

Влияние криоконсервированного экстракта плаценты на активность антиоксидантной системы в тканях крыс после общего охлаждения

UDC 615.361.013.85.014.41.451.16:612.014.43

A.K. CHEREMSKOY*, YU.V. NIKITCHENKO, V.V. CHIZHEVSKY

Effect of Cryopreserved Placenta Extract on Antioxidant System Activity in Rat Tissues After General Cooling

Свободнорадикальное повреждение биомолекул является одним из основных механизмов холодового повреждения мембран [2, 4]. Показано, что при общем охлаждении и последующем самоотогреве экспериментальных животных увеличивается интенсивность свободнорадикального окисления липидов, снижается активность ряда антиоксидантных ферментов и содержание природных антиоксидантов в тканях [1, 5].

Установлено, что введение криоконсервированного экстракта плаценты (КЭП) снижает интенсивность ПОЛ и накопление ТБК-активных продуктов в тканях экспериментальных животных на этапе самоотогрева после общего охлаждения [3]. Такое влияние КЭП на процессы ПОЛ при общем охлаждении может быть связано с его нормализующим действием на активность антиоксидантной системы организма.

Цель работы – изучение влияния внутрибрюшинного введения КЭП на антиоксидантную систему лабораторных животных после холодового воздействия.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на 6-месячных самцах белых беспородных крыс массой 150-200 г (n=24) в соответствии с положениями “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985). Общее охлаждение животных проводилось при температуре 4°C. Животных разделили на следующие группы: 1 – интактные; 2 – после общего охлаждения; 3 – после внутрибрюшинного введения КЭП 0,1 мл/100 г массы тела; 4 – после введения КЭП и дальнейшего общего охлаждения. В ходе эксперимента определяли антиокислительную активность (АОА) сыворотки крови, активность церулоплазмينا, каталазную активность в гомо-

A free-radical damage in biomolecules is one of the main mechanisms of membrane cold damage [2, 4]. Under general cooling and following self-warming of experimental animals the intensity of lipid-free radical oxidation was shown as increased, the activity of antioxidant enzyme series and the content of natural antioxidants in tissues decreased [1, 5].

Introduction of cryopreserved placenta extract (CPE) was found to reduce the LPO intensity and TBA-active product accumulation in tissues of experimental animals at the stage of self-warming after general cooling [3]. Such a CPE effect on the LPO processes under general cooling may be associated to its normalising effect on the activity of an organism's antioxidant system.

The research was aimed to study the effect of intraperitoneal CPE introduction on an antioxidant system of laboratory animals after cold effect.

Materials and methods

The experiments were carried-out in 150-200 g white breedless male rats of 6 months old (n=24) according to the statements of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 1985). General cooling of animals was realised at 4°C. Animals were divided into the following groups: the 1st group comprised the intact animals; those after general cooling were in the 2nd one; the 3rd one consisted of those after intraperitoneal introduction of 1 ml/100 g body weight CPE; the 4th was the animals after CPE administration with following general cooling. During experiment there were determined the anti-oxidative activity (AOA) of blood serum, ceruloplasmin and catalase activities in liver and heart homogenates, the one of superoxide dismutase in tissue homogenates and blood serum.

When studying the total AOA, characterising the state of non-enzymatic antioxidant system in blood, it

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

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

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию: ул. Перейславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-42-84, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта: cryo@online.kharkov.ua

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 4284, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

генатах печени и сердца, супероксиддисмутазную активность в гомогенатах тканей и сыворотке крови.

При исследовании общей АОА, которая характеризует состояние неферментативной антиоксидантной системы в крови, установлено, что во 2-й группе животных она достоверно снижалась (табл. 1), что может свидетельствовать об истощении содержания природных антиоксидантов объяснить установленное повышение содержания продуктов ПОЛ в сыворотке подопытных животных.

У крыс 3-й группы охлаждение не приводило к достоверным изменениям АОА (табл. 1).

При исследовании активности ферментативной антиоксидантной системы крови установлено, что активность церулоплазмينا, который способен улавливать и утилизировать супероксидный радикал в ответ на холодное воздействие, практически не изменялась (табл. 1). Не выявлено достоверных изменений активности церулоплазмينا в 2- и 4-й группах животных. Вместе с тем активность другого фермента, утилизирующего супероксидный радикал, – супероксиддисмутазы (СОД) в ответ на общее охлаждение животных снижалась практически в 1,5 раза по сравнению с 1-й группой и в 1,3 раза – с 3-й группой (табл. 1). Общее охлаждение животных, получавших экстракт плаценты, не приводило к существенным изменениям супероксиддисмутазной активности сыворотки крови.

При исследовании супероксиддисмутазной активности в гомогенатах сердца выявлено, что в ответ на холодное воздействие у крыс 2-й группы она достоверно снижалась, а у крыс, которым вводили КЭП, – достоверно не изменялась (табл.2). Исследование активности каталазы – фермента, утилизирующего перекись водорода, позволило установить, что в гомогенатах сердца в ответ на холодное воздействие она существенно не изменялась. Не обнаружено существенных изменений каталазной активности в гомогенатах сердца крыс 4-й группы (табл. 2).

