

УДК 616.127-06:616.45-001.1/3]616-053-092.9:577.152.1

В.М.Швец

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН АКТИВНОСТІ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ У МІОКАРДІ ЩУРІВ ПРИ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ**

Кафедра біохімії (зав.–проф. М.І. Романенко) Запорізького державного медичного університету

**Резюме.** З метою з'ясування причин вікових змін чутливості серця до стресу, вивчено активність супероксиддисмутази (СОД) у міокарді дорослих та старих щурів, що піддалися 30-хвилинній іммобілізації. Встановлено, що при старінні активність СОД у мітохондріальній та цитозольній фракціях міокарда збігається з такою в дорослих тварин. При стресі в дорослих щурів активується СОД у мітохондріальній фракції інтактних

тварин, а в цитозольній фракції активність СОД стає нижчою початкового рівня. Після 30-хвилинної іммобілізації в старих щурів активність СОД у мітохондріальній та цитозольній фракціях міокарда не відрізняється від такої в інтактних тварин.

**Ключові слова:** старіння, міокард, супероксиддисмутаза, стрес.

**Вступ.** При старінні зростає ризик захворюваності серцево-судинної системи [9], однією з причин чого може бути зниження витривалості серця до дії пошкоджувальних чинників стресу [7]. Разом з тим, механізми виникнення цього феномену до теперішнього часу кінцево не встановлено. Враховуючи роль стимуляції вільнорадикальних процесів у патогенезі стресорних пошкоджень міокарда [6], можна припустити визначений взаємозв'язок зниженням потужності антиоксидантних систем серця і віковим зменшенням його стійкості до стресу.

Важлива роль в ініціації ланцюгових вільнорадикальних процесів у клітинах належить супероксидному аніону радикала, утилізація якого пов'язана з його перетворенням у супероксиддисмутазній реакції [3].

Вивченню супероксиддисмутази (СОД) при старінні присвячена велика кількість дослідів. Однак не встановлено вікових особливостей змін каталітичних властивостей СОД у серці при стресі.

**Мета дослідження.** Обґрунтувати зміни СОД у міокарді дорослих та старих щурів, що піддалися 30-хвилинній іммобілізації.

**Матеріал і методи.** Робота виконана на 42 самцях щурів лінії Вістар. Використовувалися тварини двох вікових груп: дорослі (10 - 12 міс.) та старі - (22 - 25 міс.). Обидві групи тварин, у свою чергу, поділялися на 3 підгрупи: 1-ша - інтактні, 2-га - щури, що піддалися іммобілізаційному стресу шляхом фіксації на спині протягом 30 хв та 3-тя - тварини, яким за 15 хв. до іммобілізації внутрішньоочеревинно вводили диметилсульфоксид у фізіологічному розчині натрію хлориду із розрахунку 150 мг / кг маси.

Ефективність відтворення стресу контролювалася шляхом вимірювання в крові концентрації 11-оксикортикостероїдів та катехоламінів [5].

Евтаназія тварин проводилася під легкою ефірною анестезією шляхом декапітації. Виймали серце, вилучався міокард лівого шлуночка та гомогенізувався в скляному гомогенізаторі Поттера-Ельвегейма з розчином 0,25 М сахарози, що містив 0,01М Трис (рН 7,4). Отриманий гомогенат фільтрувався через 4 шари марлі і центрифугувався 10 хвилин при 1000g. Супернатант вду-

ге центрифугувався 20 хв при 10000 g. Отриманий осад одноразово відмивався середовищем гомогенізації за тих же умов центрифугування. Відмитий осад використовувався в роботі як груба мітохондріальна фракція. Супернатант, отриманий при 10000 g, центрифугувався впродовж 60 хв. при 100000 g на ультрацентрифузі MOM 3180 (Угорщина). Надосадова рідина використовувалася в роботі як цитозольна фракція міокарда. Всі процедури проводилися при 4-6°C.

У мітохондріальній та цитозольній фракціях серця визначали активність СОД [1].

