

Статті

УДК 611.127-08:577.1

І.І.Зінкович, Е.Ф.Барінов, О.Д.Якубенко, Н.В.Ковальчук

Вплив супероксиддисмутази на стійкість міокарда до ізадрину

На моделі ізолированного тотально ішемізованого серця крысы, перфузируемого раствором, содержащим изадрин, оценивали влияние добавок супероксиддисмутазы (СОД) на состав оттекающего от сердца перфузата. Изадрин способствует обнаружению кардиотоксического эффекта высоких доз катехоламинов: в перфузате увеличилась активность лактатдегидрогеназы, креатинфосфокиназы, кислой фосфатазы, катепсина Д, возростала концентрация среднемолекулярных пептидов (СМП), фосфолипидов (ФЛ), свободных жирных кислот (ЖК) по сравнению с активностью ферментов и концентрацией веществ в перфузате контрольного сердца. Отмеченные изменения сочетались с повышенным содержанием в перфузате продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Добавление в перфузируемый раствор СОД приводило к снижению активности ферментов перфузата и концентрации в перфузате ФЛ, СМП, Са, продуктов ПОЛ. Высказывается предположение, что кардиопротекторное действие СОД может быть связано не только с ее способностью «обезвреживать» супероксидный анион-радикал, но и с подавлением специфических адренергических реакций миокарда.

Вступ

Стійкість біологічних тканин до дії стресорного фактору формується під впливом адренергічних механізмів [5]. Одним із вузлових компонентів розвитку стресу є активація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [2, 7]. Інтенсивність ПОЛ регулюється антиоксидантною системою, основним ферментом якої є супероксиддисмутаза (СОД). Метою нашої роботи було дослідження впливу СОД на стійкість ізолюваного серця до симпатоміметиків, зокрема до ізадрину.

Методика

Досліди провадили на ізолюваному тотально ішемізованому серці щура, яке ретроградно перфузіювали через аорту (30 мл/год, 1 год, 37 °С) фізіологічним розчином (контрольна група, 17 щурів), фізіологічним розчином, до якого додавали ізадрин — 10 мкмоль/л (1-а дослідна група, 9 щурів), фізіологічним розчином, до якого додавали крім ізадрину очищений препарат супероксиддисмутази — СОД, 50 мг/л, виготовлений НВО «Ростепідкомплекс» у Ростові-на-Дону (2-а дослідна група, 6 щурів).

У перфузатах визначали активність креатинфосфокінази (КФК), лактатдегідрогенази (ЛДГ), катепсину Д (КД), кислої фосфатази (КФ), вміст середньомолекулярних пептидів (СМП), загального білка, кальцію, фос-

© І.І.ЗІНКОВИЧ, Е.Ф.БАРИНОВ, О.Д.ЯКУБЕНКО, Н.В.КОВАЛЬЧУК, 1994

фоліпідів (ФЛ), неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК), дієнових кон'югатів (ДК), малонового діальдегіду (МДА) та загальну антиокислювальну активність (ЗАА). Усі біохімічні аналізи виконували за загальноприйнятими методиками [8]. Результати обробляли методами варіаційної та непараметричної статистик.

Результати та їх обговорення

Перфузія ізолюваного серця розчином з ізадрином у 2—3 рази по відношенню до перфузії розчином з NaCl призводила до підвищення активності досліджуваних ферментів. Концентрація середньомолекулярних пептидів зросла у 1,7 рази, вміст загального білка при цьому не змінювався (таблиця). Спостерігалось значне підвищення виходу у перфузат кальцію, НЕЖК і фосфоліпідів. Вміст МДА в 3 рази перевищував такий в перфузатах контрольної групи. Достовірного збільшення активності антиоксидантної системи не виявлено (див. таблицю). Додаток у перфузійний розчин СОД кардіотоксичний ефект великих доз катехоламінів, спровокований ізадрином у ізолюваному серці шурів, та протекторна дія на міокард супероксиддисмутази (СОД)

Біохімічний показник кардіотоксичного ефекту	Додаток до перфузійного розчину		
	Фізіологічний розчин (контрольна група, 17 сердець)	Ізадрин (1-а дослідна група, 9 сердець)	Ізадрин і СОД (2-а дослідна група, 6 сердець)
Активність ферментів у відтікаючого від серця перфузаті:			
креатинфосфокіназа, мккат/л	0,21±0,13	0,61±0,26*	0,35±0,18**
лактатдегідрогеназа, мкмоль·л ⁻¹ /хв	47,0±9,6	91,9±19,6*	51,1±17,5**
катепсин Д, од. актив·л ⁻¹ /хв	1,13±0,38	2,89±1,06*	1,19±0,24**
кисла фосфатаза, мкмоль·л ⁻¹ /хв	0,15±0,08	0,45±0,21*	0,18±0,07**
Концентрація метаболітів у відтікаючому від серця перфузаті:			
загальний білок, г/л	0,44±0,13	0,35±0,08	0,25±0,06***
середньомолекулярні пептиди, Е/мл	0,18±0,04	0,26±0,06*	0,15±0,05**
кальцій, ммоль/л	0,17±0,02	0,24±0,06*	0,15±0,04**
фосфоліпід, мг/л	4,50±1,15	10,68±3,29*	6,23±1,64**
неестерифіковані жирні кислоти, мкмоль/л	679±257	997±283*	704±292**
дієнові кон'югати, Е/мл	2,70±0,72	3,22±1,83	0,90±0,51***
малоновий діальдегід, ммоль/г	70,6±39,5	220±160*	41,5±12,8**
Загальна антиокислювальна активність, %	32,3±9,8	35,2±16,7	37,3±9,4*

