

УДК [616.831-092.9:613.86]:615

© Т.О. Панасенко, К.С. Непорада, 2012.

ЗАСТОСУВАННЯ МЕЛАНІНУ ЯК СТРЕСПРОТЕКТОРА ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СТРЕСОСТІЙКОСТІ ТВАРИН

Т.О. Панасенко, К.С. Непорада*Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», кафедра медичної, біоорганічної та біологічної хімії (зав. – проф. – К.С. Непорада), м. Полтава.*

AN APPLICATION OF MELANIN AS A STRESSPROTECTOR OF CEREBRAL HEMISPHERES IN DEPENDENCE ON ANIMALS' STRESS-RESISTANCE

T.O. Panasenko, K.S. Noporada

SUMMARY

A stress-resistance of rats' cerebral hemispheres and melanin's stressprotective properties were substantiated on the model of an acute stress. Melanin shows its stressprotective properties at the expense of oxidatively-modificated proteins' decrease, TBA-reactants' decrease and antioxidative protection's increase in the tissues of cerebral hemispheres in conditions of an acute stress.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕЛАНИНА КАК СТРЕСПРОТЕКТОРА ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ЖИВОТНЫХ

Т.О. Панасенко, К.С. Непорада

РЕЗЮМЕ

На модели острого стресса обоснована стрессоустойчивость полушарий головного мозга крыс и стресспротекторные свойства меланина. Меланин проявляет стресспротекторные свойства за счет уменьшения содержания окислительно-модифицированных белков, ТБК-реактантов и увеличения антиоксидантной защиты в тканях полушарий головного мозга в условиях острого стресса.

Ключові слова: стресостійкість, півкулі головного мозку, меланін.

За останнє століття найбільш розповсюдженими являються так звані хвороби цивілізації. Їх специфіка визначається відносною новизною відповідних патогенних факторів і як наслідок цього – відсутність відповідних ефективних механізмів адаптації, які сформувалися в процесі попередньої еволюції [1]. Саме розвиток цивілізації безперервно стимулює появу все більшої кількості якісно нових патогенних факторів, з одного боку, і різку зміну умов впливів традиційних їх різновидів, з іншого [1]. Перенасиченість життя сучасної людини різноманітними за модальністю, силою та тривалістю стресовими впливами дозволяє стверджувати про існування стресорного континууму, успішність адаптації до якого визначається чутливістю, надійністю, економічністю та резервною потужністю адаптивних механізмів. У зв'язку з цим центральне місце в проблемі стресу займає вивчення фундаментальних фізіологічних закономірностей стресрезистентності [2, 3]. Незважаючи на досить чисельну інформацію про механізми розвитку стрес-синдрому та стресостійкості організму, до цих пір залишається відкритим питання про можливість цілеспрямованого підвищення їх стійкості до екстремальних впливів.

Утворення меланіну – це одна з найбільш універсальних, в той же час загадкових адаптаційних реакцій живих організмів до різноманітних умов на Землі. Наявність різних видів меланіну у

представників майже кожного великого таксону є свідченням еволюційного значення меланогенезу [4]. Меланіни – це біологічні пігменти, які присутні в тканинах рослин, тварин і багатьох мікроорганізмів. Наявність нервових волокон у різних відділах головного мозку, що містять меланін, є свідченням того, що меланін може виконувати функцію нейромодулятора [5]. Завдяки властивостям напівпровідника нейромеланін бере участь у біоелектричних процесах в головному мозку та виконує важливу фізіологічну функцію протектора проти дії пероксинітриду, який вважають медіатором нейротоксичних процесів [6]. Нейромеланін має спільне походження з катехоламінами та знаходиться у багатьох дофамінергічних нейронах чорної субстанції мозку людини. У людей з хворобою Паркінсона, розсіяним склерозом та у тварин з експериментальними аутоімунними енцефалопатіями, в результаті яких розвивається демієлінізація нервових волокон, виявлено, що дані хвороби пов'язані з порушенням утворення меланіну [7]. В літературі є посилення на те, що при експериментальному інсульті внаслідок ішемії зростає вироблення меланіну в мозку, який захищає нервову тканину від ушкоджень [8]. Таким чином, меланін захищає нервові волокна від ушкоджуючи факторів, які викликають оксидативний стрес.

Теоретичне значення досліджень впливу меланіну на нервову систему та перспективність меланіну як

субстрату для створення фармакологічного препарату з цитопротективними властивостями, який може застосовуватися в комплексному лікуванні захворювань в патогенезі яких провідну роль відіграють стрес-фактори обумовили постановку мети та задач даного дослідження.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

Дослідження виконані на 53 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 140-220 г. При виконанні експериментів дотримувались рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень з використання тварин згідно з Європейською конвенцією. Тварин утримували на звичайному раціоні в стандартних умовах віварію. Евтаназію тварин здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла внутрішньоочередно) шляхом кровопускання. Гострий іммобілізаційний стрес моделювали шляхом фіксації тварин на спині протягом 3 годин [9].