Концентрацію білка визначали за методом Лоурі.

Отримані результати статистично обробляли за методом Стьюдента.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати проведених дослідів представлені на рис 1-3.

З рис.1 видно, що при старінні в активності СОД проходять різнонаправлені зміни в мітохондріальній та цитозольній фракціях міокарда. При цьому кінетика ферментативної реакції в цитозолі та мітохондріях старих щурів збігається з такою в дорослих тварин (рис. 2,3).

При іммобілізаційному стресі в дорослих щурів активується СОД у мітохондріях, що супроводжується сталими змінами кінетики супероксиддисмутазної реакції, порівняно з такою в інтактних тварин. У цитозольній фракції міокарда дорослих щурів, що піддалися 30-хвилинній іммобілізації, активність СОД становить на 38% нижче її початкового рівня. Часткове інгібування ферменту супроводжується змінами кінетики супероксиддисмутазної реакції. Попереднє введення диметилсульфоксиду щурам цієї вікової групи запобігає в них при іммобілізаційному стресі виникненню зсувів з боку активності СОД та допомагає нормалізації кінетики супероксиддисмутазної реакції в досліджуваних субклітинних фракціях.

У старих щурів, що піддалися 30-хвилинній іммобілізації, активність СОД і кінетика супероксиддисмутазної реакції в мітохондріальній та цитозольній фракціях міокарда не відрізняються від таких у старих інтактних щурів.

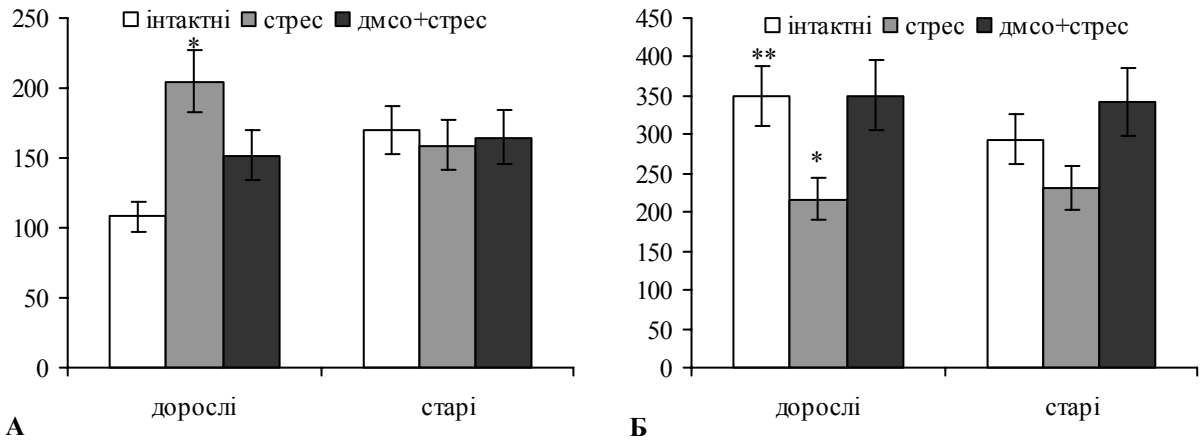


Рис. 1. Активність супероксиддисмутази (Од /мг білка хв) в мітохондріальній (А) та цитозольній фракції серця дорослих і старих щурів при іммобілізаційному стресі  
У досліджах використовували по 5 – 6 щурів. ДМСО +стрес – група тварин, яким перед іммобілізацією вводили ДМСО.  
\* - P < 0,05 до інтактних; \*\* - P < 0,05 до дорослих інтактних

