

УДК: 612.06

Возрастные и тканеспецифические особенности перекисной модификации белков при эмоционально-болевым стрессе и введении α -токоферола

Чумакова А. С., Нестеров Ю. В.

Исследованы возрастные особенности уровня перекисного окисления белков самцов белых крыс при эмоционально-болевым стрессе и введении α -токоферола. Выявлены изменения интенсивности перекисной деструкции белков в различных тканях, которые зависят от возраста животного. Показано как протекторное, так и прооксидантное действие α -токоферола, зависящие от возраста и исследуемой ткани.

Ключевые слова: перекисная модификация белков, стресс, возраст, α -токоферол.

Age and tissue-specific features of the peroxide modification of proteins against the background of emotional-painful stress and preliminary introduction of α -tocopherol

Chumakova A. S., Nesterov Y. V.

Investigated age differences and the level of peroxidation of proteins of male white rats when emotional-painful stress and the introduction of α -tocopherol. The changes in the intensity of peroxide degradation of proteins in various tissues, depending on the age of the animal. Shown as a protective and prooxidant effect of α -tocopherol, depending on the age and the tissue under examination.

Keywords: peroxide modification of proteins, stress, age, α -tocopherol.

Введение

В настоящее время становится очевидным, что устойчивость организма к действию экстремальных факторов в значительной степени определяется состоянием и активностью стресс-лимитирующих систем, т.е. индивидуальным набором антистрессовых защитных механизмов, при истощении которых в условиях хронического стресс-воздействия развиваются комплексные поведенческие и соматове-

гетативные нарушения, приводящие к различным патологическим изменениям [1, 2, 5].

Важным проявлением стресс-реакции и адаптационной перестройки является совершенствование деятельности регуляторных механизмов, участвующих в поддержании оптимального уровня интенсивности обменных процессов на уровне целостного организма [9]. При этом, несомненно, должны существовать органоспецифические особенности в осуществлении мобилизации различных механизмов при стрессе, и проблема реализации стресс-реакции на уровне отдельных органов и тканей остается актуальной. В частности, малоизученным остается вопрос об изменениях метаболических процессов при развитии стресс-реакции. В настоящее время наиболее изучено влияние стресса на центральную нейрогормональную регуляцию функций, сердечно-сосудистую систему, систему крови и иммунитета [1, 2, 5, 9]. Однако проблема реализации стресса на уровне отдельных органов по-прежнему остается актуальной.

Как известно, одним из ведущих повреждающих факторов при стрессе, детерминирующих развитие вторичных изменений органов и тканей, является интенсификация свободнорадикального окисления, которая наряду с этим рассматривается как один из универсальных физиологических процессов — окисление биологических субстратов при действии АФК [1, 3, 5, 9]. Анализ современной научной литературы позволяет прийти к заключению о том, что значительное количество работ посвящено перекисному окислению липидов, в том числе стресс-индуцированному, при этом окислительной деструкции белков клеток и тканей уделяется меньшее внимание [4, 5]. В связи с вышеизложенным, возрастает интерес к физиологическому действию антиоксидантов, которые находят широкое применение в физиологии и медицине в связи с их способностью ингибировать процессы окисления в организме, и тем самым создавать оптимальные условия для гомеостаза и адаптации клеток и тканей при стресс-индуцирующих воздействиях разного генеза [4, 5].

Цель исследования

Целью данного исследования было изучение возрастной динамики и тканеспецифических особенностей перекисного окисления белков при остром эмоционально-болевым стрессе (ЭБС) и введении природного антиоксиданта α -токоферол.

Материал и методы

Исследования проводились на белых крысах-самцах в трех сериях опытов на трех возрастных группах животных: 1 — неполовозрелые 7-ми недельного воз-

раста; 2 — половозрелые животные 4-х месячного возраста; 3 — старые животные 18-ти месячного возраста. Животные были разделены на следующие группы:

- 1) интактные животные,
- 2) животные, подвергавшиеся эмоционально-болевному стрессу,
- 3) крысы, получавшие масляный раствор α -токоферолацетата в течение 14 дней *per os* в дозе 1 мг/100 г массы тела,
- 4) крысы, подвергавшиеся эмоционально-болевному стрессу с предварительным введением α -токоферола в той же дозе.

