

О.В. Ясінська

## Вікові особливості реагування про- та антиоксидантної систем плазми крові на гіпобаричну гіпоксію за умов різної тривалості фотоперіоду

*Шестичасовая гипобарическая гипоксия, эквивалентная высоте 4000 м над уровнем моря, применяемая ежедневно на протяжении 7 сут на фоне изменённой длительности фотопериода, вызывает активную реакцию про- и антиоксидантной системы плазмы крови самцов белых крыс. Постоянное освещение привело к снижению уровня перекисидации липидов, повышению активности супероксиддисмутазы, снижению активности каталазы. Постоянная темнота действовала противоположно. У неполовозрелых крыс показатели перекисидации липидов претерпевали менее выраженные изменения по сравнению со взрослыми в ответ на указанные условия, исключая постоянную темноту, при которой реакция про- и антиоксидантной систем была подобна таковой у взрослых животных. Гипоксия при всех режимах освещения приводила к активации антиоксидантной системы в обеих возрастных группах и снижению перекисидации у половозрелых крыс. У неполовозрелых животных наблюдалось возрастание интенсивности перекисидации кроме группы животных, которые пребывали при условии гипоксии и естественного освещения.*

### ВСТУП

Для гіпоксії, зумовленої зовнішніми чинниками, характерна наявність поліорганичних, морфофункціональних порушень, які формуються на системному рівні. Одним з типів екзогенної гіпоксії є гіпобарична гіпоксія. У оцінці гіпоксичного стану організму на системному рівні особлива роль відводиться процесам пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Унаслідок посилення чи послаблення ПОЛ змінюється склад клітинних мембран, їхня структурна організація та функціональна активність клітин [3,10]. Первинна активація ПОЛ і збільшення кількості прооксидантних продуктів є прямим результатом і найбільш загальною неспецифічною ланкою впливу на живу систему різноманітних стрес-агентів, у тому числі й екзогенної гіпоксії, й, у свою чергу, провокує реакцію-відповідь організму, запускаючи механізми захисту й проти-

дії окиснювальному стресу [1]. Детальне вивчення ролі вільнорадикальних процесів, зокрема ПОЛ, у порушенні клітинних структур при змінах кисневого режиму організму наведено в деяких оглядах [8, 11]. Стверджується, що за умов зниження в тканинах  $pO_2$  відбуваються різні зміни ПОЛ – від його пригнічення до значної активації. Вважаємо, що це спричинено кількома обставинами: недооцінюванням і не завжди врахуванням авторами таких факторів, як форма гіпоксії, тривалість експериментальної гіпоксії (гостра чи хронічна), пора року та доба, вік і стать дослідних тварин. Стійкість до гіпоксичних впливів змінюється у них залежно від зазначених чинників, що проявляється відмінностями в реагуванні статевонезрілих особин і дорослих тварин, особливостями хроноархітектоники добової чутливості організму до гіпоксії при нормальному та

© О.В. Ясінська

зміненому фотоперіоді [12]. Організм статевонезрілих тварини особливо чутливий до оксидативного стресу, зумовленого гіпоксією, та дезадаптувального впливу змін фотоперіоду [5]. Особливості проявів гіпоксії в різні періоди доби вказують на їх імовірну залежність від функціонального стану епіфіза, гормони якого здатні модулювати активність основних нейромедіаторних систем головного мозку та ендокринних залоз, які беруть участь у реалізації або обмеженні стресорних впливів [7]. Мелатонін відповідає за різноманітні функції, серед яких – знешкодження вільних радикалів (антиоксидантні властивості) та стимуляція синтезу ендогенних антиоксидантів. Відомо, що умови постійної темряви, за яких активується утворення ендогенного мелатоніну, частково компенсують порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, що виникають за гострого оксидативного стресу, зумовленого гострою гіпоксією [4, 14]. Однак невідомими залишаються механізми впливу фотоперіодичних змін на адаптацію до тривалої гіпобаричної гіпоксії помірної інтенсивності залежно від віку.

Мета нашої роботи – дослідити стан ПОЛ і пов'язану з ним зміну деяких антиоксидантних ферментів у плазмі крові статевозрілих і статевонезрілих самців щурів за комплексних умов гіпобаричної гіпоксії та різного фотоперіоду.

## МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 68 білих лабораторних безпорідних щурах-самцях репродуктивного віку (3 міс) з середньою масою тіла 0,170 кг та 51 статевонезрілих (1 міс) з середньою масою тіла 0,052 кг. Використовували власну модель досліду, яка певною мірою наближена до фізіологічної гіпоксії і включала: гіпобаричну гіпоксію в проточній барокамері, створювану розрідженням повітря до величини, що відповідає висоті 4000 м над рівнем моря зі швидкіс-

тю “підйому” 0,4 км/хв; утримання тварин за гіпоксичних умов протягом 7 діб по 6 год щодня (з 9.00 до 15.00) за різних варіантів фотоперіодичних змін освітлення: природного освітлення, постійного освітлення (інтенсивність 500 лк) та постійної повної темряви, тривалість експозиції – 8 діб (застосування зміненого світлового режиму розпочинали за добу до гіпоксії). Контрольними були інтактні щури, які перебували за умов природного освітлення та звичайного атмосферного тиску. Згідно з умовами досліду тварини обох вікових категорій були розподілені на 6 груп. Наступної доби після закінчення гіпоксичного впливу всіх тварин декапітували під легким ефірним наркозом, кров збирали та центрифугували, плазму крові використовували для визначення спектрофотометричним методом первинних – дієнові кон'югати (ДК), вторинних – малонового діальдегід (МДА) продуктів ПОЛ та активності антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД) та каталази [9]. З метою забезпечення стандартних умов проведення порівняльного аналізу стану про- та антиоксидантних систем на організмі й системному рівнях одиниці вимірювання вмісту продуктів ПОЛ і антиоксидантних ферментів розраховували на 1 мг білка плазми. При цьому виходили з того, що гіпобарична гіпоксія (аналогічна умовам наших експериментів) пригнічує синтез протеїнів [15], що зміни тривалості фотоперіоду доби посилюють інтенсивність пероксидації білків, особливо за умов гострої гіпоксії [6]. Статистичну обробку результатів здійснювали за методом варіаційної статистики з використанням критерію t Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За умов природного освітлення застосована нами модель гіпобаричної гіпоксії посилювала процеси ПОЛ у плазмі крові

статевозрілих щурів (таблиця). Спостерегалось інтенсивніше (на 17,95 %) утворення первинних продуктів ПОЛ у плазмі крові за відсутності суттєвих змін утворення вторинних продуктів ПОЛ. Одночасно з утворенням радикалів відбувалась активація ферментних антиоксидантних механізмів. Так, у тварин, що зазнали впливу гіпоксії, активність СОД була вищою на 51,03 % порівняно з контролем. Разом з тим активність каталази при цьому знизилася

на 59,40 %. На відміну від дорослих тварин у статевонезрілих гіпоксія на фоні природного освітлення не викликала істотних змін інтенсивності пероксидації, однак призвела до незначного (на 3,524 %), хоча й достовірного, підвищення активності СОД і помітного (на 12,44 %) зростання активності каталази. Зазначені зміни про- й антиоксидантної систем у відповідь на гіпоксію не суперечать загальноприйнятим уявленням про існування рівноваги між двома проти-

**Показники про- та антиоксидантної систем плазми крові за умов гіпоксії та зміненого фотоперіоду у самців щурів залежно від віку (M±m)**