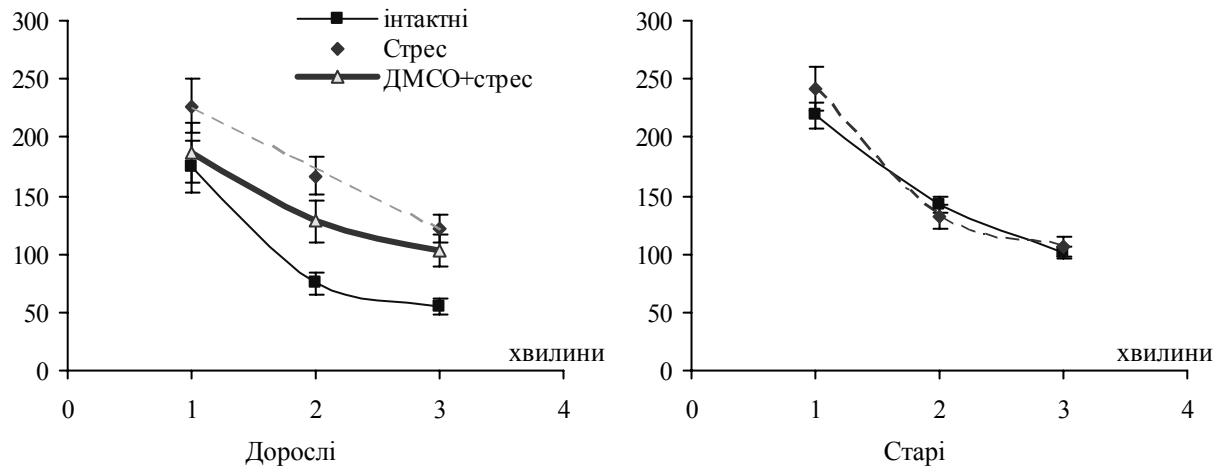


Рис. 2. Кінетика супероксиддисмутазної активності в мітохондріальній фракції серця дорослих та старих щурів при іммобілізаційному стресі. На осі ординат вказана активність ферменту в Од/ мг білка хв, на осі абсцис – час реакції у хвилинах

В експериментах використовували по 5 – 6 щурів

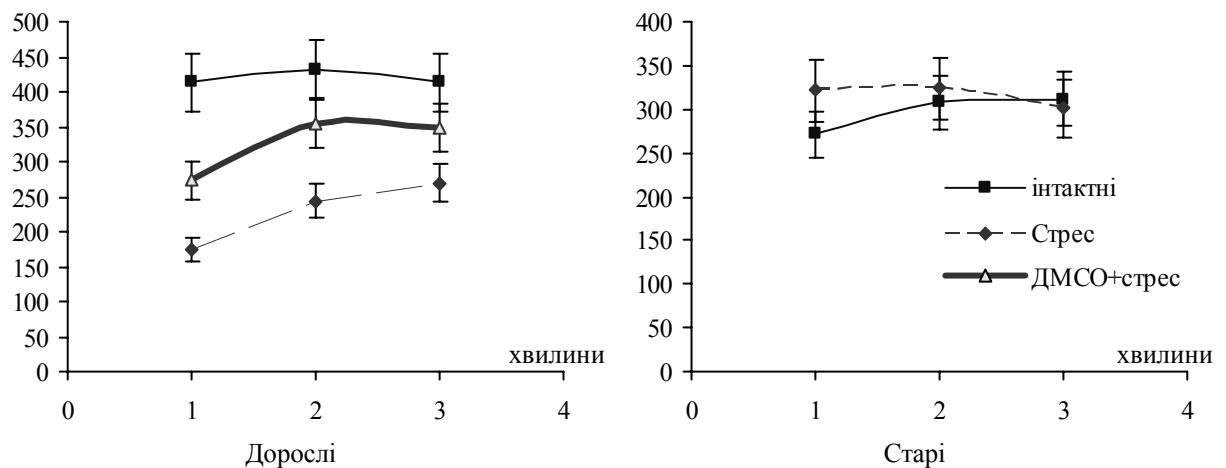


Рис. 3. Кінетика супероксиддисмутазної активності в цитозольній фракції серця дорослих та старих щурів при іммобілізаційному стресі. На осі ординат вказана активність ферменту в Од/ мг білка хв, на осі абсцис – час реакції у хвилинах

В експериментах використовувалось по 5 – 6 щурів

Дослідження показали, що при старінні в цитозольній та мітохондріальній фракціях міокарда виникають різноспрямовані зсуви з боку супероксиддисмутази активності. Характерно, що в мітохондріях активність СОД підвищується, вірогідно, що за умов підвищення швидкості утворення супероксидного аніон-радикала в процесах, пов'язаних із переносом електронів по дихальному ланцюгу мітохондрій [8]. Це набуває значення компенсаторної реакції, направленої на обмеження проявів оксидативного стресу в серці в пізньому онтогенезі.

