

Вплив аронії чорноплідної на стан окисного гомеостазу щурів при гіпокінетичному стресі

Л.В.Савченкова, М.С.Акімова

ДЗ «Луганський державний медичний університет», кафедра клінічної фармакології та фармакотерапії
Луганськ, Україна

У роботі наведені дані про вплив кріоскопічного порошку аронії чорноплідної на стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в сироватці крові щурів при гіпокінетичному стресі. Потенційний стреспротектор ефективно стримує процес пероксидації ліпідів та зберігає активність компонентів ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантної системи. Отримані результати переконливо свідчать про антиоксидантні властивості кріоскопічного порошку аронії чорноплідної і доцільність подальшого вивчення в якості ефективного стреспротекторного засобу при стресі різного генезу.

Ключові слова: стрес, протекція, аронія чорноплідна, пероксидація ліпідів.

ВСТУП

В останні роки в літературі особливу увагу приділяють вивченню проблем стресу, в основі виникнення та розвитку якого провідна роль належить окислювальним реакціям, які призводять до збільшення концентрації активних форм кисню (АФК) та стимуляції процесів вільнорадикального окислення біомолекул [7].

Між тим накопичено численні дані, що стосуються вивчення механізмів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), його ролі в патогенезі різноманітних захворювань [7, 13]. Так, у фізіологічних умовах інтенсивність процесів ПОЛ регулюється антиоксидантною системою (АОС), яка представлена в організмі ферментативною та неферментативною ланками. АОС захищає клітини і організм в цілому від токсичної дії радикалів кисню та пероксидів ліпідів, а також знешкоджує токсичні продукти, що прояв-

ляють мембранодеструктивну дію. Порушення окисно-антиоксидантного балансу призводить до оксидативного стресу, що характеризується значним прискоренням процесів ПОЛ, накопиченням вільних радикалів на тлі зниженої активності системи антиоксидантного захисту [6].

На жаль, сьогодні практично відсутні дані про тканинспецифічні особливості вільнорадикальних процесів й АОС у тварин на тлі формування гіпокінетичного стресу.

Метою дослідження було вивчити вплив кріоскопічного порошку аронії чорноплідної на стан окисного гомеостазу тварин при гіпокінетичному стресі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконано на 156 статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 190-200 г. Тварини були розподілені на чотири групи: 1 група – контроль, моделювання гіпокінетичного стресу; 2 група – на тлі стресової реакції тварини отримували розчин кріоскопічного порошку аронії чорноплідної в дозі 149 мг/кг *per os* протягом 10 днів; 3 група – на тлі стресової реакції щури отримували фенібут (препарат порівняння) в дозі 25 мг/кг *per os* протягом 10 днів; 4 група отримувала еквімолярний об'єм води дистильованої (інтактні). Гіпокінетичний стрес моделювали шляхом розташування щурів у тісній клітці-піналі протягом 24 годин [2]. Тварин утримували в стандартних умовах віварію при природному освітленні й вільному доступі до води та їжі. Усі дослідження проводили відповідно до міжнародних правил поводження з тваринами (Директива 86/309 Європейської спільноти від 24 грудня 1986 р.) та в повній відповідності до вимог Комісії з біоетики ДЗ «ЛДМУ» (наказ №6 від 02.09.2009 р.).

Стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу організму щурів на тлі застосування

ТАБЛИЦЯ 1

Вплив кріоскопічного порошку аронії чорноплідної на динаміку вмісту продуктів ПОЛ у сироватці крові тварин при гіпокінетичному стресі, $M \pm m$ (n=8-12)

Група тварин	Терміни дослідження (доба)			
	1	5	10	15
Дієнові кон'югати				
Інтактна	0,43±0,009			
Контрольна	0,95±0,015*	0,80±0,02*	0,74±0,02*	0,73±0,009*
Референтна		0,72±0,006*	0,64±0,008*	0,69±0,02*
Дослідна		0,61±0,01**/**/****	0,53±0,01**/**/****	0,53±0,02**/**/****
ТБК-реактанти				
Інтактна	294,86±8,85			
Контрольна	752,11±34,26*	782,02±26,83*	754,24±11,47*	407,04±13,21*
Референтна		545,56±10,49**/**	507,31±18,31**/**	386,20±8,54*
Дослідна		368,58±15,55**/**/****	364,30±12,67**/**/****	337,59±5,31**/**/****

Примітки: * – вірогідно в порівнянні з інтактною групою; ** – вірогідно в порівнянні з контролем; *** – вірогідно в порівнянні з референтною групою.

кріоскопічного порошку аронії чорноплідної в умовах гіпокінетичного стресу оцінювали за вмістом у сироватці крові продуктів ПОЛ й активності основних компонентів АОС захисту організму в динаміці: на 1, 5, 10 та 15 добу після моделювання патологічного стану.

Інтенсивність ліпідопереокислення оцінювали за концентрацією в сироватці крові щурів первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (ДК) і кінцевих продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) [9].

Стан основних компонентів ферментативної ланки АОС оцінювали за активністю ключових ферментів – супероксиддисмутази (СОД) та каталази [9, 10]. За рівнем загальної кількості SH-груп оцінювали стан неферментативної ланки АОС [12].

