

Н. Я. Карбашевська, І. О. Блюм, Б. О. Цудзевич

Активність антиоксидантних ферментів у органах і крові щурів за умов гравітаційного навантаження

Изучено влияние гипергравитационной нагрузки величиной 5, 8, 12 Н·м²/кг² (15 мин) на активность антиоксидантных ферментов — каталазы, супероксиддисмутази в крови и тканях головного мозга, печени крыс через 15, 30, 60 мин, а также через 1, 3, 7 сут после воздействия. Показано, что при воздействии гипергравитационной нагрузки разной интенсивности особенности протекания физиологической реакции-ответа в органах крыс зависят от величины нагрузки, а также функционального назначения исследуемых тканей.

ВСТУП

Гіпергравітаційне навантаження може розглядатися як екстремальний фактор, що викликає розвиток загального синдрому адаптації під час космічного польоту у живих організмів з різним рівнем організації [1, 13, 14]. Початковою ланкою розвитку стрес-реакції є підвищення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) — важливого компонента ліпідного обміну, який впливає на різні ланки метаболізму [1, 9]. Швидкість перебігу вільнорадикальних процесів регулюється багатокомпонентною системою антиоксидантного захисту. При цьому розвиток фізіологічної реакції-відповіді організму визначається функціональними резервами антиоксидантної системи. Раніше нами було встановлено, що гіпергравітація 10, 15, 20 Н·м²/кг² характеризується суттєвими порушеннями процесів ПОЛ [6]. Виходячи з вищенаведеного, метою цієї роботи було дослідити особливості активації вільнорадикального окиснення ліпідів у крові та органах щурів у разі гіпергравітаційного навантаження.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 140 білих безпородних щурах-самцях масою 150 — 200 г, яких утримували за стандартних умов віварію і які одержували стандартний раціон годування [3]. Для виключення можливого впливу добових ритмів на біохімічні показники дослідження проводились в один і той же період доби [2].

Гіпергравітаційне навантаження 5, 8, 12 Н·м²/кг² моделювали центрифугуванням щурів у напрямі голова - таз у спеціальних контейнерах протягом 15 хв на центрифугі Janetzki K-60. Величину гіпергравітації (в одиницях прискорення g вільного падіння на поверхні Землі) задавали зміною швидкості обертання, яку контролювали за допомогою спеціального тахометра [12].

Щурів розподілили на чотири групи. Щури I групи (контроль) утримувалися на стандартному раціоні віварію. Щурів трьох дослідних груп (II, III і IV) піддавали гіпергравітаційному навантаженню: 5, 8 і 12 Н·м²/кг² відповідно.

Щурів декапітували через 15, 30 та 60 хв, 1, 3 і 7 діб після впливу. Для дослідження використовували тканини головного мозку,

печінки та кров щурів. Кров відбирали, запобігали гепарином її зсіданню. Плазму крові відділяли від формових елементів центрифугуванням. З тканин головного мозку, печінки готували 10 %-ві гомогенати на 0,05 моль/л тріс-буфері (рН 7,4). Всі маніпуляції здійснювали при 4°C . У плазмі крові та гомогенатах тканин визначали активність каталази [7] та виражали в молях за 1 хв на 1 л плазми або на 1 мг білка. Визначення активності супероксиддисмутази (СОД) в тканинах (в умовних одиницях на 1 мг білка) та крові щурів (в умовних одиницях на 1 мл крові) проводили за методом Дубініної із співавт.[4]. Однією умовною одиницею активності СОД вважали 50% гальмування процесу відновлення нітросинього тетразолію, зумовленого внесенням ферментного препарату в інкубаційне середовище. Концентрацію білка в пробах визначали за методом Лоурі [15].

Статистичну обробку результатів здійснювали, використовуючи метод статистичного аналізу на основі критерію t Стьюдента [5]. Зміни показників вважали достовірними при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

