

А. О. Мірошніченко, В. П. Ляшенко, С. М. Лукашов, Т. М. Майкова

Порівняльне дослідження накопичення кальцію у тканинах головного мозку та печінки за умов аліментарної гіперхолестеринемії

В работе исследованы некоторые механизмы изменения содержания кальция в головном мозгу и печени при развитии алиментарной гиперхолестеринемии. Выявленная динамика тканевого накопления кальция в изучаемых органах подтверждает их вовлечение в адаптационную реакцию при алиментарном стрессе и отражает протекание его стадий. Зарегистрированные подобные и параллельные динамические изменения накопления кальция в обоих органах обусловлены, вероятно, стереотипными патогенетическими механизмами. Полученные результаты обогащают новыми сведениями существующие сегодня представления о патогенезе алиментарной гиперхолестеринемии.

ВСТУП

Відомо, що кальцій відіграє важливу роль у багатьох поза- і внутрішньоклітинних процесах, у тому числі нервовій збудливості, регуляції активності ферментів, секретії та дії гормонів і нейромедіаторів. Однак його надлишок у цитозолі викликає загибель клітини [3, 4, 11-17]. Цей факт сприяв виникненню значного інтересу до особливостей гомеостазу кальцію при дії різноманітних стрес-факторів, одним із яких є аліментарна гіперхолестеринемія (ГХЕ). Під впливом стрес-факторів виникають певні зміни функцій деяких органів, включаючи головний мозок і печінку. Регуляцію адаптивних процесів за умов розвитку аліментарного стресу головний мозок здійснює, в першу чергу, через зміни специфічних реакцій печінки, які беруть участь в обміні холестерину [5, 6, 8, 9]. Тому метою нашої роботи було вивчення можливих механізмів змін вмісту кальцію у головному мозку та печінці за умов розвитку аліментарної ГХЕ.

МЕТОДИКА

Досліди виконано на щурах-самцях масою 125 - 275 г, яких було поділено на дві групи: контрольну (31 тварина) та дослідну (56 тварин). Тварини дослідної групи щодобово отримували з їжею холестерин (0, 5 г/кг), метилтіоурацил (0,1 г/кг), солі жовчних кислот (100 мг/кг) [10] для моделювання аліментарної ГХЕ. Метилтіоурацил пригнічує функцію щитовидної залози, що сприяє розвитку ГХЕ через зниження основного обміну. Солі жовчних кислот стимулюють виділення жовчі, яка поліпшує розщеплення та всмоктування жирів у шлунково-кишковому тракті.

Експеримент тривав 21 тиж з реєстрацією результатів кожні 3 тиж. У контрольній групі тварин результати реєстрували через такі самі інтервали часу, що дало змогу відрізнити зміни, пов'язані з тривалістю експерименту, від патологічних змін, викликаних розвитком ГХЕ. На 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21-й тиждень від початку дослідів тварин декапітували. Для дослідів брали головний

мозок і печінку та визначали в них вміст кальцію методом атомно-абсорбційної спектрометрії. Крім того, у сироватці крові визначали вміст холестерину за методом Ілька. Результати експерименту обробляли статистичним методом парних порівнянь. Результати оцінювались як вірогідні при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Динаміку вмісту холестерину у сироватці крові щурів за умов досліду наведено на рис. 1. Аналіз результатів показує, що у тварин контрольної групи вміст холестерину в сироватці крові зазнає незначних коливань протягом усього досліду. Це, мабуть, пов'язано зі збільшенням потреби організму щурів у холестерині впродовж проведення досліду, який тривав 5 міс. За цей час холестерин може використовуватись як будівельний матеріал для синтезу стероїдних гормонів і структурний елемент для клітинних мембран [5]. Слід зазначити, що незначне коливання вмісту холестерину у тварин контрольної групи знаходиться в межах норми для тварин даного віку і статі (52 - 82 мг%). У тварин дослідної групи реєструється незначне збільшення вмісту холестерину з 3-го по 9-й тиждень експерименту та значне збільшення його концентрації за 12 - 21-й тиждень (більш ніж у 2 рази). Ці результати яскраво свідчать, що

тривале введення холестерину щурам-самцям викликає стійку ГХЕ лише з 12-го тижня дослідження.

