

16. Lee K. J., Witt P. D. A clinical study of the coagulation time of blood // Amer. J. Med. Sci.—1913.—145.—P. 495—503.
17. Lowe G. D. O., Douglas J. T., Small M. et al. Evidence for plasmin-mediated fibrinolysis after release of tissue plasminogen activator by desmopressin infusion // Thromb. and Haemostasis.—1987.—58, N 1, abstr. 1914.—P. 518.
18. Nilsson I. M., Holmberg L., Aberg M., Vilhardt H. The Release of Plasminogen Activator and Factor VIII after Injection of DDAVP in Patients with von Willebrands Disease // Scand. J. Haematol.—1980.—24.—P. 351—359.
19. Rankin A. J., Kelpin B. G., Courneya C. A. et al. Plasma vasopressin to haemorrhage in the anaesthetized rabbit // Canad. J. Physiol. Pharmacol.—1986.—64, N 7.—P. 904—908.
20. Schnek S., Kaulla K. Fibrinolysis and nervous system // Neurology.—2, N 11.—P. 959—969.
21. Sladek C. D., Knigge K. M. Cholinergic stimulation of vasopressin release from the rat hypothalamo-neurohypophyseal system // Endocrinology.—1987.—10, N 101.—P. 411—420.
22. Tornebohm E., Bratt G., Granovist S. et al. A pilot study desmopressin (DDAVP) in the treatment of deep venous thrombosis // Thromb. Res.—1987.—45, N 5.—P. 635—644.
23. Vilhardt H., Barth T., Falch J., Nilsson J. Plasma concentration of factor VIII after administration of DDAVP to conscious dogs // Ibid.—47, N 4.—P. 585—591.

Моск. ун-т

М-ва высш. и сред. спец. образования СССР

Материал поступил в редакцию 30.11.88

УДК 612.015.391+616.45—001.1/.3

Т. А. Девяткина, В. В. Бречко, Л. М. Тарасенко, И. Н. Звягольская,
Ю. В. Безуглый, И. Р. Ритума, В. Е. Клуша

Коррекция перекисного окисления липидов при стрессе пептидным биорегулятором тимопентином

Известно, что ряд пептидных биорегуляторов (ригин, тафцин, тимопентин, пептид дельта-сна) обладает стресспротективным действием. В стрессовой ситуации они регулируют катехоламин-, серотонинергические [5, 11, 17] и ГАМК-эргические системы головного мозга и надпочечников [21]. Естественными механизмами, ограничивающими стрессовые реакции и объединяемыми общим понятием стресслимитирующие системы [14], являются тормозные системы головного мозга (ГАМК-, глицин- и тауринергическая), системы простагландинов и опиоидных пептидов, а также физиологическая антиоксидантная система [2, 3, 8, 14, 15]. Функциональное состояние последней в значительной мере определяет интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и их повреждающее влияние в экстремальных условиях [3, 10, 14, 15].

Стресс сопровождается усиленной деградацией белка, в том числе предшественников пептидных гормонов [11]. Иммунопротеины, в частности тимусный гормон тимозин, служат предшественниками коротких пептидов, принадлежащих к классу нейроиммунорегуляторов. Активным центром тимозина является пентапептид тимопентин (Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-OH) [21]. В связи с обнаружением тимусных гормонов в мозгу можно, по-видимому, рассматривать их как эндогенные адаптационные факторы, нейромодулирующий эффект которых реализуется на пре- и постсинаптических уровнях [12, 21]. В стрессовой ситуации тимопентин нормализует содержание ГАМК в коре мозга и гиппокампе, оказывая влияние на ГАМК-бензодиазепинрецепторный комплекс, увеличивает содержание серотонина и предупреждает индуцированное стрессом уменьшение содержания норадреналина в гипоталамусе и стриатуме, участвующих в формировании стрессовой реакции [11, 21].

