

УДК 616/.12-021.1-018.1-06:612.015.32]-092.9

ДИНАМІКА ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА СТАН КЛІТИННИХ МЕМБРАН ЗА УМОВ АДРЕНАЛІНОВОЇ КАРДІОПАТІЇ

Алексевич К.О., Фіра Л.С., Лихацький П.Г., Грималюк О.І.

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського

Встановлено, що за умов ураження міокарду щурів адреналіном в дозі 0,5 мг/кг маси тіла активуються процеси ліпопероксидації, які досягають максимуму через 48 год від початку експерименту. Це призводить до цитолізу мембран еритроцитів та плазматичних мембран кардіоцитів, на що вказує еритроцитарний індекс інтоксикації та підвищення активності аспартат- та аланінамінотрансфераз.

Ключові слова: адреналін, міокард, ліпопероксидація, амінотрансферази, цитоліз кардіоцитів

Вступ

На сьогодні серцево-судинні захворювання – основна причина смертності у всьому світі. Тільки Україна в 2011-2012 роках втратила більш ніж 460 тисяч людських життів внаслідок «серцевих катастроф». Клініко-статистичні дослідження щорічно підтверджують динаміку зростання і домінування серцево-судинних хвороб у структурі загальної захворюваності. Наближення до урбанізованих центрів цивілізації, населення яких втягнуте в ритміку сучасного життя з її напруженістю і прискореними темпами, повсякденна афективна напруженість, неспокій, тривога, хронічна нестача часу і необхідність безперервного контролю над зовнішніми проявами своїх емоцій, все це є важливим пусковим механізмом активації симпато-адреналової системи та розвитку ішемічних та гіпоксичних змін міокарда, які пов'язані безпосередньо із багатьма ефектами катехоламінів [1, 7].

Катехоламіни є важливими нейротрансмітерами, що беруть участь у регуляції функцій серцево-судинної системи. У фізіологічних концентраціях вони стимулюють функцію та метаболізм міокарду, не викликаючи патологічних зрушень. Проте, значне підвищення рівня катехоламінів у крові призводить до пошкодження кардіоміоцитів. Адреналін у високих концентраціях сприяє порушенню кровопостачання, провокує метаболічний

дисбаланс, зокрема активує систему перекисного окиснення ліпідів, викликає появу активних форм кисню, збільшує накопичення іонів кальцію та ін. Відомо, що продукти ПОЛ змінюють процеси поділу і росту клітин, викликають набряк і навіть розпад мітохондрій, інактивують тіолові ферменти, які беруть участь у диханні і гліколізі, окиснюючи SH-групи білків, токофероли, фосфоліпіди [2, 3].

На сьогодні продовжується вивчення даної проблеми в контексті дослідження динаміки процесів ліпопероксидації та стану клітинних мембран за умов адреналінової кардіоміопатії [4]. Динаміка зміни біохімічних маркерів є важливим напрямком досліджень з метою пошуку нових ланок і точок прикладання в плані корекції метаболічних порушень, викликаних вищезгаданими процесами.

Метою даного дослідження є вивчення динаміки, а також кореляційного взаємозв'язку інтегративних показників процесів ліпопероксидації та стану клітинних мембран в умовах гострого ураження міокарду підвищеними дозами адреналіну.

Матеріали і методи дослідження

Експерименти виконано на 50-ти нелінійних білих щурах-самцях масою 170-200 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського.

Гостре адреналінове пошкодження міокарда спричиняли шляхом одноразового внутрішньом'язового уведення 0,18 % розчину адреналіну гідротартрату ("Дарниця", Україна) в дозі 0,5 мг/кг [10]. Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію на 3-тю, 24-ту та 48-му годину після введення адреналіну. Кров забирали із серця тварин. Дослідженням піддавали міокард, кров та сироватку крові дослідних та контрольних тварин (інтактні).

У вищевказаних тканинах визначали вміст ТБК-активних продуктів [9, 12]. Ступінь ендотоксемії оцінювали за еритроцитарним індексом ендогенної інтоксикації (ЕІІ), який ґрунтується на зміні сорбційної здатності мембран еритроцитів при ендотоксикозі за методом А.А. Тогайбаєва [11]. Крім цього оцінювали інтенсивність прояву цитолітичного синдрому шляхом визначення в матеріалах активності аланінамінотрансферази (АлАТ) і аспартатамінотрансферази (АсАТ) кінетичним методом [6].

Усі експерименти виконано із дотриманням загальних правил і положень Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001) [5].

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою методів

варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента [8].

Результати і обговорення

Проведені дослідження свідчать про те, що ураження щурів адреналіном призводить до підвищення інтенсивності процесів ліпопероксидації. У сироватці крові та гомогенаті міокарду нами вивчено вміст ТБК-АП продуктів, які є одними із кінцевих продуктів процесу ліпопероксидації.