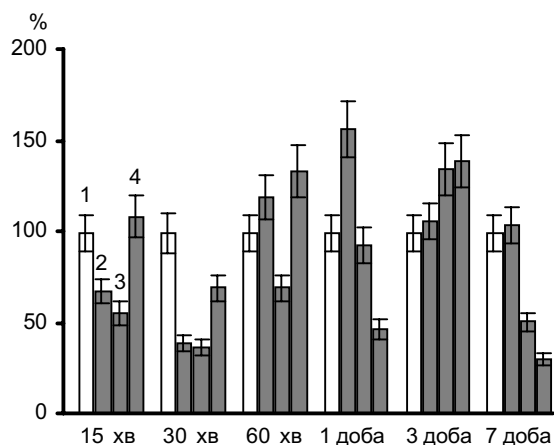
В результаті проведених досліджень встановлено, що внаслідок дії гіпергравітаційного навантаження величиною $5 \text{ Н}\cdot\text{м}^2/\text{кг}^2$ спостерігалось зниження активності каталази в плазмі крові щурів в 1,4–2,0 рази через 15 та 30 хв, а через 60 хв та 1 добу активність ферменту була вищою в 1,25–1,5 рази відносно контролю (рисунк,а). Збільшення величини навантаження до $8 \text{ Н}\cdot\text{м}^2/\text{кг}^2$ супроводжувалось зниженням активності каталази в усі терміни дослідження в 1,5–2,2 рази відповідно, тільки через 3 доби спостерігалось підвищення в 1,35 рази. Дія гіпергравітаційного навантаження величиною $12 \text{ Н}\cdot\text{м}^2/\text{кг}^2$ індукувала підвищення активності каталази через 60 хв, 3 доби в 1,5 рази, та зниження через 30 хв, 1 та 7 діб в 1,4, 2, 2,8 рази відповідно. Раніше проведеними дослідженнями [12, 13] було встановлено, що одним з основних пошкоджуючих

факторів при дії гіпергравітаційного навантаження може бути порушення транспорту кисню, що, в свою чергу, може відігравати важливу роль в окисно-відновних процесах. Однак пригнічення активності каталази протягом першої години після впливу може пояснюватися розвитком стресової реакції-відповіді організму, характерною ознакою якої є зниження активності каталази [1].

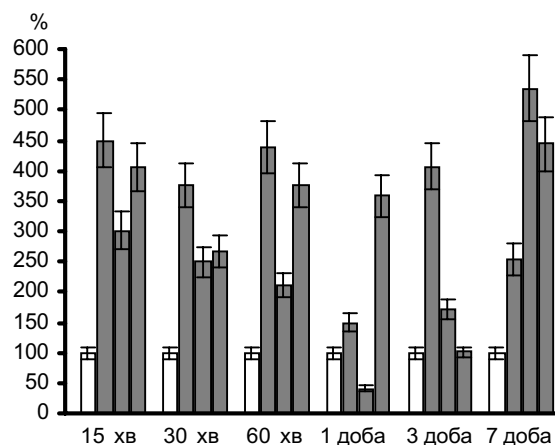
Інший характер змін спостерігався при дослідженні активності СОД у крові щурів (див.рисунк,б). У разі дії гіпергравітаційного навантаження величиною 5, 8, $12 \text{ Н}\cdot\text{м}^2/\text{кг}^2$ нами спостерігалось підвищення активності цього ферменту в 1,5–5,5 рази відносно контролю в усі досліджувані терміни. Лише через 1 добу після впливу навантаження величиною $8 \text{ Н}\cdot\text{м}^2/\text{кг}^2$ відбувалось зниження активності СОД вдвічі. Такий характер змін активності досліджуваного ферменту, можливо, пояснюється механізмами компенсаторної реакції організму на дію гіпергравітаційного навантаження як фактора стресу [12].

У тканині головного мозку щурів зміни показників активності каталази при дії навантаження величиною 5 та $8 \text{ Н}\cdot\text{м}^2/\text{кг}^2$ мали хвилеподібний характер (див.рисунк,в). Підвищення активності досліджуваного ферменту нами відмічалось і через 60 хв, і через 1 добу, а зниження – через 15 хв і 7 діб після впливу. При дії навантаження величиною $12 \text{ Н}\cdot\text{м}^2/\text{кг}^2$ спостерігався фазовий характер змін активності досліджуваного ферменту протягом усіх термінів дослідження. Так, через 15 хв та 3 доби відмічалось підвищення в 1,3 рази відносно контролю, а через 1 год, 1, 7 діб – зменшення в 3,3, 4,1, 5,0 рази відповідно.