Для вивчення особливостей вищої нервової діяльності гризунів широко використовується тест “відкрите поле” [10]. Поведінка тварин в нових умовах середовища є адекватним критерієм оцінки їх індивідуальної стрес-реактивності. Е.В. Коплік і співавт. стверджують, що за попереднім етологічним тестуванням в “відкритому полі” можливо прогнозувати не тільки стресостійкість до емоційного стресу, але і особливості кровообігу в корі мозку, а також чутливість тварин до церебральної мозкової ішемії [11]. Індивідуально-типологічні особливості

поведінки тварин і прогностичну оцінку їх стресостійкості визначали на підставі нейроетологічного тесту “відкрите поле” і факторно-аналітичного методу [12].

В гомогенаті півкуль головного мозку визначали вміст ТБК-реактивних [13], активність каталази [14] та вміст окисномодифікованих білків [15]. Меланін (чорних дріжджів *Nadsoniella nigra* var. *Hesuelica*) вводили інтрагастрально одноразово через зонд за 30 хвилин до моделювання гострого стресу у дозі 5 мг/кг.

Отримані результати експериментальних досліджень проаналізовані з використанням методів варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Загально відома роль оксидативного стресу в генезі розвитку клітинних ушкоджень за умов стрес-синдрому. Відкритим залишається питання об особливостях активації вільно-радикального окислення в тканинах в залежності від стресостійкості організму, зокрема в тканинах півкуль головного мозку.

Нами встановлено, що за умов гострого стресу вірогідно зростає концентрація ТБК-реактивних в тканинах півкуль головного мозку у тварин обох досліджуваних груп порівняно з контролем (табл. 1). Таким чином, за умов розвитку стрес-синдрому активується перекисне окислення ліпідів в тканинах півкуль головного мозку тварин, що призводить до деструкції мембран нейронів.

Таблиця 1

Вміст ТБК-реактивних в півклях головного мозку щурів з різною стресостійкістю, мкмоль/г, (M±m)

Групи тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
1. Контроль (n=12)	142,63± 2,955	232,38± 19,458
2. Гострий стрес (n=13)	88,33± 2,124*	138,74± 9,052*,**
3. Меланін (n=13)	43,95± 6,245	64,11± 6,875
4. Меланін+гострий стрес (n=15)	51,68± 5,120***	160,04± 22,956

Примітка: n – кількість тварин, * - p < 0,05 між відповідними типами контролю та гострого стресу, ** - p < 0,05 між дослідними тваринами з різною стресостійкістю, *** - p < 0,05 між дослідними тваринами за умов гострого стресу та корекцією меланіном при гострому стресі.

Попереднє введення за 30 хвилин до моделювання гострого стресу меланіну вірогідно зменшувало вміст ТБК-реактивних в тканинах півкуль головного мозку стресостійких тварин порівняно з тваринами яким відтворювали гострий стрес без корекції (табл. 1).

Таким чином, меланін запобігає активації перекисного окислення ліпідів головного мозку щурів стійких до гострого стресу.

Інтегральним показником, що відображає розвиток оксидативного стресу є визначення вмісту окисномодифікованих білків. Нами встановлено, що в умовах гострого стресу вміст окисномодифікованих білків в тканинах півкуль головного мозку обох

досліджуваних груп тварин вірогідно збільшувався порівняно з відповідним контролем (табл. 2).

Меланін запобігає розвитку оксидативного стресу в тканинах півкуль головного мозку щурів стресостійкого типу, про що свідчить вірогідне зменшення вмісту окисномодифікованих білків порівняно з тваринами відповідного типу, яким моделювали гострий стрес без корекції (табл. 2).

Вміст ТБК-реактивних та окисномодифікованих білків відображає прооксидантний статус клітин. Для оцінки механізмів розвитку оксидативного стресу важливу роль відіграє аналіз антирадикального захисту клітин, зокрема визначення активності

Таблица 2

Вміст окисномодифікованих білків в півкулях головного мозку щурів з різною стресостійкістю, ум.од., (M±m)

Групи тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
1. Контроль (n=12)	0,90± 0,030	0,20± 0,020
2. Гострий стрес (n=13)	0,37± 0,028*	0,42± 0,015*
3. Меланін (n=13)	0,22± 0,023	0,24± 0,064
4. Меланін+гострий стрес (n=15)	0,31± 0,015***	0,49± 0,074

Примітка: n – кількість тварин, * - $p < 0,05$ між відповідними типами контролю та гострого стресу, ** - $p < 0,05$ між дослідними тваринами з різною стресостійкістю, *** - $p < 0,05$ між дослідними тваринами за умов гострого стресу та корекцією меланіном при гострому стресі.

