

І.П.Кайлашев

Вплив ниркових поліпептидів на гемокоагуляцію та перекисне окислення ліпідів при гострому емоціонально-больовому стресі

Изучено изменение процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в крови крыс, а также в тканях почки во время моделирования острого эмоционально-болевого стресса. Одновременно исследовали состояние гемокоагуляции и тромбоцитоактивные свойства почечной паренхимы.

Вступ

Останнім часом склалось уявлення про новий клас біологічно активних речовин - поліпептидних регуляторів «цитомедінів» [17]. Останні переносять специфічну міжклітинну інформацію, відіграють важливу роль у багатьох фізіологічних процесах, пов'язаних з гемокоагуляцією, клітинними імунними реакціями, репаративними процесами. Периферичним поліпептидом в більшості випадків властива місцева коригуюча дія на функцію того органу, де вони утворюються [14]. З'явилися праці, які демонструють, що поліпептидні регулятори позитивно впливають на перебіг багатьох патологічних процесів - пародонтиту, пневмоній, нефритів, опікових травм [4-11, 13, 16]. У цих дослідженнях, в першу чергу, вивчалися процеси гемоксогуляції та імунні реакції. В той же час відомо, що активність цих систем значною мірою залежить від стану вільно-радикального окислення, зокрема перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [8], яке змінюється при патології нирок. Тому метою нашої роботи стало вивчення дії ниркових поліпептидів - цитомедінів на коагуляційний та мікроциркуляційний гемостаз, ПОЛ та активність каналцевих процесів під час моделювання у щурів гострого стресу. Також нас зацікавило порівняння дії поліпептидів та відомого «стресового білка» - церулоплазміну, котрий володіє значною антиоксидантною дією.

Методика

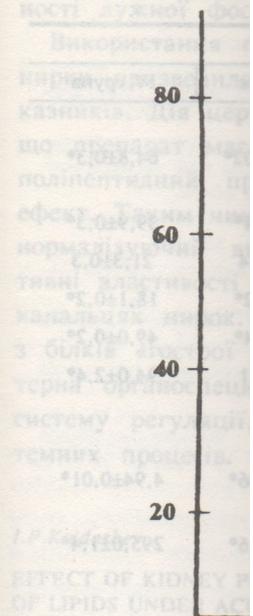
Експеримент проводили на 40 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г, які були поділені на 4 групи по 10 тварин в кожній. В I групу ввійшли інтактні тварини, у щурів II групи моделювали гострий емоціонально-больовий стрес очікування (ГЕБС) за методикою Desiderato та Mc Kinnon [19]. ГЕБС відтворювали у формі невроту очікування в спеціальній камері, крізь підлогу якої тварини отримували періодично електричні удари без визначених інтервалів часу. Тварини знаходились у камері протягом 5 год. Розвиток стресу підтверджувався на підставі змін маси тимуса, наднирників та утво-

рення виразок шлунка. Щурам перед стресом і відразу після нього внутрішньом'язово вводили по 0,2 мл стерильного 0,15 моль/л розчину NaCl. Щурам III та IV груп у той же час вводили відповідно препарат церулоплазміну у дозі 5 мг/кг та препарат поліпептидів нирок (0,1 мг/кг). Препарат виділено з коркової речовини нирок методом екстракції за допомогою кислоти, яка містить галогени в присутності двохвалентних катіонів [9, 10]. Через 2 год після стресу у тварин під гексеналовим наркозом з правого передсердя забирали кров, яку стабілізували 3,8 %-м розчином цитрату натрію (9:1). У крові визначали час рекальцифікації, тромбіновий та протромбіновий час, активність антитромбіну III, активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ), час лізису еуглобулінового згортка, показники етанолового і В-нафтолового тестів [15], оцінювали АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів [2]. Зміни в системі ПОЛ оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів [6], церулоплазміну [12], активності супероксиддисмутази (СОД) за рівнем гальмування автоокислення адреналіну [3], рівня спонтанного гемолізу еритроцитів (СГЕ) [20]. Одночасно у тканинах нирок щурів гістохімічно визначали активність лужної фосфатази. Кріостатні зрізи інкубували 40 хв при 37 °С у середовищі, виготовленому за Burstone. Цифрові результати статистично оброблені з застосуванням критерію t Стюдента [18].

