

Ключевые слова: электролевой стресс, карнозин, СРО, липиды
Н. В. Гуляева, А. М. Дупин, И. П. Левшина, А. Б. Обидин, А. А. Болдырев

КАРНОЗИН ПРЕДОТВРАЩАЕТ АКТИВАЦИЮ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ СТРЕССЕ

*Кафедра биохимии (зав. — акад. С. Е. Северин) Биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова
Представлена акад. АМН СССР С. Е. Севериным*

Карнозин (β -аланил-L-гистидин) — дипептид, содержащийся в мышечной ткани в миллимолярных концентрациях — в последнее время привлекает все большее внимание исследователей. Одной из причин интенсификации изучения свойств карнозина являются полученные недавно данные о новых, важных для клиники свойствах (иммунорегулирующих, антинеопластических и др.) этого дипептида. Весьма важным представляется обнаружение антиокислительной активности карнозина в системах *in vitro*, а также уникального свойства дипептида снижать содержание продуктов свободнорадикального окисления (СРО) за счет непосредственного взаимодействия с ними.

Известно, что антиоксиданты оказывают адаптогенное действие, которое обусловлено предотвращением активации СРО, вызываемой стрессорными факторами. На основании данных об эффективном антиоксидантном действии карнозина *in vitro* с учетом чрезвычайно низкой токсичности этого дипептида логично было предположить, что при введении *in vivo* карнозин будет обладать выраженными стресс-протекторными свойствами.

В настоящей работе изучали изменения показателей СРО мозга и крови, а также липидного состава мозга крыс, подвергнутых электролевному стрессу без введения карнозина и на фоне его введения.

Методика исследования. Использовали 20 белых беспородных крыс-самцов массой 150—180 г. Половину животных подвергали стрессу, воздействуя электрическим током в специальной камере с электропроводящим полом при силе тока 3—4 мА в течение 2 ч в режиме 1-2 стимула за 10 с. Половине интактных и половине подвергнутых стрессу животных перед воздействием внутрибрюшинно вводили карнозин в водном растворе в дозе 20 мг/кг, а остальным животным вводили соответствующий объем изотонического раствора NaCl. Таким образом, животные были разделены на 4 группы: интактные (И), интактные, получавшие карнозин (ИК), стрессированные (С), стрессированные, получавшие карнозин (СК).

После окончания воздействия животных декапитировали, собирали кровь, быстро охлаждали мозг и выделяли кору больших полушарий. Из крови центрифугированием получали сыворотку, а кору мозга гомогенизировали в тройном объеме ледяного изотонического раствора. После центрифугирования 15 мин при 2000 g в надосадочной жидкости и сыворотке крови определяли содержание продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), конъюгированных диенов и кетодиенов, оснований Шиффа [4], интенсивность перехвата супероксидных радикалов. Из части гомогената мозга экстрагировали липиды хлороформ-метанольной смесью по Фолчу, в липидных экстрактах определяли содержание холестерина, общих и индивидуальных фосфолипидов методом тонкослойной хроматографии, а также антиокислительную активность в системе соокисления с кумолом.

Карнозин в составе безбелкового экстракта мозга и гепаринизированной крови определяли колориметрически по диазореакции Паули и денсктометрически методом одномерной тонкослойной хроматографии 7-хлор-4-нитробензо-2-окси-1,3-диазол (НБД)-

производных.

Результаты исследования. Электроболовой стресс вызывал активацию СРО в мозге и сыворотке крови (по повышению содержания продуктов СРО), сопровождающуюся ингибированием супероксидперехватывающей активности крови, накоплением в мозге холестерина снижением суммарного содержания фосфолипидов, главным образом за счет истощения доли легкоокисляемых фосфолипидов.

Введение карнозина интактным животным оказывало действие, противоположное действию электрошока: снижалось содержание продуктов СРО, повышалась интенсивность перехвата супероксидных радикалов, накапливались фосфолипиды (главным образом за счет легкоокисляемых фракций) и снижалось содержание холестерина в липидных экстрактах мозга.

Соответствующие изменения наблюдались и в антиокислительной активности липидов: при стрессе накопление трудноокисляемых фосфолипидов и холестерина приводило к повышению, а при введении карнозина накопление легкоокисляемых фосфолипидов и снижение уровня холестерина — к снижению антиокислительной активности липидных экстрактов.

В случае введения карнозина до начала электроболового стресса направление изменений изученных показателей соответствовало таковому при введении карнозина интактным животным, однако степень изменений показателей, как правило, была больше в группе СК, чем ИК.