Аналіз можливих причин виникнення вікових змін активності СОД у досліджуваних компартментах міокардіальних клітин дозволяють вважати, що вони не пов'язані з ковалентною модифікацією молекули ферменту. На це частково вказує відсутність зсувів кінетики супероксиддисмутази реакції. Можна припустити, що зміни в активності СОД зумовлені співвідносним зсувом у синтезі ферменту в міокардіальних клітинах при старінні, за рахунок модуляції експресії генів співвідносних ізоферментів.

Враховуючи вікові зміни в активності СОД, як ферменту, що відіграє ключову роль в антиоксидантному захисті міокарда, важливо визначити супероксиддисмутази активність за умов стимуляції вільнорадикальних процесів у серці при стресі [2]. Досліди, що проводилися в цьому напрямку, показали, що в дорослих щурів при іммобілізаційному стресі в цитозольній та мітохондріальній фракціях серцевого м'яза виникають різнонаправлені зміни активності СОД. Їх напрямок цілком збігається із зсувом, що виникає в мітохондріальній і цитозольній фракціях міокарда при старінні, що є додатковим аргументом на користь концепції В.В.Фролькіса про стрес-вік-синдром [4].

У результаті 30-хвилинної іммобілізації модуляція активності СОД як у мітохондріальній, так і цитоплазматичній фракціях серця, супроводжується змінами кінетики супероксиддисмутази реакції. Основу цього зсуву може складати ковалентна модифікація поліпептидного ланцюга ізоферментів СОД активними формами кисню, що інтенсивно генеруються в міокарді при стресі. На це припущення вказують результати досліджень із превентивним уведенням антиоксиданту.

Підвищення активності СОД у мітохондріях міокардіальних клітин дорослих щурів, що зазнавали 30-хвилинної іммобілізації, можна розглядати як компенсаторну реакцію на стимуляцію вільнорадикальних процесів при стресі. Значення же стресорної дії на супероксиддисмутази активність у цитозольній фракції міокарда залишається нез'ясованим та заслуговує на особливу увагу.

У старих щурів, на відміну від дорослих тварин, при іммобілізаційному стресі не виявлено змін з боку супероксиддисмутази активності в досліджуваних субклітинних фракціях міокарда. Можливо, причиною змін є неоднакова ефективність стимуляції вільнорадикальних процесів у

серці при іммобілізаційному стресі в щурів у різному віці. Однак досліди, проведені раніше в цьому напрямку, свідчать про протилежне [6].

### Висновки

1. При старінні виникають різнонаправлені зміни супероксиддисмутази активності в субклітинних фракціях міокарда: у мітохондріальній - виникає підвищення, а в цитозольній - обмеження активності СОД, порівняно з величинами в дорослих тварин

2. При іммобілізаційному стресі в дорослих щурів підвищується супероксиддисмутази активність у мітохондріальній фракції і її обмеження - у цитозольній фракції, порівняно з початковим рівнем. Паралельно змінюється і кінетика супероксиддисмутази реакції.

3. У старих щурів при іммобілізаційному стресі не виникає змін супероксиддисмутази активності, а також кінетики супероксиддисмутази реакції в міокарді, порівняно з такими в інтактних тварин цієї вікової групи.

4. Відсутність змін з боку активності супероксиддисмутази при іммобілізації старих щурів є одним з проявів зниження в них лабільності метаболізму і, як наслідок, зменшення адаптивних властивостей міокарда.

