

В.В. Гордієнко

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ХРОНОРИТМІВ
ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЩУРІВ
ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ДІЇ МАЛИХ ДОЗ СВИНЦЮ АЦЕТАТУ**

Кафедра медицини катастроф та військової медицини (зав. – доц. І.Г.Бірюк)
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. Досліджено стан циркадіанних ритмів вільнорадикальних процесів та антиоксидантних систем захисту в статевозрілих і статевонезрілих щурів за тривалої дії малих доз свинцю ацетату. Показники оксидантно-антиоксидантної рівноваги тварин мають циркадіанну спрямованість і змінюються з віком. Тривала дія малих доз токсиканта збільшує мезор і

порушує фазність та структуру хроноритмів окиснювальної модифікації білків. Механізми адаптації більш виразні в статевозрілих щурів.

Ключові слова: оксидантно-антиоксидантна система, хроноритми, статевозрілі, статевонезрілі щури, свинцю ацетат.

Вступ. Свинець, як глобальний забруднювач навколишнього середовища, залишається в центрі уваги токсикологів, гігієністів, екологів [5]. Пріоритетним напрямком у сучасних токсикологічних дослідженнях є віковий аспект проблеми і виявлення ранніх ознак патологічних реакцій в організмі за тривалого надходження малих доз токсикантів [1, 6]. Усе більшої актуальності набуває нове перспективне спрямування, яке поглиблює наше уявлення про механізми фізіологічних і патологічних процесів в організмі – хронобіологія, хрономедицина, хронотоксикологія [2, 4]. Однак хронобіологічним дослідженням токсичного ураження важкими металами з урахуванням вікових особливостей організмів приділяється мало уваги.

Мета дослідження. З'ясувати онтогенетичні особливості циркадіанних ритмів показників оксидантно-антиоксидантного стану в щурів як відображення механізмів адаптації за тривалого впливу малих доз свинцю ацетату.

Матеріал і методи. Експерименти проведено на самцях білих щурів двох вікових категорій: статевонезрілих (1,5 – 2 міс.) і статевозрілих (5-6 міс.). Тварин утримували в умовах віварію зі сталим температурним і світловим режимом (12.00 С : 12.00 Т). Біоритми показників про- та антиоксидантної активності плазми крові та гомогенату печінки досліджували впродовж доби кожних 4 години. Тваринам щоденно впродовж

30 днів вводили всередину через зонд 0,3 мг/кг свинцю ацетат. Контрольні тварини отримували в аналогічному об'ємі дистильовану воду. Евтаназію тварин проводили під легкою ефірною анестезією шляхом декапітації. У плазмі крові та пост'ядерному супернатанті 5%-го гомогенату печінки досліджували вміст церулоплазміну (ЦП), ступінь окиснювальної модифікації білків (ОМБ) та активність деяких ферментів. Вміст модифікованих білків у плазмі крові визначали за [3], ЦП - за Колб В.Г., Камішніковим В.С., активність каталази у центрифугаті печінки і сироватці крові визначали за методом Королюк М.А. та співавт., глутатіон-S-трансферази - за методом Habig M.W. et al. Результати статистично обробляли методом "Косинор-аналізу" та параметричними методами статистики з визначенням t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведені дослідження засвідчили, що перебіг біохімічних процесів у щурів має циркадіанну періодичність. З віком рівень показників оксидантно-антиоксидантних процесів і структура їх хроноритмів зазнають змін (рис.). Якщо біоритми ОМБ у статевонезрілих (СНЗ) тварин характеризуються низькою амплітудою коливань і суттєво не змінюються впродовж доби, то у статевозрілих (СЗ) амплітуда біоритмів у 3,3 раза вища, а рівень ОМБ має фотоперіодичну залежність.