Действие пептидных биорегуляторов, в том числе тимопентина, на физиологическую антиоксидантную систему не исследовано. Поэтому цель нашей работы — изучение влияния тимопентина на состояние антиоксидантной системы и ПОЛ при стрессе.

Методика

Опыты проведены на 45 крысах-самцах линии Вистар массой 250—300 г. Животных распределили на четыре группы: 1-я — интактные животные, 2-я — введение тимопентина (100 мкг/кг, внутрибрюшинно), 3-я — острый стресс, воспроизводимый иммобилизацией с погружением в воду (22 °C) на 3 ч, 4-я — введение тимопентина за 20 мин до воздействия стрессовым фактором.

Крыс забивали под гексеналовым наркозом. Выраженность стресса определяли по ulcerогенному влиянию на слизистую оболочку желудка [6], а также по относительной массе тимуса и надпочечников. ПОЛ и активность антиоксидантной системы оценивали по перекисному гемолизу [20], содержанию ацилгидроперекисей в β - и пре- β -липопротеинах сыворотки крови [9], кинетике накопления вторичных интермедиатов ПОЛ по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой в тканях — ТБК-активных продуктов [7], а также по активности супероксиддисмутазы (СОД) [4] и содержанию аскорбиновой кислоты и ее восстановленной фракции [16].

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критерия t Стьюдента и непараметрического критерия — точного метода Фишера (ТМФ).

Результаты и их обсуждение

Под влиянием стресса у 11 из 13 крыс наблюдались изъязвления слизистой оболочки желудка, снижение относительной массы тимуса и надпочечников (на 18,5 и 14,5 % соответственно). Соматические изменения в этих условиях сопровождались активацией ПОЛ крови, о чем свидетельствуют понижение в 1,6 раза перекисной резистентности мембран эритроцитов и достоверное увеличение содержания ацилгидроперекисей в β - и пре- β -липопротеинах сыворотки крови по сравнению с соответствующими показателями интактных крыс (табл. 1).

Таблица 1. Влияние тимопентина на показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов тканей крыс, подвергнутых стрессу ($M \pm m$)

Группа животных (условие опыта)	Перекисный гемолиз, %	Ацилгидро- перекиси β - и пре- β - ли- попротеидов сыворотки крови, ед/мл	Супероксид- дисмутаза крови, ед/мл	Аскорбиновая кислота в мозгу, ммоль/кг	
				общая	восстановлен- ная
1-я (интактные)	7,0 $\pm$ 0,72 (9)	9,5 $\pm$ 0,45 (7)	3,28 $\pm$ 0,328 (9)	1,63 $\pm$ 0,064 (9)	1,32 $\pm$ 0,081 (9)
2-я (стресс)	11,0 $\pm$ 1,08*	11,4 $\pm$ 0,66*	4,60 $\pm$ 0,434*	1,21 $\pm$ 0,047 (10)	0,76 $\pm$ 0,067* (10)
3-я (тимопентин)	8,0 $\pm$ 0,89 (10)	10,6 $\pm$ 0,36 (10)	3,62 $\pm$ 0,492 (9)	1,57 $\pm$ 0,061 (10)	1,22 $\pm$ 0,105 (10)
4-я (стресс и тимопентин)	8,0 $\pm$ 0,77** (11)	11,0 $\pm$ 0,29 (9)	3,30 $\pm$ 0,386** (10)	1,50 $\pm$ 0,087 (11)	1,15 $\pm$ 0,074** (11)

Примечание. Здесь и в табл. 2 в скобках указано число животных; * и ** — достоверные различия между 1-й и 2-й и 2-й и 4-й группами животных соответственно.

Усиление ПОЛ крови под влиянием стресса сопровождалось повышением активности СОД — ведущего клеточного фермента антиоксидантной системы и уменьшением в головном мозгу количества общей и восстановленной аскорбиновой кислоты по сравнению с соответствующими показателями интактных животных. Индукция СОД на фоне активации ПОЛ — специфический механизм, который играет основную роль в устойчивости организма к супероксидному анион-радикалу O_2^- [13, 19].

