

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 endogenous 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. Караиш Ю.М., Стрелков Р.Б., Чижов А.Я. Нормобарическая гипоксия в лечении, профилактике и реабилитации.— М.: Медицина, 1988.— 352 с.
8. Меерсон Ф.З., Твердохлеб 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 профилактик. 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 АКР, мышей линии C57BL/6 с перививной карциномой легких Льюис (3LL) и нелинейных крыс, подвергнутых γ -облучению (7 Гр), полярографическим методом с использованием открытого платинового электрода изучали влияние церулоплазмينا (ЦП) на напряжение кислорода (pO_2), скорость насыщения им ткани и скорость его утилизации тканью. Показано, что ЦП у мышей линии АКР улучшает насыщение мышечной

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

ткани кислородом. Такий ефект ЦП також заметен в случае вираженого зниження pO_2 в м'язі і швидкості її насичення кислородом (животні з карциномой 3LL і після γ -облучення).

Вступ

Під час розвитку багатьох хвороб в організмі виникає хронічна тканинна гіпоксія [1, 5]. Однією з проблем гіпоксії є пошук ефективних антигіпоксантив [2]. З цієї точки зору ми звернули увагу на церулоплазмін (ЦП). Церулоплазмін — оксидаза крові людини (КФ 1.16.3.1), яка у своєму складі містить мідь [7]. Відомо, що цей білок бере участь у багатьох процесах, зокрема у транспорті та утилізації міді, нейроендокринній регуляції, кровотворенні, інгібуванні перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), «перехваті» супероксидних радикалів [4,7]. Виходячи з цього, на наш погляд, цікаво було б дослідити вплив ЦП на напруження кисню, утилізацію його та насичення ним тканин, особливо організму, який перебуває у стані хронічної тканинної гіпоксії. Метою нашої роботи було вивчення впливу ЦП на показники кисневого режиму в м'язевій тканині мишей високолейкозної лінії AKR, мишей лінії C57BL/6 з прищепленою карциномою легень Л'юїс (3LL) та γ -опромінених щурів.

Методика

Дослідження проводили на самцях мишей високолейкозної лінії AKR, самцях мишей лінії C57BL/6 вагою 21—24 г та самцях нелінійних щурів вагою 100—130 г розводки віварію Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького АН України. Мишам лінії AKR вводили ЦП (10 мг/кг) в черевну порожнину і в різні строки після введення визначали показники кисневого режиму в литковому м'язі. Мишам лінії C57BL/6 трансплантували під шкіру гомілки метастазуючу карциному легень [3LL] (по $2 \cdot 10^5$ клітин на тварину) і, починаючи з 3-ї доби після трансплантації пухлини, в черевну порожнину вводили ЦП (10 мг/кг через добу). У цих тварин через 14 і 23 діб проводили дослідження вказаних показників. Половині піддослідних щурів до опромінювання в черевну порожнину також вводили ЦП (10 мг/кг). Потім усі тварини підлягали γ -опромінюванню у сублетальній дозі (7 Гр). Слід вказати, що під час проведення усіх видів досліджень у кожному випадку існувала група інтактних тварин.

Напруження кисню вимірювали полярографічним методом з використанням відкритого платинового електрода, спеціальним способом вмонтованого в ін'єкційну голку. Як індиферентний використовували каломельний електрод, з'єднаний з твариною за допомогою сольового розчину. На електроди подавали напругу 0,7 В. Реєстрацію здійснювали на полярографі LP-60 (фірма «Laboratorni pristroje», Чехословаччина). До і після кожного експерименту електроди калібрували, як описано в роботі Березовського та Ротар [1].

Для дослідження швидкостей насичення м'язевої тканини киснем та його утилізації нею використовували спеціальні прийоми: кисневу інгаляцію та накладання на кінцівку жгута вище електрода. Про доставку кисню до м'язевої тканини (про швидкість насичення тканини киснем) судили за максимальним значенням напруження кисню (pO_2) та швидкості підвищення pO_2 від початкового до максимального значення під час кисневої інгаляції, а також за швидкістю відновлення pO_2 від нуля до початкового значення після знімання жгута. Утилізацію кисню м'язевою тканиною оцінювали за швидкістю зниження pO_2 від максимального значення до початкового після припинення кисневої інгаляції та за швидкістю зниження pO_2 від початкового значення до нуля після накладання жгута. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію t Стьюдента [6].

Результати та їх обговорення

Спочатку досліди проводили на мишах високолейкозної лінії AKR, кисневий режим в м'язах яких нижчий за такий у інтактних нелінійних тварин та мишей низьколейкозних і низькораккових ліній [5]. Частині мишей вводили в черевну порожнину

ЦП (10 мг/кг) і в різні строки після введення визначали показники кисневого режиму. Слід відмітити, що попередня доза ЦП 5 мг/кг виявилася неефективною по відношенню до показників, які вивчалися. Іншій частині тварин (контрольна група) вводили фізіологічний розчин.