У нічний час процеси вільнорадикального окиснення значно нижчі з батифазою (мінімальне значення) о 2 год ночі при акрофазі (максимальне значення) о 11 год 20 хв ранку. Середньодобовий рівень (мезор) ОМБ у СЗ тварин на 13,0% нижчий, ніж у СНЗ (табл.). За тривалої дії малих доз свинцю ацетату мезор ОМБ у СЗ тварин зріс на 20,0% і суттєво не відрізнявся від аналогічного показника в СНЗ. Збільшилася амплітуда коливань біоритмів, особливо в СНЗ тварин. Відбулося зміщення акрофазі в СЗ на нічний час, у СНЗ – на ранішній. Таке збільшення амплітуди з порушенням фазової структури ритму може свідчити про компенсаторну реакцію організму на екологічно-шкідливе навантаження[1].

Вміст у плазмі крові контрольних тварин церулоплазмину в обох вікових групах суттєво не відрізнявся. Однак за дії токсиканту реакція тварин була різною. У СЗ тварин спостерігалось значне

зростання мезору цього антиоксиданту. О 18 год у період акрофазі хроноритму вміст ЦП зріс удвічі (рис.), середньодобовий рівень збільшився в 1,9 раза порівняно з контролем. У молодих СНЗ тварин мезор ЦП зменшився в 1,2 раза при батифазі о 18 год.

Вихідна активність каталази сироватки крові у СЗ була в 1,6 раза меншою, ніж у СНЗ з низькою амплітудою коливань у тварин обох вікових груп. За дії свинцю добова активність каталази у СНЗ тварин зменшилася на 30,0%, у СЗ, навпаки, зросла в 1,5 раза. Амплітуда хроноритмів у СЗ зросла в 4,2 раза, у СНЗ – в 2,4 раза (табл.).

Активність каталази печінки у молодих тварин була дещо вищою (на 20,0%), ніж у СЗ тварин. За дії токсиканта в СНЗ активність зросла ще більше з акрофазою о 01 год 26 хв ночі (табл.), у СЗ ще помітніше зменшилася батифазою о 22 год (рис).

Хроноритми показників про- і антиоксидантної системи сироватки крові і печінки у щурів різного віку за тривалої дії малих доз свинцю ацетату ($\bar{x} \pm S_x$)

Показники	Мезор	Амплітуда	Акрофаза	Мезор	Амплітуда	Акрофаза
Статевонезрілі						
	Контроль (n = 42)			Свинцю ацетат (n=48)		
Окиснювальна модифікація білків, Е/ г білка	61,3±1,76	4,8±1,28	3:42 ±2:42 (11,2%)	70,9±5,67	17,0±3,16	6:50 ±1:49 (7,5%)
Церулоплазмін, Е/ г білка	82,0±3,02	6,7±2,30	4:29±3:04 (12,8%)	68,2±4,77 p<0,05	8,3±2,22	6:25±3:16 (13,6%)
Каталаза сироватки крові, мкмоль/год·мл	1,4±0,04	5,7±1,20	9:16±3:41 (15,3%)	0,99±0,07 p<0,001	13,2±1,83	4:43±0:30 (2,1%)
Каталаза печінки, ммоль/год· г тканини	192,1±5,18	4,7±1,06	5:26±4:14 (17,6%)	227,4±7,07 p<0,01	6,25±1,21	1:26±1:34 (6,53%)
Глутатіон-S-трансфераза, мкмоль/хв· г тканини	27,4±1,48	5,9±1,74	5:21±2:02 (8,4%)	31,4±1,90	14,4±1,90 p<0,01	1:43±1:59 (8,3%)
Статевозрілі						
	Контроль (n = 30)			Свинць (n=46)		
Окиснювальна модифікація білків, Е/ г білка	53,2±3,22	15,6±0,72	11:20±0:47 (3,2%)	65,8±4,92 p<0,05	19,4±4,10	3:52±5:02 (20,9%)
Церулоплазмін, Е/ г білка	88,6±3,61	6,5±1,99	2:42±2:57 (12,3%)	167,5±13,45 p<0,001 p ₁ <0,001	18,0±2,15 p<0,01 p ₁ <0,01	6:50±3:45 (15,6%)
Каталаза сироватки крові, мкмоль/год· мл плазми	0,80±0,04	5,7±0,91	4:31±3:08 (13,1%)	1,2±0,13 p<0,05 p ₁ <0,05	24,3±5,68 p<0,01	9:53±3:29 (14,5%)
Каталаза печінки, ммоль/год· г тканини	152,7±4,11	5,1±1,56	3:45±2:30 (10,4%)	122,2±8,40 p<0,01 p ₁ <0,01	13,1±2,38 p<0,05 p ₁ <0,05	7:12±2:32 (10,5%)
Глутатіон-S-трансфераза, мкмоль/хв· г тканини	28,9±1,25	7,0±2,36	0:16±1:49 (7,5%)	37,3±2,51	13,0±2,77	5:58±2:10 (9,0%)

