

УДК 612.015.348:612.451:612.273.2]:612.826.33

О.В. Ясінська,**Р.Р. Дмитренко**

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

ВПЛИВ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЕПІФИЗА НА ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ В НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ЗА ГІПОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ**Ключові слова:** гіпобарична гіпоксія, фотоперіод, окиснювальна модифікація білків, надниркові залози, епіфіз, протеоліз.**Резюме.** Проведений аналіз впливу пригнічення мелатонін-продукувальної функції епіфіза на характер реагування показників білкового обміну в тканинах надниркових залоз щурів на тривалі переривчасту гіпобаричну гіпоксію. Виявлено, що напрямок та інтенсивність змін вмісту продуктів окислювальної модифікації білків (ОМБ) та показників протеолізу в тканинах надниркових залоз статевозрілих самців щурів залежить від функціонального стану епіфіза. Так, за умов пригнічення мелатонін-продукувальної функції епіфіза шляхом постійного освітлення вміст продуктів ОМБ знижувався у відповідь на гіпоксичний вплив на тлі суттєвого зростання інтенсивності протеолізу всіх видів білкових молекул, особливо низькомолекулярних білків, тоді як за умов природного освітлення гіпобарична гіпоксія призводила до зростання вмісту ОМБ. При цьому інтенсивність лізису білкових молекул з високою молекулярною масою вірогідно знижувалась, а протеоліз низькомолекулярних білків залишався практично без змін.**Вступ**

Гіпобарична гіпоксія, еквівалентна середньота високогірній природній гіпоксії, здійснює багатогранну дію на різних рівнях організму, у якій порушення ліпід-білкових взаємовідносин клітинних і субклітинних мембран займає чільне місце [13]. Разом з тим, механізми пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) висвітлені в багаточисельних роботах, у той час як механізми окиснювальної модифікації білків (ОМБ), яка має місце в органах і тканинах при окиснювальному стресі, не достатньо вивчені [2, 10]. Пошкодження білкових молекул, у порівнянні з ліпідними, вважається більш глибоким проявом дії вільних радикалів, разом з тим, гіпоксія пригнічує синтез мітохондріальних білків, а інтенсивність таких змін пов'язана з часом експозиції гіпоксії [3, 11]. В усіх випадках, у остаточному підсумку, відбувається зниження доставки кисню до тканин до рівня недостатнього для підтримки функцій, метаболізму і структури клітин [5, 12]. Необхідною умовою збереження адаптаційних можливостей організму є гармонійне реагування різних рівнів ендокринної регуляції та хроноритмів. Епіфіз (шишкоподібна залоза) здійснює не лише синхронізуючий вплив на органи ендокринної системи, а й відіграє важливу роль у забезпеченні достатнього рівня антиоксидантної активності за рахунок виділення мелатоніну. Зниження мелатонін-продукувальної функції епіфіза може призводити до порушення

перебігу адаптаційних перебудов на молекулярному рівні з ушкодженням клітинних мембран [4]. У процесах реагування на різноманітні чинники середовища змінюється й характер протеолітичної активності як на системному рівні (у плазмі крові), так і на органному рівні, зокрема, у тканинах надниркових залоз, що може бути як проявом регенераторних процесів, так і участі їх у механізмах апоптозу [6, 8]. Залишається не з'ясованим механізм узгодження реагування протеолізу і ОМБ на одночасну тривалу дію помірної гіпобаричної гіпоксії та постійного освітлення, як прояву поєднання пошкоджуючих факторів середовища.

Мета дослідження

Вивчити показники окислювальної модифікації білків та протеолізу в тканинах надниркових залоз статевозрілих щурів за тривалої комбінованої дії гіпобаричної гіпоксії й постійного освітлення.