Умови досліджу	Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка		Малоновий діальдегід, нмоль/мг білка		Супероксиддисмутаза, од · хв <sup>-1</sup> · мг <sup>-1</sup> білка		Каталаза, мкмоль · хв <sup>-1</sup> · мг <sup>-1</sup> білка	
	Зрілі щури	Незрілі щури	Зрілі щури	Незрілі щури	Зрілі щури	Незрілі щури	Зрілі щури	Незрілі щури
Природне освітлення нормоксія	0,8915 ±0,0427	0,8153 ±0,0096	0,3793 ±0,0336	0,2487 ±0,0034 ***	6,115 ±0,3029	6,897 ±0,0647 ***	4,683 ±0,6978	1,822 ±0,0226 ***
	n=19	n=8	n=19	n=8	n=19	n=8	n=19	n=8
гіпоксія	1,052 ±0,0692	0,8190 ±0,0116 ***	0,3761 ±0,0669	0,2400 ±0,0031	9,235 ±0,8787 *	7,141 ±0,0814 *,***	1,901 ±0,3142 *	2,049 ±0,0361 *
	n=12	n=8	n=12	n=8	n=12	n=8	n=12	n=8
Постійне освітлення нормоксія	0,8384 ±0,0456	0,8819 ±0,0087 *,***	0,2972 ±0,0174 *	0,2562 ±0,0047 **	7,650 ±0,2824 *	7,408 ±0,0769 *	1,802 ±0,1896 *	1,654 ±0,0154 *
	n=6	n=10	n=6	n=10	n=6	n=10	n=6	n=10
гіпоксія	0,8084 ±0,0405	1,003 ±0,0142 *,***	0,2504 ±0,0081 **,**	0,2816 ±0,0038 *,***,***	9,982 ±0,6012 **,**	7,707 ±0,0716 *,**,*	2,648 ±0,2927 *,**,*	1,820 ±0,0294 **,***
	n=5	n=8	n=5	n=8	n=5	n=8	n=5	n=8
Постійна темрява нормоксія	1,5395 ±0,0624 *	1,234 ±0,0046 *,***	0,6287 ±0,0223 *	0,5069 ±0,0092 *,***	5,3685 ±0,2501 *	3,775 ±0,1178 *,***	7,7193 ±0,1749 *	2,171 ±0,0218 *,***
	n=10	n=8	n=10	n=8	n=10	n=8	n=10	n=8
гіпоксія	1,323 ±0,0382 *,**	1,477 ±0,0182 *,**,*	0,7211± 0,0445 *,**	0,6029± 0,0086 *,**,*	5,495 ±0,4215 *	6,617 ±0,0910 *,**,*	8,285 ±0,1072 *,**,*	2,318 ±0,0460 *,**,*
	n=10	n=9	n=10	n=9	n=10	n=9	n=10	n=9

Примітка: P<0,05, \* вірогідно відносно контролю (природного освітлення, нормоксії); \*\* вірогідно відносно показників групи нормоксії за таких самих умов освітлення; \*\*\* вірогідно відносно показників у статевозрілих щурів за тих самих умов.

лежними та постійно взаємодіючими процесами – утворенням радикалів і пероксидним окисненням, з одного боку, та активністю біоантиоксидантних систем, з іншого боку [1]. Одним з кінцевих результатів такої взаємодії є адаптація організму до гіпоксії.

Постійне освітлення за нормоксичних умов у дорослих тварин призвело до підвищення активності СОД на 25,11% порівняно з природним освітленням, що, незважаючи на суттєве зниження при цьому активності каталази (на 61,53 %), могло бути причиною зменшення інтенсивності пероксидації, яке проявилось у зниженні вмісту ДК на 5,96 % та МДА на 21,64 %. У статевонезрілих тварин активність антиоксидантних ферментів зазнала менш виражених змін: активність СОД підвищилася на 7,40 %, а каталази – знизилася на 9,239 % порівняно зі значеннями за природного освітлення. Інтенсивність пероксидації при цьому дещо збільшилася (8,173 %) внаслідок підвищення вмісту ДК. За умов постійного освітлення застосована нами форма гіпоксії суттєво підвищила активність антиоксидантних ферментів у плазмі крові дорослих щурів: СОД на 30,48 %, каталази на 46,95 %. Водночас на 15,77 % знизився вміст МДА у плазмі крові тварин, які зазнали впливу гіпоксії, у порівнянні зі значеннями тварин, які утримувалися тільки за умов постійного освітлення без застосування гіпоксії. У щурів молодшої групи гіпоксія на фоні постійного освітлення також стимулювала активність СОД і, більш виражено, каталази, але це підвищення виявилось недостатнім для компенсації високого рівня ПОЛ. Загалом наші результати вказують на те, що завдяки антиоксидантним механізмам кількість продуктів вільнорадикального окиснення утримується на низькому рівні у статевозрілих щурів. З іншого боку, складається враження, що постійне освітлення є сильним стимулятором антиоксидантних механізмів, а при спільній дії з гіпоксією такі механізми набувають ще більшої

потужності, й проявляються у формуванні адаптації організму до гіпоксії. Зазначене не протирічить відомостям про те, що вміст МДА підвищується в нічні години й знижується в ранішні та денні години, корелюючи протягом доби з активністю СОД, що зумовлюється змінами функціонального стану епіфіза [7].