головного антиоксидантного ферменту – каталази. Нами встановлено, що в умовах гострого стресу вірогідно зменшувалась активність каталази у тканинах півкуль головного мозку щурів стресостійкого типу порівняно з відповідним контролем (табл. 3).

Попереднє введення меланіну вірогідно підвищувало активність каталази у тканинах півкуль головного мозку тварин обох груп за стресостійкістю в умовах гострого стресу порівняно з відповідними групами контролю (табл. 3).

Таблица 3

Активність каталази в півкулях головного мозку щурів з різною стресостійкістю, нкат/г, (M±m)

Групи тварин	Стресостійкі	Стресонестійкі
1. Контроль (n=12)	11,32±0,927	7,68±0,279
2. Гострий стрес (n=13)	8,40±0,077*	7,19±0,450**
3. Меланін (n=13)	9,10±1,102	12,60±0,224
4. Меланін+гострий стрес (n=15)	16,54±0,360***	14,28±0,708***

Примітка: n – кількість тварин, * - $p < 0,05$ між відповідними типами контролю та гострого стресу, ** - $p < 0,05$ між дослідними тваринами з різною стресостійкістю, *** - $p < 0,05$ між дослідними тваринами за умов гострого стресу та корекцією меланіном при гострому стресі.

Отже, меланін проявляє стреспротекторні властивості та запобігає розвитку оксидативного стресу в тканинах півкуль головного мозку тварин, про що свідчить нормалізація про- та антиоксидантного балансу в умовах гострого стресу.

ВИСНОВКИ

1. Стресостійкість головного мозку щурів визначається індивідуально-типологічними особливостями реалізації стрес-синдрому і проявляється в дисбалансі про-антиоксидантних систем, про що свідчать підвищення вмісту окисномодифікованих білків і ТБК-реактивів на тлі зменшення активності каталази.

2. Меланін проявляє стреспротекторні властивості за рахунок зменшення вмісту окисномодифікованих білків, ТБК-реактивів та збільшення антиоксидантного захисту в тканинах півкуль головного мозку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Хитров Н.К. Болезни цивилизации и нозологический принцип медицины с позиций общей патологии /Хитров Н.К., Салтыков А.Б. // Клин.мед.-2003.-№1.-С.5-11.

2. Дмитриева Т.Б. Угроза терроризма - актуальная стрессогенная ситуация: новые задачи науки и практики /Дмитриева Т.Б. //Вестник Рос.АМН.-2002.- №11.-С.12-14.

3. Судаков К.В. Новые акценты классической концепции стресса /Судаков К.В. //Бюл. экперим. биол. и мед. - 1997.- №2.- С.124-130.

4. Plonska P.M., Grabacka M. Melanin synthesis in microorganisms – biotechnological and medical aspects // Acta Biochimica Polonica. – 2006. – V. 53, № 3. – P. 429-443.

5. Fransis K., Bakar B.I. Developmental changes in melanin-concentrating hormone in *Rana temporaria* // Gen. Comp. Endocrinol. – 1995. – V. 98, № 2. – P. 157-165.

6. Stepien K., Zajdel A., Wilczok A. et al. Dopamine-melanin protects against tyrosine nitration, tryptophan oxidation and Ca(2+)-ATPase inactivation induced by peroxynitrite // Biochim. Biophys. Acta. – 2000. – V. 1523, № 2-3. – P. 189-195.

7. Sulzer D., Boguslavsky J., Larsen K.E. et al. Neuromelanin biosynthesis is driven by excess cytosolic catecholamines not accumulated by synaptic vesicles // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – V. 97, № 22. – P. 11869-11874.

8. Nosanchuk J.D., Casadevall A. The contribution of melanin to microbial pathogenesis // *Cell Microbiol.* – 2003. – V.5, № 4. – P. 203-223.
9. Селье Г. Очерки об адапционном синдроме / Г. Селье. – М.: Медицина, 1960. – 254 с.
10. Лазаренко Н.С. Вероятностные характеристики поведения крыс в условиях открытого поля / Н.С.Лазаренко, Е.С.Петров, И.Ю.Забродин, Г.А.Вартанян // *Журн. высш. нервн. деятел.* -1982. - Т.32, №6. - С.1096-1103.
11. Коплик Е.В. Прогностические поведенческие критерии и особенности мозгового кровотока у крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу / Коплик Е.В., Ганнушкина И.В., Антелова А.Л. и др. // *Физиол. журн. им. И.М.Сеченова.* -1995. - Т81, №9. - С.35-39.
12. Майоров О.Ю. Нейродинамическая структура системных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу: Автореф. дис. ... д. мед. н. М., 1988. - 45с.
13. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / *Современные методы в биохимии.* Под ред. В.Н.Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - С.66-68.
14. Архипова О.Г. Методы исследования в профпатологии. - М.: Медицина, 1988. - 208с.
15. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Метод ее определения / Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О. // *Вопросы медицинской химии.* - 1995. - № 1. - С. 24-26.