Результати дослідження вмісту кальцію у головному мозку та печінці щурів представлено на рис. 2. Слід відмітити, що вміст кальцію у головному мозку на порядок вищий, ніж у печінці. Можливо, це пояснюється великою різноманітністю функцій Ca^{2+} у тонких процесах формування нервових імпульсів, а також у підтриманні метаболізму самого головного мозку.

Вміст кальцію у головному мозку тварин контрольної групи збільшується від початку експерименту до 15-го тижня, а потім зменшується на 18-й та 21-й тиждень (див. рис. 2). Аналогічну картину спостерігали у тканині печінки щурів. Такі зміни вмісту кальцію у вказаних органах тварин контрольної групи пов'язані, мабуть, з фізіологічними процесами, що зумовлені тривалістю експерименту.

Слід зазначити, що у головному мозку та печінці тварин дослідної групи концентрація кальцію більша відносно значень у тканинах тварин контрольної групи (див.рис. 2). При цьому динаміку накопичення кальцію у цих органах тварин дослідної групи можна розглядати у зв'язку з перебігом стадій стрес-реакції [8, 9]. Нині багатьма експериментальними дослідженнями доведено, що в першу

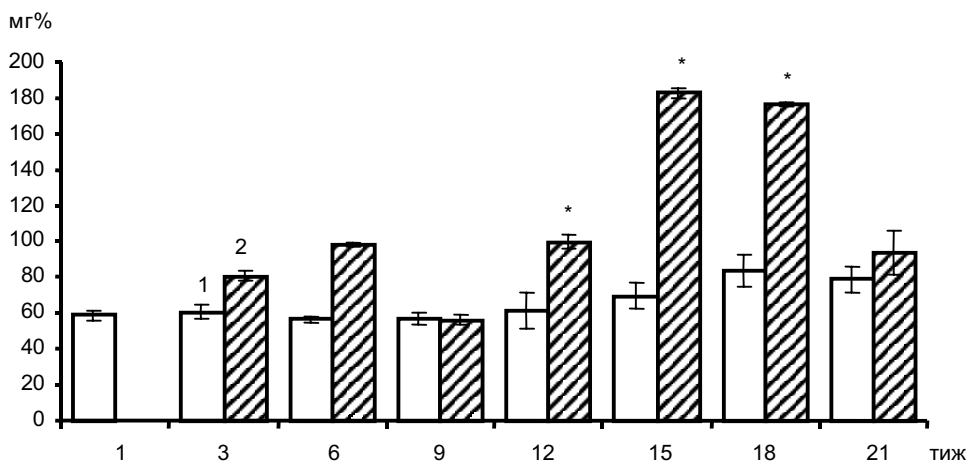


Рис. 1. Динаміка вмісту холестерину у сироватці крові щурів контрольної (1) та дослідної (2) груп.

стадію стресу (стадію тривоги) відбувається активація симпатичного відділу вегетативної нервової системи, та гіпоталамо-гіпофізарно-надниркового комплексу [8, 9]. Оскільки кальцій є вторинним посередником в дії медіаторів симпато-адреналогової системи на гепатоцити [7, 11, 17], то, ймовірно, саме цим частково викликано різке збільшення його вмісту в органах на 3-й тиждень порівняно з відповідним контролем. Іншою причиною цього явища може бути посилення вільнорадикального перекисного окиснення та зниження рівня антиоксидантів при аліментарній ГХЕ. Це, на думку деяких авторів [4, 12, 15], призводить до утворення іонофорів від-

носно іонів Ca^{2+} і протонів, внаслідок чого підвищується проникність клітинних мембран для цих іонів, що спричинює акумуляцію кальцію у клітинах. На стадії резистентності мобілізуються захисні сили організму при збереженні головної ролі симпатичної нервової системи і відповідних зсувів гормонального фону [8, 9]. У роботі не визначалася локалізація накопиченого в тканинах кальцію, але, враховуючи вказані вище докази, ми схилиємося до думки, що підвищення вмісту Ca^{2+} на 3 - 12-й тиждень зумовлені більшою мірою збільшенням вмісту внутрішньоклітинного, а не позаклітинного Ca^{2+} . Прагнучи утримати гомеостаз Ca^{2+} на пев-