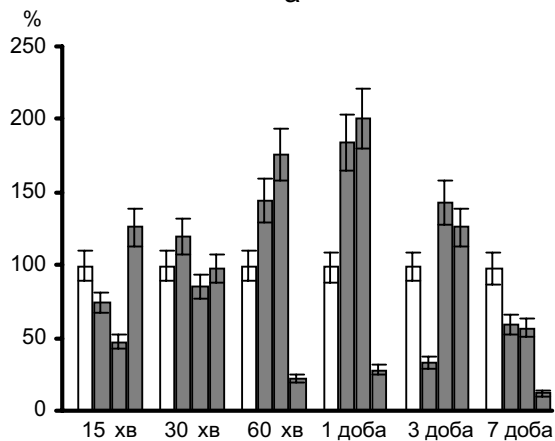
Дія гіпергравітаційного навантаження величиною 5, $8 \text{ Н}\cdot\text{м}^2/\text{кг}^2$ в цілому не викликала істотних змін активності СОД у тканині головного мозку щурів. Лише через 60 хв після навантаження величиною $5 \text{ Н}\cdot\text{м}^2/\text{кг}^2$ спостерігалось підвищення в 3,8 рази (див.рисунк,г). У всі інші терміни дослідження активність ферменту була на рівні контролю. При збільшенні величини навантаження до



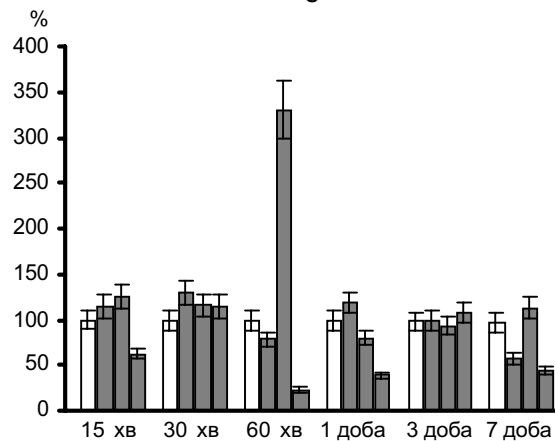
а



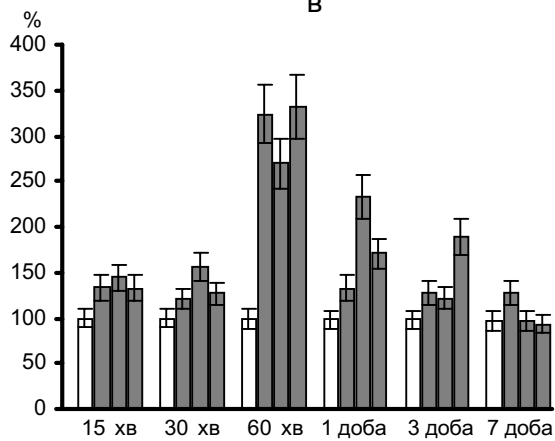
б



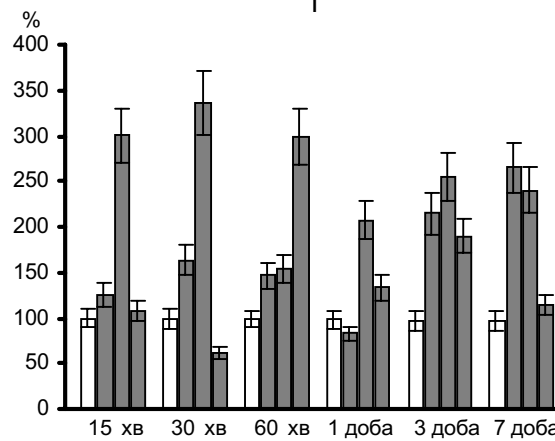
в



г



д



е

Активність антиоксидантних ферментів у щурів за умов гіпергравітаційного навантаження: а - каталази, б - супероксиддисмутази — в крові; в - каталази, г - супероксиддисмутази — в головному мозку; д - каталази, е - супероксиддисмутази — в печінці (дані подано у відсотках, за 100 % прийнято значення контролю). 1 — контроль, 2 — 5 Н·м²/кг², 3 — 8 Н·м²/кг², 4 — 12 Н·м²/кг².

12 Н·м²/кг² спостерігалось зниження показників активності СОД в 1,8-4,0 рази через 30, 60 хв та 1, 7 діб порівняно з контролем. Такі зміни активності досліджуваних ферментів можуть бути спричинені специфічним перебігом реакцій вільнорадикального окиснення в тканині головного мозку, зокрема через високий вміст ліпідів відносно інших тканин, підвищеним рівнем інтенсивності процесів ПОЛ у центральній нервовій системі ссавців, а також значенням цих процесів у регуляції функціональної активності мембран нейронів [10].