Показано, що через 45 хв після одноразового введення ЦП спостерігається тенденція до збільшення максимального значення pO_2 та швидкості цього збільшення до максимуму під час кисневої інгаляції, а також швидкості відновлення pO_2 від нуля до початкового значення після знімання жгута. Разом з тим (табл. 1), вісім ін'єкцій препарату призвели до вірогідного збільшення швидкості відновлення pO_2 до початкового значення після знімання жгута (швидкість насичення тканини киснем) та вірогідного зниження швидкості падіння pO_2 до нуля після накладання жгута (швидкість утилізації O_2 тканиною). У відношенні початкового та максимального значень pO_2 і швидкості насичення тканини киснем під час кисневої інгаляції спостерігається тенденція до зростання. Після 13 ін'єкцій відмічаються подібні зміни, які мають більш окреслений характер.

Все викладене вище вказує на те, що ЦП покращує насичення тканини киснем, можливо, за рахунок покращання доставки кисню до м'язової тканини. Крім того, у мишей лінії AKR, які не отримували препарату, спостерігається своєрідний «дисбаланс» між швидкістю доставки кисню та швидкістю його утилізації (див. табл. 1). ЦП, можливо, як би «знімає» цей «дисбаланс».

Т а б л и ц я 1. Вплив церулоплазміну (10 мг/кг) на показники кисневого режиму в м'язовій тканині мишей лінії AKR ($M \pm m$; $n = 12$)

Показник	Без ін'єкції церулоплазміну (інтактні тварини)	Після ін'єкції церулоплазміну		
		однієї (через 45 хв)	восьми	тринадцяти
Напруження кисню, мм рт.ст.				
початкове значення	$18,2 \pm 1,4$	$21,96 \pm 3,0$	$23,9 \pm 2,9$	$25,6 \pm 2,12^*$
максимальне значення	$37,2 \pm 3,0$	$48,1 \pm 7,6$	$50,4 \pm 6,3$	$54,0 \pm 3,9^*$
Швидкість зміни напруження кисню, мм рт.ст./с				
підвищення до максимуму під час кисневої інгаляції	$0,37 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,04$	$0,53 \pm 0,03$
зниження після припинення кисневої інгаляції	$0,44 \pm 0,05$	$0,41 \pm 0,07$	$0,42 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,03$
зниження до нуля після накладання жгута	$0,68 \pm 0,05$	$0,58 \pm 0,06$	$0,44 \pm 0,05^*$	$0,50 \pm 0,02^*$
відновлення після знімання жгута	$0,22 \pm 0,06$	$0,35 \pm 0,06$	$0,40 \pm 0,05^*$	$0,44 \pm 0,03^*$

* $P < 0,05$

Як відомо, пухлинний процес також призводить до виникнення в організмі хронічної тканинної гіпоксії [5]. Тому другу серію дослідів ми виконували на мишах лінії C57BL/6 з метастазуючою карциномою легень 3LL. Результати дослідів викладені в табл. 2. Показано, що через 13 діб після трансплантації, коли маса пухлини складала $0,6 \text{ г} \pm 0,07 \text{ г}$, показники кисневого режиму в м'язовій тканині не відрізнялися від таких у інтактних тварин. Слід відмітити, що до цього строку частина тварин отримала п'ять ін'єкцій ЦП (10 мг/кг) і різниці значень показників кисневого режиму між тваринами, які отримували лікування і нелікованими, не виявлено. Далі під час росту 3LL спостерігалось зменшення значень цих показників. Так, на 23-ю добу після трансплантації пухлини, коли її вага досягала $4,7 \text{ г} \pm 0,3 \text{ г}$, початкове значення pO_2 знизилось на 38 %, максимальне значення під час кисневої інгаляції — на 63 %, швидкість насичення тканини киснем під час кисневої інгаляції — на 62 %, швидкість зниження pO_2 до початкового значення після припинення кисневої інгаляції на 60 %, швидкість зниження pO_2 до нуля після накладання жгута (швидкість утилізації) — на 47 % та швидкість відновлення pO_2 до початкового значення після знімання жгута — на 56 % (див. табл. 2). На цьому фоні дев'ять ін'єкцій ЦП призводили до вірогідного

збільшення максимального значення pO_2 під час кисневої інгаляції, можливо, за рахунок покращання оксигенації тканини.

