

УДК 612.014.46:615.916

*М.М.Кондро***ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ NO/NOS ТА СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ, ЯК КОМПОНЕНТІВ ЛОКАЛЬНОЇ СТРЕС-ЛІМІТУВАЛЬНОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ІЗОЛЬОВАНОЇ ТА ПОЄДНАНОЇ ДІЇ СТРЕС-ЧИННИКІВ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ**Кафедра нормальної фізіології (зав. – проф. М.Р.Гжегоцький)
Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького

Резюме. Дослідження присвячене вивченню функціонування локальної стрес-лімітувальної системи печінки білих щурів при токсичному дисгомеостазі, викликаному хронічним введенням різних доз ацетату свинцю та при його поєднанні із соціальним стресом. Встановлено активацію процесів ліпопероксидації в гомогенаті печінки за умов ізольованої хронічної дії різних доз ацетату свинцю. У діапазоні досліджуваних доз збільшення вмісту малонового альдегіду в гомогенаті

печінки залежало від дози ацетату свинцю і не залежало від тривалості інтоксикації, проте вміст малонового альдегіду в крові зростав пропорційно тривалості введення ацетату свинцю. Трансформація пероксидного окиснення ліпідів супроводжувалася змінами активності ферментів антиоксидантного захисту в тканині печінки та крові.

Ключові слова: стрес, стрес-лімітувальна система, печінка.

Вступ. Важливе місце в сучасних еколого-фізіологічних дослідженнях займають питання визначення реакції функціональних систем організму на важкі метали залежно від дози та тривалості експозиції. Адже адаптаційні реакції на всіх рівнях організації залежать від сили стрес-чинників та тривалості їх дії [4]. За умов стресу функціональні резерви організму знижуються, зменшується здатність до адаптації, і підтримання гомеостазу здійснюється завдяки значній напрузі регуляторних систем (А.В.Барабой и др., 1997). Кінцевий результат реакцій організму залежатиме від інтеграції стрес-реалізуючих та стрес-лімітувальних систем, які модулюють вираженість структурно-функціональних змін та обмежують реакцію-відповідь [5, 6, 11]. Особливо це стосується печінки – центрального органа гомеостазу. З огляду літератури наведені дані, які переконливо свідчать, що механізм пошкоджувальної дії ацетату свинцю на печінку реалізується через активацію процесів вільнорадикального окиснення. Утворення вільних радикалів та реактивних метаболітів кисню є важливим механізмом пошкодження клітин печінки. А саме, надмірна продукція активних форм кисню ініціює лавиноподібне розгалуження процесів вільно радикального окиснення. Наявні в наш час дані дозволяють вважати, що, як у реакціях окиснювального стресу, так і в механізмах антиоксидантного захисту бере участь оксид азоту, утворення якого доведено для гепатоцитів, клітин Купфера і ендотеліальних клітин печінки.

Фізіологічний ефект взаємодії активних форм кисню і NO залишається предметом активних дебатів. У низці робіт показано, що NO може фактично уповільнювати пероксидне окиснення ліпідів, діючи як скавенджер кисневих радикалів. Цей своєрідний «антиоксидантний» ефект NO дозволив припустити, що взаємодія між супероксиданіоном і NO може бути біологічно важливим шляхом детоксикації потенційно небезпечних

активних форм кисню (Laskin J.D. et al., 2004). Водночас є і протилежні дані, які свідчать про те, що NO здатний посилювати негативні ефекти супероксидного радикала й інших активних форм кисню (Groves J.T., 1999), роль яких у патогенезі токсичного ураження печінки і розвитку ендотоксемії може вважатися доведеною. В останній час з'явилася низка робіт (Gonzalez-Reimers E. et al., 2003; Lee K.J. et al., 2004), в яких наводяться окремі результати вивчення стану процесів пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи і інтенсивності утворення в організмі оксиду азоту при токсичному ураженні печінки. Проте отримані дані, як правило, мають суперечливий характер, і в авторів немає єдиної думки про роль і взаємозв'язок антиоксидантного статусу, як сукупності про- і антиоксидантних процесів, і системи оксиду азоту в патогенезі токсичного ураження печінки.

Мета дослідження. Дослідити вміст малонового альдегіду (МА), активності супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КАТ), вміст кінцевих метаболітів NO – нітрит аніона (NO₂) у крові за умов хронічної ізольованої та поєднаної дії ацетату свинцю та стресу.

