

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995
УДК 615.31:547.262].015.2:615.214.22].015.4.07

**ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА, ДИАЗЕПАМА И РЕЗЕРПИНА НА АКТИВНОСТЬ
АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА И КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ В
НОРМЕ И ПРИ СТРЕССЕ**

А.Н. ВЕРНИГОРА, Н.Н. НИКИШИН, М.Т. ГЕНГИН

Пензенский государственный педагогический институт им. В.Г. Белинского

Обнаружено сходство во влиянии некоторых фармакологических агентов (этанол, диазепам и резерпин), обладающих стресс-протективным действием, на активность ферментов обмена биологически активных пептидов в крови при эмоциональном стрессе. Установлено, что характер влияния зависит от эмоционального статуса животных. Обсуждается возможность вовлечения ангиотензинпревращающего фермента и карбоксипептидазы N в стресс-протективное действие этанола, диазепама и резерпина.

Известно, что вещества со стресспротективным действием: этанол, диазепам и резерпин — влияют на уровень ряда важнейших нейромедиаторов: ацетилхолина, серотонина, дофамина, γ -аминомасляной кислоты и др. [1—3]. Уровень этих нейромедиаторов в значительной степени контролируется нейропептидами [4]. Считают, что многие эффекты воздействия этанола на организм опосредуются пептидергическими сис-

темами и зависят от состояния этих систем [1]. Однако влияние диазепама и резерпина на функционирование этих систем изучено недостаточно. Известно, что функционирование пептидергических систем связано с действием протеолитических ферментов, которые участвуют как в образовании биологически активных пептидов из неактивных предшественников, так и в их инактивации [5,6].

В данной работе исследовали влияние этанола, диазепама и резерпина на активность ферментов обмена биологически активных пептидов крови — ангиотензинпревращающего фермента (КФ 3.4.15.1) и карбоксипептидазы N (КФ 3.4.12.7) — у животных с различным эмоциональным статусом при действии эмоционального стресса.

Методика. Опыты проводили на самцах белых беспородных крыс с массой тела 150—200 г. По результатам тестирования в открытом поле [7] отбирали животных с различным эмоциональным статусом. В работе использовали 8 групп по 10—12 животных, в каждой из которых было 5—6 высокоэмоциональных и 5—6 низкоэмоциональных крыс. Животных 1-й группы использовали в качестве контроля. Крыс 2-й группы (длительный эмоциональный стресс) в течение 10 суток раз в сутки помещали с грузом (20% от массы тела) на 5 мин в сосуд с водой. Животные 3, 4 и 5-й групп в течение 10 суток получали с водой для питья этанол в дозе 5 г на 1 кг массы в сутки, диазепам (1,35 мг/кг в сутки) и резерпин (1 мг/кг в сутки) соответственно. Крысы 6, 7 и 8-й групп подвергались комбинированному воздействию стресса и этанола, диазепама, резерпина соответственно. Животных забивали через 18 ч после прекращения воздействия.

Кровь инкубировали 30 мин при комнатной температуре и центрифугировали 20 мин при 1000 g. Низкомолекулярные нингидринположительные компоненты удаляли пропусканием сыворотки через колонку с сефадексом G-25.

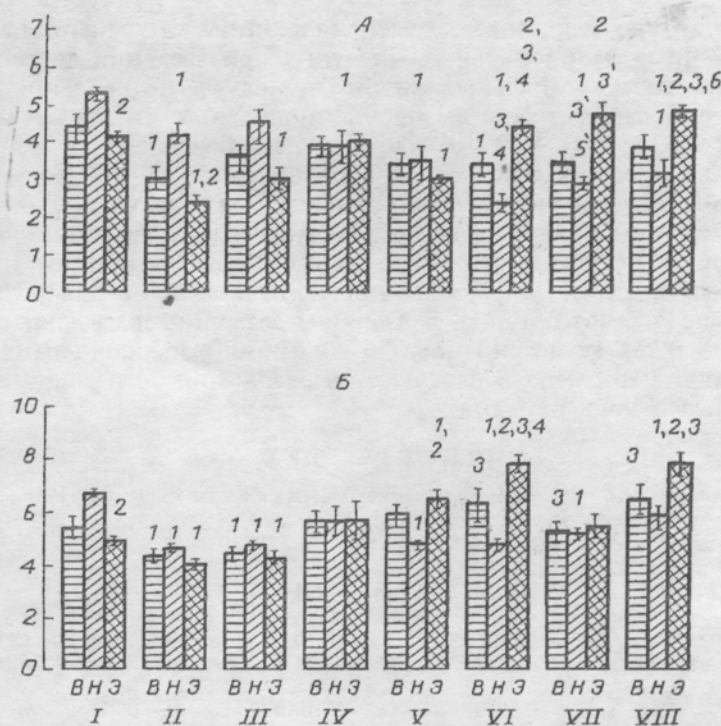
Активность карбоксипептидазы N определяли по отщеплению аргинина от гиппурил-Arg в присутствии ионов кобальта при pH 7,6 [8]. Активность ангиотензинпревращающего фермента определяли по отщеплению Gly-Arg от карбобензоксиглицил-Arg при pH 8,2 в присутствии каптоприла [8]. Количество образовавшихся аргинина и Gly-Arg определяли по приросту свободных аминогрупп нингидриновым методом [9]. Белок определяли по Лоури [10].

