

О.В.Ясінська

РЕАГУВАННЯ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПЛАЗМИ КРОВІ НА ГІПОБАРИЧНУ ГІПОКСІЮ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ДОВЖИНИ ФОТОПЕРІОДУ

Кафедра нормальної фізіології (зав. – проф. Г.І.Ходоровський)
Буковинського державного медичного університету

Резюме. Застосована нами експериментальна модель комбінованої дії 6-годинної гіпобаричної гіпоксії, еквівалентної висоті 4000 м над рівнем моря, щоденно протягом 7 днів та різної тривалості фотоперіодів показала, що про- й антиоксидантні системи плазми крові самців білих щурів активно реагували на умови експерименту. Виявлено, що утримання тварин в умовах постійного освітлення стимулює активність супероксиддисмутази, однак активність каталази знижується,

гіпоксія за таких умов ще більше активує антиоксидантні ферменти. За умов комбінованої дії гіпобаричної гіпоксії та постійної темряви показники прооксидантної системи були вищими, ніж за умов природного освітлення.

Ключові слова: гіпобарична гіпоксія, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, фотоперіод, мелатонін.

Вступ. Гіпоксія – один з найпоширеніших патологічних станів, що проявляється широким спектром функціонально-метаболических порушень. У зв'язку з невинним погіршенням екології, гіподинамічним способом життя людини особливого значення набуває проблема екзогенної

гіпоксії. Для такої гіпоксії характерна відсутність вираженої нозології з наявністю поліорганних, морфофункціональних порушень, які формуються на системному рівні, прояви яких залежать від тривалості дії та тяжкості впливів екзогенних чинників. Порівняно нещодавно в класифікації

гіпоксії виникли нові форми: гіпоксія напруги й фізіологічна гіпоксія, яка лежить в основі звичайної трудової діяльності [6].

При гіпоксії в оцінці стану організму на системному рівні особлива роль відводиться процесам пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). ПОЛ являє собою ланцюговий екзотермічний хімічний процес окиснювальної модифікації нейтральних ліпідів і фосфоліпідів. Розвиток ПОЛ каталізується активними формами кисню – супероксидним (O_2^-) та гідроксильним (HO^\cdot) радикалами. Внаслідок посилення чи послаблення ПОЛ змінюється склад клітинних мембран, їх структурна організація та функціональна активність клітин [1].

Детальний розгляд ролі вільнорадикальних процесів, зокрема ПОЛ, у порушенні клітинних структур при змінах кисневого режиму організму наведений в ряді оглядів [6,8].

У той же час констатується, що за умов зниження в тканинах pO_2 авторами описуються різні зміни ПОЛ – від його пригнічення до значної активації. Вважаємо, що це спричинено кількома обставинами: недооцінювання й не завжди врахування авторами таких факторів, як форма гіпоксії, тривалість експериментальної гіпоксії (гостра чи хронічна), пора року та дня, вік і стать експериментальних тварин. Стійкість до гіпоксичних впливів змінюється в дослідних тварин залежно від деяких зі зазначених чинників [9]. Зміни проявів гіпоксії від пори дня вказує на їх імовірну залежність від функціонального стану епіфіза [4]. Відомо, що мелатонін виробляється в темряві та відповідає за різноманітні функції, у числі яких – знешкодження вільних радикалів (антиоксидантні властивості) та стимуляція синтезу ендогенних антиоксидантів [3,11].

Мета дослідження. Простежити стан ПОЛ і пов'язану з ним зміну деяких антиоксидантних ферментів плазми крові за комплексних умов фізіологічної гіпоксії та різної довжини фотоперіоду.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 82 білих лабораторних безпорідних щурах-самцях репродуктивного віку середньою масою 190 г. Використовували власну модель досліду, яка певною мірою наближена до фізіологічної гіпоксії і включала: гіпобаричну гіпоксію у проточній барокамері, створювану шляхом розрідження повітря до величини, що відповідає висоті 4000 м над рівнем моря зі швидкістю “підйому” 0,4 км/хв; утримання тварин за гіпоксичних умов протягом 7 діб по 6 годин щодня (з 9.00 до 15.00); за різних варіантів фотоперіодичних змін освітлення: рівномірного 12-годинного розподілу світлової (С) та темної (Т) фаз, постійного освітлення та за умов постійної повної темряви, тривалість експозиції – 8 діб (змінений світловий режим вводили за добу до застосування гіпоксії). Як контроль використані інтактні щури, які перебували за умов природного освітлення та звичайного атмосферного тиску. Згідно із застосованими умовами досліду всі тварини були розподілені на 8 груп. Наступного дня після

