

# ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ УРОВНЕМ ПОЛ И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ В БАЗАЛЬНЫХ ЯДРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

И.Ю.Сопова, И.И.Заморский

*Буковинская государственная медицинская академия, Черновцы*

Изучали влияние мелатонина на взаимосвязь между уровнем ПОЛ и протеолитической активностью в базальных ядрах (хвостатое ядро, бледный шар, амигдаларный комплекс, прилежащее ядро перегородки) головного мозга крыс в условиях острой гипобарической гипоксии. Под действием острой гипоксии в базальных ядрах наблюдали как усиление ПОЛ, так и увеличение протеолитической активности, причем протеолиз был более активен в структурах (прилежащее ядро перегородки, бледный шар), в которых значительно возросло ПОЛ. Предварительное введение мелатонина (1 мг/кг массы внутривнутрино) за 30 мин до моделирования острой гипоксии снижало интенсивность ПОЛ и предотвращало повышение протеолиза в базальных ядрах головного мозга. Эффект мелатонина проявлялся сильнее в более чувствительных к воздействию острой гипоксии структурах базальных ядер.

**Ключевые слова:** мелатонин, базальные ядра, перекисное окисление липидов, протеолиз, острая гипобарическая гипоксия

В условиях острой гипоксии активизируются процессы ПОЛ [5]. Одним из последствий усиления образования продуктов ПОЛ является повышение активности мембранолокализованных ферментов [2], к которым относятся и протеолитические ферменты, а увеличение активности последних оказывает повреждающее действие на клетки вплоть до их гибели [6].

Наличие взаимосвязи между ПОЛ и протеолизом обуславливает возможность использования в качестве корректора этих процессов мелатонина, который, являясь достаточно сильным антиоксидантом [4,7], непосредственно воздействует на интенсивность ПОЛ, в результате чего может также влиять и на протеолиз.

Целью работы стало выявление связи между уровнем ПОЛ и протеолитической активностью в условиях острой гипоксии и изучение влияния мелатонина на данную взаимосвязь в базальных ядрах головного мозга.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 5-6-недельных белых беспородных крысах-самцах ( $n=48$ ). Животные были

разделены на 3 группы: контрольную и две опытные. В 1-й опытной группе моделировали гипоксию, во 2-й — перед гипоксией вводили мелатонин. Острую гипоксическую гипоксию моделировали в модифицированной проточной барокамере путем имитации подъема крыс на высоту 12 000 м. Мелатонин вводили внутривнутрино в 0.1% растворе этанола в дозе 1 мг/кг за 30 мин до моделирования гипоксии. Через 30 мин после прекращения действия острой гипоксии животных декапитировали.

Для исследования из головного мозга извлекали хвостатое ядро (*n. caudatus*), бледный шар (*globus pallidus*), прилежащее ядро перегородки (*n. accumbens*), амигдаларный комплекс (миндалину, *amygdala*). Гомогенаты мозга готовили в 0.05 М трис-НСI буфере (рН 7.4). Навески структур получали путем объединения проб от двух животных.

Уровень процессов ПОЛ оценивали по содержанию его первичных продуктов — диеновых конъюгатов (ДК) и вторичных — МДА [3]. Состояние протеолитической активности (ПРА) определяли по реакции с азосоединениями. При этом определяли интенсивность протеолиза по азоальбумину, азоказеину и азоколу [1].

Результаты обрабатывали методом вариационной статистики с использованием *t* критерия

*Адрес для корреспонденции:* iz@msa.cv.ua. Заморский И.И.

Стьюдента. Характер и направление изменений показателей оценивали с помощью коэффициентов корреляции (корреляция Спирмена) в программе “Statistica 5.1”.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При острой гипоксии в базальных ядрах наблюдались значительные изменения содержания показателей ПОЛ и ПРА (табл. 1, 2). Под действием гипоксии увеличивалось содержание как первичных, так и вторичных продуктов ПОЛ (табл. 1). Однако, если содержание ДК изменялось в пределах 21.7-55.0% (в хвостатом ядре оно сохранялось на уровне контроля), то концентрация МДА, являющегося стабильным продуктом, увеличивалась в 1.5-1.9 раза во всех исследуемых структурах.

Аналогично в условиях острой гипоксии в базальных ядрах головного мозга возрастала ПРА.

