

УДК 616.36.:547.466.6622

© Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ АНАЛОГОВ γ -L-ГЛУТАМИЛГИСТАМИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ ТЯЖЕСТИ ПРОЯВЛЕНИЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АНАФИЛАКТИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ, ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА И СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450 ПЕЧЕНИ

**В.Е.НЕБОЛЬСИН, Г.А. ЖЕЛТУХИНА, В.В.КРЖЕЧКОВСКАЯ,
В.Л.КОВАЛЕВА, Р.ПЕВСТИГНЕЕВА**

Московская академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,

тел: 778-52-56, эл. почта: vostoktpp@mtu-net.ru

Исследовано влияние аналогов γ -L-глутамилгистамина на длительность гексеналового сна, содержание глюкокортикоидных гормонов в сыворотке крови и тяжесть проявлений экспериментальной анафилактической реакции. Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследуемые соединения обладают высокой биологической активностью, которая в значительной мере зависит от длины N-ацильного остатка. При их введении наблюдается снижение длительности гексеналового сна, свидетельствующее об индукции системы цитохрома P450 печени, повышается содержание глюкокортикоидных гормонов в сыворотке крови и снижаются проявления экспериментальной анафилактической реакции.

Ключевые слова: γ -L-глутамилгистамин, аналоги, экспериментальная анафилактическая реакция, бронхоспазм, глюкокортикоидные гормоны, кортизол.

ВВЕДЕНИЕ. γ -Глутамильные производные биогенных аминов являются основными метаболитами этих соединений у простейших [1]. Эти вещества, в частности γ -L-глутамилгистамин (γ -L-Glu-HA), обнаружены также в организме млекопитающих [2]. Однако их биологическая роль остается недостаточно ясной.

В экспериментальных исследованиях показано, что γ -L-глутамилгистамин и γ -L-глутамилтаурин обладают высокой биологической активностью. Выявлено, что γ -L-Glu-HA индуцирует систему цитохрома P450 печени у морских свинок, повышает содержание глюкокортикоидных гормонов в сыворотке крови и снижает тяжесть проявлений экспериментальной анафилактической реакции [3]. Введение экспериментальным животным γ -L-глутамилтаурина приводит к стимуляции иммунитета, физической работоспособности и нормализует содержание витамина А. При этом фармакологическая активность γ -L-

Содержание кортизола и его предшественников в крови морских свинок под влиянием соединения V исследовали у интактных и сенсibilизированных животных. Активную сенсibilизацию куриным овальбумином (ОВА, (grade III) производства фирмы «Sigma» США) морских свинок проводили по методу Andersson [7]. Кровь для определения гормонов у животных отбирали до начала эксперимента и через 18 часов после последнего введения соединения с 10 до 11 часов на 26 день сенсibilизации. 17-Оксипрогестерон, прогестерон, 11-дезоксикортизол и кортизол определяли радиоиммунологическим методом [9]. Анализ изменения гормонального статуса проводили по индивидуальным показателям для каждого животного в группе. Одновременно проводилось измерение содержания гормонов в группе интактных животных. В начале и конце эксперимента у интактных животных достоверных изменений количества гормонов в сыворотке крови не выявлено.

Изучаемые соединения растворяли в физиологическом растворе и вводили животным трехкратно внутрижелудочно за 72, 48 и 18 часов до забора крови или индукции бронхоспазма в дозе 50 мкг/кг и интратрахеально – соединение V, в той же дозе, за 15 минут до индукции бронхоспазма. Препарат сравнения – кромолин-натрия (фармакопейное средство, Югославия) вводили животным в дозе 5 мг/кг аналогично. Контрольная группа животных получала эквивалентное количество физиологического раствора.

Результаты обрабатывались статистически [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. При изучении изменения длительности ГС (табл. 1) у мышей под влиянием исследуемых соединений показано, что введение большинства веществ в дозе 50 мкг/кг приводило к достоверному снижению длительности ГС у животных, за исключением соединения II, которое является γ -D-глутамилгистамином, и соединения IX, в котором аминокомпонент представлен остатком этерифицированной аминокислоты гистидина. При введении веществ в дозе 500 мкг/кг уменьшение данного показателя отмечалось только при использовании соединений III, IV и V. В связи с этим для дальнейших исследований была выбрана доза 50 мкг/кг. Снижение длительности гексеналового сна у мышей различных линий и морских свинок под влиянием γ -L-Glu-NA описано ранее [3].