Т а б л и ц я 2. Вплив церулоплазміну (10 мг/кг) на показники кисневого режиму в м'язовій тканині мишей лінії C57BL6 з карциномою 3LL ($M \pm m$; $n = 12$)

Показник	Без трансплантації пухлини (інтактні тварини)	Після трансплантації пухлини			
		14-та доба		23-я доба	
		Неліковані тварини	Ліковані тварини (5 ін'єкцій церулоплазміну)	Неліковані тварини	Ліковані тварини (9 ін'єкцій церулоплазміну)
Напруження кисню, мм рт. ст.					
початкове значення	$33,5 \pm 2,0$	$31,3 \pm 2,6$	$32,3 \pm 3,1$	$20,9 \pm 2,2^*$	$23,1 \pm 2,4$
максимальне значення	$79,4 \pm 4,0$	$78,5 \pm 4,8$	$77,4 \pm 3,7$	$28,8 \pm 0,05^*$	$42,3 \pm 6,6^{**}$
Швидкість зміни напруження кисню, мм рт. ст./с					
підвищення до максимуму під час кисневої інгаляції	$0,75 \pm 0,05$	$0,72 \pm 0,06$	$0,72 \pm 0,05$	$0,28 \pm 0,05^*$	$0,28 \pm 0,03^*$
зниження після припинення кисневої інгаляції	$0,74 \pm 0,06$	$0,67 \pm 0,05$	$0,66 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,04^*$	$0,29 \pm 0,03^*$
зниження до нуля після накладання жгута	$0,69 \pm 0,06$	$0,67 \pm 0,04$	$0,68 \pm 0,04$	$0,36 \pm 0,06^*$	$0,34 \pm 0,07^*$
відновлення після знімання жгута	$0,67 \pm 0,05$	$0,66 \pm 0,05$	$0,69 \pm 0,04$	$0,29 \pm 0,05^*$	$0,36 \pm 0,05^*$

* $P < 0,05$ у порівнянні з інтактними тваринами.

** $P < 0,05$ у порівнянні з нелікованими тваринами.

Т а б л и ц я 3. Вплив церулоплазміну (ЦП, 10 мг/кг) на показники кисневого режиму в м'язовій тканині щурів, які зазнали γ -опромінювання в дозі 7 Гр ($M \pm m$; $n = 12$)

Показник	Неопромінені тварини (інтактні)	Опромінені тварини					
		через 3 год після опромінювання		через 6 год після опромінювання		через 24 год після опромінювання	
		без ЦП	із ЦП	без ЦП	із ЦП	без ЦП	із ЦП
Напруження кисню, мм рт. ст.							
початкове значення	$39,0 \pm 2,8$	$39,9 \pm 3,0$	$45,8 \pm 3,5$	$28,2 \pm 3,9^*$	$30,7 \pm 3,2$	$28,1 \pm 3,2^*$	$26,8 \pm 4,3$
максимальне значення	$83,7 \pm 8,0$	$82,6 \pm 7,5$	$89,9 \pm 9,5$	$69,8 \pm 9,3$	$69,9 \pm 10,0$	$68,7 \pm 4,9$	$71,1 \pm 7,8$
Швидкість зміни напруження кисню, мм рт. ст./с							
підвищення до максимуму під час кисневої інгаляції	$0,69 \pm 0,06$	$0,68 \pm 0,05$	$0,60 \pm 0,10$	$0,62 \pm 0,05$	$0,74 \pm 0,06$	$0,58 \pm 0,03$	$0,68 \pm 0,10$
зниження після припинення кисневої інгаляції	$0,75 \pm 0,04$	$0,75 \pm 0,04$	$0,74 \pm 0,03$	$0,64 \pm 0,05$	$0,71 \pm 0,07$	$0,69 \pm 0,04$	$0,71 \pm 0,10$
зниження до нуля після накладання жгута	$0,67 \pm 0,07$	$0,69 \pm 0,08$	$0,72 \pm 0,06$	$0,65 \pm 0,06$	$0,71 \pm 0,07$	$0,63 \pm 0,10$	$0,61 \pm 0,06$
відновлення після знімання жгута	$0,67 \pm 0,05$	$0,69 \pm 0,05$	$0,67 \pm 0,05$	$0,65 \pm 0,04$	$0,79 \pm 0,07$	$0,58 \pm 0,09$	$0,59 \pm 0,06$

* $P < 0,05$ в порівнянні з інтактними тваринами.