закінчення гіпоксичного впливу всіх тварин декапітували під легким ефірним наркозом, кров збирали та центрифугували, плазму крові використовували для визначення первинних – дієнові кон'югати (ДК), вторинних – малоновий альдегід (МА) продуктів ПОЛ [2] та активності антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД) та каталази спектрофотометричним методом [5,10]. Статистичну обробку результатів здійснювали за методом варіаційної статистики з використанням критерію-*t* Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. За умов природного освітлення застосована нами модель гіпобаричної гіпоксії посилює процес пероксидної окисації ліпідів (табл.1). Має місце істотно інтенсивніше (на 16,3%) утворення первинних продуктів ПОЛ у плазмі крові за відсутності суттєвих змін утворення вторинних продуктів ПОЛ. Одночасно з такими процесами радикалоутворення спостерігалася активація ферментних антиоксидантних механізмів. Так, у тварин, що зазнали впливу гіпоксії, активність СОД була вищою на 40,0% у порівнянні з цим показником у контрольних тварин. Разом з тим привертає увагу й те, що активність каталази при цьому знизилася. Активність цього ферменту при гіпоксії знижується в еритроцитах та цільній крові, що підтверджено в клініці та експерименті, при цьому гальмування активності каталази виражено більше, ніж СОД [8]. Така ситуація створює умови для накопичення пероксиду водню, який є інгібітором СОД і викликає окиснення гемоглобіну в метгемоглобін. Ці два процеси ведуть до погіршення перебігу гіпоксії. Зазначені зміни про- й антиоксидантної систем у відповідь на гіпоксію не суперечить загальноприйнятій уяві про те, що існує рівновага між двома протилежними та постійно взаємодіючими процесами – радикалоутворенням та пероксидним окисненням, з одного боку, та активністю біоантиоксидантних систем, з іншого боку. Одним з кінцевих результатів такої взаємодії є адаптація організму до гіпоксії.

За умов постійного освітлення застосована нами форма гіпоксії суттєво підвищила активність антиоксидантних ферментів: СОД на 30%, каталази на 43,0%. Водночас вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ у плазмі крові гіпоксичних тварин помітно понизився: ДК на 7,6%, МА на 21,8% у порівнянні з тваринами, які зазнали тільки утримання за умов постійного освітлення без застосування гіпоксії. Загалом зазначені дані вказують на те, що завдяки антиоксидантним механізмам кількість продуктів вільнорадикального окиснення утримується на низькому рівні. З іншого боку, складається враження, що постійне освітлення є сильним стимулятором антиоксидантних механізмів, зокрема СОД, а при спільній дії з гіпоксією такі механізми набувають ще більшої потужності, й проявляються в адаптації організму до гіпоксії. Особливо це стосується тих, де задіяна СОД. Зазначене не протирічить даним про те, що рівень МА підвищується в нічні години й знижу-

Таблиця 1

Показники ПОЛ та активність антиоксидантних ферментів у плазмі крові статевозрілих самців-щурів за умов гіпоксії та різної довжини фотоперіоду, $M \pm m$

