

Активность цитозольной супероксиддисмутазы в тканях крыс разного возраста на фоне применения парафармацевтика «Вин-Вита»

Е.А.Орлова, О.А.Лазарчук

Луганский государственный медицинский университет, кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии
Луганск, Украина

Целью исследования было изучить активность супероксиддисмутазы в тканях печени, почек, сердца, мозга молодых и взрослых крыс, ее изменение под действием парафармацевтика с геропротекторным действием «Вин-Вита». Установлено, что в группе молодых крыс активность супероксиддисмутазы различна: максимальная активность в ткани печени, минимальная — в ткани сердца. Выявлено, что в тканях печени, почек, сердца, мозга у 30-недельных интактных крыс не наблюдалось достоверных изменений активности супероксиддисмутазы по сравнению с группой молодых интактных животных. Выявлена возможность коррекции активности цитозольной супероксиддисмутазы тканей взрослых крыс под действием парафармацевтика с геропротекторным действием «Вин-Вита», обладающим антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза, антиоксидантная система, ткани, геропротектор.

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к антиоксидантным ферментам и супероксиддисмутазе (СОД) в частности объясняется возросшим интересом к антиоксидантам в целом как средствам, способным противодействовать процессам старения по механизму ингибирования процессов свободнорадикального окисления (СРО) [8-10]. Антиоксидантные ферменты образуют единую метаболическую цепь, в которой продукт первой реакции является субстратом последующей. В связи с этим для нормального функционирования ан-

тиоксидантной системы важно сохранение определенных соотношений между ее отдельными ферментами [3]. Это обосновывает необходимость определения состояния антиоксидантной защиты.

СОД присутствует во всех тканях аэробнонотов. В клетках она в основном локализована в цитозоле, около 10% фермента находится в митохондриальных мембранах [1]. Повышение активности СОД рассматривается как фактор, увеличивающий общую антиоксидантную защиту клетки и препятствующий процессам старения.

Анализ полученных данных [2] позволяет обосновать целесообразность смещения акцентов в экспериментальной геронтологии в пользу применения геропротекторных средств на ранних этапах онтогенеза. Считается, что одним из эффективных подходов к существенному повышению качества жизни и увеличению длительности жизни может быть увеличение активности антиоксидантной системы при помощи эндогенных и экзогенных антиоксидантов [4]. Вышедшие из-под контроля антиоксидантной защиты процессы СРО могут являться причиной многих заболеваний и ускоренного старения. В настоящее время наиболее перспективными представляются геропротекторные препараты растительного происхождения [7], в частности парафармацевтик «Вин-Вита», обладающий антиоксидантными свойствами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на белых крысах двух возрастных групп — 14-недельные (молодые) и 30-недельные (взрослые). Экспериментальную группу составили взрослые крысы, которые получали парафармацевтик с геропротекторным действием «Вин-Вита» на протяже-

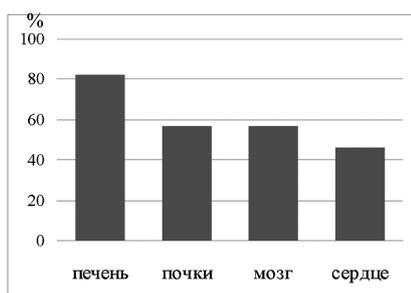


Рис. 1. Активність СОД різних тканин 14-тижневих інтактних мишей.

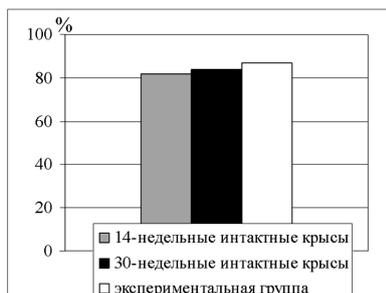


Рис. 2. Активність СОД тканини печінки.

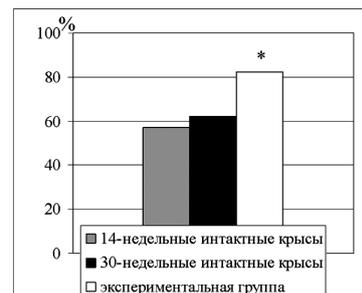


Рис. 3. Активність СОД тканини нирок.
Примечание: * — достовірність результатів відносно 30-тижневих інтактних мишей ($p < 0,05$).