В наибольшей степени у животных, перенесших острую гипоксию, увеличивалась активность ферментов, расщепляющих коллаген: в прилежащем ядре перегородки на 65.1%, в хвостатом ядре — на 59.3%, в амигдале — на 153.7%, а в паллидуме — в 5 раз (от  $1.810 \pm 0.177 E_{440}/(ч \times г \text{ ткани})$  в контроле до  $9.28 \pm 2.01 E_{440}/(ч \times г \text{ ткани})$  у постгипоксических животных). Лизис альбумина и казеина после гипоксии возрастал значительно в отдельных ядрах. Так, альбуминрасщепляющая активность ферментов нервных клеток при гипоксии увеличивалась на 31.6-53.0% (*n. accumbens, globus pallidus, amygdala*). Увеличение ПРА, определяемое по гидролизу казеина, наблюдалось в прилежащем ядре перегородки (на 20.2%) и паллидуме (на 52.6%).

Таким образом, под влиянием острой гипоксии в базальных ядрах головного мозга наблюдалось как усиление ПОЛ, так и увеличение протеолиза, причем ПРА увеличивалась наиболее

**Таблица 1.** Влияние мелатонина на содержание продуктов ПОЛ в базальных ядрах мозга крыс при острой гипоксии ( $M \pm m$ ;  $n=6-8$ )

Продукт ПОЛ; группа животных		Структура мозга			
		<i>n. accumbens</i>	<i>n. caudatus</i>	<i>globus pallidus</i>	<i>amygdala</i>
ДК, мкмоль/г ткани	контроль	231.30±24.55	254.20±21.59	175.10±14.05	195.50±14.72
	гипоксия	358.50±32.74*	247.60±23.17	229.90±13.03*	237.80±26.46*
	мелатонин+гипоксия	308.60±20.14**	297.20±22.73**	285.00±23.64**	277.4±14.1**
МДА, мкмоль/г ткани	контроль	140.10±4.85	131.20±6.53	126.90±9.01	96.20±4.49
	гипоксия	261.70±10.94*	195.90±8.87*	187.30±5.87*	161.20±18.74*
	мелатонин+гипоксия	162.60±7.33**	152.50±7.32**	157.2±5.4**	139.80±7.59**

\*Примечание. Здесь и в табл. 2:  $p < 0.05$  по сравнению \*с контролем, \*с гипоксией.

**Таблица 2.** Влияние мелатонина на ПРА в базальных ядрах мозга крыс при острой гипоксии ( $M \pm m$ ;  $n=6-8$ )

Интенсивность протеолиза; группа животных		Структура мозга			
		<i>n. accumbens</i>	<i>n. caudatus</i>	<i>globus pallidus</i>	<i>amygdala</i>
По альбумину $E_{440}/(ч \times г \text{ ткани})$	контроль	102.57±16.50	106.47±11.83	79.78±8.63	55.107±3.720
	гипоксия	135.34±12.23*	92.54±6.80*	122.08±10.64*	72.50±6.46*
	мелатонин+гипоксия	90.94±11.90**	74.11±9.55**	65.57±6.22**	51.17±3.34*
По казеину $E_{440}/(ч \times г \text{ ткани})$	контроль	108.50±10.08	78.04±9.74	65.250±3.021	50.73±6.24
	гипоксия	130.37±10.62*	87.99±6.03	99.55±13.04*	47.68±4.19
	мелатонин+гипоксия	88.01±9.67**	65.87±9.07*	47.36±4.95**	41.36±3.11
По коллагену $E_{440}/(ч \times г \text{ ткани})$	контроль	2.920±0.579	3.100±0.307	1.810±0.177	1.620±0.219
	гипоксия	4.820±0.572*	4.930±0.721*	9.28±2.01*	4.11±0.64*
	мелатонин+гипоксия	4.210±0.235*	4.310±0.527*	3.620±0.311**	2.920±0.171**

выраженно в тех структурах, в которых значительно возрос уровень ПОЛ, что свидетельствует о тесной взаимосвязи между ПОЛ и активностью протеолитических ферментов. Это подтверждается значительным числом корреляционных связей, выявленных между изменениями показателей ПОЛ и ПРА в базальных ядрах головного мозга под влиянием гипоксии. Все эти корреляции являются положительными (при гипоксии интенсификация ПОЛ приводит к увеличению активности протеолитических ферментов). Коэффициенты корреляции находились в пределах 0.602-0.851, и в среднем изменения между МДА и ПРА были несколько выше, чем между ДК и ПРА. Так, при гипоксии изменения МДА коррелировали с таковыми ПРА по альбумину в прилежащем ядре перегородки ( $r=0.788$ ,  $p=0.002$ ), паллидуме ( $r=0.775$ ,  $p=0.003$ ), миндалине ( $r=0.851$ ,  $p=0.0004$ ).

