervin V., Greenwalt J. Cell. Biol., 1967, 32, p.719.
13. Schneider-Helmert D., Schoenenberger G.A. Trends. Neurosci., 1995, Apr. 18, 4, p.172.
14. Smith M., Jayanthi S., Kalpanadevi V., Varalakshmi P. Pharmacol. Res., 1993, 27, 4, p.309.
15. Sumathi R., Jayanthi S., Kalpanadevi V., Varalakshmi P. Pharmacol. Res. 1993, 27, 4, p. 309.