Матеріал і методи. Дослідження проведені в експериментах на статевозрілих білих щурів-самців масою 180-200 г відповідно до дотримання загальних принципів білетики. З метою вибору оптимальних умов моделювання дезадаптаційних станів за тривалої дії ацетату свинцю, визначали токсичність та кумулятивні властивості ацетату свинцю. Середньо смертельні дози ЛД₅₀ АС визначали для білих щурів-самців та щурів-самок за умови внутрішньо-шлункового введення натще його водного розчину із розрахунку 1 мл на 100 г маси тіла методом трьох, двох та однієї точки (Штабський Б.М., 1980). Коефіцієнт кумуляції визначали за схемою R.K.Lim (A method, 1961). Моделювання здійснювали за допомогою щоденного внутрішньошлункового введення натще

через зонд водних розчинів ацетату свинцю (АС) у дозах 3,45 (1/2000 ЛД₅₀), 34,5 (1/200 ЛД₅₀) і 345 мг/кг (1/20 ЛД₅₀) відповідно. Вивчення ізольованої дії АС проведено на 12 групах тварин, кожній з яких вводили АС протягом 10, 20 та 30 днів у вказаних дозах. Схема експериментів наступна: шурам 1-, 2-ї та 3-ї контрольних груп протягом 10, 20 та 30 днів вводили питну водопровідну дехлоровану воду; шурам 4-, 5-ї та 6-ї групи протягом 10, 20 та 30 днів вводили АС у дозі 3,45 мг/кг; шурам 7-, 8-ї та 9-ї групи протягом 10, 20 та 30 днів вводили АС у дозі 34,5 мг/кг; шурам 10-, 11-ї та 12-ї групи протягом 10, 20 та 30 днів вводили АС у дозі 345 мг/кг. Вивчення ізольованої дії соціального стресу проведено на групах тварин (стрес-контроль), які зазнали дії хронічного іммобілізаційного стресу в модифікації Гройсмана і Каревіної, так званої „соціального стресу” (Гройсман С.Д., Каревина Т.Г., 1979). Поєднану дію тривалого уведення АС та соціального стресу вивчали за наступною схемою: контролем у цих дослідженнях слугували 13, 14, 15-а групи шурів, яким вводили питну водопровідну дехлоровану воду (відповідно 10, 20, 30 днів), а після останнього її уведення вони були піддані дії соціального стресу. Шурам 16-24-ї груп виконано поєднану дію (ПД) соціального стресу та АС у дозах 3,45, 34,5 та 345 мг/кг, кожну з яких вводили упродовж 10, 20 та 30 днів. Статистичну обробку даних проводили з використанням програми StatisticSoft 6.0. Для кожної з вибірок перевіряли чи є нормальним розподіл досліджуваного показника, застосовуючи критерій Шапіро-Вілка. Для двох нормальних розподілів перевіряли рівність генеральних дисперсій, застосовуючи критерій Левена. Залежно від нормальності розподілу для порівняння вибірок використовували t-критерій Стюдента або ранговий критерій груп U-тест Мана-Уїтні для порівняння двох незалежних вибірок. Силу зв'язку між змінними визначали за коефіцієнтом кореляції Пірсона r. Отримані дані представлені у вигляді M±SD, n – кількість тварин у групі. Статистично достовірною вважали різницю при P<0,05.

Результати дослідження та їх обговорення.

При негативному впливі свинцю у тканині печінки виявлено активацію процесів ліпопероксидації. У діапазоні малих доз збільшення вмісту МА в гомогенаті печінки не залежало від тривалості експерименту. У наших дослідах тривале уведення ацетату свинцю порушувало рівновагу між про- та антиоксидантними механізмами регуляції метаболічних процесів у крові шурів. Проте вміст МА в крові зростав пропорційно тривалості уведення ацетату свинцю. Найбільш виражений ефект на процеси ПОЛ справляв АС у максимальній щоденній дозі. Так, вміст МА зростав майже вдвічі порівняно до контролю при всіх термінах дослідження. Зростання процесів ПОЛ супроводжувалося змінами активності ферментів антиоксидантного захисту в тканині печінки та крові. У сироватці крові активність СОД та КАТ повторювала динаміку змін, виявлених у гомогенаті печінки, однак інтенсивність цих змін більш ви-