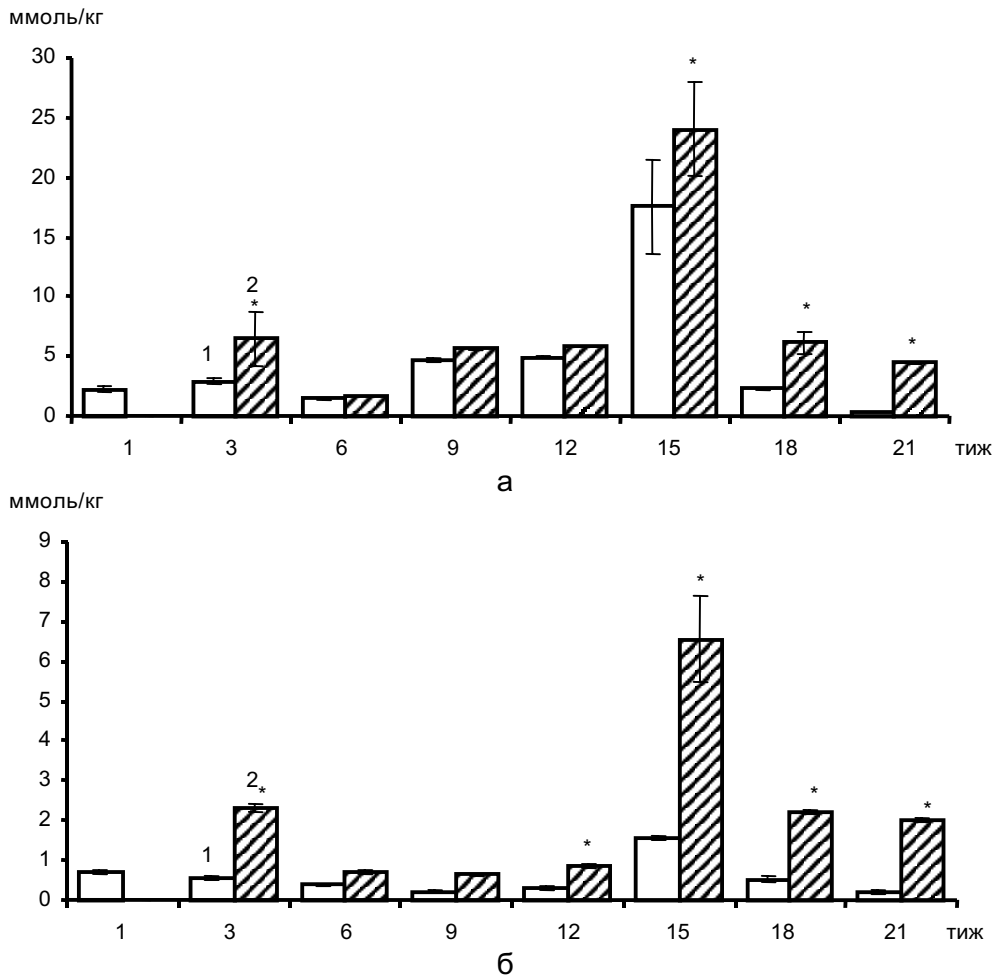


Рис. 2. Динаміка вмісту кальцію (ммоль/кг сухої маси) у головному мозку (а) та печінці (б) контрольної (1) та експериментальної (2) груп тварин.

