

Ритмічний вплив низьких температур на особливості вільнорадикального окислення тканин структур мозку

UDC 57.043: 557.125.33

V.L. KOTSAR*, V.G. BABYCHUK

Rhythmic Effect of Low Temperatures on Peculiarities of Free Radical Oxidation of Tissues of Brain Structures

Після застосування ритмічних холодових впливів (РХВ) вивчали параметри хемілюмінесценції (ХЛ) та прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в тканинах головного мозку щурів. Відзначена більш виражена зміна параметрів ХЛ у гіпоталамусі, встановлено прямі залежності між загальною світлосумою S, ТБК-АП, індукованим перекисним окисленням ліпідів та зворотня залежність цих параметрів і GSH.

Ключові слова: ритмічні холодові впливи, хемілюмінесценція ТБК-АП, відновлений глутатіон, кора головного мозку, гіпоталамус.

После применения ритмических холодовых влияний (РХВ) изучали параметры хемилуминесценции (ХЛ) и прооксидантно-антиоксидантного равновесия в тканях головного мозга крыс. Отмечено более выраженное изменение параметров в гипоталамусе, установлены прямые зависимости между общей светосуммой S, ТБК-АП, индуцированным перекисным окислением липидов и обратная зависимость этих параметров и GSH.

Ключевые слова: ритмические холодовые влияния, хемилуминесценция ТБК-АП, восстановленный глутатион, кора головного мозга, гипоталамус.

After application of rhythmic cold effect (RCE) there were studied the parameters of chemiluminescence and pro-oxidant-antioxidant balance in the tissues of rat's brain. There was noted more manifested change of the parameters in hypothalamus, direct dependences between total light sum S, TBA-active products, induced by lipid peroxidation and the inverse dependence of these parameters and GSH were found.

Key-words: rhythmic cold effects, chemiluminescence of TBA-active products, recovered glutathione, brain cortex, hypothalamus.

Відомо, що загальне охолодження в криокамері може індукувати систему перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і змінювати співвідношення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги [2, 6, 10]. Клітини організму мають різноманітні механізми захисту від активації вільнорадикального окислення – антиоксидантну систему (АОС) [2, 3, 5]. Відомо, що існує залежність ефективності АОС від наявності достатньої кількості відновленого глутатіону (GSH). Глутатіон є акцептором гідроксильного іона і синглетного кисню, а також кофактором ферментів глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази [9].

Мета роботи – виявлення кореляційних зв'язків між параметрами хемілюмінесценції та параметрами оксидантно-прооксидантного гомеостазу в корі головного мозку та гіпоталамусі щурів після ритмічних холодових впливів (РХВ).

Матеріали і методи

Експерименти проводили на білих 6-місячних щурах-самцях лінії Вістар. Оксидантно-прооксидантний гомеостаз в головному мозку щурів оцінювався після дії РХВ за базальним рівнем ТБК-

активних продуктів (ТБК-АП) [1], інтенсивністю Fe^{2+} -аскорбат індукованого ПОЛ та вмістом відновленого глутатіону (GSH) [9]. Для оцінки процесів вільнорадикального окислення використовували експрес-метод хемілюмінесценції (ХЛ) [4, 5, 8]. При ХЛ методі досліджували параметри: S [імп] – сумарна інтенсивність ХЛ за 180 с, яка характеризує буферну ємкість присутніх антиоксидантів і загальну відповідь АОС на індукцію ПОЛ; I_{max} [умовн.од.] – значення максимальної амплітуди ХЛ, яке відображає інтенсивність ПОЛ на момент індукції; S/I_{max} – коефіцієнт, який характеризує загальну антиоксидантну активність [6, 8].

Результати та обговорення

Оцінюючи дії низькотемпературних впливів на інтенсивність і форму динамічних кривих ХЛ, було відзначено, що в корі мозку ці зміни незначні, а для гіпоталамусу характерні яскраво виражені зміни після різних сеансів РХВ (табл. 1).