№ групи	Умови досліджу	n	Продукти ПОЛ, моль/мг білка		Активність антиоксидантних ферментів	
			ДК	МА	СОД, од/хв/мг білка	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка
1.	Природне освітлення, нормоксія	19	0,892±0,043	0,379±0,034	6,115±0,302	4,683±0,698
2.	Природне освітлення, гіпоксія	12	1,037±0,031*	0,327±0,045	8,565±0,643*	1,826±0,236*
3.	Постійне освітлення, нормоксія	6	0,838±0,046	0,297±0,017*	7,650±0,282*	1,802±0,189*
4.	Постійне освітлення, гіпоксія	5	0,808±0,040**	0,250±0,008***	9,982±0,601*,***	2,648±0,293***
5.	Постійна темрява, нормоксія	10	1,539±0,062*,***	0,629±0,022*,***	5,368±0,250***	7,719±0,175*,***
6.	Постійна темрява, гіпоксія	10	1,308±0,065*,**,****,#	0,718±0,059*,**,****	5,473±0,503**,****	8,178±0,295*,**,****,#

Примітка: * – вірогідно відносно групи 1 ($p < 0,05$); ** – вірогідно відносно групи 2 ($p < 0,05$); *** – вірогідно відносно групи 3 ($p < 0,05$); **** – вірогідно відносно групи 4 ($p < 0,05$); # – вірогідно відносно групи 5 ($p < 0,05$)

Таблиця 2

Показники ПОЛ та активність антиоксидантних ферментів у плазмі крові статевозрілих самців-щурів за умов гіпоксії, природного освітлення та рівномірного розподілу світлової і темної фаз, $M \pm m$

№ групи	Умови досліджу	n	Продукти ПОЛ, нмоль/мг білка		Активність антиоксидантних ферментів	
			ДК	МА	СОД, од/хв/мг білка	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка
1.	Природне освітлення, нормоксія	19	0,892±0,043	0,379±0,034	6,115±0,302	4,683±0,698
2.	Природне освітлення, гіпоксія	12	1,037±0,031*	0,327±0,045	8,565±0,643*	1,826±0,236*
7.	С/Т по 12год, нормоксія	10	1,016±0,057	0,774±0,025*	6,960±0,342	1,222±0,196*
8.	С/Т по 12год, гіпоксія	10	1,283±0,067*,**,***	0,737±0,065*,**	6,411±0,151**,***	1,838±0,176*,**,***

Примітка: С – світлова фаза, Т – темнова фаза; * – вірогідно відносно групи 1 ($p < 0,05$); ** – вірогідно відносно групи 2 ($p < 0,05$); *** – вірогідно відносно групи 7 ($p < 0,05$)

ється в ранішні та денні години. Такі коливання рівня ПОЛ розглядаються як закономірні й пояснюються тим, що в нічні години ліпідний обмін більш інтенсивний, ніж удень, і що рівень МА протягом доби корелює з активністю СОД [7].

У наступній серії дослідів з утриманням тварин в умовах повної темряви ми отримали результати протилежні тим, що описані вище в серіях з утриманням тварин за постійного освітлення. Привертає увагу високий рівень ПОЛ – як ДК, так і МА, низький рівень СОД і високий – каталази. Така реакція про- й антиоксидантної систем у цілому відповідає даним про підвищення рівня МА й зниження активності СОД у крові в нічні години та зниження рівня МА й підвищення рівня СОД у денні години [7].

Для подальшого вивчення узгодженості реагування прооксидантно-антиоксидантної систем на сукупну дію гіпоксії та різної тривалості фотоперіоду були проведені експерименти, в яких гіпоксія поєднувалася з рівнозначною тривалістю світлової та темної фаз. Результати дослідів представлені в табл. 2.

Установлено, що перебування тварин в умовах С 12 год/ Т 12 год призвело до підвищення величини МА та зниження активності каталази в порівнянні з тваринами, які перебували за умов природного освітлення. Гіпоксія на фоні рівномірного розподілу світла й темряви значно підвищила рівень МА та знизила СОД у крові тварин. Зазначене відповідає даним тих авторів, які вста-

новили існування кореляції рівня МА протягом доби з активністю СОД [7].

Разом з тим привертають увагу наступні особливості. Тварини, що утримувалися за умов рівності фаз С/Т прореагували показниками про- та антиоксидантної систем сильніше за тих тварин, що утримувалися за умов природного освітлення: рівень ДК у плазмі крові виявився вищим на 14%, МА – на 104%, а активність каталази – у 3 рази меншою.

