

УДК 616.15:612.015

А. Я. Велика
В. П. ПішакБуковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ВПЛИВ ВОДНОГО ТА СОЛЬОВОГО
НАВАНТАЖЕННЯ НА СТАН ОСНОВНИХ
ПОКАЗНИКІВ ОКСИДАНТНО-
АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ
ЩУРІВ**

Ключові слова: водне та сольове навантаження, оксидантно-антиоксидантна рівновага, окисно-модифіковані білки, ТБК-реакційні продукти, церулоплазмін, глутатіон-S-трансфераза, глутатіонпероксидаза.

Резюме. Встановлено, що водне і сольове навантаження призводять до зсуву оксидантно-антиоксидантної рівноваги в крові щурів у бік активації окиснювальних процесів. Як водне, так і сольове навантаження через 2 години призводять до підвищення в крові вмісту ТБК-реакційних продуктів і не впливають на ступінь окиснювальної модифікації білків. У сироватці крові щурів при водному та 3% сольовому навантаженнях підвищується вміст церулоплазміну та глутатіон-трансферазна активність.

Вступ

Співвідношення прооксидантних та антиоксидантних систем визначає антиоксидантний статус організму [1]. Порушення цього статусу призводить до синдрому пероксидації, який включає деструкцію клітинних мембран, інактивацію і трансформацію ферментів, пригнічення процесів поділу клітини, накопичення інертних біополімерів типу ліпофусцину, і є патогенетичним чинником виникнення захворювань [2, 3].

Механізм антиоксидантного захисту організму може реалізуватися двома шляхами: 1) зниження рівня генерування активних форм кисню (АФК) та радикалів унаслідок обриву ланцюгів вільнорадикальних реакцій, що забезпечується ферментативною (супероксидисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіон-S-трансфераза, які послідовно відновлюють супероксид, H_2O_2 і органічні гідропероксиди та чинять перешкоду розвитку пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у біомембранах); або неферментативною антиоксидантною системою; 2) видалення пулу металів змінної валентності (залізо, мідь), за рахунок зв'язування їх із білками (трансферин, лактоферин, церулоплазмін), що усуває можливість їх участі у вільнорадикальних реакціях [4]. До неферментативної антиоксидантної системи належить численна група ендogenous сполук, які здатні взаємодіяти з активними формами кисню і переривати процес ПОЛ [5, 6].

Антиоксиданти прямої дії (безпосередньо інактивують АФО, вільні радикали жирних кислот, пероксиди і гідропероксиди ліпідів) [7]. Ці антиоксиданти спроможні гальмувати реакції ліпо-

пероксидації, зокрема у біологічних мембранах, у дуже низьких концентраціях [8].

Сумарна антиоксидантна активність "прямих" антиоксидантів визначається спроможністю утвореного радикала самого антиоксиданту паралельно з реакціями рекомбінації з утворенням стабільних молекул, ініціювати нові ланцюги вільнорадикального окиснення при взаємодії з кожною новою молекулою окисненої сполуки [9]. Ендогенні "прямі" антиоксиданти володіють більш вираженою антиоксидантною активністю.

Біоантиоксиданти непрямої дії: попередники глутатіону (глутамінова кислота, цистеїн, метіонін), селеноорганічні сполуки, які є індукторами пероксидаз (натрію селеніт і селеновмісні аналоги амінокислот), рибофлавін, нікотинова кислота, метіонін, селен, мідь, цинк, марганець є ефективними тільки в біологічних об'єктах, але неефективні *in vitro*, – сприяють синтезу чи активності "прямих" антиоксидантів або знижують продукування АФК, реактивують антиоксидантні ферменти чи викликають зсув реакцій вільнорадикального окиснення в бік утворення менш реакційноздатних сполук [5,10,11]. Зміни вмісту біооксидантів у різних компартментах клітини є сигналом для зміни вмісту антиоксидантних ферментів. Тому актуальним є дослідження показників вільнорадикального окиснення ліпідів і білків та активностей ферментів антиоксидантного захисту, які забезпечують оксидантно-антиоксидантну рівновагу в крові

Мета дослідження

З'ясувати зміни основних показників про-/антиоксидантної системи крові у щурів при водному та сольовому навантаженнях.