Результати та їх обговорення

Після моделювання ГЕБС у щурів спостерігали наявні порушення процесів гемокоагуляції, ПОЛ та мікроциркуляційного гемостазу. Зокрема, знайдено скорочення часу рекальцифікації, тромбінового часу та АЧТЧ (таблиця), одночасно посилювалися антитромбінова активність плазми, швидкість лізису еуглобулінового згортка. Показники паракоагуляційних тестів у більшості випадків були слабопозитивні. Під впливом ниркової тканини стресованих тварин збільшувалася швидкість агрегації тромбоцитів субстратної плазми (рисунок). Процеси ПОЛ змінювалися: вміст малонового діальдегіду (МДА) в мембранах еритроцитів значно збільшився одночасно зі зниженням стабільності їх мембран. Активність антиоксидантних ферментів - СОД і церулоплазміну знижувалася. В тканинах нирок на фоні зниження активності СОД визначалося зменшення накопичування МДА, але спостерігалось різке збільшення концентрації ТБК-активних продуктів до початку інкубації. Це може свідчити про значне підвищення рівня ПОЛ у мембранах клітин ниркової тканини під дією ГЕБС з виснаженням субстратів ПОЛ, внаслідок чого зменшується накопичення МДА під час інкубації. При гістохімічному дослідженні відмітили підсилення активності лужної фосфатази в щитковій каемці проксимальних каналців.

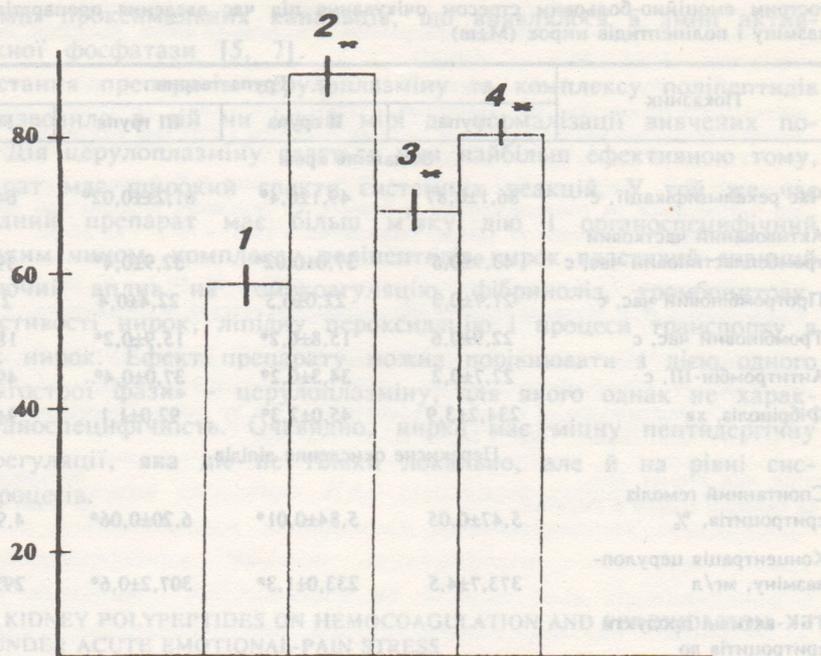
Під впливом церулоплазміну спостерігали подовження часу рекальцифікації, АЧТЧ. Показники протромбінового і тромбінового часу змінювалися незначно. Вірогідно посилювалась активність антитромбіну-III і прискорювався лізис еуглобулінового згортка. Одночасно знижувалася перекисна резистентність еритроцитів, концентрація церулоплазміну в



Тромбоциактивні вла...
больовим стресом чек...
рки. По осі абсцис - г...
після їх інкубації з...