ражена. У тканині печінки при застосуванні АС у малій дозі 3,45 мг/кг активність СОД дещо зростала протягом 10 днів на 17 % (p<0,001) та 30-добове уведення АС інгібувало активність СОД, тоді як активність КАТ – при 10-добовому уведенні відмічається зменшення на 23 % (p<0,01) при мінімальній дозі, а через 20-30 днів поступово відновилася до рівня контрольних величин. Ізольована дія соціального стресу також призводила до порушення в печінці балансу між утворенням вільних радикалів та станом антиоксидантної системи, що збігається з даними Kovacs P. et al. (1996), за якими іммобілізація збільшує пероксидне окиснення ліпідів у печінці. У моделі поєданої дії АС та соціального стресу в гомогенаті печінки вміст МА зростає пропорційно збільшенню дози свинцю, але втрачається мембранодеструктивний ефект залежно від тривалості експерименту. Нами вивчено характер адаптаційних реакцій антиоксидантного компоненту за показниками СОД і КАТ у гомогенаті печінки шурів на фоні поєданої дії соціального стресу та АС. Активність ферментів антиоксидантного захисту змінюється протилежно дії свинцю. Тридцятиденне уведення при мінімальній дозі АС інгібувало активність СОД нижче достовірної норми на 30% і практично не відрізнялася від показників стрес-контролю, активність каталази зросла на 66-100 % (p<0,01). Активність СОД при поєднаній дії соціального стресу та АС у гомогенаті печінки у всіх випадках мала тенденцію до зменшення, порівняно з контрольними величинами, що проявлялось у максимальній дозі на 49% (p<0,001). Щодо активності КАТ у гомогенаті печінки при ПД АС і соціального стресу – відзначено зворотний дозозалежний ефект, який проявлявся поступовим збільшенням при мінімальних дозах свинцю та послідовним зниженням при максимальній дозі на 22 % (p<0,01) при експозиції 30 днів.

У наших дослідах у діапазоні використаних доз при порівнянні результатів ізольованої дії ацетату свинцю та в поєднанні зі соціальним стресом встановлено аналогічну динаміку змін NO₂, що збігається з даними інших авторів, які показали, що 24-годинна дія стресу не змінює концентрації NO в крові шурів. Лише за умов 30-денного уведення соціальний стрес виражено посилював дію ацетату свинцю на концентрацію кінцевого метаболіту NO₂ в крові шурів, що можливо зумовлено зростанням активності індукцебельної NO синтази. Одержані результати підтверджені даними інших авторів про те, що токсичне ураження печінки супроводжується не лише інтенсифікацією процесу пероксидного окиснення ліпідів, але й інтенсифікацією утворення NO та консолідованою адаптивною реакцією антиоксидантної системи (Близнецова Г.Н., 2004). Концентрація МА в крові зростала пропорційно тривалості уведення ацетату свинцю. При цьому між значеннями концентрації NO через 10 та 20 днів уведення ацетату свинцю статистично достовірної різниці не було. Найбільша концентрація NO зареєстрована через 30 днів експерименту. Що

стосується ферментів антиоксидантного захисту, то через 10 діб уведення ацетату свинцю в дозі 3,45 мг/кг активність СОД була більшою по відношенню до контролю на 19,4 % при одночасному зменшенні активності каталази на 17,4 %. Одним із можливих механізмів цього може бути блокування іона заліза активного центру каталази оксидом азоту [1, 5]. Через 20 діб експерименту активність СОД статистично достовірно не відрізнялася від контрольних значень, а активність каталази залишалася практично на такому ж рівні, як і через 10 діб експерименту. Через 30 днів уведення ацетату свинцю активність СОД менша порівняно з контролем на 22,7 %, а активність каталази мала слабо виражену тенденцію до зниження порівняно з 20-ю добою експерименту. Тобто, через 20 та 30 діб спостерігається виснаження антиоксидантного потенціалу крові. Зниження активності СОД через 30 діб не є типовим для цього субстратіндуцибельного ферменту і вочевидь пов'язане зі здатністю NO взаємодіяти з іоном міді активного центру СОД [6, 8]. При більших дозах ацетату свинцю описана закономірність для концентрації NO та MA в крові, а також активності ферментів антиоксидантного захисту зберігалась. Це дозволяє нам підтримати поняття «синдрому надлишкового утворення оксиду азоту» (Костенко В.О., 2005).