Матеріал і методи

Дослідження проведено на білих нелінійних ставевозрілих щурах-самцях, масою 180 ± 10 г. Тварини перебували в умовах віварію зі сталим температурним та світловим режимами і розподілені на групи: 1-а група ($n=8$) – контрольна (тварини, які не отримували водного та сольового навантаження); 2-а група ($n=8$) – тварини, які отримували 5% водне навантаження (5 мл води на 100 г маси тіла тварини); 3-я група ($n=8$) – тварини, які отримували 3% сольове навантаження (з розрахунку 3 мл 0,45% розчину NaCl на 100 г тіла тварини); 4-а група ($n=8$) – тварини, яким проводилось 0,75% сольове навантаження (з розрахунку 0,75 мл 0,45% розчину NaCl на 100 г тіла тварини). Проводили збір сечі і визначали величину діурезу (мл /2 год /100г маси тіла). Водне та сольове навантаження проводили за 2 години до евтаназії, внутрішньошлунково через металевий зонд. Сечу збирали впродовж 2 годин після навантаження і визначали величину діурезу (мл /2 год /100 г маси тіла). Через 2 год після навантаження проводили евтаназію тварин шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Евтаназію тварин здійснювали відповідно до вимог Європейської конвенції з захисту експериментальних тварин (86/609 ЄС). Кров збирали в пробірки з гепарином, для одержання гепаринізованої плазми.

У крові визначали вміст ТБК-реакційних продуктів [11], каталазну [12] та глутатіонпероксидазну [12] активності. У плазмі крові досліджували вміст продуктів окисно-модифікованих білків (ПОМБ) [13], церулоплазміну (ЦП) [14], глутатіон-S-трансферазну активність (ГСТ) [15].

Обговорення результатів дослідження

Водне і сольове навантаження призводить до зсуву оксидантно-антиоксидантної рівноваги в

крові щурів у бік активації окиснювальних процесів (табл.).

При водному навантаженні в крові щурів відмічено зростання вмісту ТБК-РП на 31,4% порівняно з контролем, який становив – $33,9 \pm 5,20$ мкмоль/л. Вміст продуктів окисно-модифікованих білків не змінився.

Каталазна та глутатіонпероксидазна активність крові щурів за умов водного навантаження не змінювалися порівняно з контролем. За цих же умов експерименту в сироватці крові виявлено зростання глутатіон-S-трансферазної активності на 47% та ЦП на 48,5%. Порушення рівноваги між показниками системи антиоксидантного захисту, можливо, пов'язано з тим, що водне навантаження призводить до окиснювального стресу на організм щурів.

Навантаження 3% розчином NaCl виявило збільшення вмісту ТБК-РП у крові щурів на 45,6% порівняно з контролем. Інші показники процесів вільнорадикального окиснення та активності антиоксидантної системи не зазнавали змін. При навантаженні 0,75% розчином NaCl відмічено підвищення вмісту ТБК-РП на 13,7% порівняно з контролем. Глутатіон-S-трансферазна активність та вміст церулоплазміну в сироватці крові щурів зросли порівняно з контролем на 41,2%.

Висновок

Як водне, так і сольове навантаження через 2 години призводить до підвищення в крові щурів вмісту ТБК-реакційних продуктів і не впливає на вміст продуктів окисно-модифікованих білків. Серед системи антиоксидантного захисту в сироватці крові щурів при водному та 3% сольовому навантаженнях підвищується вміст церулоплазміну та глутатіон-S-трансферазна активність.

Таблиця

Стан показників вільнорадикального окиснення макромолекул та активності ферментів системи антиоксидантного захисту, $M \pm m$, $n = 8$

Показники \ Групи	Контроль	5% водне навантаження	3% розчин NaCl 3% від маси тіла	3% розчин NaCl 0,75% від маси тіла
ТБК – РП, мкмоль/л	$33,9 \pm 5,20$	$49,4 \pm 4,68^*$	$62,3 \pm 8,20^*$	$39,3 \pm 3,38^*$
ПОМБ _{370нм} , о.о.г./мл	$0,64 \pm 0,04$	$0,67 \pm 0,01$	$0,64 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,09$
ПОМБ _{430нм} , о.о.г./мл	$1,47 \pm 0,330$	$1,87 \pm 0,354$	$1,72 \pm 0,343$	$1,61 \pm 0,452$
КАТ, мкмоль/хв.*мл	$7,42 \pm 1,520$	$6,66 \pm 1,742$	$7,11 \pm 1,918$	$7,35 \pm 3,578$
Г-S-T, нмоль/хв.*мг білка	$8,1 \pm 0,42$	$15,3 \pm 4,33^*$	$13,0 \pm 2,26^*$	$13,8 \pm 1,68^*$
ГП, нмоль/хв.*мг білка	$56,3 \pm 2,99$	$63,5 \pm 3,87^*$	$70,5 \pm 3,08^*$	$65,3 \pm 11,27^*$
ЦП, мг/л	$197,3 \pm 46,9$	$383,4 \pm 37,0^*$	$302,2 \pm 28,4^*$	$235,5 \pm 44,6^*$

Примітка. * - вірогідні зміни порівняно з контролем, $P < 0,05$

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується дослідження впливу водного та солевого навантаження на стан основних показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги в тканинах (нирках).