Матеріал і методи

Дослідження проведено на 34 білих лабораторних щурах-самцях репродуктивного віку середньою масою 0,19 кг. Використовували власну модель гіпоксичного впливу, яка певною мірою наближена до фізіологічної гіпоксії й 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; утриман-

ня тварин за переривчастої гіпоксії по 2 години щодня протягом 14 діб [9]. Моделювання гіпофункції шишкоподібної залози (епіфіза) здійснювали шляхом утримання тварин за постійного освітлення інтенсивністю 500 лк. Наступного дня після закінчення гіпоксичного впливу всіх тварин декапітували під легким ефірним наркозом, надниркові залози забирали на холоді, поміщали в 1,5 мл Тріс-НСІ-буфери, готували гомогенат. Гомогенат тканини наднирників використовували для біохімічного дослідження. Інтенсивність процесів пероксидного окиснення білків вивчали шляхом визначення продуктів ОМБ (2,4-динітрофенілгідрозонів нейтрального та основного характеру) [7]. Протеолітичну активність в тканинах надниркових залоз визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу [1]. Статистичну обробку результатів здійснювали за методом варіаційної статистики з використанням критерію t Ст'юдента.

Обговорення результатів дослідження

Реагування показників тканинного протеолізу та окиснювальної модифікації білків у надниркових залозах щурів на застосовану нами модель гіпоксії залежить від тривалості фотоперіоду. Так, гіпоксія за природного освітлення призвела до підвищення вмісту продуктів ОМБ, зокрема про-

дуктів нейтрального характеру на 41,5% і продуктів основного характеру на 32,4% порівняно з контролем (див. табл.).

Відомо, що при дії пошкоджуючи факторів, у тому числі гіпоксії, відбувається активація окислювальної модифікації білків, а після окислювальної модифікації білок стає високочутливим до протеолізу [3, 10]. Згідно отриманих нами даних, гіпобарична гіпоксія за умов природного освітлення спричинила найбільш виражені зміни лізису колагену - його рівень знизився на 62,96%, лізис високомолекулярних білків знизився на 38,77% ($p < 0,001$), у той час як лізис низькомолекулярних білків проявив лише тенденцію до зниження порівняно з контролем ($p > 0,05$). Отже можливим наслідком дії гіпоксії є пригнічення процесу елімінації пошкоджених білкових молекул, особливо білків з високою молекулярною масою, що й призвело до накопичення продуктів окисної модифікації білків.

Ураховуючи відомий факт антиоксидатної функції мелатоніну, циркулюючий вміст якого залежить від умов освітлення, була застосована модель гіпофункції епіфіза шляхом утримання тварин за постійного освітлення з метою вивчення впливу пригнічення мелатонін-продукувальної функції епіфіза на процеси реагування на гіпобаричну гіпоксію. Вміст продуктів ОМБ за вико-

Таблиця

Вміст продуктів ОМБ та показників протеолізу у тканинах надниркових залоз статевозрілих самців щурів за поєднаної дії гіпобаричної гіпоксії та зміненого фотоперіоду, $M \pm m$

№ групи	Група 1 (контроль)	Група 2	Група 3
Умови досліджу	Природне освітлення, нормоксія, n=15	Природне освітлення, гіпоксія, n=10	Постійне освітлення, гіпоксія, n=9
Лізис низько-молекулярних білків, мкг азоальбуміну/ мл за годину	43,36±3,39	41,94±4,05 $p_1 > 0,05$	79,84±5,12 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Лізис колагену, мкг азоколу/ мл за годину	10,26±2,47	3,83±0,48 $p_1 < 0,001$	13,15±0,505 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
Лізис високо-молекулярних білків, мкг азоказеїну/ мл за годину	47,20±5,20	28,93±5,80 $p_1 < 0,001$	66,68±4,11 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
Вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів нейтрального характеру, ммоль/г білка	1,090±0,0559	1,543±0,0685 $p_1 < 0,001$	0,6888±0,0163 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів основного характеру, о.о.г./г білка	10,73±0,5133	14,53±0,4556 $p_1 < 0,001$	6,842±0,1453 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітка: p_1 – показник вірогідності різниці відносно групи 1; p_2 – показник вірогідності різниці відносно групи 2.