нии 30 дней. Группами контроля служили 14-недельные и 30-недельные интактные крысы.

Животных декапитировали под легким эфирным наркозом, затем извлекали органы: печень, почки, сердце, мозг.

Методика определения активности СОД основана на определении количества продукта окисления адреналина, имеющего поглощение в области 347 нм, образование которого происходит в отсутствие дополнительных источников генерации O_2^- и чувствительно к СОД. Гомогенат тканей готовили в среде выделения, содержащей 0,25 М сахарозы и 1 мМ ЭДТА в соотношении 1:9. После центрифугирования (6000 g, 15 мин.) отбирали супернатант для дальнейшего исследования.

Процедура проведения реакции аутоокисления адреналина. К 2 мл 0,2 М карбонатного буфера (рН=10,65) добавляли 100 мкл 0,1% раствора адреналина, быстро перемешивали и измеряли величину оптической плотности ($\lambda=347$ нм) через каждые 30 с в течение 5 мин.

При работе с пробой в кювету к 2 мл буфера добавляли 10 мкл пробы и 100 мкл 0,1% адреналина, перемешивали и измеряли нарастающее оптической плотности, как описано выше. В контрольную пробу, против которой проводили измерение, не вносили адреналин.

О величине активности СОД в пробе судили по степени ингибирования им скорости аутоокисления адреналина. Процент ингибирования вычисляли по формуле: % ингибирования (ед. ак.) = $[1 - (\Delta D_{\text{опыт}} / \Delta D_{\text{контроль}})] * 100\%$, где $\Delta D_{\text{опыт}}$ и $\Delta D_{\text{контроль}}$ — скорости реакции аутоокисления адреналина в присутствии и в отсутствии пробы соответственно. О скорости окисления адреналина судили по изменению оптической плотности.

Полученные в результате исследования показатели обрабатывали на персональном компьютере в программе Excel 2007 для Windows XP с использованием методов вариационной статистики. Достоверность отличий средних оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.

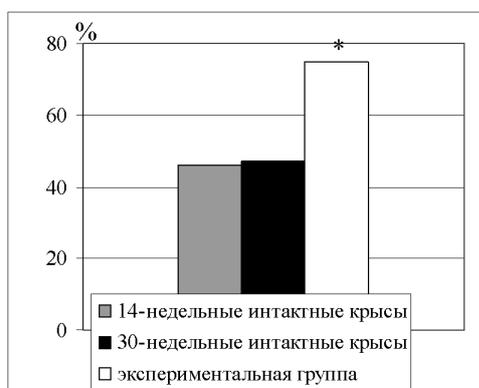


Рис. 4. Активність СОД тканини серця.
Примечание: * — достовірність результатів відносно 30-тижневих інтактних мишей ($p < 0,05$).

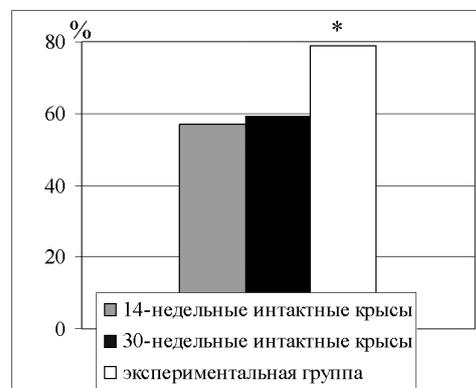


Рис. 5. Активність СОД тканини мозку.
Примечание: * — достовірність результатів відносно 30-тижневих інтактних мишей ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что органы животных и человека отличаются по активности СОД, поддерживая в условиях нормального обмена стационарную концентрацию супероксидных радикалов на определенных уровнях [9]. Нами было установлено, что в группе 14-недельных интактных крыс наибольшее ингибирующее действие СОД на аутоокисление адреналина наблюдалось в ткани печени, что соответствует данным [1], согласно которым наивысшая активность цитозольной СОД по сравнению с другими органами крыс была характерна для ткани печени. С наибольшей интенсивностью процесс аутоокисления адреналина происходил в ткани сердца. На основании полученных ранее данных [5] установлено, что в ткани сердца наблюдалось минимальное содержание как альдегид-, так и кетопроизводных продуктов окисления белков по сравнению с другими исследуемыми тканями. Следовательно, более низкую активность СОД ткани сердца можно объяснить пониженной активностью ОМБ по сравнению с другими тканями. В тканях почек и мозга у молодых животных активность СОД достоверно не отличалась (рис. 1).