У наступній серії дослідів – утримання тварин в умовах повної темряви – отримані результати протилежні тим, що описані вище в серіях з утриманням тварин за умов постійного освітлення. Слід відмітити високий рівень ПОЛ – як ДК, так і МДА, низький рівень СОД і високий – каталази в обох вікових категоріях. Неоднозначною є реакція про- й антиоксидантної систем на поєднану дію гіпоксії та постійної темряви. У статевозрілих щурів за таких умов спостерігається поглиблення змін, характерних для застосування лише постійної темряви, порівняно з інтактними тваринами. Однак при порівнянні результатів у межах серії дослідів із застосуванням постійної темряви виявляється зменшення вмісту ДК на 14,07 %, підвищення вмісту МДА на 14,69 % на фоні незмінної активності СОД та помірного підвищення каталази за гіпоксії порівняно з нормоксичними умовами. У статевонезрілих тварин комбінована дія гіпоксії та постійної темряви зумовлює менш виражене зниження активності СОД (на 4,064 %), ніж дія лише постійної темряви – на 45,27 % порівняно з інтактними тваринами, та більш істотні підвищення активності каталази (на 19,17 та 27,23 % відповідно порівняно з інтактними тваринами). У порівнянні із застосуванням лише темряви, вплив гіпоксії зумовлює значне підвищення активності СОД за незначної зміни активності каталази та рівномірне підвищення вмісту ДК та МДА (на 19,67 та 18,93 % відповідно). При цьому на відміну від значного (на 103,8 %) підвищення вмісту МДА при дії лише темряви, за умов комбінованої дії вказаних факторів цей показник знижується на 26,05 %

порівняно зі значеннями у інтактних тварин, хоча вміст ДК продовжує збільшуватися.

Отже, гіпоксія за усіх застосованих режимів освітлення призводить до підвищення потужності ферментативної антиоксидантної системи плазми крові, як у статевозрілих, так і у статевонезрілих щурів. Постійні освітлення та темрява викликають протилежні за напрямком зміни про- та антиоксидантної систем плазми крові у статевозрілих щурів, а у статевонезрілих обидва варіанти зміни фотоперіоду посилюють ПОЛ за відсутності їх чіткої кореляції з активністю антиоксидантних ферментів. При цьому у молодих тварин ПОЛ проходить з утворенням кінцевих продуктів, а у дорослих переважають початкові стадії окиснення [13]. Поглиблений аналіз вікових відмінностей реагування про- й антиоксидантної систем на комбіновану дію гіпоксії та різного фотоперіоду вказує на те, що найвираженішими вони були в умовах гіпоксії та постійної темряви. Ймовірно, у статевонезрілих тварин будь-яка зміна фотоперіоду є дезадаптующим фактором і зумовлює реакцію неспецифічного характеру, тоді як організм дорослих тварин реагує диференційовано на різні зміни тривалості фотоперіоду через чітку кореляцію нейроендокринних механізмів адаптації, зокрема за участю епіфізарних і наднирковозалозних гормонів, яким поряд з іншими функціями властиві антиоксидантні властивості [1]. Виявлені вікові відмінності також і у стані збалансованості активності антиоксидантних ферментів. Порушення балансу між активністю СОД та каталази, особливо виражене за умов постійної темряви, може бути причиною погіршення стану антиоксидантного захисту [2], що й проявилось підвищенням вмісту продуктів ПОЛ, особливо у статевонезрілих щурів. Одним із можливих механізмів встановлених вікових відмінностей може бути недосконалість (неповна сформованість) у незрілих тварин сенсорних механізмів, зокрема фотоперіо-

дичної компоненти, у сприйнятті екстремальних стресорних впливів і, як наслідок, менш помітне реагування на такі впливи механізмів неспецифічної адаптації, в тому числі процесів ПОЛ.

Вважаємо, що необхідні подальші дослідження вікових особливостей антиоксидантно-прооксидантної рівноваги в цілісному організмі, зокрема механізмів окиснювальної модифікації білків, яка відбувається в органах і тканинах людини та тварин при окиснювальному стресі, та з'ясування ролі мелатоніну в ній, особливо за умов тривалої світлової експозиції або тривалого утримання у темряві тварин різних вікових груп.

