УДК 612.273.2.015.11

А.Г.Белых, В.М.Гукасов, С.А.Чукаев

Состояние системы свободнорадикального окисления при действии нормобарической гипоксии

В дослідах на щурах показано, що 6-годинний вплив 10 %-вої гіпоксичної газової суміші (ГГС-10) не впливає на індуковану іонами заліза хемолюмінісценцію та швидкість накопичення ТБК-активних продуктів в тканинах міокарду, печінки, нирок, головного мозку та плазми крові. Двотижнева адаптація до уривчастої дії ГГС-10 частково активує вільнорадикальне окислення у плазмі крові та збільшує потужність ендогенної антиоксидантної системи. Висловлюється гіпотеза, що зміни стану гомеостатичної системи вільнорадикального окислення та антирадикального захисту організму відіграють істотну роль у механізмах профілактичної та лікувальної дії уривчастої нормобаричної гіпоксії.

Введение

В настоящее время общепризнано, что гомеостатическая система свободнорадикального окисления (СРО) и методы защиты от него играют важную роль в регуляции метаболизма, клеточного деления, роста клеток и др. Известно также, что одним из ведущих патогенетических звеньев в реакциях организма на действие различных экстремальных факторов, и, в частности, на гипоксию является активация СРО [9]. И если роль СРО в повреждающем действии факторов внешней среды активно исследовалась, то значение СРО в адаптивных реакциях организма изучено недостаточно [2, 3]. Имеющиеся немногочисленные экспериментальные данные указывают на существование определенной реципрокности между фазами общего адаптационного синдрома и динамикой активности СРО [1]. Так, показано, что при стрессорном воздействии активация СРО развивается только после его предварительного ингибирования, что соответствует по времени фазе срочной адаптации, а фазы тревоги и истощения, сопровождающиеся снижением сопротивляемости организма, характеризуются активацией СРО [2].

Коррекция состояний организма, связанных с чрезмерной активацией СРО, является одной из актуальных проблем современной медицины. Применение с этой целью природных и синтетических антиоксидантных средств, несмотря на кажущуюся очевидность, не всегда приводит к благоприятному эффекту. Это особенно касается отдаленных, часто не учитываемых, последствий такой продолжительной антиоксидантной терапии, поскольку большинство используемых препаратов, особенно искусственного происхождения, могут вызывать подавление эндогенной системы антирадикальной защиты организма.

Поэтому перспективными должны быть методы, позволяющие купировать чрезмерную активацию СРО, а следовательно, нормализовать антиоксидантный статус организма за счет повышения буферной емкости собственной антирадикальной системы. Одним из таких методов может явиться адаптация к прерывистой гипоксии, так как показано повышение активности антиокислительных ферментов в различных тканях в ответ на действие периодической гипобарической гипоксии [4, 8].

Цель нашего исследования — изучение состояния системы СРО и антирадикальной защиты организма под влиянием однократной 6-часовой гипоксии, а также при адаптации животных к действию прерывистой нормобарической гипоксии.

Методика

В работе применен микрохемилюминесцентный метод, отличающийся возможностью одновременного получения информации о скорости свободнорадикальных ре-

© А.Г.БЕЛЫХ, В.М.ГУКАСОВ, С.А.ЧУКАЕВ, 1992

акций, мощности эндогенной антиоксидантной системы и их соотношении [6]. Тестирование общего, интегрального состояния про- и антирадикальных систем организма осуществляли с помощью регистрации кинетики хемилюминесценции (ХЛ) плазмы крови, поскольку известно, что система крови представляет собой внутреннюю среду, которая играет решающую роль в неспецифических и специфических защитных реакциях организма, влияя на его резистентность и реактивность [5]. Адаптацию крыс к гипоксии проводили в течение 2 нед посредством ежедневного помещения животных на 30 мин в специальную камеру, через которую продували газовую гипоксическую смесь с 10 %-ным содержанием кислорода (ГГС-10), генерируемую мембранной воздухоразделительной установкой МВа-0,001 [10]. Состояние СРО оценивали перед курсом гипоксического воздействия, через 1, 2 нед адаптации и через 1 нед после последнего гипоксического сеанса. У животных контрольной группы, не подвергавшихся прерывистому действию гипоксии, забор крови в объеме 20 мкл осуществляли из хвостовой вены в те же сроки исследования. В плазме крови регистрировали «быструю вспышку» железоиндуцированной ХЛ и определяли следующие показатели: интенсивность (I), максимальную скорость ингибирования (v_{max}) и период полузатухания вспышки ($t_{1/2}$). Стандартизацию измеряемых показателей ХЛ плазмы крови осуществляли с помощью сравнения с соответствующими показателями ХЛ буфера. По значениям отдельных показателей рассчитывали интегральный показатель ХЛ ($I \cdot t_{1/2}/v_{max}$).