Аналіз динамічних кривих ХЛ гомогенатів гіпоталамусу показав, що параметр S після 3-кратного РХВ вірогідно не змінювався, після 6-кратного РХВ

Інститут проблем криобіології і криомедицини
НАН України, м. Харків

* Автор, якому необхідно направляти кореспонденцію:
вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61015; тел.: +38 (057) 373-31-26, факс: +38 (057) 373-30-84, електронна пошта: cryo@online.kharkov.ua

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 3126, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Таблиця 1. Параметри ХЛ, індукованої перекисом водню в тканинах мозку шурів після РХВ

Вплив	Структури мозку					
	Кора			Гіпоталамус		
	S, імп.	I _{max} , умовн. од.	S/I _{max}	S, імп.	I _{max} , умовн. од.	S/I _{max}
Контроль	28503±3201	78±3,3	365	12476±915	48±3,9	260
3 РХВ	31255±1354	67±4,1 ⁴	466	10897±835	24±3,7 ^{1,3,4}	457
6 РХВ	3058±2652	66±6,5	463	14688±1015 ^{1,2}	48±6,0 ^{2,4}	367
9 РХВ	32599±3187	80±4,72 ^{2,3}	417	21034±2614 ^{1,2,3}	73±7,2 ^{1,2,3}	288

Примітка: ¹ – вірогідно відносно контролю; ² – вірогідно відносно 3 РХВ; ³ – вірогідно відносно 6 РХВ; ⁴ – вірогідно відносно 9 РХВ.

збільшувався. Порівнюючи динаміку параметрів ХЛ та параметри оксидантно-прооксидантного гомеостазу, можна пояснити збільшення рівня вільнорадикального окислення наслідком зменшення буферної ємкості антиоксидантної системи, яка витрачається на контроль за інтенсивністю ПОЛ. Це припущення підтверджується зменшенням рівня GSH. Після 9-кратного РХВ продовжувався ріст параметра S, що свідчить про посилення перекисних процесів, які характеризуються максимальним рівнем ТБК-АП і максимальним збільшенням Fe²⁺-аскорбат індукованого ПОЛ. Параметр ХЛ I_{max} після дії РХВ змінювався прямо пропорційно з параметром S; 3-кратний РХВ зменшував I_{max}, а 6- і 9-кратні РХВ збільшували його значення із збільшенням кратності впливу. Слід відзначити більш виражену зміну цього параметра в порівнянні з S. Це можна пояснити тим, що у відповідь на РХВ відбувається складна перебудова антиоксидантної системи. На користь цього припущення свідчать результати аналізу параметра S/I_{max} (табл. 1). Максимальне збільшення S/I_{max} після 3-кратного РХВ можна розглядати як виснаження активності АОС захисту, за рахунок якого не відбу-

лося збільшення параметра S. Зменшення S/I_{max} після 6 РХВ і мінімальне його значення після 9-кратного РХВ віддзеркалюють перебудову АОС після дії РХВ.

Динамічні криві ХЛ кори головного мозку у відповідь на РХВ змінюються значно менше, ніж такі для гіпоталамуса. Аналіз параметрів S та I_{max} не виявив їх вірогідної зміни після дії РХВ.

Дія РХВ на окисний гомеостаз кори головного мозку спостерігається в динаміці параметра S/I_{max}, який зворотно характеризує активність АОС. Він збільшується після дії 3- і 6-кратних РХВ, а після 9 РХВ знижується до вихідних значень. Зменшення ємкості АОС супроводжується зниженням інтенсивності Fe²⁺-аскорбат індукованого ПОЛ і незначним зменшенням рівня GSH. Після 9-кратного РХВ зменшення S/I_{max} супроводжується збільшенням GSH майже на 30%. Це дозволяє припустити, що підвищення GSH компенсує втрату активності АОС після дії РХВ. Про нестійкість рівноваги АОС також свідчить збільшення індукованого ПОЛ, яке залишається підвищеним через місяць (табл. 2).