В таблице 2 представлены результаты, свидетельствующие, что введение соединений I, III, IV, V, VI, VII и VIII сенсibilизированным животным приводило к достоверному снижению тяжести бронхоспазма. Наиболее выражено антианафилактическое действие соединения V отмечалось при пероральном и интратрахеальном способах введения вещества. Следует отметить, что эффективная доза исследованных веществ была на два порядка ниже, чем доза Кромолина-натрия. Введение животным соединений II и IX не сопровождалось изменением анафилактической чувствительности в условиях данной модели.

Длительность гексеналового сна и выраженность бронхоспазма у экспериментальных животных характеризуют иммунно-химический гомеостаз организма. Показано, что достоверное снижение длительности гексеналового сна под влиянием соединений I, III, IV, V, VI, VII и VIII сопровождалось достоверным ослаблением тяжести проявлений бронхоспазма (рис.1). При анализе полученных результатов, выраженных в процентах к контролю, выявлено наличие тесной взаимосвязи (коэффициент корреляции = 0,87) между этими показателями.

Таблица 1. Изменение длительности гексеналового сна у мышей под влиянием аналогов γ -L-глутамилгистамина.

Соединение	Длительность гексеналового сна (мин)		
	контроль	Дозы соединений	
		50 мкг/кг	500 мкг/кг
I*	21,88±1,34	17,98±1,66*	16,13±1,86**
II	20,70±1,53	22,42±1,28	20,54±0,78
III	25,91±1,57	16,86±1,38**	14,39±1,73*
IV	25,91±1,57	16,91±1,28**	13,21±0,70*
V	25,91±1,57	19,61±1,12*	22,02±1,45*
VI	26,97±1,21	20,39±1,59*	25,74±1,82
VII	25,91±1,57	19,61±2,69*	27,46±2,87
VIII	20,70±1,53	16,27±1,26*	20,91±1,48
IX	20,28±0,80	17,62±1,46	16,99±1,33

Примечания: * - результаты снижения длительности ГС под влиянием соединения I приведены по статье [3]. Здесь и далее * - достоверность различий по отношению к контрольной группе: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$

Таблица 2. Влияние аналогов γ -L-глутамилгистамина на изменение величины бронхоспазма.

Группы животных	Количество животных в группе	Бронхоспазм (% от максимального)
1 группа – контроль	21	87,5±10,7
2 группа – кромолин-натрия, 5 мг/кг	14	40,7±3,4*
3 группа – соединение I	12	15,6±3,2**
4 группа – соединение II	12	87,5±10,7
5 группа – соединение III	12	35,0±3,1*
6 группа – соединение IV	12	33,0±9,4*
7 группа – соединение V	12	12,0±4,0**
8 группа – соединение VI	12	62,0±14,0*
9 группа – соединение VII	12	33,0±9,4*
10 группа – соединение VIII	12	22,6±3,4*
11 группа – соединение IX	12	78,0±12,2
12 группа – соединение V, в/трах	12	24,6±6,4*

На следующем этапе было изучено изменение содержания кортизола и его предшественников в сыворотке крови интактных и сенситизированных морских свинок под влиянием соединения V. Выбор этого соединения обусловлен тем, что оно оказывало наиболее выраженное влияние на изучаемые показатели. Отмечено достоверное снижение длительности ГС и выраженности бронхоспазма при пероральном и интратрахеальном способах введения вещества. Данные эффекты соединения V сопоставимы с действием γ -L-Glu-NA.