Після ураження тварин адреналіном у сироватці крові та міокарді різко зростає їх вміст. На 3-тю годину від початку експерименту вміст ТБК-АП продуктів збільшувався у порівнянні з контролем на 19,2 % у сироватці крові і на 32,1 % у міокарді (рис. 1).

В подальшому величина даного показника зростала і була більшою у по-

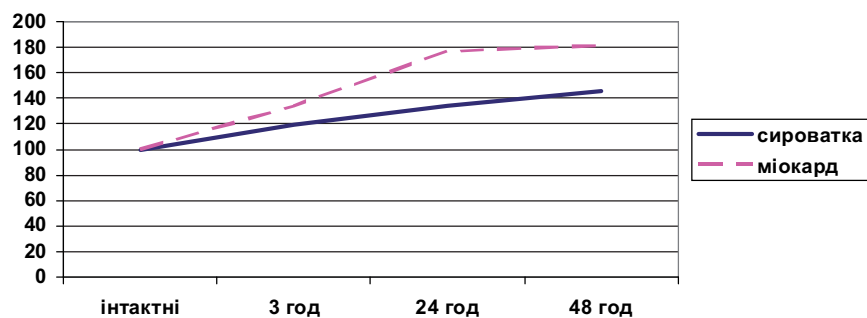


Рис.1. Динаміка вмісту ТБК- активних продуктів (мкмоль/л) у міокарді та сироватці крові в різні терміни дослідження, %

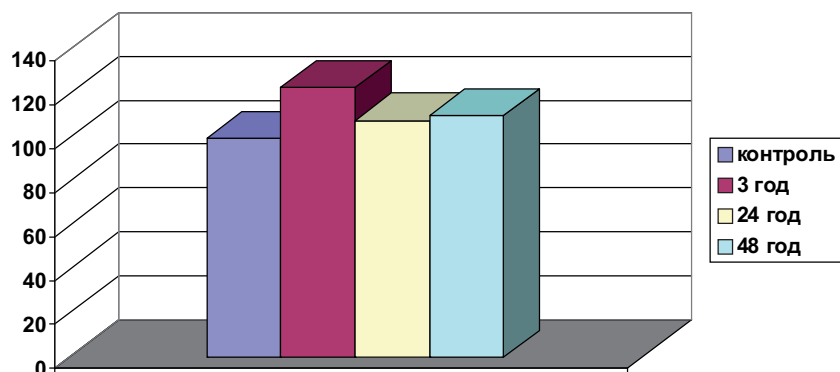


Рис. 2. Еритроцитарний індекс інтоксикації у щурів, уражених токсичними дозами адреналіну, %

рівнянні із контролем на 24-ту годину на 34 % у сироватці крові і на 76 % у міокарді, на 48-му годину — на 45,4 % і 81,3 % відповідно.

Оцінюючи динаміку рівня ендогенної інтоксикації, було встановлено, що еритроцитарний індекс інтоксикації різко зростає на 3-тю годину після введення адреналіну на 23 %, на 24-ту і 48-му години істотно знижується на 11,7 % і 10,5 % відповідно у порівнянні із попереднім терміном, проте рівня контролю все ж не досягає (рис. 2). Це свідчить про високий ступінь ендотоксикозу в ранні терміни адреналінового ураження.

Паралельно, для співставлення активності процесів ліпопероксидації та цитолітичних процесів, нами було проведено визначення активності ферментів цитолізу – АсАТ та АлАТ у сироватці крові та міокарді уражених та інтактних тварин. Результати досліджень наведені у таблиці 1.

У всі терміни дослідження відмічалось зростання активності АсАТ у сироватці крові. Даний показник був більшим від рівня контролю у 1,2 раза на 3-тій годині, у 1,4 раза на 24-тій годині і у 1,6 раза на 48-мій годині після введення адреналіну. Така ж тенденція відмічалась при визначенні у сироватці крові активності АлАТ, що підвищувалась в 1,2 раза, в 1,3 та 1,4 раза відповідно у зазначені терміни дослідження. У ході дослідження було виявлено зменшення активності АсАТ у гомогенаті міокарда.