платі крові наб...
рівень МДА в...
тканинах нирок,
дуктів до та пі...
Активність СОД

Під час введен...
ня часу рекал...
збільшувалась ак...
Значно підвищува...
чись на збільшен...
концентрацій ТБ...
сидантному серед...
крові відновлюва...
свідчити про те,
нирок в еритроци...
але під час дії...
за умов дослідже...
ного резерву кров...
фоні зниження ви...
жувалась активніс...



Тромбоциактивні властивості тканини нирок у інтактних тварин і щурів з гострим емоційно-больовим стресом чекання під час застосування препаратів церулоплазміну і поліпептидів нирки. По осі абсцис - групи тварин; по осі ординат - швидкість агрегації тромбоцитів у градусах після їх інкубації з нирковою тканиною; * $P < 0,01$.

плазмі крові наближалися до нормальних значень. Істотно знижувався рівень МДА в мембранах еритроцитів, практично не змінюючись в тканинах нирок, але вірогідно підвищувався рівень ТБК-активних продуктів до та після інкубації тканин у прооксидантному середовищі. Активність СОД у тканині нирок змінювалася не істотно.

Під час введення комплексу поліпептидів нирок відмічено подовження часу рекальцифікації плазми, тромбінового часу і АЧТЧ, збільшувалась активність антитромбіну-III та швидкість фібринолізу. Значно підвищувалась перекисна резистентність еритроцитів, не дивлячись на збільшення вмісту МДА в їх мембранах на фоні низьких концентрацій ТБК-активних продуктів до та після інкубації в прооксидантному середовищі, підвищилась активність СОД крові. У плазмі крові відновлювався вміст церулоплазміну. Ці результати можуть свідчити про те, що за умов стресу під час введення поліпептидів нирок в еритроцитах підсилюються процеси антиоксидантного захисту, але під час дії інтенсивних прооксидантів (залізо-аскорбатна система за умов досліджень) відбувається швидке виснаження антиокислювального резерву крові. В тканинах нирок нормалізувався рівень МДА на фоні зниження вихідних концентрацій ТБК-активних продуктів та знижувалась активність СОД. Під впливом терапії нормалізувалися тром-

Показники гемокоагуляції та перекисного окислення ліпідів інтактних тварин і тварин з гострим емоційно-больовим стресом очікування під час введення препаратів церулоплазміну і поліпептидів нирок ($M \pm m$)

Показник	Група тварин			
	I група	II група	III група	IV група
Зсідання крові				
Час рекальцифікації, с	86,1±0,87	49,1±0,4*	61,2±0,02*	64,8±0,3*
Активований частковий тромбопластиновий час, с	43,9±0,5	37,0±0,02*	32,9±0,4*	39,9±0,3*
Протромбіновий час, с	21,7±0,3	22,0±0,5	22,4±0,4	21,3±0,3
Тромбіновий час, с	22,9±0,6	15,8±0,2*	15,9±0,2*	18,1±0,2*
Антитромбін-III, с	22,7±0,2	34,3±0,2*	37,0±0,4*	49,0±0,2*
Фібриноліз, хв	234,2±3,9	45,0±2,3*	92,0±1,1	94,0±2,4*
Перекисне окислення ліпідів				
Спонтанний гемоліз еритроцитів, %	5,47±0,05	5,84±0,01*	6,20±0,06*	4,94±0,01*
Концентрація церулоплазміну, мг/л	373,7±4,5	233,0±1,3*	307,2±0,6*	295,0±1,4*
ТБК-активні продукти еритроцитів до інкубації, мкмоль/л	2,34±0,02	0,59±0,02*	1,00±0,03*	0,46±0,01*
ТБК-активні продукти еритроцитів після 1,5 год інкубації, мкмоль/л	3,25±0,02	2,76±0,02*	2,96±0,03*	2,70±0,03*
Малоновий діальдегід, % накопичення	138,89	467,80	296,00	586,96
Активність супероксиддислітази крові, од.	2,46±0,02	1,77±0,03*	1,75±0,01*	1,97±0,01*
ТБК-активні продукти нирок до інкубації, мкмоль/л	2,56±0,02	9,65±0,72*	10,2±0,34*	8,20±0,54*
ТБК-активні продукти нирок після 1,5 год інкубації, мкмоль/л	4,05±0,03	10,4±0,83*	11,3±0,17*	9,36±0,46*
Малоновий діальдегід, % накопичення в нирках	158,20	108,10	110,4	114,20
Активність супероксиддислітази нирок, од.	1,84±0,02	1,74±0,03*	1,78±0,03	1,53±0,04*

* $P < 0,01$ порівнюючи I та II, II та III, III і IV групи тварин.