* $P < 0,05$ порівняно з відповідним контролем

ному рівні, в цей час можуть активуватися системи виведення кальцію з клітини, завдяки чому його вміст знижується на 6-й і 9-й тиждень порівняно зі значеннями на 3-му тижні [3, 4]. Подальший вплив аліментарної ГХЕ може призвести до стадії виснаження зі зменшенням функціональних резервів та атрофією кіркової речовини надниркових залоз, що зрештою призводить до переваги дії парасимпатичної нервової системи. Така ситуація спричинить “енергетичний крах” і руйнування ферментативних і обмінних реакцій. Тому максимум утримання кальцію, що спостерігається на 15-му тижні, може бути зумовлений як порушенням роботи іонних каналів і входом Ca^{2+} у клітину [2-4, 7, 11, 17], так і виснаженням систем його виведення [1, 14]. Крім того, ефектом аліментарної ГХЕ, найбільший рівень якої реєструється також на 15-му тижні, є підвищення в’язкості біологічних мембран, що само собою може впливати на роботу іонних каналів та інгібувати дію Ca^{2+} -АТФази, яка транспортує кальцій з клітини [1]. У цьому разі перевантаження клітин кальцієм може спричинити їх загибель внаслідок ініціації сигнального каскаду апоптозу [4, 12, 14, 15]. Після 15-го тижня експерименту концентрація кальцію різко знижується. Мабуть, з цього періоду досягається пік апоптотичного процесу в тканинах і, як наслідок, масивний вихід кальцію у міжклітинний простір з наступним розвитком “тканинного остеопорозу” (18 та 21 тиж).

Порівняння динаміки вмісту холестерину у сироватці крові та концентрації кальцію у головному мозку та печінці тварин дослідної групи (див. рис. 1, 2) виявило, що помірне накопичення кальцію у вказаних органах на початку експерименту корелює з незначним і плавним підвищенням концентрації холестерину у сироватці крові, що відповідає обговореним раніше першим двом стадіям стресу (тривоги та резистентності). У разі продовження дії аліментарного стресора значне накопичення кальцію у головному мозку та печінці з наступним “тканинним остеопорозом” цих органів корелює з вираженою ГХЕ,

що відповідає стадії виснаження стрес-реакції. Виникає питання, що первинно: ГХЕ чи накопичення Ca^{2+} у головному мозку та печінці? Однозначну відповідь дати важко, але не виключно, що ці два процеси відбуваються паралельно та підсилюють один одного.

Накопичення кальцію у головному мозку та печінці щурів дослідної групи відбувається подібно та паралельно, що може свідчити про єдині механізми цього явища (див. рис.2). Відомо, що головним механізмом надходження Ca^{2+} до клітини є відкриття мембранних кальцієвих каналів, котрі розділяються на потенціал- та ліганд (рецептор-, хемо-) залежні [3, 4, 7, 11, 16, 17]. Встановлено відсутність у гепатоцитах потенціал-залежних кальцієвих каналів та Na^+ - Ca^{2+} -обміну [2, 11, 17]. Беручи до уваги єдину динаміку накопичення Ca^{2+} у головному мозку та печінці при аліментарній ГХЕ, можна припустити, що він надходить до клітин даних органів через лігандзалежні кальцієві канали при активації мембранних рецепторів. За умов експерименту така активація мембранних рецепторів у нервових клітинах пояснюється збудженням ЦНС при перебігу аліментарного стресу, що викликає зміну регуляторних впливів з боку ЦНС на функції периферичних органів [8, 9]. При цьому адаптаційна реакція печінки при активації мембранних рецепторів гепатоцитів проявляється у підвищенні інтенсивності метаболічних процесів, зокрема обміну холестерину [2, 5, 11, 17].

Таким чином, виявлені порушення кальцієвого гомеостазу у головному мозку та печінці при аліментарній ГХЕ підтверджують думку про втягнення цих органів у адаптаційну реакцію, котра за умов тривалої дії патогенного фактора призводить до функціонального, а надалі - до структурного ушкодження вказаних органів. У цьому разі динамічні зміни насичення вказаних тканин кальцієм можуть бути зумовлені стереотипними клітинними механізмами. Отримані результати можуть збагатити сучасні уявлення про патогенетичні механізми розвитку аліментарної ГХЕ.

