

Влияние галармина на интенсивность свободнорадикального перекисного окисления липидов при алюминиевой модели болезни Альцгеймера

А.Е. Закарян, М.И. Агаджанов, Г.А. Погосян, А.Г. Ашотян, К.Б. Енкоян, А.А. Галоян

ЕрГМУ, им. М. Гераци, каф. биохимии

ЕГУ, каф. биофизики

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА

375025, Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: свободнорадикальное перекисное окисление липидов, хемилюминесценция, мозг, нейропептид, болезнь Альцгеймера

Болезнь Альцгеймера (БА) является нейродегенеративным заболеванием, которое приводит к поражению нейронов и к почти полному нарушению межнейронных контактов [11]. В возникновении болезни принимают участие различные этиологические механизмы [12], в числе которых окислительный стресс является одним из ведущих [1].

Известно, что развитие целого ряда патологических состояний организма человека сопровождается активацией процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ), который рассматривается как универсальный механизм повреждения клетки [3]. В условиях патологии увеличивается вероятность одноэлектронного восстановления кислорода в дыхательной цепи митохондрий с образованием супероксид-аниона, который в паре с перекисью водорода и гидроксильным радикалом катализирует образование липидных радикалов из ненасыщенных жирных кислот [3]. Так, инициируется цепной процесс ПОЛ. Хотя его химические стадии хорошо известны, их место и роль в патогенезе повреждений мозговой ткани при окислительном стрессе до конца не выявлены. Окислительный стресс, характеризующийся совокупностью метаболических, структурно-функциональных сдвигов в биомембранах, клетках и тканях, индуцированных повышенным уровнем реактивных разновидностей кислорода и липидных перекисей, адекватно регистрируется высокочувствительным и информативным методом хемилюминесценции (ХЛ), позволяющим регистрировать сверхслабое свечение тканей, сопровождающее химические реакции [3]. Ранее нами было показано, что пролинбогатый полипептид, выделенный из бычьего гипоталамуса и расщипованный А.А. Галояном

(галармин) [9], оказывает при алюминиевом нейротоксикозе иммуномодулирующее, нейропротекторное действие [8].

Целью настоящей работы явилось изучение влияния пролин-богатого полипептида – галармина на интенсивность спонтанной ХЛ гомогенатов различных органов и плазмы крови крыс при экспериментальной алюминиевой модели БА.

Материал и методы

В экспериментах использовали 36 крыс обоего пола массой 150–180 г. Экспериментальную модель БА создавали путем двукратного подкожного введения 0,2 мл 10%-го раствора $AlCl_3$. Животных разделяли по половому признаку. И самок, и самцов подразделяли на следующие 3 группы: I – контрольная группа (интактные животные), II – опытная группа с введением $AlCl_3$, III – опытная группа – на 4-е сутки после введения $AlCl_3$ крысам внутрибрюшинно вводили галармин в дозе 5 мг. Забой животных производили на 8-е сутки после введения $AlCl_3$. Исследованию подвергали плазму крови и внутренние органы (гипофиз, гипоталамус, тимус, надпочечники, яичники, матка, семенники) и готовили 10%-й гомогенат в 50 мМ Трис-НCl, 0,1 М KCl буфере (pH 7,4). Спонтанную ХЛ гомогенатов и плазмы крови измеряли на установке [7], предназначенной для измерения интенсивности возникающего в результате свободнорадикальных реакций сверхслабого свечения биологических объектов в области спектра 200–265 нм [4].

Результаты и обсуждение

Результаты исследований свидетельствуют, что все исследуемые образцы обладают определенной интенсивностью спонтанной ХЛ, причем наибольшая интенсивность как у самок, как и у самцов регистрируется в тимусе (табл. 1, 2).

