РАЗДЕЛ IX. БИОЛОГИЯ

Притворова А.В., Вьюшина А.В., Ордян Н.Э.

Особенности окислительной модификации белков и активности Zn-Cu-супероксиддисмутазы в сыворотке крови у пренатально стрессированных крыс в условиях иммобилизационного стресса*Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН
(Россия, Санкт-Петербург)**doi:10.18411/lj-31-03-2018-37**idsp: 000001:lj-31-03-2018-37***Аннотация**

Изучено изменение процессов перекисного окисления белков и уровня супероксиддисмутазы в сыворотке крови у пренатально стрессированных взрослых крыс в ответ на 1-часовой иммобилизационный стресс. Установлено что пренатальный стресс коренным образом изменяет стресс-реакцию про- и антиоксидантной систем.

Ключевые слова: пренатальный стресс, окислительная модификация белков, супероксиддисмутаза, адаптация

Abstract

The effects of prenatal stress on free radical processes in immobilization stress were studied. It was found that prenatal stress changes the stress-reaction of pro-and antioxidant systems in Wistar male rat serum.

Известно, что при различных видах стрессорных воздействий на организм большую роль в возникновении патологических изменений играет свободно-радикальное окисление биомолекул активными формами кислорода (АФК) (1). Любая стрессорная реакция организма сопровождается кратковременным подъемом АФК и развитием окислительного стресса (ОС). Известно, что сигналами от внешней среды к системам саморегуляции организма могут служить продукты свободно-радикальной трансформации биомолекул, центральное место среди которых принадлежит белкам(2). В механизме развития ОС также одна из ключевых ролей отводится антиоксидантному ферменту супероксиддисмутазе (СОД) (5). Установлено что, пренатальный стресс (ПС) вызывает у взрослых потомков необратимые изменения в нейроэндокринной системе организма, изменяет динамику секреции кортикостерона в ответ на стресс (3), нарушает равновесие в системе «прооксиданты-антиоксиданты» в головном мозге и организме в целом (4). В связи с этим было предпринято исследование уровня ОМБ и активности СОД в сыворотке крови у контрольных (К) и ПС взрослых крыс самцов Вистар после иммобилизационного стресса.

Материалы и методы. Работа проведена на животных из ЦКП Биокolleкция ИФ РАН, поддержанной Программой ФАНО России по сохранению и развитию биоресурсных коллекций. Все эксперименты выполнены в соответствии с требованиями Директивы Совета Европейского сообщества (86/69/ЕЕС) об использовании животных для экспериментальных исследований. Протоколы опытов были утверждены Комиссией по гуманному обращению с животными ИФ им.И.П. Павлова РАН. В экспериментах

использовались крысы самцы линии Вистар в возрасте 6 мес., массой 250-300г, выращенные в стандартных условиях вивария. Пренатальный стресс моделировали, как указано в статье (3). В качестве стресса использовалась иммобилизация животного в пластиковом пенале в течение 1 часа. Крысы были разделены на 4 группы: 1-интактные, 2-крысы, подвергнутые иммобилизационному стрессу, 3-крысы с ПС, 4-крысы с ПС, подвергнутые иммобилизационному стрессу. Сразу после стресса крысы были декапитированы, затем в сыворотке крови определяли содержание карбонильных групп белка как продукта ОМБ по методу Levine et al. с некоторыми модификациями (5). При определении ОМБ использовались 2 показателя: спонтанная ОМБ (СОМБ)- базальный уровень окисления белков и индуцированная реактивом Фентона (ФОМБ)- показатель устойчивости системы к переоислению (4). Продукты ОМБ определяли спектрофотометрически при следующих длинах волн: 270нм и 363нм – карбонильные производные белков, образовавшиеся при свободнорадикальном окислении полярных и неполярных аминокислотных остатков соответственно.

Активность СОД определяли по косвенному методу Чевари (6). Результаты выражали в условных единицах в расчете на 1мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури. Статистическая обработка результатов проводилась в программе Statistica 10. Достоверность различий определялась по критерию Манна-Уитни.

Результаты исследования.

Обнаружено что у группы 1 и 2 нет достоверных различий по показателям СОМБ и ФОМБ (табл1). У группы 3 по сравнению с группой 1 показатель ФОМБ на волне 363нм снижается. У группы 4 при сравнении с группой 3 снижается показатель СОМБ и увеличивается показатель ФОМБ на обеих длинах волн.

Таблица 1

Продукты ОМБ в сыворотке крови крыс (Е/мг белка М±SE (n)).

№ группы	СОМБ		ФОМБ	
	270нм	363нм	270нм	363нм
1	0,051±0,001(4)	0,055±0,021(4)	0,041±0,004(4)	0,056±0,008(4)
2	0,061±0,002(4)	0,085±0,014(4)	0,068±0,016(4)	0,049±0,013(4)
3	0,067±0,010(4)	0,076±0,004(4)	0,016±0,006(4)*	0,022±0,007(4)
4	0,024±0,004(5)##	0,054±0,003(5)##	0,088±0,007(5)##	0,070±0,006(5)##

*- $P<0,05$ различия между группами 1 и 3; #- $P<0,05$ различия между группами 1 и 2; ## $P<0,05$ различия между группами 3 и 4.

При исследовании активности СОД (табл.2) обнаружено что у группы 2 по сравнению с группой 1 этот показатель увеличивается в 3 раза. У группы 3 по сравнению с группой 1 активность СОД увеличивается в 6 раз. И наоборот активность СОД у группы 4 снижается почти в 6 раз по сравнению с группой 3.

Таблица 2

Активность СОД (U/мг белка) в сыворотке крови крыс (Е/мг белка М±SE (n)).

№ группы	1	2	3	4
Активность СОД	13,6±2,5 (4)	35,9±5,1 (4)#	63,6±13,8 (4)*	10,8±1,4 (4)##

*- $P<0,05$ различия между группами 1 и 3; #- $P<0,05$ различия между группами 1 и 2; ## $P<0,05$ различия между группами 3 и 4.

Таким образом, у контрольных крыс адаптация к 1-часовому иммобилизационному стрессу происходит за счет блокировки избыточного образования АФК. У ПС крыс уже в фоне наблюдается дезадаптация организма на уровне про- и антиоксидантной систем. После иммобилизации адаптивная реакция у ПС крыс выражается в снижении активности клеточного дыхания и усилении синтеза белка, то

есть механизм адаптации ПС крыс в данной модели стресса является более энергозатратным.

*Работа выполнена при финансовой поддержке
Программы фундаментальных научных исследований
государственных академий на 2014-2020 годы (ГП-14, раздел 63)"*

1. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б., Перекисное окисление и стресс. СПб., 1992
2. Halliwell B. Free radicals, proteins & DNA oxidative damage versus redox regulation. Biochem.Soc.Trans. 24(4): 1023-1027. 1996
3. Ордян Н.Э., Пивина С.Г. Характеристика поведения и стрессореактивности гипофизарно-адреналовой системы пренатально стрессированных крыс. Рос.физиол.журн. 89(1) 52-59 2003
4. Вьюшина А.В., Притворова А.В., Флеров М.А. Влияние пренатального стресса на окислительную модификацию белков головного мозга крыс в онтогенезе. Нейрохимия. 29(2) 1-7 2011
5. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода. С-Пб.: Медпресса, 2006
6. Чевари С., Чаба И., Секей И., Роль СОД в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах Лаб. дело. 1985. № 11. С. 678–681