Активность карбоксипептидазы N и ангиотензинпревращающего фермента выражали в пикомолях аргинина и Gly-Arg соответственно, освободившихся за 1 мин инкубации на 1 мг белка.

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Активность исследуемых ферментов у высокоэмоциональных животных была ниже, чем у низкоэмоциональных. Стресс вызывал снижение активности ферментов у животных с разным эмоциональным статусом (см. рисунок). При потреблении этанола, как и при стрессе, наблюдалась тенденция к снижению активности обоих ферментов, однако в этих условиях в отличие от стресса у недифференцированных и низкоэмоциональных животных снижение ангиотензинпревращающего фермента было не достоверным. У низкоэмоциональных крыс, получавших диазепам, наблюдалось снижение активности ангиотензинпревращающего фермента, у других групп животных при этом воздействии изменений не обнаружено. У дифференцированных крыс, получавших резерпин, активность ангиотензинпревращающего фермента была ниже, чем в контроле, у недифференцированных снижение было не достоверным. В этом случае активность карбоксипептидазы N у недифференцированных животных не отличалась от нормы, у низкоэмоциональных — снижалась, а у высокоэмоциональных — повышалась по сравнению с контролем.

Таким образом, во влиянии этанола и стресса на активность обоих ферментов наблюдалось значительное сходство. Это хорошо коррелирует с изменениями уровня ряда нейропептидов (адренотропного гормона, β -эндорфина, энкефалинов) при воздействии как этанола, так и стресса [1,11]. Интересно, что при всех исследованных воздействиях наблюдалась тенденция к выравниванию ферментативной активности у животных с различным эмоциональным статусом, за исключением активности ангиотензинпревращающего фермента при стрессе и активности карбоксипептидазы N при потреблении резерпина. Известно, что уровень некоторых нейропептидов у животных с различным эмоциональным статусом при стрессе изменяется по-разному [12]. Возможно, что эти отличия в изменении активности ферментов отражают изменения уровня нейропептидов.



Влияние эмоционального стресса, этанола, диазепама и резерпина на активность ангиотензинпревращающего фермента (А) и карбоксипептидазы N (Б) (в пмоль/мин на 1 мг белка; ось ординат) в сыворотке крови крыс ($n=10-12$ для недифференцированных и 5-6 для дифференцированных).

I-VIII — группы животных: I — контроль, II — стресс, III — этанол, IV — диазепам, V — резерпин, VI, VII, VIII — совместное воздействие стресса-этанола, стресса-диазепама, стресса-резерпина соответственно;

В — недифференцированные, Н — низкоэмоциональные, Э — высокоэмоциональные. Достоверность различий показателей ($p<0,05$): 1 — по сравнению с нормой, 2 — между эмоциональными и неэмоциональными, 3 — по сравнению с показателями при воздействии стресса, 4 — этанола, 5 — диазепама, 6 — резерпина.

В случае совместного воздействия стресса и этанола, резерпина и диазепама у недифференцированных животных достоверные различия активности ангиотензинпревращающего фермента по сравнению с контролем (снижение) наблюдались только при комбинированном воздействии стресса и этанола (см. рисунок). Активность карбоксипептидазы N у недифференцированных животных при совместном воздействии стресса и фармакологических агентов была достоверно выше, чем при стрессе.