Моделью эмоционально-болевого стресса служило электро-кожное раздражение, для чего использовали прямоугольную камеру с решетчатым металлическим полом, соединенным с источником переменного тока фиксированного сопротивления, получаемого с помощью лабораторного автотрансформатора. Крысу помещали в установку на 5 мин. для ознакомления с ней, а затем подавали электрический ток с напряжением 40 V на протяжении 15 мин. с интервалом 30 сек. Животных забивали сразу после извлечения из камеры. После декапитации забирали кровь, вскрывали грудную и брюшную полость и отпрепаровывали легкие, сердце и печень для последующей гомогенизации, экстрагирования тканей и биохимического анализа.

Уровень свободнорадикального окисления определяли по скорости перекисного окисления белков (ПОБ) в плазме крови и гомогенатах печени, легких и миокарда по методике Дубининой Е.Е., Бурмистрова С.О., Леоновой Н.В. (1995) [4]. Оптическую плотность образовавшихся денитрофенилгидразонов измеряли при длине волны 540 нМ. Весь экспериментальный материал обрабатывался статистически с вычислением средней арифметической, ошибки средней, достоверности различий по критерию Стьюдента [7].

Результаты и обсуждение

При анализе полученных в ходе экспериментов данных у интактных животных разного возраста обнаружены как онтогенетические, так и тканеспецифические особенности пероксидной деструкции белков. Обнаружено значительное увеличение интенсивности ПОБ в крови у контрольных половозрелых (на 75 %) и старых (на 27 %) животных по сравнению с неполовозрелыми крысами (таблица 1). В тоже время, видимых изменений контрольных значений изучаемого параметра в печени, легких и миокарде животных разных возрастных групп не выявлено, однако наблюдали незначительное, но достоверное повышение интенсивности ПОБ у половозрелых в сравнении с крысятами в печеночной ткани, его снижение у взрослых крыс по сравнению с неполовозрелыми и старыми животными в легочной ткани.

Таблица 1 — Интенсивность окислительной модификации белков (нмоль/час) в тканях разновозрастных крыс на модели эмоционально-болевого стресса

Исследуемая ткань	Возраст	Контроль	Стресс	Стресс + витамин Е	Витамин Е
Плазма крови	7 недель	0,011 ± 0,0001	0,015 ± 0,0004* ^o	0,010 ± 0,0002 *	0,013 ± 0,0002 ^{o*}
	4 месяца	0,019 ± 0,0004	0,018 ± 0,0002* ^o	0,013 ± 0,0004 *	0,021 ± 0,0003* ^o
	18 месяцев	0,014 ± 0,0008	0,015 ± 0,0008* ^o	0,013 ± 0,0009*	0,014 ± 0,0008
Печень	7 недель	0,011 ± 0,0002	0,015 ± 0,0001* ^o	0,019 ± 0,0001*	0,014 ± 0,0002*
	4 месяца	0,012 ± 0,0001	0,011 ± 0,0002* ^o	0,013 ± 0,0001*	0,016 ± 0,0001*
	18 месяцев	0,011 ± 0,0001	0,012 ± 0,0002* ^o	0,013 ± 0,0004 *	0,013 ± 0,0002 *
Легкие	7 недель	0,011 ± 0,0001	0,012 ± 0,0001* ^o	0,014 ± 0,0001*	0,013 ± 0,0002*
	4 месяца	0,010 ± 0,0001	0,011 ± 0,0002* ^o	0,013 ± 0,0001*	0,014 ± 0,0002*
	18 месяцев	0,011 ± 0,0001	0,013 ± 0,0003* ^o	0,012 ± 0,0001*	0,010 ± 0,0003*
Миокард	7 недель	0,010 ± 0,0001	0,011 ± 0,0001* ^o	0,012 ± 0,0001*	0,011 ± 0,0001*
	4 месяца	0,010 ± 0,0002	0,009 ± 0,0001* ^o	0,015 ± 0,0002*	0,013 ± 0,0002*
	18 месяцев	0,012 ± 0,0001	0,014 ± 0,0003* ^o	0,014 ± 0,0001*	0,014 ± 0,0004*

Примечание: * — $p < 0,05$ — $0,001$ в сравнении с контрольным значением, ^o — $p < 0,05$ — $0,001$ в сравнении с параллельной группой опытных животных «Стресс+ витамин Е»

Далее было показано, что ЭБС вызывает выраженные изменения ПОБ во всех изучаемых тканях главным образом у крыс 7-ми недельного возраста, которые выражаются в достоверном повышении интенсивности окислительной модификации белков. Так, в плазме крови и печени крысят ПОБ повышалось после стресса на 26,7 %, а в легких и миокарде на 8,4 % и 9,1 % соответственно.