Следовательно, активность цитозольной СОД для разных тканей молодых интактных животных различна.

С возрастом наблюдается усиление процессов СРО, на что указывает повышение концентрации продуктов ОМБ в тканях органов 30-недельных интактных крыс [5]. Сравнительная оценка содержания стабильных метаболитов оксида азота интактных 14-недельных и 30-недельных животных показала тенденцию к увеличению уровня метаболитов с возрастом во всех исследуемых тканях [6]. Особенностью метаболизма некоторых тканей (в частности ткани мозга) в норме являются интенсивные аэробные окислительные процессы, и существует точно сбалансированная система «СРО — антиоксиданты» [2, 3]. Патологическим является не само СРО, а нарушение его регуляции антиоксидантной системой.

Нами было получено недостоверное увеличение активности СОД тканей 30-недельных интактных крыс по сравнению с группой молодых (рис. 2-5). Возможно, что на стадии инициации СРО активность антиоксидантной системы позволяет компенсировать данные процессы с минимальным увеличением ферментативной активности.

Следовательно, для 30-недельных интактных крыс изменение активности СОД не явля-

ется достоверным относительно группы интактных 14-недельных животных.

Применение парафармацевтика «Вин-Вита», обладающего антиоксидантными свойствами, привело к увеличению активности цитозольной СОД во всех исследуемых тканях (рис. 2-5). Однако для ткани печени увеличение данного показателя является недостоверным (рис. 2). Установлено, что печень является органом, относительно медленно стареющим и мало подверженным воздействию антиоксидантов [4]. Это обусловлено морфофункциональной полноценностью гепатоцитов и сохранностью иммунной системы, наблюдающихся в течение длительного периода. Начиная со зрелого возраста, печень претерпевает ряд структурных изменений, часть которых носит компенсаторно-приспособительный характер и обеспечивает удовлетворительное функционирование органа в процессе старения. Так, при старении человеческого организма в печени не происходит значительных гистологических нарушений, приводящих к развитию ее специфических возрастных изменений, обнаруживаемых во многих других органах [4].

В экспериментальной группе животных наблюдается достоверное увеличение активности СОД для тканей почек и мозга в 1,3 раза (рис. 3, 5), а также сердца — в 1,6 раза (рис. 4). Антиоксидантное действие парафармацевтика сказалось не только на активности СОД, но и на уровне ОМБ и оксида азота. На первый взгляд может показаться, что эти результаты противоречат друг другу: если интенсивность процессов СРО уменьшается, то и активность СОД должна понижаться. Однако если исходить из современных представлений о механизмах действия антиоксидантов, в том числе и растительного происхождения [7], то полученные результаты можно объяснить следующим образом. Парафармацевтик «Вин-Вита» как мощный антиоксидант не только выполняет функцию «ловушек» свободных радикалов, но и повышает ферментативную активность СОД. Последнее, по-видимому, является первичным механизмом.

Следовательно, нами получены данные об увеличении активности СОД под действием парафармацевтика «Вин-Вита», что согласуется с некоторыми литературными источниками [4, 9].

Таким образом, применение парафармацевтика с геропротекторным действием «Вин-Вита» способствует увеличению активности цитозольной СОД в тканях взрослого организма. Для объяснения отсутствия достоверных изменений активности СОД в тканях крыс с

возрастом необходимо провести исследование по определению общей прооксидантной и антиоксидантной активности сыворотки крови.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что в группе молодых крыс активность СОД различна: максимальная активность в ткани печени, минимальная — в ткани сердца.

2. Выявлено, что в тканях печени, почек, сердца, мозга у 30-недельных интактных крыс не наблюдалось достоверных изменений активности СОД по сравнению с группой молодых интактных животных.