Таблица 1

Интенсивность спонтанной ХЛ ($\text{имп}/10 \text{ сек}$) гомогенатов внутренних органов и плазмы крови крыс-самцов при алюминиевом нейротоксикозе на фоне введения галармина

Объект исследования	Контроль	AlCl_3	AlCl_3 + галармин
Гипофиз	334,57±27	594,13±42	533,6±37,8
Гипоталамус	507,65±37	617,21±40	527,92±35,6
Тимус	623,61±53	1453,13±119	1392,5±105
Надпочечник	371,53±31	622,37±42,7	507,15±39
Семенники	336,71±29	743,05±58,1	449,8±34,6
Плазма крови	269±15,5	303±25	332,5±27

Наименьшее значение интенсивности спонтанной ХЛ у самцов выявлено в гипофизе и семенниках, а у самок в гипофизе и надпочечниках. Интенсивность спонтанной ХЛ плазмы крови не различалась по половому признаку и составляла $270 \pm 16 \text{ имп}/10 \text{ сек}$ при темновом фоне установки $200 \pm 10 \text{ имп}/10 \text{ сек}$.

Регистрируемые различия в интенсивности спонтанной ХЛ для различных органов и структур мозга, по-видимому, можно объяснить качественными и количественными различиями состава липидов этих органов [4]. Однако, на наш взгляд, заслуживает внимания тот факт, что наибольшей интенсивностью спонтанной ХЛ у животных обоего пола отличаются тимус и гипоталамус – наиболее активные органы иммунорегуляции.

Как показали результаты проведенного ХЛ-анализа, после введения AlCl_3 во всех исследуемых органах резко повышается интенсивность спонтанной ХЛ как у самцов, так и у самок (табл. 1, 2, рис.). У

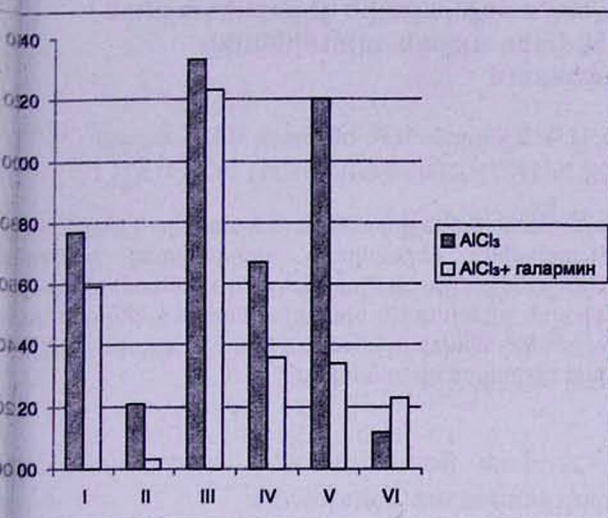
самцов большее увеличение имело место в тимусе – в 2,3 раза, семенниках – в 2,2, гипофизе – в 1,8, надпочечниках – в 1,6 раза по сравнению с контролем. У самок с алюминиевым нейротоксикозом интенсивность спонтанной ХЛ возрастала в тимусе в 1,7 раза, яичниках – 2,5, матке – 1,5, гипофизе – 1,3, гипоталамусе – 1,2 раза. Интенсивность спонтанной ХЛ плазмы крови у крыс-самцов с AlCl_3 увеличивалась на 12%, а у самок – не менялась. Приведенные данные свидетельствуют об активном вовлечении тимуса гипоталамуса и гипофиза, а также органов половой

Таблица 2

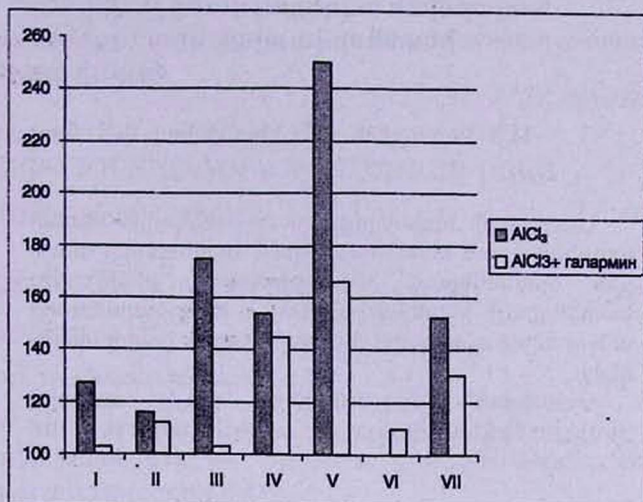
Интенсивность спонтанной ХЛ ($\text{имп}/10 \text{ сек}$) гомогенатов внутренних органов и плазмы крови крыс-самок при алюминиевом нейротоксикозе на фоне введения галармина