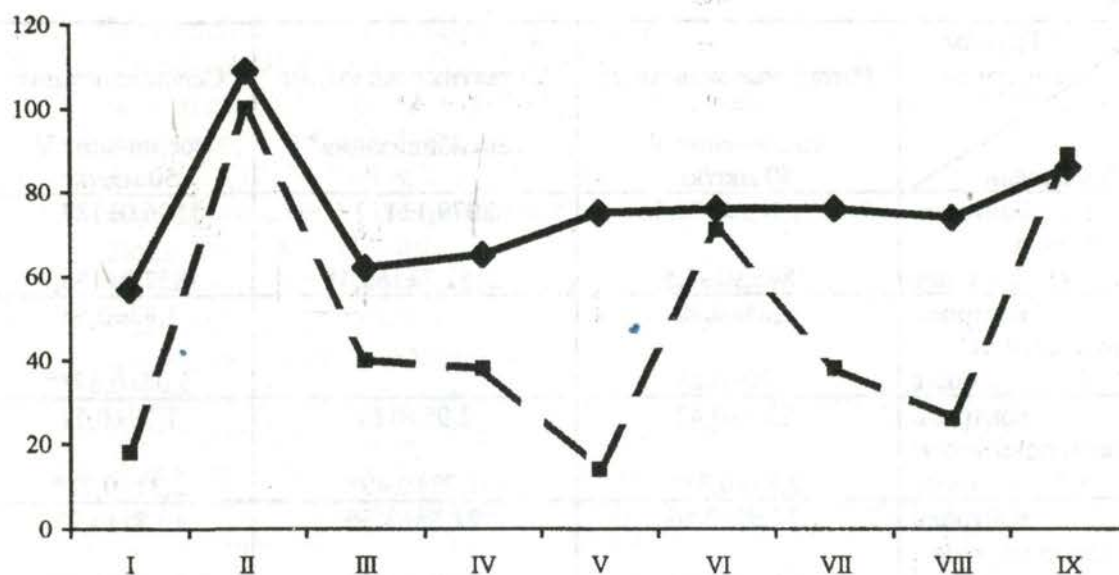


Рисунок 1.

Влияние аналогов γ -L-глутамилгистамина (I-IX) на изменение длительности гексеналового сна и выраженности бронхоспазма у животных. Результаты представлены в процентах по отношению к соответствующему контролю.

— — — — — длительность гексеналового сна.
 - - - - - выраженность бронхоспазма.

Результаты исследования [3] свидетельствуют, что введение γ -L-Glu-NA intactным морским свинкам приводило к достоверному повышению количества свободного кортизола, его предшественников оксипрогестерона и дезоксикортизола, а также отмечалась тенденция к увеличению содержания прогестерона. У сенсibilизированных морских свинок выявлено достоверное снижение количества свободного кортизола и оксипрогестерона и выраженная тенденция к снижению прогестерона в сыворотке крови. Количество кортизола, оксипрогестерона и дезоксикортизола у сенсibilизированных животных под влиянием γ -L-Glu-NA нормализовалось, а содержание прогестерона достоверно увеличивалось.

При введении intactным животным соединения V (табл. 3) достоверно повышалось содержание оксипрогестерона. У сенсibilизированных животных отмечалась нормализация содержания оксипрогестерона, дезоксикортизола и кортизола и достоверно увеличивалось количество прогестерона в сыворотке крови. Таким образом, изменение изученного гормонального фона под влиянием γ -L-Glu-NA и соединения V идентичны. Основной характеристикой влиянием этих соединений на гормональный фон является нормализация содержания кортизола в сыворотке крови сенсibilизированных морских свинок.

Таблица 3. Изменение содержания кортизола и его предшественников в сыворотке крови под влиянием соединения V.

Группы животных Показатели	Интактные животные + соединение V 50 мкг/кг	Интактные животные + сенсibilизация*	Сенсibilизация + соединение V 50 мкг/кг
контроль кортизол	2201,5±176,5	3079,1±112,6	1996,0±187,2
опыт	1846,9±99,5	2157,7±165,4*	1857,0±135,2
контроль прогестерон	2,84±0,98	-	1,83±0,58
опыт	3,20±0,23	-	5,08±0,87**
контроль оксипрогестерон	2,10±0,43	2,95±0,62	1,79±0,52
опыт	2,88±0,38*	1,93±0,49*	2,31±0,77*
контроль дезоксикортизол	17,67±2,56	21,58±3,56	15,81±4,23
опыт	18,44±3,26	20,91±2,94	22,01±3,63

Количество гормонов в крови рассчитывали в нмоль/л.