При исследовании каталазной активности в гомогенатах печени установлено, что, как и в сердце, она существенно не изменялась во всех опытных группах животных. Супероксиддисмутазная активность в гомогенатах печени интактных крыс в ответ на холодное воздействие достоверно снижалась (табл. 3). У крыс, которым вводили экстракт плаценты, общее охлаждение не приводило к существенным изменениям супероксиддисмутазной активности в печени (табл. 3).

Полученные данные свидетельствуют, что общее охлаждение крыс 2-й группы снижает АОА и активность супероксиддисмутазы в сыворотке

was established that in the 2nd group of animals it statistically and significantly reduced (Table 1), that might testify to the exhausting in natural antioxidant content and explain the established enhancement in the LPO product content in serum of experimental animals.

In rats of the 3rd group the cooling did not result in statistically significant changes in blood AOA (Table 1).

When studying the blood enzymatic anti-oxidative system activity the one of ceruloplasmin, capable for capturing and utilizing a superoxide radical in response to a cold effect was established as practically unchanged (Table 1). No statistically significant changes in ceruloplasmin activity in the 2nd and 4th groups of animals were revealed. However the activity of another enzyme, utilising a superoxide radical: superoxide dismutase (SOD) in response to animal general cooling reduced practically in 1.5 and 1.3 times compared to the 1st and 3rd groups, correspondingly (Table 1). General cooling of animals, received the placenta extract, did not result in significant changes in a superoxide dismutase activity of blood serum.

When studying a superoxide dismutase activity in heart homogenates it was revealed that in response to a cold effect in the 2nd group rats it was statistically and significantly decreased, but remained statistically and significantly unchanged in the rats with CPE (Table 2). Studying the catalase activity, i.e. the enzyme, utilising hydrogen peroxide, enabled to establish

Таблица 1. Влияние КЭП на антиокислительную активность, активность церулоплазмينا и супероксиддисмутазную активность сыворотки крови крыс на фоне общего охлаждения (M±m; n=6)

Table 1. CPE effect on anti-oxidative, ceruloplasmin activities and the one of superoxide dismutase of rat's blood serum at the background of general cooling (M±m; n=6)

Группы животных Animal groups	АОА,% Antioxidant activity,%	Активность церулоплазмينا, ед. о. п./мл за 60 мин Ceruloplasmin activity, optical density units/ml per hr	Активность СОД, усл. ед./мл SOD activity, rel. units/ml
1	48,2±3,8	20,01±1,39	281,8±10,8
2	35,4±4,0 ¹	21,40±0,88	189,2±13,0
3	45,0±4,6	19,15±1,44	240,1±15,4 ^{1,2}
4	44,9±1,2	19,68±2,01	255,6±20,5 ³

Примечания: ¹ – p<0,005 по сравнению с 1-й группой; ² – p<0,005 по сравнению со 2-й группой; ³ – p<0,005 по сравнению с 3-й группой.

Notes: ¹ – p<0.005 compared to the 1st group; ² – p<0.005 compared to the 2nd one; ³ – p<0.005 compared to the 3rd one.

Таблица 2. Влияние КЭП на супероксиддисмутазную и каталазную активность в гомогенатах сердца крыс на фоне общего охлаждения ($M \pm m$; $n=6$)

Table 2. CPE effect on superoxide dismutase and catalase activities in rat's heart homogenates at the background of general cooling ($M \pm m$; $n=6$)

Группы животных Animal groups	Активность СОД, усл. ед./мг белка SOD activity, rel. units/mg of protein	Каталазная активность, мкмоль H ₂ O ₂ /мин-мг белка Catalase activity, μmol of H ₂ O ₂ /min-mg of protein
1	48,2±3,8	20,01±1,39
2	35,4±4,0 ¹	21,40±0,88
3	45,0±4,6 ²	19,15±1,44
4	44,9±1,2 ³	19,68±2,01

Примечания: ¹ – $p < 0,005$ по сравнению с 1-й группой; ² – $p < 0,005$ по сравнению со 2-й группой; ³ – $p < 0,005$ по сравнению с 3-й группой.

Notes: ¹ – is $p < 0.005$ compared to the 1st group; ² – $p < 0.005$ compared to the 2nd one; ³ – $p < 0.005$ compared to the 3rd one.

крови, гомогенатах сердца и печени. При этом активность церулоплазмينا и каталазы существенно не изменялась. Криоконсервированный экстракт плаценты нормализует антиокислительную активность и активность супероксиддисмутазы во всех изученных тканях подопытных животных, подвергшихся общему охлаждению, а на активность церулоплазмينا и каталазы он не влияет.

Выводы

Антиокислительная активность и активность супероксиддисмутазы в сыворотке крови, сердце и печени подопытных животных после введения КЭП нормализовались, что является свидетельством положительного стабилизирующего влияния на теплокровный организм после холодового стресса.