Объект исследования	Контроль	AlCl_3	AlCl_3 + галармин
Гипофиз	271,15±18	344,8±28,1	279,94±18
Гипоталамус	513,84±34,1	596,8±43,4	576,81±38,5
Тимус	647,5±56	1129±98,7	668,15±58
Надпочечник	290,2±20	448,8±35,6	422,09±31,3
Яичники	381,54±29,1	958,56±76,6	634,1±53,9
Матка	419,57±32,3	641,3±0,853	547,6±36,7
Плазма крови	270±16	269±15	298,8±20

сферы в развитие процессов адаптации к стрессовому воздействию – алюминиевому токсикозу. Подобные изменения могут быть как следствием изменения количества и качества фосфолипидов (с участием процессов их деацилирования активными фосфолипазами), так и повышения активности свободнорадикального окисления с ростом интенсивности липидной перекисидации. Роль металлов переменной валентности в процессах перекисидации известна [3,6,7]. Установлено, что интенсивность свечения сопровождающего процесс ПОЛ, зависит от количества пероксильных радикалов ($\text{RO}_2^\cdot$) ненасыщенных жирных кислот, образующихся в реакционной среде [2]. Наблюдаемое нами увеличение интенсивности спонтанной ХЛ во всех органах свидетельствует об интенсификации образования $\text{RO}_2^\cdot$ радикалов как вследствие алюминиевого токсикоза, так и, вероятно, в результате непосредственного действия ионов Al , стимулирующий эффект которых на перекисидацию липидов доказан [9].



А



Б

рис. Интенсивность спонтанной ХЛ (в % от контроля) органов крыс-самцов (А) и самок (Б) при алюминиевом нейротоксикозе и при сочетанном введении галармина.

I – гипофиз; II – гипоталамус; III – тимус; IV – надпочечники; V – семенники, яичники; VI – плазма крови; VII – матка

Далее нами исследовано влияние гипоталамического нейропептида – галармина на интенсивность ХЛ изучаемых органов (табл. 1, 2, рис.). Введение галармина на фоне усиленной алюминиевым токсикозом ХЛ сопровождалось тенденцией к нормализации интенсивности процесса во всех органах. Так, интенсивность спонтанной ХЛ гипофиза у крыс-самцов II опытной группы составляла $594,13 \pm 42$, а после введения галармина снижалась до $533,6 \pm 37,8$ $\mu\text{мг}/10$ сек, ставаясь выше контрольного уровня в 1,6 раза. В гипофизе крыс-самок после воздействия нейропептида наблюдалась почти полная нормализация ХЛ.

Введение галармина незначительно снижало интенсивность спонтанной ХЛ тимуса самцов, однако у самок уровень ХЛ при этом нормализовался (рис.). Галармин снижал интенсивность спонтанной ХЛ почти до контрольных значений в гипоталамусе самцов и самок, а также в гипофизе и тимусе у самок. Это свидетельствует об адаптационном, антиоксидантном

воздействии нейропептида, его регулирующем влиянии на ПОЛ и активность фосфолипаз.

На основании проведенных исследований можно сделать заключение: ХЛ дает интегральную информацию о состоянии процессов пероксидации в различных органах при алюминиевом нейротоксикозе и служит чувствительным тестом для оценки динамики этих процессов под влиянием галармина. Исследуемый нейропептид на фоне экспериментальной модели БА, несомненно, обладает протекторным действием как за счет его иммуномодулирующего эффекта [8], так и регуляции антиоксидантной и/или антирадикальной активности [2], приводя к нормализации процессов ПОЛ. Однако механизм действия нейропептида на фоне алюминиевого нейротоксикоза требует дальнейшего изучения.