Зниження активності АсАТ у тканинах, очевидно, свідчить про пригнічення процесу переамінування аспартату, відповідно — гальмування інтенсивності протікання циклу трикарбонових кислот і вихід цих ензимних білків з клітин тканин у кров. На 3-тій годині активність аспартамінотрансферази у міокарді знизи-

Таблиця 1

Активність АсАТ та АлАТ у сироватці крові (мкмоль/л год) та міокарді (мкмоль/кг год) у щурів, уражених адреналіном

Групи тварин	Сироватка крові		Міокард	
	АлАТ	АсАТ	АлАТ	АсАТ
Інтактний контроль	1,99 ± 0,18	2,41 ± 0,11	6,80 ± 0,14	3,66 ± 0,07
Уражені адреналіном, 3 год	2,35 ± 0,24	2,73 ± 0,08	6,70 ± 0,32	2,65 ± 0,10*
Уражені адреналіном, 24 год	2,45 ± 0,03	3,25 ± 0,09*	6,65 ± 0,20	2,55 ± 0,12*
Уражені адреналіном, 48 год	2,79 ± 0,07	3,85 ± 0,14*	6,35 ± 0,13	2,25 ± 0,09*

лась на 28 %, на 24-тій годині — на 30,3 %, на 48-ій – на 38,5 % у порівнянні з контролем. Динаміка зміни активності аланінамінотрансферази у гомогенаті міокарда була менш вираженою, проте подібною і зменшувалась у порівнянні з контролем на 1,5 %, 2,2 % і 6,61 % відповідно у вищевказані терміни.

Висновки

Результати проведених експериментів свідчать про активацію процесів ліпопероксидації після ураження міокарду підвищеними дозами адреналіну, що призводить до токсичної дії проміжних продуктів метаболізму на еритроцитарні мембрани та плазматичні мембрани кардіоцитів і викликає зміну їх проникності. На останнє вказує підвищення активності АсАТ у сироватці крові і зниження її у серці, яке найбільш виражене через 48 год після застосування адреналіну і може свідчити про розвиток у цей період ішемії міокарда.

Література

1. Барабаш Л.С. Клиническая значимость показателей эндотелиальной дисфункции, оксидативного стресса и гемостаза у больных инфарктом миокарда / Л.С. Барабаш, В.В. Кашталап, В.Н. Каретникова [та ін.] // Патол. кровообращения и кардиохирургия. – 2007. – № 2. – С. 28-33.
2. Бизенкова М.Н. О роли активации процессов липопероксидации в механизмах ишемического повреждения миокарда / М.Н. Бизенкова, Н.П. Чеснокова, М.Г. Романцов // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 2 – С. 26-31.
3. Воронцова Н.Л. Свободнорадикальное окисление и миокард / Н.Л. Воронцова,

- С.А. Бернс, О.Л. Барабаш. – М.: Кемерово, 2006. – 159 с.
4. Гулага О.І. Процеси ліпопероксидації у хворих на серцеву недостатність / О.І. Гулага, В.К. Ташук, О.С. Полянська // Буковинський медичний вісник.- 2010.- Т.14, №2(54).- С. 122-124.
 5. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте (методические рекомендации) ; под редакцией проф., академика РАМН П. И. Сидорова. – Архангельск. – 2002. – 84 с.
 6. Колб В.Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников // Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
 7. Кушаковский М.С. Метаболические болезни сердца // СПб Фолиант. -2000.- 128 с.
 8. Лапач С. Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К : Морион, 2000. – 320 с.
 9. Лушак В. І. Показники оксидативного стресу. Тиобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Лушак, Т. В. Багнюкова, О. В. Лушак //Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 26. – С. 136-141.
 10. Маркова О.О. Міокардіодистрофія і реактивність організму.–Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 150 с.
 11. Чаплик В.В. До питання ендогенної інтоксикації / В.В.Чаплик, В.Г.Литвинчук // Клінічна фізіологія та біохімія. – 2006. — №3. – С. 65 – 67.
 12. Abuja Peter M. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins/ Peter M. Abuja, Riccardo Albertini// Clinica Chimica Acta.- Vol. 306, April, 2001.- P.1-17.
 - myocardium” М.: Kemerovo, 159 p (in Russian).
 4. Gulaga A.I., Tashchuk V.K., Polyanska D.C. 2010, “The processes of lipid peroxidation in patients with heart failure”, Bukovina Medical Journal. Vol.14, No. 2 (54), pp. 122-124 (in Ukrainian).
 5. Use of laboratory animals in toxicological experiment (guidelines), edited by prof., Academician Sidorov P.I. — Arkhangelsk. — 2002. – 84 p (in Russian).
 6. Kolb V.G., Kamyshnikov V.S. Handbook of Clinical Chemistry. Minsk: Belarus, 1982. – 311 p (in Russian).
 7. Kuszakowski M.S. “Metabolic heart disease”, St. Petersburg, Foliant -2000. – 128 p (in Russian).
 8. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. “Statistical methods in biomedical research using the Excel” K: Morion, 2000. – 320 p (in Russian).
 9. Lushak V.I., Bahnyukova T.V. 2004, “Indicators of oxidative stress. Thiobarbituractive products and protein carbonyl groups”, Ukr. Biochem. J., Vol. 26, pp. 136-141(in Ukrainian).
 10. Marcova O.O. “Myocardiodystrophy and organism reactivity”, Ternopil: Ukrmedknyha, 1998, 150 p (in Ukrainian).
 11. Chaplyk V.V., Lytvynchuk V.H. 2006, “On the issue of endogenous intoxication”, Clinical physiology and biochemistry, No. 3, pp. 65 – 67 (in Ukrainian).
 12. Abuja Peter M. 2001, “Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins”, Clinica Chimica Acta, Vol. 306, pp.1-17.