* - результаты изменения содержания гормонов при сенсibilизации приведены по статье [3]. * - достоверность различий вычисляли по отношению к индивидуальному контролю.

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$

Таким образом, при изучении влияния соединений на исследованные показатели было продемонстрировано, что они обладают высокой биологической активностью - способны модулировать активность системы цитохрома P450 и содержание гормонов коры надпочечников в сыворотке крови, а также снижать тяжесть проявлений анафилактической реакции. При этом следует отметить, что для проявления биологической активности важно наличие в молекуле остатка биогенного амина и оптическая изомерия γ -глутамильного N-ацильного заместителя. Соединение II представляет собой γ -D-глутамилгистамин, а соединение IX содержит метиловый эфир остатка гистидина. Оба вещества не изменяют длительность гексеналового сна и не снижают тяжесть проявлений бронхоспазма. Замена N-ацильных аминокислотных остатков, присутствующих в природных соединениях I и IV, на остаток глутаровой кислоты в соединении V, а также блокирование аминокислотной группы в природном соединении при сохранении длины N-ацильного остатка, мало изменяет способность веществ влиять на тяжесть проявлений бронхоспазма. Удлинение N-ацильного остатка в соединении VI (остаток адипиновой кислоты) приводит к некоторому снижению антианафилактической активности, по сравнению с соединениями I, III, IV, V, VII и IV. Таким образом, сохранение топохимических параметров исходной структуры природных соединений является существенным для проявления биологической активности, в частности, снижения тяжести анафилактической реакции.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Weinreich D. (1979), J. Neurochem., **32**, 363-369
2. Konishi H., Kakimoto Y. (1976), J. Neurochem., **27**, 1461-1463
3. Небольсин В.Е., Кржечковская В.В., Желтухина Г.А. и др. (1999) *Вопр. мед. химии*, **45**, 483-488
4. Feuer L. (1983), *Biología*, **31**, 125-166
5. Евстигнеева Р.П., Желтухина Г.А., Огрель С.А., Небольсин В.Е. (1995), *Докл. РАН*, **345**, 493-495.
6. Небольсин В.Е., Желтухина Г.А. Евстигнеева Р.П.. (1999) патент РФ №2141423 от 20.11.99, приоритет от 04.07.97.
7. Andersson P. (1980), *Allergy*, **35**, 65-71.
8. Conzett H., Rossler R. (1940), *Arch. Exp. Pathol. Farmacol.* **195**, 71-74.
9. Goncharov N.P., Kolesnikova G.S., Vorontsova V.I. et al. (1993) *Proc. of the 5th Symp. on Analysis Steroids*. pp. 407-426.
10. Гублер Е. В. (1978) *Вычислительные методы анализа и распознавание патологических процессов*, М, Наука.

Поступила 05.02.01.

THE INFLUENCE OF γ -L-GLUTAMYLHISTAMINE ANALOGUES ON THE SEVERITY OF EXPERIMENTAL ANAPHYLACTIC REACTION, HORMONAL STATUS AND LIVER CYTOCHROME P450.

V.E. NEBOLISIN, G.A. ZHELTUKHINA, V.V. KRZCHKOVSKAYA,
V.L. KOVALEVA, R.P. EVSTIGNEEVA

Lomonosov Moscow State Academy of Fine chemical Tekhnology, Moscow, Russia.

E-mail: vostoktpp@mtu-net.ru

The influence of γ -L-glutamylhistamine analogues on the hexenal-induced sleeping, glucocorticoid hormon content in blood plasma and severity of experimental anaphylactic reaction was studied. It was observed that γ -L-glutamylhistamine analogues caused decrease in the sleeping time and severity of experimental anaphylactic reaction, the elevation of glucocorticoids content in blood plasma. The present results indicate that substances have the wide spectrum of biological activity which depends on the length of the N-acyl radical.

Key words – γ -L-glutamylhistamine, analogues, experimental anaphylactic reaction, glucocorticoid hormones, cortisol.