Поступила 15.11.02

Գալարմինի ազդեցությունը լիպիդների ազատ ռադիկալային գերօքսիդացման ինստենսիվության վրա Ալցհեյմերի հիվանդության ալյումինային մոդելի պայմաններում

Ա.Ե. Զաքարյան, Մ.Ի. Աղաջանով, Գ.Ն. Պողոսյան, Ա.Գ. Աշոտյան, Կ.Բ. Ենկոյան, Ա.Ա. Գալոյան

Ալցհեյմերի հիվանդության ալյումինային մոդելի պայմաններում ուսումնասիրվել է առնետների տարբեր օրգաններում ինքնաբերական քեմիլյումինեսցենցիայի ինտենսիվությունը և հիպոթալամուսից անջատված գալարմին մեյոթալապտիկ կարգավորիչ դերը:

Ստացված արդյունքները ցույց տվեցին քեմիլյումինեսցենցիայի առավելագույն . աճ

քիմուսում, մակերկամներում և սեռական գեղձերում: Գալարմինի ներարկումը կարգավորեց քեմիլյումինեսցենցիայի մակարդակը էգ առնետների հիպոֆիզում, քիմուսում և հիպոթալամուսում, ինչպես նաև արյունների հիպոթալամուսում և որոշակիորեն իջեցրեց այն սեռական օրգաններում:

Influence of galarmin on the lipid free radical peroxidation intensity at aluminium model of Alzheimer's disease

A.Ye. Zakaryan, M.I. Aghajanyan, G.H. Poghosyan, A.G. Ashotyan, K.B. Yenkyan, A.A. Galoyan

On the aluminium model of Alzheimer's disease the intensity of spontaneous chemiluminescence and the regulatory effect of isolated from hypothalamus neuropeptide galarmin in different organs of rats were studied. The data obtained showed increase in chemiluminescence in thymus, adrenal and sexual glands. The administration of

galarmin normalized the level of chemiluminescence in female rats hypophysis, thymus and hypothalamus as well as in male hypothalamus, and definitely lowered it in genital organs.

Լիտերատուրա

1. Աղաջանով Մ.Ի., Վաղրադյան Ա.Գ. Вопр. теорет. и клин. мед., 1999, т. 2, 12 (19), с. 8.
2. Աղաջանով Մ.Ի., Վաղրադյան Ա.Գ., Սիմոնյան Մ. Ա., Գալոյան Ա.Ա. Нейрохимия, 17, 4., с. 294.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
4. Закарян А.Е., Цагикян А.Р., Погосян Г.А., Паносян Г.А. Биол. ж. Армении. 1990, 43, 1, с. 51.
5. Кагава Я. Биомембраны. М., 1985.
6. Кухтина Е.И., Глуценко Н.Н. Биохимия, 1996, 61, 6, с. 993.
7. Погосян Г.А., Дремина Е.С., Шаров В.С., Закарян А.Е., Паносян Г.А., Владимиров Ю.А. Биофизика, 1996, 41, 2, с. 342.
8. Aghajanyan M.Y., Zilfyan A.V., Simonyan M.A., Vahradyan A.G., Ashotyan A.S., Galoyan A.A. The protective action of prolin-rich polypeptide aluminous neurotoxicosis. The 18-th Internat. Conf. of Alzheimer's disease, Int. Abstract Book, Barselona, 2002, p. 152.
9. Galoyan A. Neurochem. Res., 2000, 25, 9/10, p. 1343.
10. Oteiza P. Arch. Biochem. and Biophys., 1994, 304, 2, p. 374.
11. The Molecular Biology of Alzheimer's Disease and Animal Models; Route to the Development of New Therapies Neurobiology of Aging. 1998. 19 (1 Suppl.) S1-S108.
12. Vladimirov Y.A. Free Radicals. Aging and Degenerative Disease. N.Y., 1986.