В дополнительной серии экспериментов исследовали изменение содержания карнозина в крови и мозге крыс в разные сроки после введения животным карнозина в дозе 20 мг/кг. На рис. 1 представлены хроматограммы обработанных НБД-хлоридом экстрактов крови и мозга контрольных животных. Состав экстрактов из этих тканей существенно различался: в крови зарегистрированы заметные количества окисленного глутатиона и вещества по подвижности близкого к гистидину. В составе мозговой ткани имелся окисленный и восстановленный глутатион, а также гомокарнозин, совпадающий по подвижности с карнозином. Хроматограммы экстракта мозга после введения карнозина не претерпевали существенного изменения, в то время как состав экстрактов из крови существенно изменялся. Видно, что через 15 мин после введения карнозина в крови появляются значительные количества карнозина и его метилированного производного — анзерина. К 30-й минуте анзерин практически полностью исчезал, хотя уровень карнозина оставался высоким. Приведены данные колориметрического определения карнозина в безбелковом экстракте крови и мозга в разные сроки после введения карнозина. Видно, что наибольший прирост содержания диазореактивных соединений наблюдался в крови в течение первых 30 мин, после введения дипептида. Изменения в мозге менее выражены и отмечаются в более поздние сроки. Через 2—3 ч (этот период соответствует моменту исследования показателей СРО у животных) наблюдалась практически полная нормализация (по экстрактам) состава крови и мозга.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение карнозина предотвращает генерализованную активацию СРО и липидные перестройки в мозге, вызванные стрессом, вызывая противоположные изменения — ингибирование СРО и накопление легкоокисляемых липидов. Таким образом, карнозин, обладающий свойствами антиоксиданта *in vitro*, способен оказывать эффективное антиокислительное действие и при введении его *in vivo*. Подобно другим известным антиоксидантам, карнозин предотвращает накопление продуктов СРО, активирует перехват супероксидных радикалов, снижает содержание холестерина и соотношение холестерин/фосфолипиды, повышая тем самым «текучесть» мембран, увеличивает содержание в мембранах легкоокисляемых фосфолипидов. Эффективное антиокислительное действие карнозина может быть опосредовано несколькими механизмами, включающими непосредственное взаимодействие дипептида с продуктами СРО, перехват свободных радикалов, активацию супероксидперехватывающей активности организма. Однако в наших

экспериментах в период значительных изменений СРО и липидного состава мозга в крови и мозге не зарегистрировано избыточного содержания карнозина. Можно предположить, что наблюдавшиеся антиоксидантные эффекты карнозина являются следствием непосредственного его действия на состояние СРО, произведенного в начальный период после введения, когда содержание карнозина в тканях повышено. Альтернативным предположением, требующим дальнейшего исследования, может быть возможность опосредованного действия карнозина - «включения» избытком карнозина иных механизмов, регулирующих уровень СРО в организме.

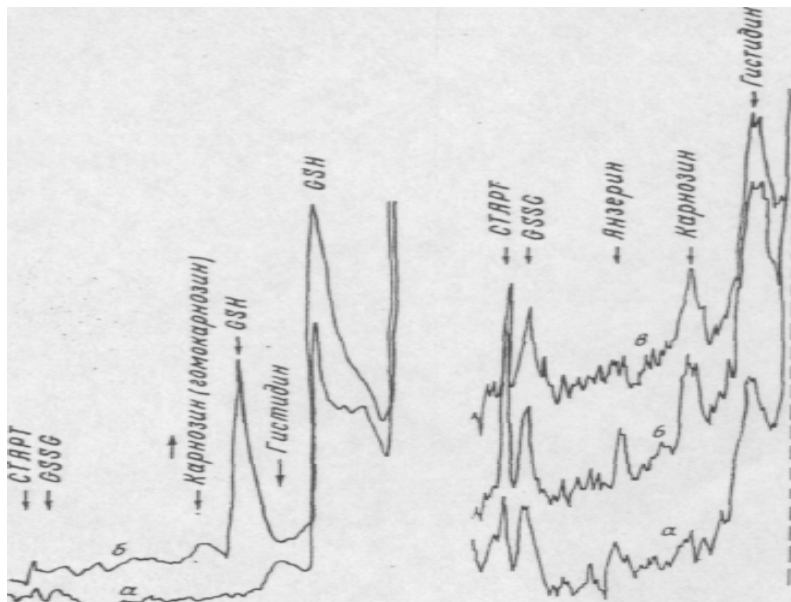


Рис.1

рис.2