Ослабление антиоксидантной защиты в условиях стресса сопровождалось усилением железоаскорбатзависимого перекисного окисления (ПО) в мозгу, о чем свидетельствует динамика накопления ТБК-активных продуктов; к 3-му часу инкубации в гомогенате ткани достоверно повышалось их содержание (табл. 2). Такой характер ПОЛ

Таблица 2. Влияние тимопентина на кинетику накопления ТБК-активных продуктов

Группа животных (условие опыта)	Мозг			Сердце
				Время инкубации,
	0	90	180	0
1-е (интактные)	13,3±3,86 (8)	40,0±6,08 (8)	42,4±3,06 (8)	15,9±3,02 (8)
2-я (стресс)	18,5±2,66 (9)	50,5±4,45 (9)	53,7±3,63* (9)	9,2±1,43 (10)
3-я (тимопентин)	9,3±1,44 (9)	36,8±2,14 (9)	43,0±2,82 (9)	12,4±2,77 (9)
4-я (стресс и тимопентин)	6,2±0,47** (8)	34,5±1,44** (8)	41,8±1,47** (8)	9,2±1,63 (11)

отражает потенциальную способность ткани к пероксидации. Аналогичная направленность изменений ПОЛ наблюдалась в печени крыс, подвергнутых стрессу: скорость накопления вторичных продуктов ПО во все исследуемые интервалы значительно превышала таковую у интактных животных. Через 1,5 ч инкубации процент прироста ТБК-активных продуктов в гомогенате ткани интактных и подвергнутых стрессу животных составил 281 и 371 % соответственно, через 3 ч — 265 и 457 % по отношению к значению исходных показателей, принятому за 100 % (см. табл. 2). В сердечной мышце не наблюдалось существенных изменений пероксидации.

Предварительное введение тимопентина крысам, подвергнутым стрессу, вызывало уменьшение множественности язвенных поражений слизистой оболочки желудка на 27 % (число язв на одну крысу в подопытной и контрольной группах — $4,7 \pm 1,57$ и $6,56 \pm 1,51$ соответственно, $P < 0,05$ по непараметрическому критерию ТМФ). В этих условиях наблюдалась также нормализация относительной массы тимуса и надпочечников.

Стресспротективный эффект тимопентина на соматические нарушения сочетался с его протекторным действием на состояние антиоксидантной системы и ПОЛ в тканях. Под влиянием тимопентина в крови крыс, подвергнутых стрессу, наблюдались повышение устойчивости мембран эритроцитов к перекисному гемолизу и нормализация активности СОД. Однако тимопентин не оказал существенного влияния на содержание ацилгидроперекисей в β - и пре- β -липопротеинах сыворотки крови (см. табл. 1). Следовательно, тимопентин проявил стабилизирующий эффект в отношении эритроцитарных мембран и, регулируя активность СОД в крови, ослабил повреждающее действие свободных радикалов кислорода.

Тимопентин оказывал нормализующее влияние на исследуемые показатели в головном мозгу крыс, подвергнутых стрессу. Пептид тормозил снижение содержания аскорбиновой кислоты и ее восстановленной фракции (см. табл. 1), а также предупреждал накопление ТБК-активных продуктов (см. табл. 2). В отличие от головного мозга в миокарде и печени тимопентин не проявил существенного влияния на пероксидацию.

Обсуждая возможные механизмы защитного действия тимопентина в отношении мембран эритроцитов, следует отметить, что резистентность последних к перекисному гемолизу находится в прямой зависимости от содержания в них токоферола [20]. По-видимому, тимопентин оказывает стабилизирующее влияние на клеточные мембраны посредством сохранения биологической активности токоферола.