У взрослых крыс 4-х месячного возраста, напротив ЭКР вызвало снижение уровня окисленных белков в крови и печени в отличие от легочной ткани и миокарда, где наблюдалось незначительное, но достоверное повышение ПОБ. У старых животных увеличение ПОБ при стрессе показано во всех изучаемых тканях (таблица 1).

Таким образом, можно сделать заключение о большей стресс-реактивности в отношении белковой пероксидации неполовозрелых животных. Кроме этого наиболее выраженные отличия в значениях изучаемого показателя наблюдаются в плазме крови, как между возрастными группами, так и на фоне стресса при сравнении с контрольными значениями.

Далее, исследования показали, что предварительное введение α -токоферола привело к выраженному стресс-протекторному действию антиоксиданта на ПОБ в плазме крови у животных всех возрастных групп. В других тканях наблюдалось увеличение интенсивности ПОБ на фоне введения витамина Е по сравнению с животными, подвергавшимися действию стресса и не получавшими антиоксидант. Причем наиболее выраженный прооксидантный эффект витамина Е сочетаемый с действием стрессора обнаружен нами в печени неполовозрелых животных. Такая же, но менее выраженная закономерность наблюдалась в печени, легких и миокарде животных других возрастных групп.

Как известно, активация свободнорадикальных процессов составляет общее звено стрессорных повреждений. Исследования последних десятилетий демонстрируют усиление свободнорадикальных процессов при действии на организм стрессорных факторов разной природы [1, 2, 5, 10]. В конечном итоге стрессорные воздействия приводят к напряжению и последующей декомпенсации механизмов антиоксидантной защиты. Такая реакция на стресс оказалась характерной и для молодых, и для старых животных. Электрокожное раздражение привело к выраженному увеличению уровня ПОБ у неполовозрелых и старых животных, что вполне согласуется с данными о том, что радикальной атаке при стрессе в первую очередь подвергаются клеточные белки [4]. Однако в наших опытах у половозрелых животных стресс сопровождался резким снижением уровня перекисной деструкции белков. Как отмечают ряд авторов, в условиях окислительного стресса белки клеток в нативном состоянии в виду их высокого содержания в клетках и межклеточных жидкостях, противостоят повреждениям, усиливая, антиоксидантную защиту [6]. По-видимому, подобные обстоятельства определили характерное снижение уровня перекисного окисления белков при стрессе у половозрелых животных с характерным для них сформировавшимся балансом про- и антиоксидантной систем.

Выводы

На трех этапах постнатального онтогенеза обнаружены возрастные различия интенсивности свободнорадикальных процессов в условиях фоновой активности, которые заключаются в значительном повышении уровня белковой пероксидации у старых крыс в миокарде и у 7-ми недельных крысят в печени. На модели острого эмоционально-болевого стресса показана достоверная стресс-индуцированная активация перекисной деструкции белков, которая наиболее выражена в печени крысят и миокарде старых животных. Предварительное стрессированию введение альфа-токоферола вызывает его выраженные антиоксидантные стресс-протекторные эффекты в большинстве органов в

отношении ПОБ. У старых животных витамин Е в ряде органов (миокард, печень) оказывает прооксидантное действие.