За умов рівності фаз С/Т реагування досліджуваних систем на гіпоксію так само суттєво відрізнялося від того, що спостерігалось за умов гіпоксії на тлі природного освітлення. Зокрема, вміст продуктів ПОЛ у плазмі крові був значно більшим зі збереженням напрямку реагування, а зміна активності антиоксидантних ферментів мала протилежний напрямок порівняно з дослідом зі застосуванням природного освітлення.

Висновок

Про- й антиоксидантні системи активно реагують на умови тривалої комбінованої дії гіпобаричної гіпоксії й різних світлових режимів утримання тварин.

Перспективи подальших досліджень. Вважаємо за необхідне подальші дослідження стану антиоксидантно-прооксидантної рівноваги в цілісному організмі, зокрема механізмів окиснювальної модифікації білків, яка має місце в органах і тканинах людини та тварин при окиснювальному стресі, та з'ясування місця й ролі мелатоніну в ній, особливо за умов тривалої світлової експозиції або тривалого темного утримання тварин.

Література

1. Єраносян Х.В., Коношенко С.В. Пероксидна окисація ліпідів і стан антиоксидантної системи в еритроцитах за умов ініціації процесів окиснення *in vitro* // Експерим. та клін. фізіол. та біохім.–2004.–3(27).–С.39-43.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело.– 1983. – №3. – С.33-36.
3. Заморский И.И., Пишак В.П. Функциональная организация фотопериодической системы головного мозга // Успехи физиол.наук.– 2003.–Т.34, №4.– С.37-53.
4. Комаров Ф.И., Малиновская Н.К., Рапопорт С.И. Мелатонин и биоритмы организма // Хронобиология и хрономедицина / Под ред. Ф.М.Комарова, С.И.Рапопорта.– ТриадаХ, 2000.–С.82-90.
5. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1.– С.16-18.
6. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии// Патол.физиол. и эксперим.терапия. – 2004. – № 2. – С. 2-11.
7. Пашков А.Н., Саурина О.С. Сахарный диабет (хронобиологические аспекты обмена веществ) // Хронобиология и хрономедицина / Под ред. Ф.М.Комарова, С.И.Рапопорта. – Триада Х, 2000. – С.378-387.
8. Савченкова Л.В. Биохимические основы патогенеза гипоксического синдрома (обзор литературы) // Укр. мед. альманах.–1998.–№1.– С.90-97.
9. Хачатурьян М.Л., Панченко Л.А. Влияние сезона года на устойчивость крыс к гипоксии // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – Т.133, № 3.–С.348-352.
10. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело – 1985.–№11.– С.678-681.
11. Beyer C.E., Steketee I.D., Saphier D. Antioxidant properties of melatonin an emerging mystery // Biochem. Pharmacol.–1998.–V.56, N10.–P.1265-1272.

REACTION OF BLOOD PLASMA PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEMS TO HYPOBARIC HYPOXIA UNDER CONDITIONS OF A DIVERSE DURATION OF THE PHOTOPERIOD

O. Y. Yasins'ka

Abstract. The experimental model of a combined action of 6-hour hypobaric hypoxia, equivalent to the altitude of 4000 m above sea level, every day during 7 days and of a diverse duration of photoperiods has shown that the pro- and antyoxdant systems of the blood plasma of male albino rats reacted actively to the conditions of the experiment. It has been disclosed that keeping animals under conditions of steady illumination stimulates the activity of superoxide dismutase, however the activity of catalase decreases, hypoxia under such conditions still more activates antyoxdant enzymes. Under conditions of a combined action of hypobaric hypoxia and steady darkness the parameters of the prooxidant system were higher than under conditions of natural illumination.

Key words: hypobaric hypoxia, lipid peroxidation, antioxidant system, photoperiod, melatonin.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2005. – Vol.9, №3.- P.145-148

Надійшла до редакції 2.03.2005 року