* Достовірна різниця порівняно з контролем ($P < 0,01 - 0,05$).

** Достовірна різниця порівняно з 1-ю дослідною групою ($P < 0,01 - 0,05$).

*** Достовірна різниця порівняно з контролем і 1-ю дослідною групою ($P < 0,01 - 0,05$).

достовірно по відношенню до перфузійного розчину контрольної групи збільшував ЗАА перфузату. Відповідно в 5 разів зменшувався вміст МДА по відношенню до 1-ї дослідної групи. Концентрація дієнових кон'югатів виявилася зниженою по відношенню до обох груп. Вихід кальцію, вміст СМП і активність досліджуваних ферментів, зокрема КФК, ЛДГ, КД та КФ, у перфузаті під впливом СОД знижувалися в порівнянні з перфузатами 1-ї групи. Відзначено також достовірне зменшення вмісту ФЛ і НЕЖК. Вихід у перфузат загального білка знизився по відношенню до цього показника в обох групах.

Одержані результати підтверджують дані про кардіотоксичну дію великих доз катехоламінів. Ізадрин порушує проникливість сарколемальних мембран і підвищує вихід у перфузат маркерів пошкодження кардіоміоцитів — таких ферментів, як КФК і ЛДГ [14]. Відбуваються зміни і в лізосомальних мембранах клітин, про що свідчить достовірне підвищення активності обох досліджуваних гідролаз. Звільнення протеолітичних ферментів активує в міокарді катаболізм ендogenous білків, що проявляється в надлишковому утворенні СМП. Іншою причиною посиленого розпаду білка може бути інтенсифікація переокислення ліпідів. З нею ж в першу чергу зв'язане і порушення проникливості клітинних і субклітинних мембран [11]. ПОЛ-стимулюючі впливи великих доз катехоламінів зумовлені тим, що їх аутоокислення супроводжується генерацією супероксидного аніон-радикалу [12]. Дію ізадрину, який окислюється спонтанно, порівнюють з пошкоджуючим ефектом адренохому [6]. Результатом активації ПОЛ, напевно, є і значний ріст у перфузаті вмісту ФЛ — основного субстрату ліпопероксидації. У той же час ФЛ — один із джерел НЕЖК, збільшений вміст яких також виявлено при навантаженні ізадрином. Основною причиною підвищення рівня жирних кислот у міокарді треба вважати адренергічну стимуляцію ліполізу через активацію ланцюга «рецептор — аденілатциклаза — цАМФ — протеїнкінази — ліпази» [13]. Перевантаження клітин серцевого м'яза іонами кальцію з наступним збільшенням їх концентрації в перфузаті також може служити критерієм ефективності гормон-рецепторної взаємодії [9]. Іншими словами, рівень НЕЖК і кальцію в перфузаті відображає адренореактивність міокарда.

Домішок до перфузійного розчину СОД підвищує загальну АОО перфузату і закономірно пригнічує інтенсивність ПОЛ, що пов'язано із здатністю ферменту гальмувати утворення адренохому і «знешкоджувати» супероксидний аніон-радикал. Запровадження СОД знизило розклад білкових структур. Цей ефект, напевно, пов'язаний з тим, що білки, хоча і меншою мірою, ніж ліпіди, схильні до вільнорадикального окислення [15]. У результаті стабілізуючої дії СОД на мембрани знижується вихід у перфузат досліджуваних ферментів і ФЛ. Вважають, що саме мембранопротекторний ефект лежить в основі захисного впливу антиоксидантів (токоферолу та іонолу) на кардіоміоцити при токсичній дії високих концентрацій катехоламінів [1]. Разом з тим, домішок до перфузійного розчину СОД також пригнічує і ті реакції ізолюваного серця на ізадрин, що прямо пов'язані з ефективністю гормон-рецепторної взаємодії. СОД попереджує ізадрин-індуковану інтенсифікацію ліполізу і обмежує вихід кальцію в перфузат. Останнє дозволяє припустити, що СОД впливає і на показники адренореактивності міокарда, що поряд з її впливом на інтенсивність ПОЛ і забезпечує захисний ефект по відношенню до ізадрину. Кардіопротекторна властивість СОД може бути опосередкованою впливом на фізико-хімічний стан мембран, а, відповідно, і на кінетику ліганд-рецепторних реакцій [4], або модифікацією СОД систем внутрішньоклітинної трансдукції гормонального сигналу [3]. Зважаючи на думку про те, що екзогенна СОД не проникає до кардіоміоцитів [10], її вплив треба відносити, у першу чергу, до міжклітинних подій, таких як вплив на фазовий стан мембран. Результати дозволяють припустити, що СОД, впливаючи на адренергічну рецепцію, може змінювати функціональну та метаболічну активність кардіоміоцитів.