У третій серії дослідів частина щурів отримувала перед γ -опромінюванням ЦП (10 мг/кг), а частина — ні. Визначення показників кисневого режиму провадили через 3, 6 та 24 год після опромінювання. Як видно з викладених у табл.3 результатів, через 3 год після γ -опромінювання показники кисневого режиму в м'язі не змінюються. Через 6 год спостерігається вірогідне зниження тільки початкового

значення pO_2 . Через добу після опромінювання відбувається зниження початкового значення pO_2 у м'язі на 30 %, а також спостерігається тенденція до зниження максимального значення pO_2 та швидкості насичення тканини киснем під час кисневої інгаляції. Крім того, через 3 та 24 год після опромінювання відмінностей між тваринами, які отримували і не отримували ЦП, не виявлено. Але через 6 год після опромінювання у тварин, які отримували препарат, спостерігалася стійка тенденція до збільшення швидкості зростання pO_2 до максимуму під час кисневої інгаляції та швидкості насичення тканини киснем після знімання жгута в порівнянні з нелікованими щурами. Таким чином, все викладене вище вказує на те, що ЦП покращує насичення тканини киснем.

Міркуючи про те, яким чином ЦП покращує насичення тканини киснем, ми зробили такі припущення. По-перше, вивільнення Fe^{2+} і перехід цих іонів в Fe^{+3} , які потім вбудовуються в молекулу трансферину, контролюється ЦП. Fe^{+3} , зв'язані з молекулою трансферину, проходять в клітини, насамперед в ретикулоцити, де використовуються для біосинтезу гему [9, 10]. Тому, можливо, завдяки позитивній ролі, яку виконує ЦП у кровотворенні (синтез гемоглобіну), й покращується оксигенація тканин. По-друге, відомо, з одного боку, що ЦП бере участь у «перехваті» супероксидних радикалів O_2^- [4, 7]. З іншого боку, відомо, що супероксидні радикали інактивують фактор релаксації гладенької мускулатури кровоносних судин, який виробляють клітини ендотелію [8]. Тому, на наш погляд, ЦП, «поглинаючи» O_2^- , сприяє релаксації м'язів судин, що також призводить до покращання оксигенації тканин, яке ми спостерігали у своїх дослідах.

I. N. Todor, L. T. Khasanova, S. G. Antonenko,
N. M. Lyalyushko, N. K. Berdinskikh, V. S. Mosienko

EFFECT OF CERULOPLASMIN ON THE OXYGEN TENSION IN THE MUSCULAR TISSUE OF EXPERIMENTAL ANIMALS

The polarographic method using platinum electrode has been applied to study the effect of ceruloplasmin (CP) on the oxygen tension (pO_2), oxygen saturation rate and rate of oxygen utilization in the muscular tissue of high-leucemic AKR mice, C57BL/6 mice with transplanted Lewis lung carcinoma (3LL) and rats after γ -irradiation in a dose of 7 Gr. It has been shown that CP in AKR mice improves oxygen saturation of the muscular tissue. This effect is also evident in the case of the marked pO_2 decrease in the muscle and its oxygen saturation rate (animals with Lewis lung carcinoma and after γ -irradiation).

R. E. Kavetski Institute
of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Березовський В. Я., Ротар А. Я. Напруження кисню в литковому м'язі при денервації // Фізіол. журн. АН УРСР. — 1968. — 14, № 5. — С. 625—631.
2. Виноградов В. М., Урюпов Ю. Ю. Гипоксия как фармакологическая проблема // Фармакол. и токсикол. — 1985. — 48, № 4. — С. 9—20.
3. Кислородное голодание и способы коррекции гипоксии: Сб. науч. труд. / АН УССР. Ин-т проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого / Под ред. В. А. Березовского. — Киев: Наук. думка, 1990. — 212 с.
4. Санина О. Л., Бердинских Н. К. Биологическая роль церулоплазмينا и возможности его клинического применения // Вопросы мед. химии. — 1986. — № 5. — С. 7—14.
5. Тодор И. Н. Нарушения кислородного и энергетического обмена тканей организма при опухолевом процессе и возможность их фармакологической коррекции в эксперименте: Автореф. дис.... канд. биол. наук. — Киев, 1989. — 18 с.
6. Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. — М.: Изд-во АН СССР, 1963. — 323 с.
7. Broniek S., Grzybowski G. Metabolism of ceruloplasmin and its biological function in maintaining of homeostasis in the organism // Post. Biol. Komorki. — 1988. — 15, N1. — P. 23—40.
8. Rubanyi G.M. Vascular effects of oxygen-derived free radicals // Free Radical Biology and Medicine (Pergamon). — 1988. — 4. — P. 107—120.
9. Shimizu M. Clinical results on the use of human ceruloplasmin in aplastic anemia // Transfusion. — 1979. — 19, N 3. — P. 742—748.
10. Williams D.M., Lee G.R., Cartwright G.E. Ferroxidase activity of rat ceruloplasmin // Amer. J. Physiol. — 1974. — 227, N 4. — P. 1094—1097.

Ін-т експериментальної патології,
онкології та радіобіології ім. Р.Е. Кавецького
АН України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 15.05.92