**A.A. Miroshnichenko, V.P. Lyashenko,
S.N. Lukashev, T.N. Maykova**

**COMPARATIVE ANALYSIS OF CALCIUM
ACCUMULATION IN TISSUES OF BRAIN
AND LIVER AT ALIMENTARY
HYPERCHOLESTEREMIA**

Some mechanisms of changing calcium content in brain and liver at alimentary hypercholesteremia were studied. Dynamics of calcium accumulation in tissues of the organs under exploration has proved its contribution to an adaptive reaction of the organism at alimentary stress and reflected peculiarities of its different stages. Similar and simultaneous dynamic changes in calcium accumulation in both organs (liver and brain) seem to be induced by stereotypical pathogenic mechanisms. The results contribute much to the current ideas of the pathogenesis of alimentary hypercholesteremia.

National University, Dnipropetrovsk

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вавілова Г.Л., Прокопенко О.М., Харламова О.М., Сагач В.Ф. Участь L-аргініну в корекції активності мембранних транспортних ферментів Na^+ , K^+ , Ca^{2+} - та Na^+ -АТФаз за умов експериментальної гіперхолестеринемії // Фізіол. журн. - 2000. - **46**, № 1. - С. 25-31.
2. Гулак П.В., Дудченко А.М., Зайченко В.В. Гепатоцит: функціонально-метаболические свойства. - М.: Наука, 1985. - 272 с.
3. Дьячук Г.И. Возможные пути регуляции кальциевого обмена // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. - 1991. - **77**, № 11. - С. 117-123.
4. Левицкий Д.О. Кальций и биологические мембраны. - М.: Наука, 1990. - 124 с.
5. Лопухин Ю.М., Арчаков А.И., Владимиров Ю.А., Коган Э. М. Холестериноз. - М.: Медицина, 1983. - 352 с.
6. Никиткин Ю.П., Курилович С.А., Давидик Г.С. Печень и липидный обмен. - Н.: Наука, 1985. - 190 с.
7. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л. Рецепторы физиологически активных веществ. - М.: Медицина, 1987. - 400 с.
8. Соколов Е.И. Эмоции, гормоны и атеросклероз. - М.: Наука, 1991. - 294 с.
9. Федоров Б.М. Стресс и система кровообращения. - М.: Медицина, 1991. - 320 с.
10. Anitshkow N. Experimental arteriosclerosis in animals. Arteriosclerosis a survey of the problem // N. Y. McMillan Co. - 1993. - P. 271-322.
11. Barritt G.J., Hughes B.P. The nature and mechanism of activation of the hepatocyte receptor-activated Ca^{2+} -inflow system // Cell Signal. - 1991. - **3**, № 4. - P. 283-282.
12. wag B.J., Canzoniero L.M., Sensi S.L. et al. Calcium ionophores can induce either apoptosis or necrosis in cultured cortical neurons // Neuroscience. - 1999. - **90**, № 4. - P. 1339-1348.
13. Levy J. Abnormal cell calcium homeostasis in type 2 diabetes mellitus: a new look on old disease // Endocrine. - 1999. - Feb. - **10**, № 1. - P. 1-6.
14. Missiaen L., Robberecht W., van den Boch L. et al. Abnormal intracellular Ca^{2+} -homeostasis and disease // Cell Calcium. - 2000. - Jul. - **28**, № 1. - P. 1-21.
15. Paschen W. Role of calcium in neuronal cell in neuronal cell injury: which subcellular compartment is involved? // Brain Res. Bull. - 2000. - Nov. - **53**, № 4. - P. 409-413.
16. Rottingen J., Iversen J.G. Ruled by waves? Intracellular calcium signaling // Acta physiol. scand. - 2000. - Jul. - **169**, № 3. - P. 203-219.
17. Tordjmann T., Combettes L., Berthon B. et al. Hormone-mediated calcium responses of rat and human hepatocytes. Study of multicellular systems by videomicroscopy // Gastroenterol Clin Biol. - 1995. - Dec. - **19**, № 4. - P. 980-990.

*Дніпропетров. нац. ун-т М-ва освіти і науки
України*

*Матеріал надійшов до
редакції 25.12.2001*