Литература

- Куликов В.Ю., Семенюк А.В., Колесникова Л.И. Перекисное окисление липидов и холодовой фактор.– Новосибирск: Наука, 1988.– С. 54-67.
- Никитченко Ю.В., Овсянников С.Е. Влияние острого охлаждения на свободнорадикальное окисление липидов в органах молодых и старых крыс // Вісник Харк. ун-ту №497. Біофізичний вісник.– 2000.– Вип. 2 (7).– С. 74–77. Прокопюк О.С., Черемской А.К., Никитченко Ю.В., Чижевский В.В. Влияние криоконсервированного экстракта плаценты на интенсивность ПОЛ и содержание гидроперекисей липидов в тканях крыс в норме и после общего

Таблица 3. Влияние КЭП на супероксиддисмутазную и каталазную активность в гомогенатах печени крыс на фоне общего охлаждения ($M \pm m$; $n=6$)

Table 3. CPE effect on superoxide dismutase and catalase activities in rat's liver homogenates at the background of general cooling ($M \pm m$; $n=6$)

Группы животных Animal groups	Активность СОД, усл. ед./мг белка SOD activity, rel. units/mg of protein	Каталазная активность, мкмоль H ₂ O ₂ /мин-мг белка Catalase activity, μmol of H ₂ O ₂ /min-mg of protein
1	626,9±33,2	58,3±3,4
2	474,8±34,6 ¹	63,3 ±3,9
3	589,1±10,9 ²	59,7±3,2
4	619,6±34,0 ³	66,3±4,9

Примечания: ¹ – $p < 0,005$ по сравнению с 1-й группой; ² – $p < 0,005$ по сравнению со 2-й группой; ³ – $p < 0,005$ по сравнению с 3-й группой.

Notes: ¹ – is $p < 0.005$ compared to the 1st group; ² – $p < 0.005$ compared to the 2nd one; ³ – $p < 0.005$ compared to the 3rd one.

that in heart homogenates in response to a cold effect it remained with no considerable changes. No significant changes of catalase activity in rat's heart homogenates of the 4th group was found out (Table 2).

When studying catalase activity in liver homogenates it was established that it remained with no significant changes as in heart in all experimental groups of animals. Superoxide dismutase activity in liver homogenates of intact rats in response to a cold effect was statistically and significantly decreased (Table 3). In rats with introduced placenta extract the general cooling did not result in drastic changes in superoxide dismutase activity in liver (Table 3).

The data obtained testify to the fact that general cooling of rats in the 2nd group reduced AOA and superoxide dismutase activity in blood serum, heart and liver homogenates. At the same time no significant changes in ceruloplasmin and catalase activities occurred. Cryopreserved placenta extract normalises the anti-oxidative and superoxide dismutase activities in all the studied tissues of experimental animals, subjected to general cooling, but has no effect on ceruloplasmin and catalase activities.

Conclusions

The anti-oxidative and superoxide dismutase activities in blood serum, heart and liver of experimental animals after CPE introduction were normalised, that testified to a positive stabilising effect on homoiothermal organism after cold stress.

острого охлаждения // Пробл. криобиологии.– 2005.– Т. 15, №4.– С. 681–687.

4. Эмирбеков Э.З., Львова С.П., Гасангаджиева А.Г. Влияние многократного холодового стресса на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему тканей // Бюл. эксперим. биологии и медицины.– 1998.– №4.– С. 385–387.
5. Halliwell B., Cross C.E. Reactive oxygen species, antioxidants, and acquired-immunodeficiency-syndrome // Arch. Int. Med. - 1991.– Vol. 151, N1.– P. 29–31.

Поступила 06.05.2008

References

1. Kulikov V.Yu., Semenyuk A.V., Kolesnikova L.I. Lipid peroxidation and cold factor.– Novosibirsk: Nauka, 1988.– P. 54–67.
2. Nikitchenko Yu.V., Ovsyannikov S.E. Effect of acute cooling on free-radical lipid oxidation in organs of young and old rats // Visnyk Kharkivs'kogo Universytetu N497. Biophysical Bulletin.– 2000.– Issue 2(7).– P. 74–77.
3. Prokopyuk O.S., Cheremskoy A.K., Nikitchenko Yu.V., Chizhevsky V.V. Effect of cryopreserved placenta extract on the LPO intensity and the content of lipid hydroperoxides in rat tissues in the norm and after general acute cooling // Problems of Cryobiology.– 2005.– Vol. 15, N4.– P. 681–687.
4. Emirbekov E.Z., L'vova S.P., Gasangadzhieva A.G. Effect of multiple cold stress on intensity of lipid peroxidation and antioxidant system of tissues // Bull. Eksp. Biol. Med.– 1998.– N4.– P. 385–387.
5. Halliwell B., Cross C.E. Reactive oxygen species, antioxidants, and acquired-immunodeficiency-syndrome // Arch. Int. Med. - 1991.– Vol. 151, N1.– P. 29–31.

Accepted in 06.05.2008