Нами було встановлено, що дія гіпергравітаційного навантаження величиною 5, 8, 12 Н·м²/кг² зумовила підвищення активності каталази та СОД у печінці щурів відносно контролю протягом усіх термінів дослідження (див.рисунок, д,е). При цьому максимальне підвищення активності каталази на 370 % спостерігалось через 60 хв після всіх застосованих навантажень. Найбільше підвищення активності СОД (в 3,5 рази відносно контролю) відмічалось через 30 хв після дії прискорення величиною 8 Н·м²/кг². Такі показники активності антиоксидантних ферментів, можливо, зумовлені особливостями перебігу фізіологічних процесів у клітинах печінки в зв'язку з її детоксуючою дією [8].

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать, що особливості фізіологічної реакції-відповіді у разі дії гіпергравітаційного навантаження різної інтенсивності в органах щурів залежать від величини навантаження, а також від функціонального призначення досліджуваної тканини.

N.Ya.Karbashevskaya I.O. Blume, B.O. Tsudzevich

LIPID PEROXIDATION IN ORGANS AND BLOOD OF RATS AT HYPERGRAVITY LOADING

The influence of hypergravity (5, 8, 12 N·m²/kg² for 15 min) on the activity of the antioxidant enzyme catalase and superoxide dismutase has been investigated in the blood, brain and liver tissues of rats in 15, 30, 60 min., and in 1, 3, 7 days after loading. It has been shown that peculiarities of the physiological

response to the hypergravity of different intensity depend on the intensity of loading and functions of the tissues under investigation.

Taras Shevchenko Kiev National University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В.А., Жадько С.И., Кордюм Е.Л., Сидоренко П.Г. Перекисное окисление липидов растений различного уровня организации при микрогравитационном стрессе // Изв. АН СССР, сер. биол. - 1991. - № 3. - С. 368-375.
2. Детари Л., Карцаги В. Биоритмы. - М.: Мир, 1984. - 160 с.
3. Западнюк И.П., Западнюк Б. В., Захария Е.А. и др. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте - К.: Вища шк., 1983. - 383 с.
4. Дубинина Е.Е., Ефимова Л.Ф., Сафронова Л.Н. и др. Сравнительный анализ активности супероксиддисмутазы и каталазы эритроцитов и цельной крови у новорожденных детей при хронической гипоксии // Лаб. дело. - 1988. - № 8. - С.16-18.
5. Иванов Ю.И., Погорелюк О.М. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах за программами. - М.: Медицина, 1990. - 224 с.
6. Карбашевська Н.Я., Барабой В.А., Блюм І.О. Вплив гіпергравітаційного стресу на стан антиоксидантної системи щурів // Доп. НАН України. - 1999. - № 2. - С. 168-171.
7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова Г.И. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. - 1988. - № 1. - С.16-19.
8. Левадная О.В., Донченко Г.В., Валуцина В.М. и др. Соотношение между величинами активности ферментов антиоксидантной системы в различных тканях intactных крыс // Укр. біохім. журн. - 1998. - 70, № 6. - С. 53-58.
9. Маркин А.А., Попова И.А., Ветрова Е.Г. и др. Перекисное окисление липидов и активность диагностически значимых ферментов у космонавтов после полетов различной продолжительности // Авиакосм. и экол. медицина. - 1997. - 31, № 3. - С. 14-18.
10. Никушкин Е.В. Перекисное окисление липидов в ЦНС в норме и при патологии // Нейрохимия. - 1989. - 8, № 1. - С. 124-142.
11. Поберезкина Н.Б., Осинская Л.Ф. Биологическая роль супероксиддисмутазы // Укр. біохім. журн. - 1989. - 61, № 2. - С. 14-23.
12. Фролькис В.В., Мурадян Х.К., Тимченко А.Н., Мозжухина Т.Г. Влияние гипергравитационного стресса на интенсивности газообмена, биосинтеза РНК и белка, терморегуляцию и вы-

- живаемость у животных разных видов // Косм.наука і технологія. - 1997. - **3**, № 3/4. - С. 16-21.
13. Тигранян Р.А. Метаболические аспекты проблемы стресса в космическом полете. - М.: Наука, 1985. - 224 с.
14. Maccarone M., Bari M., Finazzi Agro A. Lipid peroxydation and protamine metabolism in K562 cells selected to altered gravity // J. Gravitation. Physiol. - 1999. - **6**, № 1. - P. 25-26.
15. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.I., Randall R.J. Protein measurement with the Pholin phenol reagent // J. Biol. Chem. - 1951. - **193**, № 1. - P. 265-275.

Нац. ун-т ім. Тараса Шевченка

*Матеріал надійшов
до редакції 17.08.2000*