ристаної моделі гіпоксії на тлі постійного освітлення, виявився нижчим за контрольні показники, а особливо порівняно з умовами гіпоксії за природного освітлення: за вмістом продуктів як нейтрального, так і основного характеру у надниркових залозах на 55,4 % і 52,9 % відповідно ($p < 0,001$). Зниження вмісту продуктів ОМБ за поєднаної дії гіпоксії та постійного освітлення відбулося на тлі суттєвого підвищення інтенсивності протеолітичних процесів, що проявилось значним зростанням показників протеолізу. Так, лізис низькомолекулярних білків зріс на 84,1 % порівняно з контролем та вдвічі порівняно з показниками за гіпоксії на тлі нормальної функції епіфіза. Лізис колагену зріс втричі порівняно з умовами гіпоксії та природного освітлення, та дещо перевищив контрольні показники ($p > 0,05$). Лізис високомолекулярних білків за таких умов зріс в 2,3 раза порівняно з природним освітленням, що було на 41,3 % вищим за контрольні показники. Подібні зміни інтенсивності протеолізу були виявлені нами й у тканинах надниркових залоз статевонезрілих самців щурів [14]

Таким чином, можна стверджувати, що помірна тривала дія переривчастої гіпобаричної гіпоксії, як природний чинник середовища, призводить до структурних перебудов у тканинах надниркових залоз, які можуть бути проявом молекулярних механізмів адаптаційного процесу на рівні ключового виконавчого органа гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі ендокринної регуляції [9]. Значне зростання інтенсивності протеолізу у відповідь на пероксидне пошкодження білкових молекул є проявом перенапруження адаптаційних резервів надниркових залоз за зниженої мелатонін-продукувальної функції шишкоподібної залози.

Висновки

1. Тривала переривчаста гіпобарична гіпоксія призводить до збільшення вмісту продуктів ПОБ як нейтрального, так і основного характеру в надниркових залозах статевозрілих щурів за природного освітлення та зниження інтенсивності протеолізу високомолекулярних білків та колагенолізу.

2. Зниження мелатонін-продукувальної функції епіфіза шляхом постійного освітлення призводить до зниження вмісту продуктів ПОБ в надниркових залозах щурів у відповідь на гіпоксію на тлі значного зростання інтенсивності протеолізу - в 3,4 раза за лізисом колагену та в 2,3 раза за лізисом високомолекулярних білків порівняно з умовами гіпоксії на тлі природного освітлення.

Перспективи подальших досліджень

Потребують подальшого вивчення та поглибленого аналізу взаємозв'язки змін функціонального стану органів ендокринної системи та молекулярних механізмів структурних перебудов тканин залоз внутрішньої секреції в процесі реагування на поєднану дію зміненої тривалості фотоперіоду та гіпобаричної гіпоксії.

Література. 1. Веремеєнко К.Н. Белковые ингибиторы плазмы крови - регуляторы активности протеолитических ферментов / К.Н. Веремеєнко // Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения. - К.: МОРИОН, 2000. - С. 21-53. 2. Горбань Е.Н. Влияние хронической гипоксической тренировки на уровни стабильных метаболитов в крови, тканях сердца и аорты взрослых и старых крыс в отдаленные сроки после облучения / Е.Н. Горбань, Е.В. Подъяченко, Н.В. Топольникова // Пробл. старения и долголетия. - 2013. - Т.22, прилож. - С.21-22. 3. Заморський І.І., Пішак В.П. Стан пероксидного окиснення білків у корі великих півкуль та гіпокампі головного мозку щурів за дії гострої гіпоксії та різної довжини фотоперіоду // Бук.мед.вісник.-2000.-Т.4, №1.-С.174-179. 4. Заморський І.І. Участие мелатонинэргической системы организма в механизмах немедленной адаптации к острой гипоксии / И.И. Заморський // Клін. та експерим. патол.-2012.-Т.ХІ, №3 (41), Ч.1.-С.74-76. 5. Карпов Л.М., Можливість корекції вітамінами групи В та їх похідними енергетичного обміну у мишей в умовах гіпобаричної гіпоксії / Л.М. Карпов, Л.Г. Савлушинська, Н.В. Полтавцева, Л.А. Преснова, В.В. Пеню // Вісник Харківського національного університету ім.В.Н. Каразіна. Серія: біологія. Вип. 18, № 1079, 2013. - С. 24-28. 6. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.05 / О.Л. Кухарчук. - Одеса, 1996. - 37 с. 7. Мешишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник.-1998.-Т.2, №1.-С.156-158. 8. Мойбенко А.А., Досенко В.Е., Нагибин В.С. Ферментативные механизмы апоптоза // Патолог. физиология и эксперим. терапия.-2005.-№3.-С.17-26. 9. Ясинська О.В. Особливості фотоперіодичних змін прооксидантних процесів, антиоксидантної системи та надниркових залоз за умов екзогенної гіпоксії: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.03 "Нормальна фізіологія" / О.В. Ясинська.-Вінниця, 2007.-24 с. 10. Mark W. Dewhirst Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response / Mark W. Dewhirst, Yiting Cao, Benjamin Moeller // Nature Reviews Cancer.-2008.-P.425-437. 11. Lin Junze, Wu Li-ping, Sun Bing-yong / Zhongguo bingli shengli zazhi // Chin.J.Pathophysiol.-2002.-Vol.18, N9.-P.1038-1041. 12. Panjwani U. Effect of simulated ascent to 3500 meter on neuro-endocrine functions / U. Panjwani, L. Thakur, J.P. Anand, A.S. Malhotra, P.K. Banerjee // Indian J. Physiol. and Pharmacol. - 2006. - Jul-Sep., 50(3).-P. 250-256. 13. Richalet J.P. Effects of high-altitude hypoxia on the hormonal response to hypothalamic factors / J.P. Richalet, M. Letournel, J.C. Souberbielle // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. - 2010. - V. 299. - P. 1685-1692. 14. Yasinska O.V. Sex related peculiarities of the adrenal tissue response on the hypobaric hypoxia at the altered duration of photoperiod in immature rats / O.V. Yasinska // Клін. та експерим. патол.-2016.-Т.ХV, № 1 (55).-С.168-171.

ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭПИФИЗА НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В НАДПОЧЕЧНИКАХ КРЫС ПРИ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Е.В. Ясинская, Р.Р. Дмитренко

Резюме. Проведен анализ влияния подавления мелатонин-продуцирующей функции эпифиза на характер реагирования показателей белкового обмена в тканях надпочечников крыс на длительную прерывистую гипобарическую гипоксию. Выявлено, что направление и интенсивность измене-

ний содержания продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) и показателей протеолиза в тканях надпочечников половозрелых самцов крыс зависит от функционального состояния эпифиза. Так, в условиях подавления мелатонин- продуцирующей функции эпифиза путем постоянного освещения содержание продуктов ОМБ снижался в ответ на гипоксическое воздействие на фоне существенного роста интенсивности протеолиза всех видов белковых молекул, особенно низкомолекулярных белков, тогда как в условиях естественного освещения гипобарическая гипоксия приводила к росту содержания ОМБ. При этом интенсивность лизиса белковых молекул с высокой молекулярной массой достоверно снижалась, а протеолиз низкомолекулярных белков оставался практически без изменений.

Ключевые слова: гипобарическая гипоксия, фотопериод, окислительная модификация белков, надпочечники, эпифиз, протеолиз.

**EFFECT OF FUNCTIONAL STATUS OF PINEAL
GLAND ON INDICATORS OF PROTEIN
METABOLISM IN ADRENAL GLANDS OF THE RATS
UNDER HYPOBARIC HYPOXIA**

O.V. Yasinska, R.R. Dmytrenko

Abstract. The effects of the suppression of the melatonin-

producing function of pineal glands on character of the response of parameters of protein metabolism in tissues of the adrenal glands of rats to the long intermittent hypobaric hypoxia was analysed. It was revealed that the direction and intensity of the changes in the content of products of oxidative modification of protein (OMP) and the indices of proteolysis in the tissues of the adrenal glands of adult male rats depends on the functional state of the epiphysis. Under conditions of constant illumination, content of products of OMP decreases in response to hypoxic effect on the background of significant increasing of intensity of proteolysis of all types of protein molecules, low molecular weight proteins in particular, whereas in conditions of natural lighting hypobaric hypoxia resulted in increasing OMP content. The intensity of the lysis of high molecular weight protein molecules was significantly reduced, and proteolysis of low molecular weight proteins remained unchanged.

Key words: hypobaric hypoxia, photoperiod, oxidative modification of proteins, adrenal, pineal, proteolysis.

**Higher State Educational Institution of Ukraine
"Bukovinian State Medical University" (Chernivtsi)**

Clin. and experim. pathol. - 2016. - Vol.15, №4 (58). - P.139-142.

Надійшла до редакції 1.12.2016

Рецензент – проф. І.І. Заморський

© О.В. Ясінська, Р.Р. Дмитренко, 2016