боцитоактивні властивості тканини нирок, більш виражені при введенні церулоплазміну.

Гістохімічно при використанні церулоплазміну і комплексу поліпептидів нирок ми відмітили зниження активності лужної фосфатази в щитковій каемці проксимальних каналців, але не до нормального рівня. Наведені результати свідчать, що індуція у тварин ГЕБС призводить до розвитку гіперкоагуляції та посилення фібринолізу. На фоні посилення ПОЛ у крові та порушення його динаміки в тканинах нирок були зареєстровані порушення мікроциркуляторного гемоста-

зу. Одночасно ми квовій каемці проккості лужної фосф

Використання пр нирки призводило казників. Дія церу що препарат має поліпептидний пре ефект. Таким чино нормалізуючий вл тивні властивості н каналцях нирок. з білків «гострої ф терна органоспеци систему регуляції, темних процесів.

I.P.Kaidashev

EFFECT OF KIDNEY PO OF LIPIDS UNDER ACU

Changes in the processe rats as well as in the ki to Disederato. State o parenchema were studied

Poltava Medical Stomatolo Ministry of Public Health

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Архипова О.Г. Метод
2. Баркаган З.С. Гемор
3. Брусов О.С., Герасил
ных реакций на авт
1976. - № 1. - С. 33
4. Будажабон Г.Б., Куз
ных с обострением х
хив. - 1984. - № 10.
5. Введение в клиниче
С. 258-270.
6. Владимиров Ю.А., А
нах. - М., 1972. - 27
7. Диксон М., Узбб Э.
8. Кайдашев И.П., Кат
тканевых полипепти
Полтава, 1991. - С. 1
9. Кайдашев И.П. Влия
ментальном нефрите
10. Кайдашев И.П., Кат
на гемокоагуляцію і
1993. - 39, № 2-3. -
11. Калашников С.Т. Ро
ипептидов, влияющих
1988. - 16 с.
12. Колб В.Г., Калашни

зу. Одночасно ми спостерігали порушення процесів транспорту в щитковій каемці проксимальних каналців, що виявлялося в зміні активності лужної фосфатази [5, 7].

Використання препаратів церулоплазміну та комплексу поліпептидів нирки призводило в тій чи іншій мірі до нормалізації вивчених показників. Дія церулоплазміну здається нам найбільш ефективною тому, що препарат має широкий спектр системних реакцій. У той же час поліпептидний препарат має більш м'яку дію і органоспецифічний ефект. Таким чином, комплексу поліпептидів нирок властивий значний нормалізуючий вплив на гемокоагуляцію, фібриноліз, тромбоцитоактивні властивості нирок, ліпідну пероксидацію і процеси транспорту в каналцях нирок. Ефект препарату можна порівнювати з дією одного з білків «гострої фази» - церулоплазміну, для якого однак не характерна органоспецифічність. Очевидно, нирка має міцну пептидергічну систему регуляції, яка діє не тільки локально, але й на рівні системних процесів.

I.P.Kaidashev

EFFECT OF KIDNEY POLYPEPTIDES ON HEMOCOAGULATION AND PEROXIDATION OF LIPIDS UNDER ACUTE EMOTIONAL-PAIN STRESS

Changes in the processes of lipids peroxidation and antioxidant protection in the blood of rats as well as in the kidney tissues under simulation of acute emotional-pain stress according to Disederato. State of hemocoagulation and trombocyte-active properties of the kidney parenchyma were studied simultaneously.