Література. 1. *Cadenas E.* Mitochondrial Free Radical Generation Oxidative Stress and Aging / E. Cadenas, K. Davies // *Free Radicals Biological Medicine*. – 2000. – Vol. 29, №3–4. – P. 222–230. 2. *Давыдов В. И.* Особенности свободнорадикальных процессов в печени взрослых и старых крыс при стрессе / В. И. Давыдов, И. П. Захарченко, В. И. Овсянников // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2004. – Т. 137, №2. – С. 160–163. 3. *Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease* / [Davies M., Fu S., Wang H. et al.] // *Free Radicals Biological Medicine*. – 1999. – Vol. 27, № 11–12. – P. 1151–1163. 4. *Васильев В. Б.* Роль медьсвязывающих центров церулоплазмينا в дисмутировании супероксидных радикалов / В. Б. Васильев // *Цитология*. – 1999. – Т. 41, № 9. – С. 812. 5. *Гонський Я. І.* Біохімічні аспекти дії лікарських засобів. II. Модуляції активності ферментів, транспортних і структурних білків, біомолекул небілкової природи / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук // *Медична хімія*. – 2004. – Т. 6, № 1. – С. 111–116. 6. *Скворцов В. В.* Пероксидация липидов и антиоксидантная система в гепатологии / В. В. Скворцов // *Гепатология*. – 2003. – № 3. – С. 7–13. 7. *Макарова М. Н.* Антирадикальная активность флавоноидов и их комбинаций с другими антиоксидантами / М. Н. Макарова, В. Г. Макаров, И. Г. Зенкович // *Фармакология*. – 2004. – № 2. – С. 30–32. 8. *Horvatova K.* The free radical scavenging activity of four flavonoids determined by the comet assay / K. Horvatova // *Neoplasma*. – 2003. – Vol. 50. – P. 291–295. 9. *Беленічев І. Ф.* Антиоксиданти: сучасні уявлення, перспективи створення / І. Ф. Беленічев, С. І. Коваленко, В. В. Дунаєв // *Ліки*. – 2002. – № 1–2. – С. 43–47. 10. *Зайцев В. Г.* Связь между химическим строением и мишенью действия как основа классификации антиоксидантов прямого действия / В. Г. Зайцев, О. В. Островский, В. И. Закревский // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2003. – Т. 66, № 4. – С. 66–70. 11. *Владимиров И. А.* Перекисное окисление методов в биологических мембранах / И. А. Владимиров, А. И. Шерстнев. – М.: Наука, 1972. – 252 с. 12. *Королюк М. А.* Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванов, И. Г. Масторова // *Лабораторное дело*. – 1988. – № 1. – С. 16–17. 13. *Мещишен І. Ф.* Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // *Буковинський медичний вісник*. – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 156–157. 14. *Камышиников В. С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике в 2 т. – Минск: Интерпрессервис, 2003. – Т. 2. – С. 74–75. 15. *Мещишен І. Ф.* Метод определения активности глутатион-S-трансферазы в крови / И. Ф. Мещишен //

Применение ферментов в медицине. – Симферополь, 1987. – С. 135.

ВЛИЯНИЕ ВОДНОЙ И СОЛЕВОЙ НАГРУЗКИ НА СОСТОЯНИЕ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ КРЫС

А. Я. Великая, В. П. Пишак

Резюме. Установлено, что водная и солевая нагрузки приводят к нарушению оксидантно-антиоксидантного равновесия в крови крыс в сторону активации окислительных процессов. Как водная, так и солевая нагрузка через два часа вызывают повышение в крови содержание ТБК-реагирующих продуктов и не влияют на степень окислительной модификации белков. В сыворотке крови крыс при водной и 3% солевой нагрузке повышается содержание церулоплазмينا и глутатионтрансферазная активность.

Ключевые слова: водная и солевая нагрузка, оксидантно-антиоксидантное равновесие, окислительно-модифицированные белки, ТБК-реагирующие продукты, церулоплазмин, глутатион-S-трансфераза, глутатионпероксидаза.

THE INFLUENCE OF WATER AND SALT LOADING ON THE MAIN PROOXIDANT-ANTIOXIDANT STATE INDEXES IN RAT BLOOD

A. Ya. Velyka, V. P. Pishak

Abstract. Water and salt loading has been found to result in shifting of oxidative-antioxidative balance in the blood of rats into the side of oxidation. Both water and salt loading lead to the increase of TBA-reaction products in the blood in 2 hours and they do not influence upon the degree of protein oxidative modification. In case of water and 3% salt loading the content of ceruloplasmin and activity of glutathiontransferase increase in the blood serum of rats.

Key words: Water and salt loading, oxidative-antioxidative balance, oxidative modification proteins, TBA-reaction products, ceruloplasmin, glutathiontransferase, glutathionperoxidase.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2010. - Vol.9, №4 (34).-P.10-12.

Надійшла до редакції 25.10.2010

Рецензент – проф. В. Є. Роговий

© А. Я. Велика, В. П. Пишак, 2010