При исследовании однократного действия ГГС-10 помимо периодического (через 10, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 и 360 мин) забора крови у крыс в течение эксперимента в конце гипоксического воздействия животных забивали под легким эфирным наркозом и извлекали большие полушария головного мозга, печень, почки и сердце для проведения ХЛ-анализа гомогенатов тканей указанных органов. Изучали следующие параметры кривой железоиндуцированной ХЛ: интенсивность «быстрой вспышки», продолжительность латентного периода, тангенс угла наклона полулогарифмических апоморфоз «медленной вспышки» и светосумму восходящего участка «медленной вспышки» за стандартный для каждого органа промежуток времени. Параллельно определяли содержание ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в антиоксидантной системе до и через 10 мин после добавления ионов железа и рассчитывали среднюю скорость образования малонового диальдегида (МДА) в этой системе. Результаты исследования обрабатывали статистически с использованием критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что при однократном 6-часовом воздействии ГГС-10 не происходит статистически достоверного изменения ни одного из изученных параметров «быстрой вспышки» ХЛ плазмы крови в общей группе животных. Не обнаружено значимых отличий параметров кривой ХЛ гомогенатов печени, почек, сердца и головного мозга после 6-часовой гипоксической нагрузки от соответствующих параметров без нагрузки (таблица). Выявлена различная скорость накопления ТБК-активных продуктов в тканях исследуемых органов, которые по мере увеличения значения этого показателя можно расположить в следующем порядке: сердце, печень, почки и головной мозг. Гипоксическое воздействие не оказывало влияния на скорость образования конечных продуктов ПОЛ в тканях (см. таблицу), что вместе с результатами ХЛ-анализа тканей может свидетельствовать об отсутствии свободнорадикального повреждения тканей, а, следовательно, о физиологичности действия ГГС-10.

Двухнедельная адаптация крыс к прерывистой нормобарической гипоксии приводила к некоторому увеличению интенсивности «быстрой вспышки» ХЛ (на 15—20 %), что указывает на повышение содержания перекисных радикалов в плазме крови, которое сохранялось и через 1 нед после прекращения действия ГГС-10 (рисунок). Выявленная активация СРО сопровождалась более интенсивным увеличением мощности антиоксидантной системы (повышением на 20—33 % максимальной скорости ингибирования «быстрой вспышки»ХЛ), что обеспечивало ее преобладание в восстановительный период после гипоксического воздействия. При

этом рассчитанный интегральный показатель ХЛ-коэффициент, отражающий стехиометрическое соотношение про- и антиоксидантных систем, во время адаптации к ГГС-10 достоверно не изменялся, что подтверждает отмеченную ранее физиологичность данного воздействия.