Введение мелатонина за 30 мин до моделирования острой гипоксии сопровождалось менее выраженными изменениями большей части показателей ПОЛ и ПРА, а в некоторых случаях их нормализацией до контрольного уровня в базальных ядрах головного мозга. Так, содержание МДА возрастало на 16.1-45.3% по сравнению с контролем и было существенно ниже, чем у постгипоксических животных во всех исследуемых структурах. Содержание ДК изменялось неоднозначно. В *n. accumbens*, в котором после острой гипоксии содержание ДК увеличивалось максимально по сравнению с другими ядрами (табл. 1), введение мелатонина приводило к незначительному (по сравнению с контролем) росту концентрации ДК (на 33.4%), что было на 21.6% ниже, чем у постгипоксических животных. Хотя в других структурах образование ДК при введении мелатонина по отношению к контролю усиливалось и было выше, чем в условиях "чистой" гипоксии.

Предварительное введение мелатонина предотвращало повышение ПРА, определяемой по альбумину и казеину (табл. 2). Коллагеназная активность была несколько выше, чем в контроле, но в то же время гидролиз коллагена ферментами нервных клеток при введении мелатонина перед гипоксией был значительно ниже в отдельных структурах, чем у животных, не получавших мелатонин (в паллидуме — на 61.9%, в миндалине — на 22.2%).

Таким образом, введение мелатонина за 30 мин до моделирования острой гипоксии существенно уменьшает содержание стабильных продуктов ПОЛ (МДА) в базальных ядрах головного мозга, что особенно важно при развитии патологического процесса, и, по-видимому, является

одной из основных причин отсутствия повышения протеолиза.

Результаты исследования согласуются с данными корреляционного анализа. Число корреляционных связей после введения мелатонина между исследуемыми показателями несколько уменьшалось и преобладало в структурах с наибольшими изменениями уровня ПОЛ и протеолиза под действием гипоксии, в которых эффект мелатонина проявлялся в большей степени. Так, максимальное количество корреляций выявлено в прилежащем ядре перегородки и паллидуме. В прилежащем ядре перегородки после введения мелатонина изменения ДК коррелировали с изменениями ПРА по казеину ( $r=0.650$ ,  $p=0.022$ ), изменения МДА — с изменениями ПРА по альбумину ( $r=0.755$ ,  $p=0.0045$ ), а также с изменениями ПРА по казеину ( $r=0.692$ ,  $p=0.013$ ) и по коллагену ( $r=0.692$ ,  $p=0.013$ ). В паллидуме после введения мелатонина изменения ДК отрицательно коррелировали с изменениями ПРА по альбумину ( $r=-0.729$ ,  $p=0.007$ ), казеину ( $r=-0.753$ ,  $p=0.005$ ) и коллагену ( $r=-0.806$ ,  $p=0.002$ ), а изменения МДА положительно коррелировали с изменениями ПРА по альбумину ( $r=0.599$ ,  $p=0.040$ ).

Таким образом, проведенные исследования подтверждают зависимость изменения активности протеолитических ферментов в нервных клетках базальных ядер головного мозга крыс в условиях острой гипоксии от уровня ПОЛ и свидетельствуют о способности мелатонина влиять как на интенсивность ПОЛ, так и на протеолиз: предварительное введение мелатонина перед гипоксией значительно снижает образование стабильных продуктов ПОЛ (МДА), что, вероятно, является одним из основных факторов, предотвращающих активацию протеолиза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. Киев, 1988.
2. Куликов В.Ю., Ким Л.Б. Кислородный режим при адаптации человека на Крайнем Севере. Новосибирск, 1987.
3. Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шилков С.Е., Лифшиц Р.И. // Вопр. мед. хим. 1991. Т. 37, № 4. С. 92-93.
4. Baydas G., Kutlu S., Naziroglum M. et al. // J. Pincal Res. 2003. Vol. 34, N 1. P. 36-39.
5. Koudelova J., Mourek J. // Physiol. Res. 1994. Vol. 43, N 4. P. 169-173.
6. Lee K., Frank S., Vanderklis P. et al. // Neurobiology. 1991. Vol. 88, N 8. P. 7233-7237.
7. Osuna C., Reiter R., Garsia J.J. et al. // Pharmacol. Toxicol. 2002. Vol. 90, N 1. P. 32-37.

Получено 01.03.05