Висновки

1. Моделювання дисгомеостазу призводить до зміни активності антиоксидантного компонента локальної стрес-лімітувальної системи печінки. При тривалому уведенні ацетату свинцю у тканині печінки виявлено активацію процесів ліпопероксидації. У діапазоні досліджуваних доз збільшення вмісту малонового альдегіду в гомогенаті печінки не залежить від тривалості інтоксикації, проте вміст малонового альдегіду в крові зростає пропорційно тривалості уведення ацетату свинцю.

2. При поєднаній дії ацетату свинцю та соціального стресу порушення балансу між про- і антиоксидантними процесами є більш вираженим у тканині печінки і крові і настає раніше, ніж за умов ізольованої дії ацетату свинцю.

3. Дисбаланс між про- і антиоксидантними процесами, спричинене тривалим уведенням ацетату свинцю, спонукає до зміни активності ферментів антиоксидантного захисту в гомогенаті печінки залежно від дози свинцю.

4. Зміни оксиду азоту, як компонента локальної стрес-лімітувальної системи, показують, що лише за умов поєднаної дії 30-денного уведення ацетату свинцю та соціального стресу виражено зростає вміст NO₂ в крові щурів, що можливо пов'язано з посиленням активності індукційної NO синтази.

Перспективи подальших досліджень. Передбачається використання нових методів, направлених на регуляцію цих взаємодій в організмі, що може виявитися досить ефективним способом запобігання і лікування багатьох захворювань, пов'язаних із зміною продукції NO і порушенням антиоксидантного статусу організму.

Література

1. Волчегорский И.А. Влияние психологических особенностей личности на уровень продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови и ее антиокислительную активность / И.А.Волчегорский, А.Ю.Хребтова // Рос. физиол. ж. – 2004. – Т. 90, № 8. – С. 987-1000.
2. Вплив L-аргініну на функціональну активність ендотелію за умов експериментального цукрового діабету / В.Ф.Сагач, О.Д.Присяжна, М.М.Ткаченко [та ін.] // Фізіол. ж. – 2005. – Т. 51, № 2. – С. 3-7.
3. Гжегоцький М.Р. Стан адаптаційних реакцій у процесі корекції негативного впливу стрес-факторів хімічної природи / М.Р.Гжегоцький, Ю.В.Федоренко // Фізіол. ж. – 2006. – Т. 52, № 5. – С. 47-54.
4. Гончарук Є.Г. Вільнорадикальне окиснення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля (огляд літератури та власних досліджень) / Є.Г.Гончарук, М.М.Коршун // Ж. Акад. мед. наук України. – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 131-150.
5. Давыдов В.В. Особенности свободно радикальных процессов в печени взрослых и старых крыс при стрессе / В.В.Давыдов, И.В.Захарченко, В.Г.Овсянников // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2004. – Т. 137, № 2. – С. 160-163.
6. Заячківська О.С. Мультифункціональна роль оксиду азоту в стресіндукованих ураженнях слизової ясен (експериментальне моделювання) / О.С.Заячківська // Екс. фізіол. і біохімія. – 2006. – № 1. – С. 41-49.
7. Лісничук Н.Є. Дослідження параметрів вільнорадикального окиснення та стан антиоксидантної системи білих щурів з експериментальним токсичним ураженням печінки / Н.Є.Лісничук // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2007. – Вип. 2. – С. 83-86.
8. Міщенко І.В. Реакції перекисного окиснення ліпідів і гемостазу у різних тканинах при гострому емоційно-больовому стресі / І.В.Міщенко // Фізіол. ж. – 2002. – Т. 48, № 6. – С. 66-69.
9. Стан окислювально-відновних процесів на деяких моделях оксидативного стресу / Л.Д.Попова, О.А.Наконечна, В.П.Кучеренко [та ін.] // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2004. – № 2. – С. 7-11.
10. Чижанська Н.В. Про участь оксиду азоту в цитопротективній дії меланіну на слизову оболонку шлунка / Н.В.Чижанська, О.І.Цирюк, Т.В.Берегова // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2005. – Вип. 3. – С. 56-59.
11. Activity of glutathione peroxidase, glutathione reductase, and lipid peroxidation in erythrocytes in workers exposed to lead / S.Kasperczyk, A.Kasperczyk, A.Ostalowska [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. – 2004. – Vol. 102. – P. 61-72.
12. Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis / G.Bjelakovic, D.Nikolova, R.G.Simonetti [et al.] // Lancet. – 2004. – Vol. 364. – P. 1219-1228.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ NO/NOS И СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ, КАК КОМПОНЕНТОВ ЛОКАЛЬНОЙ СТРЕСС-ЛИМИТИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ СТРЕСС-ФАКТОРОВ РАЗНОГО ГЕНЕЗА