Значения показателей перекисного окисления липидов гомогенатов органов крыс после 6-часовой гипоксической нагрузки ГГС-10 (M ± m)

Показатель	Группа животных	Группа животных	Печень	Почки	Головной мозг
Интенсивность «быстрой вспышки» хемилюминесценции (ХЛ), отн.ед.	Контроль	55,0 ± 4,7	70,1 ± 8,1	110,4 ± 10,2	97,2 ± 9,9
	Опыт	43,7 ± 4,1	57,6 ± 5,1	97,7 ± 15,5	73,7 ± 9,2
Продолжительность латентного периода, с	Контроль	66 ± 10	70 ± 15	78 ± 11	43 ± 3
	Опыт	87 ± 11	95 ± 12	74 ± 7	50 ± 4
Тангенс угла наклона полулогарифмических апоморфоз «медленной вспышки»	Контроль	0,062 ± 0,008	0,147 ± 0,037	0,168 ± 0,019	0,172 ± 0,012
	Опыт	0,056 ± 0,011	0,133 ± 0,018	0,254 ± 0,022	1217 ± 198
Светосумма «медленной вспышки» ХЛ[1], отн. ед.	Контроль	2776 ± 587	1083 ± 298	874 ± 279	1779 ± 223
	Опыт	2396 ± 637	1111 ± 222	908 ± 187	1217 ± 198
Скорость накопления малонового диальдегида в пробе, мкмоль·л$^{-1}$·мин$^{-1}$	Контроль	5,42 ± 0,94	18,64 ± 4,16	34,48 ± 5,33	68,06 ± 7,67
	Опыт	8,37 ± 2,13	19,30 ± 5,43	35,79 ± 2,75	55,14 ± 4,62

[1] Подсчитана за первые 150 с для гомогената сердца, 60 с — для гомогената печени, 40 с — для гомогената почек и головного мозга.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что не только продолжительная (3—6 мес) адаптация к условиям высокогорья [11] или 1—1,5-месячная адаптация к периодическому 3—6-часовому действию барокамерной гипоксии [8], но и действие более кратковременной (2 нед по 30 мин ежедневно) прерывистой нормобарической гипоксии сопровождается повышением активности естественных антиоксидантных систем организма, обеспечивающих надежное ингибирование реакции чрезмерной активации перекисного окисления липидов под влиянием различных экстремальных факторов. Имеются все основания полагать, что выявленные особенности изменения состояния гомеостатической системы СРО и антирадикальной защиты организма являются важным элементом механизма известного профилактического и лечебного действия прерывистой нормобарической гипоксии [7].

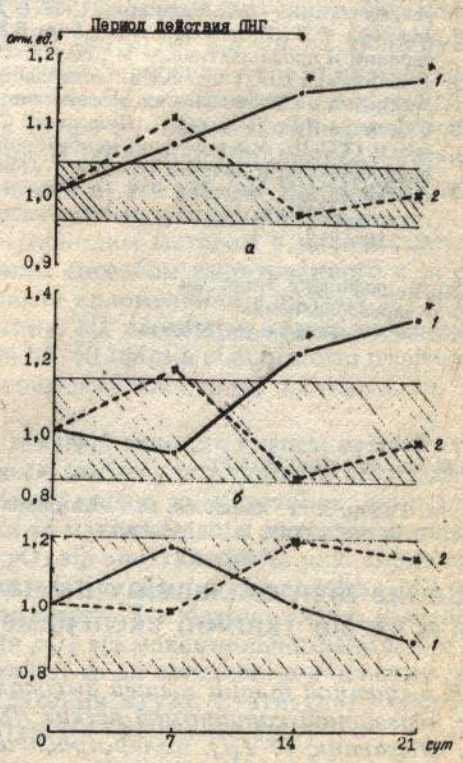

Рис. Влияние прерывистой нормобарической гипоксии (ПНГ) на показатели (отн.ед.) «быстрой вспышки» хемилюминесценции плазмы крови крыс опытной (*1*) и контрольной (*2*) групп:
а — интенсивность ингибирования, *б* — максимальная скорость ингибирования, *в* — интегральный показатель хемилюминесценции. По оси абсцисс — сутки после начала действия ПНГ. * Статистически достоверные различия ($P < 0,05$) между опытом и контролем.