Таким чином, кардіопротекторна дія супероксиддисмутази може бути пов'язана не тільки з її здатністю гальмувати утворення адренохому і знешкоджувати супероксидний аніон-радикал, але і з пригніченням специфічних адренергічних реакцій міокарда.

I.I. Zinkovich, E.F. Barinov, E.D. Yakubenko, N.V. Kovalchuk

INFLUENCE OF SUPEROXIDDISMUTASE ON THE MYOCARDIUM STABILITY TO ISADRINUM

The model of isolated totally ischemic rat heart perfused by physiological saline containing isadrinum was used to study the influence of superoxidismutase (SOD) additions on the characteristics of perfusate, flowing from the heart. Isadrinum has promoted revealing the cardiotoxic effect of high catecholamine doses: the activity of lactate dehydrogenase, creatine phosphokinase, acid phosphatase, cathepsin D increased significantly in the perfusate. Concentration of middle-weight peptides (MWP) increased 1.7 times, the phospholipid level (PL) increased 2 times. These changes were combined with the abnormally high content of the POL products in the perfusate. Addition of SOD to the perfused saline decreased the activity of perfusate enzymes and the content of POL products, PL, MWP and Ca in the perfusate. It is assumed that the cardioprotective effect of SOD can be related not only to the ability of SOD to neutralize the superoxide radical, but also to the suppression of the specific adrenergic myocardium responses.

Donetsk Medical Institute,
Ministry of Public Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алиев М.А., Бекболотова А.К., Костюченко Л.С., Лемешенко В.А. Изменения перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы миокарда при адреналиновом повреждении сердца // Кардиология. — 1989. — 29, № 9. — С. 77—81.
2. Барбой В. Роль перекисного окисления в механизме стресса // Физиол. журн. — 1989. — 35, № 5. — С. 85—97.
3. Бутенко Г.М., Магдич Л.В., Єна Л.М., Токар А.В. Вікові зміни рецепторів глюко- і мінералокортикоїдів в лімфоцитах здорових і хворих на гіпертонічну хворобу людей // Там же. — 1992. — 38, № 3. — С. 49—53.
4. Вальдман А.В. Молекулярно-биологические процессы динамики эмоционально-стрессорной реакции // Вестн. АМН СССР. — 1987. — № 6. — С. 11—15.
5. Дыгай А.М., Захарова О.Ю., Фомина Т.И., Гольдберг Е.Д. Адренергические механизмы в формировании адаптационного ответа различных тканей // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1992. — 63, № 3. — С. 278—280.
6. Капелько В.И., Попович М.И. Метаболические и функциональные основы экспериментальных кардиомиопатий. — Кишинев: Штиинца, 1990. — 207 с.
7. Коган А.Х., Кудрин А.Н., Кактурский Л.В., Лосев Н.И. Свободнорадикальные перекисные механизмы патогенеза ишемии инфаркта миокарда и их фармакологическая регуляция // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1992. — № 2. — С. 5—15.
8. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. — Минск: Беларусь, 1982. — 366 с.
9. Мельник В.И., Глебов Р.М. Динамика изменения Na, К-АТФазной активности в процессе развития вызванного изопроterenолом некроза миокарда крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1984. — 97, № 8. — С. 184—186.
10. Мильчаков В.И., Демуров Е.А., Герасимов А.М. и др. Защитное действие супероксиддисмутазы при экспериментальном миокардите // Там же. — 1982. — 93, № 10. — С. 28—31.
11. Чаленко В.В. Возможные причины повышения концентрации молекул средней массы при патологии // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1991. — № 4. — С. 13—14.
12. Bors W., Michel C., Saran M. The involvement of oxygen radicals during the autooxidation of adrenalin // Biochem. and biophys. acta. — 1978. — 540. — P. 162—172.
13. Hollenda C., Brouwer F., Zaagsms J. Differences in functional cyclic AMP compartments mediating lipolysis by isoprenaline and BRL 37344 in four adipocyte types // Eur. J. Pharmacol. — 1991. — 200, № 2—3. — P. 326—330.
14. Renuka P.M., Popescu L.M., Moraru I.I. et al. Role of phospholipases A2 and C in myocardial ischemic reperfusion injury // Amer. J. Physiol. — 1991. — 260, № 3, Pt. 2. — P. H877—H883.
15. Richter C. Biophysical consequences of lipid peroxidation in membranes // Chem. and Phys. Lipids. — 1987. — 44, № 2—4. — P. 175—189.

Донецьк. мед. ін-т
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 13.01.93