References

1. Barabash L.S., Kashtalap V.V. 2007, “The clinical relevance of indicators of endothelial dysfunction, oxidative stress and hemostasis in patients with myocardial infarction”, Patol. circulation and cardiac surgery, No. 2, pp. 28-33 (in Russian).
2. Bizenkova M.N., Chesnokov N.P., Romantsov M.G. 2006, “On the role of activation of lipid peroxidation in the mechanisms of ischemic myocardial injury”, Modern high technologies, No.2, pp. 26-31 (in Russian).
3. Vorontsov N.L., Burns S.A., Barabash O.L. 2006, “Free radical oxidation and

Резюме

ДИНАМИКА ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ПРИ АДРЕНАЛИНОВОЙ КАРДИОПАТИИ

Алексевич К.А., Фира Л.С.,
Лихацкий П.Г., Грималюк А.И.

Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

Установлено, что в условиях поражения миокарда крыс адреналином в дозе 0,5 мг/кг массы тела активируются процессы липопероксидации, которые достигают максимума через 48 ч с нача-

ла эксперимента. Это приводит к цитолизу мембран эритроцитов и плазматических мембран кардиоцитов, на что указывает эритроцитарный индекс интоксикации и повышение активности аспарат- и аланинаминотрансферазы.

Ключевые слова: адреналин, миокард, липопероксидации, аминотрансферазы, цитолиз кардиоцитов

Summary

DYNAMICS OF LIPID PEROXIDATION AND THE STATE OF THE CELL MEMBRANE UNDER ADRENALIN CARDIOMYOPATHY

Alekseyevych K.O., Fira L.S., Lyhatskiy P.G.

*Ternopil State Medical University
Horbachevskiy*

It is established that the conditions of myocardial injury in rats epinephrine at a

dose of 0.5 mg / kg body weight activated processes of lipid peroxidation, which reach a maximum after 48 hours from the start of the experiment. This leads to cytolysis erythrocyte membranes and plasma membranes kardiotsytes, as indicated by the index of erythrocytic toxicity and increased activity of aspartate- and alanineaminotransferases.

Key words: *adrenaline, myocardium, lipid peroxidation, aminotransferases, cytolysis kardiotsytes*

*Впервые поступила в редакцию 21.01.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 544.13

МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ МЕТАЛЛОТИОНЕИНА МТ-2 КРЫСЫ С РАЗЛИЧНЫМИ ИОНАМИ МЕТАЛЛОВ ПОЛУЭМПИРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ PM7

Полищук П.Г., Пыхтеева Е.Г. *, Христова Т.М.

Физико-химический институт им. Богатского НАН Украины

**Украинский НИИ медицины транспорта*

Сочетание у металлотиионеина (МТ) детоксикационных функций по отношению к токсичным d^{10} -металлам (Cd, Hg) и функций направленного транспорта по отношению к эссенциальным d^{10} -металлам (Zn, Cu), ставит на повестку дня поиск структурных предпосылок, позволяющих на молекулярном уровне проводить распознавание по-разному нагруженных молекул МТ, направляя их в лизосомы для утилизации и выведения в случае связывания с токсичными металлами или к рибосомам, ядру и эндоплазматическому ретикулуму в случае связывания с эссенциальными металлами. Основой для такого распознавания может являться структурное различие образуемых комплексов. Для построенных комплексов Zn_7 -МТ, Cd_7 -МТ, Hg_7 -МТ была проведена оптимизация их геометрии с помощью полуэмпирического квантово-химического пакета MOPAC[®] методом PM7 с учетом воды как растворителя в виде континуальной модели COSMO. В качестве исходного был выбран металлотиионин-2 (МТ-2) крысы, для которого имеются данные рентгеноструктурного анализа и 3D структура которого свободно доступна в ProteinDataBank под кодом 4MT2. Сравнение комплексов Zn_7 -МТ, Cd_7 -МТ, Hg_7 -МТ показывает их структурную близость, при наличии областей, в которых существуют значительные отличия, которые, вероятно, могут быть основой для внутриклеточного распознавания и транспорта по-разному нагруженных комплексов в соответствующие компартменты для выведения (в случае токсичных металлов) или использования (в случае цинка).

Ключевые слова: металлотиионин, цинк, кадмий, ртуть, моделирование структуры комплекса, полуэмпирический квантово-химический пакет MOPAC[®]