Стресспротективный эффект тимопентина на ПОЛ в мозгу можно связать с его модулирующим влиянием на катехоламин- и серотонинергические системы [11]. Согласно данным Балаклеевского и соавт. [1], активация ПОЛ в мембранах мозга ослабляет регуляторные влияния

(мкмоль/кг) в тканях крыс, подвергнутых стрессу ($M \pm m$)

Сердце		Печень		
мин				
90	180	0	90	180
34,4±8,80 (8)	36,5±12,05 (8)	13,0±1,67 (8)	36,5±5,10 (8)	34,5±4,14 (8)
18,5±4,36 (10)	23,8±4,49 (10)	5,1±1,83* (8)	18,9±2,96* (10)	23,3±2,59* (8)
18,3±3,87 (8)	26,2±4,35 (8)	12,7±1,68 (8)	32,69±4,85 (8)	31,3±4,69 (8)
14,5±1,66 (10)	21,1±1,73 (9)	7,7±1,12 (11)	21,2±1,67 (11)	23,6±1,74 (10)

катехоламинов и серотонина на перекисидацию в мозгу. Реализуемые через α -адрено- и дофаминорецепторы регуляторные эффекты катехоламинов на активность Na-K-АТФазы, моноаминоксидаз и сукцинатдегидрогеназы зависят от ПОЛ мембран мозга. Они устраняются и даже извращаются при значительном повышении или угнетении ПОЛ [1]. Можно полагать также, что тимопентин предотвращает повышенную под действием стресса утилизацию аскорбата, участвующего в синтезе катехоламинов [18]. Как известно, аскорбиновая кислота — важнейшее звено антирадикальной цепи физиологической антиоксидантной системы, осуществляющее поток водорода от фонда НАДФН — НАДН к токоферолу и полифенолам, восстанавливающим свободные радикалы [9].

Таким образом, проведенные исследования расширяют представления о механизме антистрессового действия тимопентина. Наряду с действием на ведущие звенья регуляторных систем при стрессе [11, 21] тимопентин реализует защитное влияние также с участием физиологической антиоксидантной системы, ингибирующей стрессовую активацию ПОЛ в тканях. Полученные результаты обосновывают принципиальную возможность коррекции пептидными биорегуляторами функции антиоксидантной системы и перекисидации в экстремальных состояниях.

CORRECTION OF LIPID PEROXIDATION UNDER STRESS BY THYMOPENTIN, A PEPTIDE BIOSTIMULATOR

T. A. Devyatkina, V. V. Breshko, L. M. Tarasenko, I. N. Zvyagolskaya,
Yu. V. Bezugly, I. R. Rituma, V. E. Klusha

Experiments on rats subjected to acute stress have revealed protective effect of thymopentin pentapeptide on somatic disorders and the state of the antioxidation system and the processes of lipid peroxidation in blood and brain.

Medical Stomatological Institute, Poltava; Institute of Organic Synthesis,
Academy of Sciences of the Latvian SSR, Riga

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балаклеевский А. И., Смелянская Г. Н., Гурко И. Г. и др. Роль фосфолипидов и перекисного окисления липидов в механизме рецепции и регуляторного влияния медиаторов и нейротропных соединений на активность ферментов в мембранах мозга // 10-я Всесоюз. конф. по биохимии нерв. системы. Фундаментальные достижения нейробиологии — медицине. Тез. докл. — Горький, 1987. — С. 95.
2. Балицкий К. П., Шмалько Ю. П. Стресс и метастазирование злокачественных опухолей. — Киев : Наук. думка. — 1987. — 244 с.
3. Бондаренко Н. А., Девяткина Т. А., Воскресенский О. Н., Вальдман А. В. Роль физиологической антиоксидантной системы в развитии адаптационного синдрома при эмоциональном стрессе // Нервные и гуморальные механизмы компенсации в условиях действия патогенных факторов. — Запорожье, 1985. — С. 16.
4. Брусов О. С., Герасимов А. М., Панченко Л. Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1976. — 81, № 1. — С. 33—35.