Активность обоих ферментов при совместном воздействии стресса и фармакологических агентов у низкоэмоциональных животных была ниже нормы, причем при воздействии этанола и диазепама активность ангиотензинпревращающего фермента была ниже активности при раздельном воздействии стресса и соответствующих фармакологических агентов. У высокоэмоциональных животных активность ангиотензинпревращающего фермента в случае потребления резерпина при стрессе была выше активности в норме и при раздельном воздействии этих факторов. При приеме диазепама она была выше активности при стрессе и не отличалась от активности в норме и при приеме диазепама, при воздействии этанола не отличалась от нормы и была выше, чем активность при раздельном воздействии стресса и этанола (см. рисунок). Активность карбоксипептидазы N у этих животных в случае потребления этанола при стрессе была выше активности в норме и при раздельном воздействии этих факторов. При приеме диазепама она не отличалась от нормы и от активности в случае раздельного воздействия стресса и диазепама. При потреблении резерпина при стрессе она была выше активности у контрольных крыс и животных, подвергнутых стрессу, и не отличалась от активности у животных, принимавших резерпин.

Таким образом, несмотря на то, что у недифференцированных животных, получавших при стрессе этанол, диазепам и резерпин, наблюдалась тенденция к нормализации

активности исследуемых ферментов, изменения активности ангиотензинпревращающего фермента у низкоэмоциональных животных при введении диазепама и этанола при стрессе, у высокоэмоциональных животных в случае потребления резерпина при стрессе и карбоксипептидазы N у высокоэмоциональных животных при совместном действии этанола и стресса усиливались. Интересно, что если в норме активность ферментов была выше у низкоэмоциональных животных, то при совместном воздействии стресса и исследуемых веществ — у высокоэмоциональных животных. Очевидно, необходим учет эмоционального статуса организма при изучении влияния этанола, диазепама и резерпина на пептидергические системы. Существенное сходство во влиянии всех исследованных веществ на ферментативную активность в сыворотке при стрессе позволяет предположить, что этанол, диазепам и резерпин оказывают влияние на нее посредством одних и тех же механизмов. По-видимому, карбоксипептидаза N и ангиотензинпревращающий фермент вовлекаются в реализацию стресспротективного действия этанола, диазепама и резерпина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. — М., 1985.
2. Раевский К.С. Фармакология нейрорептиков. — М., 1976.
3. Эди М.Ж., Тайлер Дж.Х. Противосудорожная терапия. — М., 1983.
4. Fojas F.R. // *Phillipine J. Sci.* — 1986. — Vol. 115, N 1. — P. 65—75.
5. Генгин М.Т., Вернигора А.Н. // *Укр. биохим. журн.* — 1994. — Т. 66, N2. — С. 3—17.
6. Hsueh W.A. // *Proteases: Potent Role in Health and Disease.* — New York; London, 1984. — P. 141—151.
7. Walsh R.N., Cummins R.A. // *Psychol. Bull.* — 1976. — Vol. 83, N 2. — P. 482—504.
8. Вернигора А.Н., Генгин М.Т., Никишин Н.Н., Щетинина Н.В. // *Физиол. журн.* — 1994. — Т. 80, N4. — С. 23—25.
9. Lee P.V., Takahashi T.N. // *Analyt. Biochem.* — 1966. — Vol. 14, N 1. — P. 71—77.
10. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. // *J. biol. Chem.* — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265—275.
11. Алиев Н.А. // *Пат. физиол.* — 1989. — N5. — С. 85—90.
12. Салиева Р.М., Коплик Е.В., Каменов З.А., Полетаев А.Б. // *Бюл. экспер. биол.* — 1989. Т. 108, N10. — С. 464—465.

INFLUENCE OF ETHANOL, DIAZEPAM AND REZERPINE ON THE ACTIVITY OF ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME IN STRESS.

A.N.Vernigora, N.N.Nikishin, M.T.Gengin

Department of Chemistry, Penza State Pedagogic Institute

There was discovered a resemblance in the influence of some pharmacological agents such as ethanol, diazepam and rezerpine on the activity of enzymes of metabolism of biological active peptides in the blood under emotional stress. It was determined that the character of the influence depends on the emotional status of animals. The possibility of drawing both angiotensin converting enzyme and carboxypeptidase N in the stress-protection action of the ethanol, diazepam and rezerpine is discussed.