p – ступінь вірогідності різниці при порівнянні з контролем; p₁ – ступінь вірогідності різниці між аналогічними показниками в щурів різного віку

У відповідь на дію токсиканту зросла активність глутатіон-S-трансферази печінки, удвічі збільшилася амплітуда коливань біоритму відносно мезору в шурів обох груп. Однак показники активності ферменту в СНЗ тварин зросли лише в нічний час, у СЗ – упродовж усієї доби з найбільшими значеннями з 6 до 10 год ранку (рис.).

Збільшення активності ферментів антиоксидантного захисту свідчить про реакцію організму на дію токсиканту, однак, як свідчать наведені дані, ступінь виразності її відрізняється у СНЗ і СЗ тварин. Можна припустити, що за тривалої дії малих доз свинцю ацетату спостерігається напруження гомеостатичних механізмів, активація адаптаційно-компенсаторних можливостей організму, про що свідчить збільшення амплітуди циркадіанних ритмів процесів антиоксидантного захисту у тварин різного віку.

Висновки.

1. Показники оксидантно-антиоксидантного стану тварин мають циркадіанну спрямованість і вікові особливості.
2. Тривала дія малих доз свинцю ацетату викликає збільшення мезору та порушення фазності і структури хроноритмів окиснювальної модифікації білків у шурів.
3. Активність механізмів адаптації до дії малих доз

свинцю ацетату більш виразна в статевозрілих тварин, про що свідчить збільшення мезору і амплітуди хроноритмів процесів антирадикального захисту.

Література

1. Бойчук Т.М. Хроноритмологічна характеристика адаптивно-компенсаторних перебудов функції нирок при інтоксикації малими дозами важких металів // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 4. – С. 109-115.
2. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. – М.: Триада-Х-2000. – 488 с.
3. Мецишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 156-158.
4. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло: місце і роль у хроноритмологічній організації фізіологічних функцій // Бук. мед. вісник. – 2002. – Т. 6, № 3-4. – С. 4-6.
5. Трахтенберг И.М., Короленко Т.К., Утко Н.А., Мурадян Х.К. Свинец и окислительный стресс // Совр. пробл. токсикол. – 2001. - № 4. – С. 50-53.
6. Трахтенберг И.М., Коршун М.Н. Возрастные особенности реакций организма на воздействие ксенобиотиков как гигиеническая проблема // Тез. доп. наук. конф. “Вікові особливості чутливості організму до ксенобіотиків”. – Чернівці, 2002. – С. 4.

AGE-RELATED PECULIARITIES OF CHRONORHYTHMS OF FREE RADICAL PROCESSES AND THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT DEFENSE ENZYMES IN RATS UNDER CONDITIONS OF A PROLONGED ACTION OF SMALL DOSES OF PLUMBUM ACETATE.

V.V.Gordiienko

Abstract. The paper investigates the state of the circadian rhythms of free radical processes and antioxidant systems of defense in pubertal and nonpubertal rats under conditions of a prolonged action of small doses of plumbum acetate. The parameters of oxidant-antioxidant balance of animals have a circadian tendency and alter with age. A prolonged action of small doses of the toxicant increases mesor and disturbs the phasic capacity and structure of the chronorhythms of the oxidant modification of proteins. The mechanism of adaptation are more marked in pubertal rats.

Key words: oxidant-antioxidant system, hronorhythms, pubertal, nonpubertal rats, plumbum acetate.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)