При дослідженні рівня ТБК-АП нами не відзначено його достовірної зміни після 6 РХВ, зафіксо-

Таблиця 2. Параметри оксидантно-прооксидантного гомеостазу в головному мозку шурів після РХВ

Вплив	Параметри		
	ТБК-продукти, пмоль/мг білка за 1 хв	GSH, мкмоль GSH/г тканини	Індукований ПОЛ, пмоль/мг білка за 1 хв
Контроль	299,8±48,9	1,69±0,1	47,2±7,8
6 РХВ	293,8±46,4 ^{3,4}	1,53±0,13 ^{1,3}	36,6±2,9 ^{1,3,4}
9 РХВ	363,4±21,3 ^{1,2}	1,95±0,11 ^{1,2}	57,6±12,2 ²
Через місяць після 9РХВ	300,8±56,1 ^{1,2}	1,96±0,3 ^{1,2}	55,5±9,8 ^{1,2}

Примітка: ¹ – вірогідно відносно контролю; ² – вірогідно відносно 6 РХВ; ³ – вірогідно відносно 9 РХВ; ⁴ – вірогідно відносно через місяць після 9 РХВ.

вано збільшення після 9 РХВ. Через місяць після 9-кратних холодових впливів ТБК-АП набуває контрольних значень, але рівень індукованого ПОЛ і GSH залишається підвищеним. Це означає, що оксидантно-прооксидантний гомеостаз через місяць ще не набув рівноваги.

Висновки

Порівняння динаміки параметрів дозволило отримати додаткову інформацію про модуляцію процесів вільнорадикального окислення в тканинах головного мозку шурів після РХВ.

Динамічні криві ХЛ кори головного мозку у відповідь на РХВ не мали вірогідної зміни.

Дія РХВ на окисний гомеостаз кори головного мозку спостерігається в динаміці параметра S/I_{\max} , ТБК-АП, індукованого ПОЛ і GSH.

У гіпоталамусі відзначені характерні яскраво виражені зміни параметрів ХЛ після різних сеансів РХВ.

Для гіпоталамуса існують пряма залежність між динамікою загальної світлосуми S, ТБК-АП, індукованим ПОЛ, та обернена залежність цих параметрів та параметра GSH.

Література

1. *Андреева Л.Н.* Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. *Барабой В.А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. – 1991. – Т. 111, № 6. – С. 923–931.
3. *Барабой В.А., Брахман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б.* Перекисное окисление и стресс. – СПб: Наука, 1992. – 148 с.
4. *Болдырев А.А.* Парадоксы окислительного метаболизма мозга // Биохимия. – 1995. – Т. 60, №9. – С. 1536–1542.
5. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
6. *Коцарь В.Л., Бабийчук В.Г.* Особенности хемилюминесценции в тканях головного мозга крыс после экстремальных криовоздействий // Клінічна та експериментальна патологія. – 2007. – Т.6, №1. – С.60–66.
7. *Коцар В.Л., Бабийчук В.Г.* Особенности перебігу вільнорадикального окислення в структурах мозку після дії екстремальних криовпливів // Профілактика, діагностика та лікування – основні складові терапії: Матеріали науково-практичної конференції. – Харків, 2006. – С. 43.
8. *Кузьменко А.И.* Характеристика H_2O_2 инициированного окисления липидов сыворотки крови по кинетическим параметрам хемилюминесценции // Укр.біохім. журн. – 1999. – Т. 71, №4. – С. 63–66.
9. *Кулинский В.И., Колесниченко Л.С.* Обмен глутатиона // Успехи биологической химии. – 1990. – Т. 31. – С. 157–179.
10. *Марченко В.С., Бабийчук Г.А., Марченко Л.Н., Бондарь Т.И.* Структурно-функциональные механизмы действия экстремального охлаждения на терморегуляторные центры гипоталамуса // Пробл. криобиологии. – 2004. – № 2. – С. 62–70.

Надійшла 23.09.2008