Литература

1. Барабой, В. А. Перекисное окисление и стресс / В. А. Барабой, И. И. Брехман, В. Г. Голотин, Ю. Б. Кудряшов. — СПб.: Наука, 1991. — 148 с.
2. Бобырев, В.Н. Специфичность систем антиоксидантной защиты органов и тканей — основа дифференцированной фармакотерапии антиоксидантами / В.Н. Бобырев // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1994. — т.57, №1. с.47—54.
3. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон. — М.: Высшая школа, 1991. — 113 с.
4. Дубинина, Е. Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов, И. Г. Поротов // Вопросы медицинской химии. — 1995. — Т.41, №5. — С.24—26.
5. Владимиров, Ю.А. Роль нарушения свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов / Ю.А.Владимиров // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 1989. — №4. — С. 7—18.
6. Меньшикова, Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь, Н.Ф. Круговых, В.А. Труфанкин. — М.: Фирма «Слово», 2006. — 553с.
7. Плохинский, Н. А. Алгоритмы биометрии/ Н. А. Плохинский — М.: МГУ, 1980. — 114 с.
8. Федоров, Б. М. Стресс и система кровообращения/ Б. М. Федоров — М.: Медицина, 1991. — 319 с.
9. Фурдуй, Ф. Типы физиологических и патофизиологических реакций организма при действии стрессорных факторов / Ф. Фурдуй, З. Георгиу, Л. Вуду, Г. Вуду, Е. Штирбу, О. Кривошеев, А. Сырбу, П. Павалюк, Л. Мошану // 1 Росс, конгресс по патофизиологии. «Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы»: Тезисы докладов — М.: РГМУ, 1996. — С.219.
10. Babior, V.M. Postnatal growth of the mammalian lung influence of exercise and steroid activity / V.M. Babior // N.Eng.J.Med. — 1978. — Vol.298. — P.721—725.

Literature

1. Baraboj, V. A. Perekisnoe okislenie i stress / V. A. Baraboj, I. I. Brehman, V. G. Golotin, Ju. B. Kudrjashov. — SPb.: Nauka, 1991. — 148 s.

2. Bobyrev, V.N. Specifichnost' system antioksidantnoj zashhity organov i tkanej — osnova differencirovannoj farmakoterapii antioksidantami /V.N. Bobyrev//Jeksper. i klinich. farmakologija .— 1994.— t.57, №1. s.47—54.
3. Buresh, Ja. Metodiki i osnovnyey eksperimenty po izucheniju mozga i povedenija / Ja. Buresh, O. Bureshova, Dzh. P. H'juston. — M.: Vysshaja shkola, 1991. — 113 s.
4. Dubinina, E. E. Rol' aktivnyh form kisloroda v kachestve signal'nyh molekul v metabolizme tkanej pri sostojanija hokislitel'nogo stressa / E. E. Dubinina, S. O. Burmistrov, D. A. Hodov, I. G. Porotov //Vopr.med.himii. — 1995. — T.41, №5. — S.24—26.
5. Vladimirov, Ju.A.Rol' narushenija svojstv lipidnogosloja membran v razviti ipatologicheskikh processov / Ju.A.Vladimirov // Patol. fiziol. i jeksperim. terapija. — 1989. — №4. — S. 7—18.
6. Men'shikova, E.B. Okislitel'nyj stress. Prooksidanty i antioksidanty / E.B. Men'shikova, V.Z. Lankin, N.K. Zenkov, I.A. Bondar', N.F. Krugovyh, V.A. Trufankin. — M.: Firma «Slovo», 2006. — 553s.
7. Plohinskij, N. A. Algoritmybiometrii/ N. A. Plohinskij — M.: MGU, 1980. — 114 s.
8. Fedorov, B. M. Stress i Sistema krovoobrashhenija / B. M. Fedorov — M.: Medicina, 1991. — 319 s.
9. Furduj, F. Tipy fiziologicheskikh i patofiziologicheskikh reakci jorganizma pri dejstvii stressornyh faktorov / F. Furduj, 3. Georgiu, L. Vudu, G. Vudu, E. Shtirbu, O. Krivosheev, A. Syrbu, P. Pavaljuk, L. Moshanu // 1 Ross, kongr. popatofiziologii. «Patofiziologija organov i sistem. Tipovye patologicheskie processy»: tez. dokl. — M.: RGMU, 1996. — S.219.
10. Babior, B.M. Postnatal growth of the mammalian lung influence of exercise and theroid activity / B.M. Babior // N.Eng.J.Med. — 1978. — Vol.298. — P.721—725.