**Перспективи подальших досліджень.** Відсутність реакції СОД, як одного з ферментів першої лінії антиоксидантного захисту міокарда, на дію прооксидантних факторів іммобілізаційного стресу вказує на зниження лабільності обміну речовин у серцевому м'язі в пізньому онтогенезі. Наслідком цього може бути обмеження адаптивних властивостей міокарда, у тому числі, вікове зниження витривалості серця до дій чинників стресу. Вивченню цього питання будуть присвячені подальші дослідження.

### Література

1. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутази, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. - 1990. - Т.36, №2. - С. 28 - 35.
2. Маркова Е.А., Мисула И.Р. Изменение интенсивности перекисного окисления липидов в миокарде взрослых и старых крыс при стрессе // Патол. физиол. - 1994. - №3. - С. 37 - 38.
3. Меньшиков Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. - М.: Слово, 2006. - 556 с.
4. Фролькис В.В. Стресс-возраст-синдром // Физиол. ж. - 1991. - Т.37, № 3. - С.3-11.
5. Davydov V.V., Shvets V.N. Age-dependent differences in the stimulation of lipid peroxidation in the heart of rats during immobilization stress// Exp.Gerontol. - 2003. - Vol.38. - P. 693- 698.
6. Davydov V.V., Shvets V.N. Lipid peroxidation in the heart of adult and old rats during immobilization stress //Exp. Gerontol.- 2001.- Vol.36.- P.1155-1160.

7. Docherty I.R. Cardiovascular responses in aging // Pharmacol. Rev. – 1990.- Vol. 42.- P.103-126.
8. Lenaz G., Bovina C., D'Aurelio M. et al. Role of mitochondria in oxidative stress and aging// Ann. N Y Acad. Sci.- 2002. – Vol.959. – P. 199-213.
9. Priebe H.J. The aged cardiovascular risk patient// Br.J.Anaesth. – 2000. – Vol.85, N 5. – P. 763-778

#### ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В МИОКАРДЕ КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

*В.Н.Швец*

**Резюме.** С целью выяснения причин возрастного изменения чувствительности сердца к стрессу, изучена активность СОД в миокарде взрослых и старых крыс, подвергнутых 30-минутной иммобилизации. Установлено, что при старении активность СОД в митохондриальной и цитозольной фракции миокарда соответствует таковой у взрослых животных. При стрессе у взрослых крыс активируется СОД в митохондриальной фракции относительно интактных животных, а в цитозольной фракции, наоборот, активность СОД становится ниже исходного уровня. После 30-минутной иммобилизации у старых крыс активность СОД в митохондриальной и цитозольной фракции миокарда не отличается от таковой у интактных животных.

**Ключевые слова:** старение, миокард, супероксиддисмутаза, стресс.

#### AGE-SPECIFIC PECULIARITIES OF CHANGES OF SUPEROXIDE DISMUTATASE ACTIVITY IN THE RAT' MYOCARDIUM UNDER IMMOBILIZATION STRESS

*V.N.Shvets'*

**Abstract.** For the purpose of ascertaining the causes of age-related sensitivity changes to stress the activity of superoxide dismutase (SOD) in the myocardium of adult and old rats subjected to 30 minute immobilization has been studied. It has been established that in case of aging the SOD activity in the mitochondrial and cytosolic fractions of the myocardium coincides with that of adult animals. The SOD is activated in the mitochondrial fraction in case of stress in adult animals compared with intact animals, whereas contrary the SOD activity becomes lower than its initial level in the cytosolic fraction. The SOD activity in the myocardial mitochondrial and cytosolic fractions does not differ from that in intact animals following 30 minute immobilization.

**Key words:** aging, myocardium, superoxide dismutatase, stress.

State Medical University (Zaporizhyya)

Рецензент – проф. І.Ф.Мещишен

Buk. Med. Herald. – 2007. – Vol.11, №2.- P.120-123

Надійшла до редакції 22.01.2007 року