3. Выявлена возможность коррекции активности цитозольной СОД тканей взрослых крыс под действием парафармацевтика с геропротекторным действием «Вин-Вита», обладающим антиоксидантной активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Варганиян Л.С. Влияние ионола на метаболизм супероксидных радикалов в печени мышей / Л.С.Варганиян, С.М.Гуревич // Вопросы мед. химии. — 2000. — №4 — С. 34-38.
2. Казимирко В.К. Антиоксидантная система и ее функционирование в организме человека / В.К.Казимирко, В.И.Мальцев // Здоровье Украины. — 2004. — №98. — С. 40-45.
3. Казимирко В.К. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В.К.Казимирко, В.И.Мальцев, В.Ю.Бутылин, Н.И.Горобец. — К.: Морион, 2004. — С. 160.
4. Лазебник Л.Б. Возрастные изменения печени (клинические и морфологические аспекты) / Л.Б.Лазебник, Л.Ю.Ильченко // Клиническая геронтология. — 2007. — №1. — С. 3-8.
5. Орлова О.А. Активність окислювальної модифікації білків у різних тканинах дорослих щурів під впливом парафармацевтика «Він-Віта» / О.А.Орлова, О.О.Лазарчук // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. — 2009. — Т.4, №4. — С. 86-90.
6. Орлова Е.А. Влияние парафармацевтика «Вин-Вита» на уровень метаболитов оксида азота в тканях органов молодых и взрослых крыс / Е.А.Орлова, О.А.Лазарчук // Укр. журнал клинической и лабораторной медицины. — 2010. — Т.13, №2 — С. 124-128.
7. Пеклина Г.П. Исследование действия «Вин-Вита» на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему организма у ликвидаторов последствий Чернобыльской аварии / Г.П.Пеклина, К.Д.Бабов [и др.] // Медична реабілітація. Курортотологія. Фізіотерапія. — 2000. — №2. — С. 24-32.
8. Elchuri S. CuZnSOD deficiency leads to persistent and widespread oxidative damage and hepatocarcinogenesis later in life / S.Elchuri, T.D.Oberley [et al.] // Oncogene. — 2005. — Vol. 24. — P. 367-380.

9. Muller F.L. Absence of CuZn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy / F.L.Muller, W.Song [et al.] // Free Radic. Biol. Med. — 2006. — Vol. 40. — P. 93-104.
10. Sentman M.L. Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc-containing superoxide dismutase / M.L.Sentman, M.Granstrom [et al.] // J. Biol. Chem. — 2006. — Vol. 281. — P. 104-109.

О.А.Орлова, О.О.Лазарчук. Зміни активності супероксиддисмутази в тканинах щурів різного віку та під впливом парафармацевтика «Він-Віта». Луганськ, Україна.

Ключові слова: супероксиддисмутаза, антиоксидантна система, тканини, геропротектор.

Метою дослідження було вивчити активність супероксиддисмутази в тканинах печінки, нирок, серця, мозку молодих і дорослих щурів, її зміну під дією парафармацевтика з геропротекторною дією «Він-Віта». Встановлено, що в групі молодих щурів активність супероксиддисмутази різна: максимальна активність у тканині печінки, мінімальна — у тканині серця. Виявлено, що в тканинах печінки, нирок, серця, мозку 30-тижневих інтактних щурів не спостерігалось достовірних змін активності супероксиддисмутази у порівнянні з групою молодих інтактних тварин. Виявлена можливість корекції активності цитозольної супероксиддисмутази тканин дорослих щурів під дією парафармацевтика з геропротекторною дією «Він-Віта», що має антиоксидантну активність.

E.A.Orlova, O.A.Lazarchuk. Change of superoxide dismutase activity in tissues of rats of different age under the influence of parapharmaceutics «Vin-Vita». Lugansk, Ukraine.

Key words: superoxide dismutase, antioxidant status, tissue, geroprotector.

The aim of the study is to examine the activity of superoxide dismutase in liver, kidney, heart, brain of young and adult rat and its change under the influence of parapharmaceutics with geroprotector action «Vin-Vita». It was found that in young rats, the activity of superoxide dismutase is different: the maximum activity was in the liver tissue, minimum — in the heart tissue. It was revealed that in liver, kidney, heart, brain 30-week intact rats significant changes in superoxide dismutase were not observed, compared with a group of young intact animals. The possibility of correction of cytosole superoxide dismutase activity in tissues at adult rats under the influence of parapharmaceutics with geroprotector action «Vin-Vita» was revealed, it has antioxidant activity.

Надійшла до редакції 17.07.2010 р.