Poltava Medical Stomatological Institute,
Ministry of Public Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Архипова О.Г. Методы исследований в профпатологии. - М., 1988. - С. 156-157.
2. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. - М., 1980. - С. 85.
3. Брусос О.С., Герасимов О.Н., Панченко Л.В. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. - 1976. - № 1. - С. 33.
4. Будажабон Г.Б., Кузник Б.И., Морозов В.Г. Состояние иммуногенеза и гемостаза у больных с обострением хронического гломерулонефрита, леченных тималином // Терап. архив. - 1984. - № 10. - С. 62-66.
5. Введение в клиническую биохимию. / Под ред. И.И.Иванова. - Л.: Медицина, 1969. - С. 258-270.
6. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М., 1972. - 272 с.
7. Диксон М., Узбб Э. Ферменты: Пер. с англ. - М.: Мир, 1982. - Т. 2. - С. 904-911.
8. Кайдашев И.П., Катрушев А.В., Цебржинский О.И., Мищенко В.П. К механизму действия тканевых полипептидов // Физиология и патология гемостаза: Сб. тез. Всесоюз. конф. - Полтава, 1991. - С. 33.
9. Кайдашев И.П. Влияние почечных полипептидов на активность лимфоцитов при экспериментальном нефрите // Физиол. журн. - 1993. - 39, № 5-6. - С. 52-56.
10. Кайдашев И.П., Катрушев О.В., Мищенко В.П. Вплив регуляторних ниркових поліпептидів на гемокоагуляцію і перекисне окислення ліпідів при фтористій інтоксикації // Там же. - 1993. - 39, № 2-3. - С. 67-72.
11. Калашников С.Т. Роль вилочковой железы в регуляции активности периферических полипептидов, влияющих на иммуногенез и гемостаз: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - М., 1988. - 16 с.
12. Колб В.Г., Калашников В.С. Клиническая биохимия. - Минск, 1976. - С. 219-220.

13. Кузник Б.И., Степанов А.В., Цыбиков Н.Н. Влияние полипептидов из вилочковой железы, костного мозга и сумки Фабрициуса на иммуногенез и гемостаз у неонатально тимэктомированных и эмбрионально бурозэктомированных цыплят // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. - 1987. - № 4. - С. 449-451.
14. Кузник Б.И., Васильев Н.В., Цыбиков Н.Н. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. - М.: Медицина, 1988. - 320 с.
15. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / Под ред. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и др. - Томск, 1980.
16. Мищенко В.П., Кайдашев И.П., Силенко Ю.И., Хавинсон В.Х. Влияние почечных пептидов-цитомединов на гемокоагуляцию и перекисное окисление липидов при экспериментальном нефрите Хеймана // Патол. физиология. - 1991. - № 5. - С. 35-36.
17. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем-цитомедины // Успехи соврем. биологии. - 1983. - № 3. - С. 339-352.
18. Румшинский И.З. Математическая обработка результатов эксперимента. - М., 1971. - С. 25-41.
19. Desiderato O., Mc Kinnon J.R. Development of gastric ulcerous in rats following stress termination // J.Comp. Physiol. Psychol. - 1974. - 87. - P. 208-214.
20. Jager F.C. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis in vitro // Nutr. Diets. - 1968. - 10, № 3. - P. 215-223.

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

Матеріал надійшов
до редакції 30.11.93

УДК 577.171.55

М.М.Доліба, С.К.Горд

Вплив гіпоксії у мітохондріях в різних тканин

Установлено, що гіпоксія (7000 м) сприяє зміні функцій серця і піджелудку. Підвищується окислювальна активність мітохондріях печінки та м'язів. Збільшується вміст фосфорилірованого аденіну в адаптації живої форми гіпоксії.

Вступ

У літературі широкі гетичні процеси більшості робіт при розмові гострих умов у мітохондріях. Цей субстрат біологічної концентрації АТФ відіграє вирішальну роль в організмі при довготривалому надмірному споживанні лімітуючим фактором *in vivo* з використанням міжконцентрацій для потреб окислення гліколізу (1 мкмоль кисню, яке спостерігається порушень мембран).

У літературі чітко зміни у нейрогуморальних субстратів у мітохондріях цих проблем.