**O.V. Yasinska**

#### **AGE-DEPENDENT REACTION OF BLOOD PLASMA OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEMS TO THE HYPOBARIC HYPOXIA AND DIFFERENT DURATION OF THE PHOTOPERIOD**

The effect of hypobaric hypoxia (6 hours everyday 7 days) under different duration of the photoperiod on oxidative (malonic aldehyde and dienal conjugates) and antioxidative (catalase and superoxide dismutase activity) systems in the blood plasma of adult and infantile albino male rats were investigated. It is concluded that there is an age-dependent reaction of oxidative and antioxidative systems to the combined action of hypobaric hypoxia and different duration of the photoperiod. Reactions of pro- and antioxidative systems of adult and infantile rats were approximately the same under the conditions of a long-term darkness and hypoxia but in the infants they were less manifested under the combined action of hypoxia and natural light or long-term lightening. Hypoxia combined with all varieties of photoperiod activate antioxidative system in both age groups but only in infantile rats the process of peroxidation was reducing.

*Bukovinian State Medical Academy, Tchernivtsi*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Наук. думка, 1997. – 420 с.
2. Гончар О.О., Олійник С.А., Середенко М.М. та ін. Антиоксидантна та антирадикальна активність яктону за умов гострої гіпоксичної гіпоксії // Доп. НАН України. – 2003. – №2. – С.187–192.
3. Єраносян Х.В., Коношенко С.В. Пероксидна

- оксидация ліпідів і стан антиоксидантної системи в еритроцитах за умов ініціації процесів окиснення *in vitro* // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2004. – **27**, №3. – С.39–43.
4. Заморський І.І., Пишак В.П. Функциональная организация фотопериодической системы головного мозга // Успехи физиол. наук. – 2003. – **34**, №4. – С.37–53.
  5. Заморський І.І. Фотоперіодичні зміни інтенсивності пероксидного окислення ліпідів в сім'яниках шурів за гострої гіпоксії // Буковин. мед. вісн. – 1998. – **2**, №3–4. – С.103–113.
  6. Заморський І.І., Пишак В.П. Стан пероксидного окиснення білків у корі великих півкуль та гіпокампі головного мозку шурів за дії гострої гіпоксії та різної довжини фотоперіоду // Там само. – 2000. – **4**, №1. – С.174–179.
  7. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. – М.: ТриадаХ, 2000. – 488 с.
  8. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии// Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2004. – № 2. – С.2–11.
  9. Магальяс В.М., Міхеев А.О., Роговий Ю.Є. та ін. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії. – Чернівці: Вид-во Буковин. дер. мед. академії, 2001. – 42с.
  10. Маньковская И.Н., Вавилова Г.Л., Харламова О.Н. и др. Активность маркерных ферментов клеточных мембран у крыс при адаптации к гипоксической гипоксии // Укр.биохим.журн. – 1997. – **69**, №2. – С. 79–87.
  11. Савченкова Л.В. Биохимические основы патогенеза гипоксического синдрома // Укр. мед. альманах. – 1998. – №1. – С.90–97.
  12. Хачатурьян М.Л., Панченко Л.А. Влияние сезона года на устойчивость крыс к гипоксии//Бюл. экспер.биологии и медицины. – 2002. – **133**, №3. – С.348–352.
  13. Янькова В.И., Гвозденко Т.А. Возрастные аспекты состояния пероксидации липидов и антиоксидантной защиты при действии аллоксана//Там же. – 2005. – **139**, № 3. – С.283–286.
  14. Beyer C.E., Steketee I.D., Saphier D. Antioxidant properties of melatonin an emerging mystery // Biochem. Pharmacol. – 1998. – **56**, №10. – P.1265–1272.
  15. Cai Ming-chun, Liu Jun-ze, Wu Li-ping, Sun Bing-yong. Эффекты острой и хронической гипоксии на мозговую митохондриальную трансляционную активность у крыс // Zhongguo bingli shengli zazhi=Chin.J.Pathphysiol. – 2002. – **18**, №9. – P.1038–1041.

*Буковин. мед. ун-т МОЗ України, Чернівці*

*Матеріал надійшов до редакції 31.10.2005*