A.G.Belykh, V.M.Gukasov, S.A.Chukaev

STATE OF THE FREE-RADICAL OXIDATION SYSTEM
UNDER THE EFFECT OF NORMOBARIC HYPOXIA

The experiments on the rats have revealed that 7-hour action of 10 % hypoxic gas mixture (HGM-10) exerts no effect on the parameters of Fe^{2+}-induced chemiluminescence and rate of accumulation of TBA-active products in the heart, liver, kidney, brain tissues and blood plasma. Two-week adaptation to intermittent effect of HGM-10 causes some activation of free-radical oxidation recorded in blood plasma and the more pronounced increase in power of the endogenic antioxidant system. It is assumed that the revealed changes in the state of the homeostatic system of free-radical oxidation and antiradical protection of the organism are of importance in the mechanism of the known preventive and curative action of intermittent normobaric hypoxia.

Centre of Preventive Hypoxia,
Ministry of Public Health
of Russian Federation, Moscow

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Айрапетянц М.Г., Вейн А.М.* Неврозы в эксперименте и клинике.— М.: Медицина, 1982.— 310 с.
2. *Айрапетянц М.Г., Гуляева Н.В.* Роль свободнорадикального окисления липидов в механизмах адаптации // Вест. АМН СССР.— 1988, № 4.— С. 49—55.
3. *Барабой В.А.* Роль перекисного окисления в механизмах стресса // Физиол. журн.— 1989.— 35, № 5.— С. 85—97.
4. *Герасимов А.М., Коваленко Е.А., Касаткина Н.В. и др.* Парадоксальная реакция некоторых внутриклеточных механизмов защиты от кислорода при адаптации организма к гипоксии // Докл. АН СССР.— 1979.— 244, № 2.— С. 492—495.
5. *Горизонтов А.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И.* Стресс и система крови.— М.: Медицина, 1983.— 210 с.
6. *Гукасов В.М., Каплан Е.Я., Мотылянская Р.Е. и др.* Использование параметров кинетики перекисного окисления липидов для оценки функционального состояния организма спортсменов // Теория и практика физич. культуры.— 1987.— № 5.— С. 44—46.
7. *Караш Ю.М., Стрелков Р.Б. Чижов А.Я.* Нормобарическая гипоксия в лечении, профилактике и реабилитации.— М.: Медицина, 1988.— 352 с.
8. *Меерсон Ф.З., Твердохлиб В.П., Боев В.М., Фролов Б.А.* Адаптация к периодической гипоксии в терапии и профилактике.— М.: Наука, 1989. — 286 с.
9. *Соколовский В.В.* Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие // Вопр. мед. химии.— 1988.— 34, № 6.— С. 2—11.
10. *Стрелков Р.Б., Белых А.Г., Пильщиков С.Н. и др.* Радиозащитное действие газовой гипоксической смеси ГГС-10, генерируемой мембранной воздухоразделительной установкой // Модификаторы в радиобиологии и лучевой терапии.— Обнинск, 1987.— С. 112—116.
11. *Сутковой Д.А., Барабой В.А.* Неспецифическая резистентность организма и влияние условий высокогорья // Адаптация и резистентность организма в условиях гор.— К.: Наук. думка, 1986.— С. 210—217.

Центр профилакт. гипоксии
М-ва здравоохранения
Российской Федерации, Москва

Материал поступил
в редакцию 15.05.92

УДК 616—006—04:612.013.7

І. М. Тодор, Л. Т. Хасанова, С. Г. Антоненко, Н. М. Лялюшко,
Н. К. Бердинських, В. С. Мосієнко

Вплив церулоплазміну на напруження кисню в м'язевій тканині експериментальних тварин

В мышечной ткани мышей высоколейкозной линии AKR, мышей линии C57BL/6 с перевивной карциномой легких Льюис (3LL) и нелинейных крыс, подвергнутых γ-облучению (7 Гр), полярографическим методом с использованием открытого платинового электрода изучали влияние цероплазмина (ЦП) на напряжение кислорода (pO_2), скорость насыщения им ткани и скорость его утилизации тканью. Показано, что ЦП у мышей линии AKR улучшает насыщение мышечной

© І. М. ТОДОР, Л. Т. ХАСАНОВА, С. Г. АНТОНЕНКО, Н. М. ЛЯЛЮШКО,
Н. К. БЕРДИНСЬКИХ, В. С. МОСІЄНКО, 1992