М.М.Кондрю

Резюме. Экспериментальная работа посвящена изучению функционирования локальной стресс-лимитирующей системы печени при токсическом дисгомеостазе, вызванном хроническим введением разных доз ацетата свинца и при его сочетании со социальным стрессом. Установлено активацию процессов липопероксидации в гомогенате печени при раздельном хроническом действии разных доз ацетата свинца. В диапазоне доз ацетата свинца увеличение содержания малонового альдегида в гомогенате печени зависело от дозы ацетата свинца и не зависело от длительности интоксикации, а возрастание концентрации малонового альдегида в крови зависело как от дозы, так и от длительности интоксикации. Трансформация перекисного окисления липидов сопровождалась изменениями активности ферментов антиоксидантной защиты в ткани печени и крови.

Ключевые слова: стресс, стресс-лимитирующая система, печень.

A STUDY OF THE ROLE OF NO/NOS AND THE SYSTEM OF ANTIOXIDANT DEFENCE AS COMPONENTS OF THE LOCAL LIVER STRESS-LIMITING SYSTEM UNDER THE CONDITIONS OF A PROLONGED ISOLATED AND COMBINED ACTION OF STRESS FACTORS OF DIFFERENT GENESIS

М.М.Kondro

Abstract. The paper deals with a study of the functioning of the local liver stress-limiting system of albino rats in toxic dyshomeostasis caused by a chronic infusion of various doses of lead acetate in combination with social stress. It has been detected that lipoperoxidation processes are activated in the liver homogenate under conditions of an isolated chronic action of various doses of lead acetate. Within the range of the examined doses of lead acetate an increase of malonic dialdehyde (MDA) in the liver homogenate depended on the dosage of lead acetate and did not depend on the duration of intoxication, however, the blood MDA content increased proportionally to the duration of the lead acetate infusion. Lipid peroxidation (LP) transformation was accompanied with changes of the activity of the enzymes of antioxidant defence in the hepatic and blood tissue.

Key words: stress, stress-limiting system, liver.

Danylo Halytskyi National Medical University (Lviv)

Рецензент – доц. Н.В.Черновська

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol.13, №4.–P.145-148

Надійшла до редакції 8.08.2009 року

© М.М.Кондрю, 2009

УДК 616.152.21-053.9-08:615.825

О.В.Коркушко, А.В.Писарук, Э.О.Асанов, Н.Д.Чеботарев

ВЕГЕТАТИВНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКОМ СТРЕССЕ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ С ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ И УСКОРЕННЫМ СТАРЕНИЕМ

Отделение клинической физиологии и патологии внутренних органов (зав. – акад. АМН Украины О.В.Коркушко)
ГУ «Институт геронтологии АМН Украины», г. Киев

Резюме. С целью изучения особенностей реакции автономной нервной системы на гипоксию у пожилых людей с ускоренным старением обследованы люди в возрасте от 60 до 74 лет с физиологическим (30 человек) и ускоренным (34 человека) старением сердечно-сосудистой системы. Функциональный возраст сердечно-сосудистой системы определялся по разработанной нами формуле (патент Украины № 7845) по показателям суточной вариабельности ритма сердца.

Показано, что при ускоренном старении сердечно-сосудистой системы снижается компенсаторная реак-

ция на гипоксию сердечно-сосудистой системы (меньший прирост ЧСС и МОК), увеличивается прессорный ответ и выраженный рост симпатической активности (увеличение LF/HF). Все это приводит к выраженной централизации кровообращения и свидетельствует о снижении устойчивости к гипоксии.

Ключевые слова: вегетативная регуляция сердечно-сосудистой системы, гипоксия, ускоренное старение.

© О.В.Коркушко, А.В.Писарук, Э.О.Асанов, Н.Д.Чеботарев, 2009