Усі використані при виконанні роботи одиниці виміру й параметри наведено відповідно до міжнародної СО [6]. Отримані дані обробляли статистично загальноприйнятими методами з використанням програми Statgraf та Microsoft Excel XP, оцінюючи достовірність на рівні значущості не менше 95% ($p \leq 0,05$) з використанням критерію t Стьюдента [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведена серія досліджень, результати якої наведено в табл. 1, дозволила встановити суттєве порушення окисно-антиоксидантної рівноваги у тварин за умов гіпокінетичного стресу, яка характеризується, в першу чергу, активацією процесів вільнорадикального окислення

ліпідів з надмірним накопиченням вмісту як первинних, так і кінцевих продуктів ПОЛ. Так, встановлено, що моделювання стресової реакції у щурів контрольної групи призводить до вірогідного ($p < 0,001$) збільшення вмісту ДК в сироватці крові тварин в 1,7-2,2 разу порівняно з інтактними тваринами протягом усього терміну спостереження (табл. 1).

Важливо зазначити той факт, що курсове застосування кріопорошку аронії чорноплідної вже на 5 добу спостереження сприяло суттєвому (в 1,3 разу) та вірогідному ($p < 0,05$) зниженню рівня ДК порівняно з контролем. Слід зазначити, що виявлений ефект препарату зберігається аж до 15 доби спостереження. Показники вмісту ДК сироватки крові тварин референтної групи залишалися на досить високому рівні і не мали вірогідних відмінностей від показників у контрольній групі (табл. 1).

Крім того встановлено, що формування гіпокінетичного стресу призводить до значного та вірогідного ($p < 0,001$) прискорення утворення і накопичення в сироватці крові щурів у всі терміни спостереження рівня ТБК-реактантів. З табл.1 видно, що вже на першу добу дослідження рівень ТБК-продуктів перевищує такий у інтактних тварин у 2,6 разу. Вказані зміни у тварин контрольної групи зберігаються до 5 доби спостереження, з незначною тенденцією до відновлення на 10 добу експерименту. І лише наприкінці дослідження (15 доба) рівень ТБК-продуктів знижується, але все одно лишається вірогідно вищим, ніж у інтактних тварин.

Динаміка зміни рівня продуктів ПОЛ, що реагують з ТБК в сироватці крові дослідних тварин в умовах гіпокінетичного стресу на тлі

ТАБЛИЦЯ 2

Вплив кріоскопічного порошку аронії чорноплідної на динаміку змін вмісту та активності основних компонентів АОС у сироватці крові тварин при гіпокінетичному стресі, $M \pm m$ (n=8-12)

Група тварин	Терміни дослідження (доба)			
	1	5	10	15
СОД				
Інтактна	0,81±0,01			
Контрольна	0,39±0,01*	0,39±0,007*	0,43±0,008*	0,47±0,008*
Референтна		0,40±0,008*	0,47±0,008*	0,50±0,006*
Дослідна		0,50±0,003*/**/**	0,58±0,005*/**/**	0,62±0,005*/**/**
Каталаза				
Інтактна	213,13±4,11			
Контрольна	102,92±7,94*	142,89±6,85*	144,87±3,90*	154,13±9,13*
Референтна		107,77±5,58*/**	138,52±6,34*/**	128,36±9,89*
Дослідна		157,42±7,60*/**/**	201,62±6,21**/**	243,39±13,20**/**
SH-групи				
Інтактна	6,17±0,07			
Контрольна	3,87±0,17*	3,98±0,1*	4,24±0,14*	4,26±0,13*
Референтна		5,04±0,12*/**	5,08±0,13*/**	4,50±0,12*
Дослідна		5,57±0,13*/**/**	5,64±0,11*/**	5,81±0,27**/**

Примітки: * – вірогідно в порівнянні з інтактною групою; ** – вірогідно в порівнянні з контролем; *** – вірогідно в порівнянні з референтною групою.

застосування кріоскопічного порошку аронії чорноплідної, свідчить про здатність препарату попереджати формування окисного стресу та утворення продуктів пероксидації ліпідів. Встановлено, що вже на 5 добу спостереження рівень ТБК-продуктів в сироватці крові тварин, що отримували аронію чорноплідну, складає лише 47% від показника в контролі в зазначений термін спостереження. Вказана ефективність препарату зберігається аж до 15 доби спостереження, коли показник, що вивчається практично, дорівнює такому у інтактних тварин. Ефективність препарату порівняння була вірогідно меншою (табл. 1).

Таким чином, отримані дані свідчать про здатність кріопорошку аронії чорноплідної стримувати процеси пероксидації ліпідів в умовах гіпокінетичного стресу.

Як відомо, показником стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу може служити не лише інтенсивність процесів ПОЛ, а також швидкість і ступінь витрат антиоксидантних ресурсів організму, здатних утримувати процес ПОЛ у фізіологічно безпечних межах [5, 8, 10].

Тому в наступній серії досліджень визначили вміст основних компонентів ферментативної ланки АОС – СОД і каталази, що відіграють першорядну роль у регуляції антиоксидантно-прооксидантної рівноваги. Результати досліджень по визначенню впливу кріоскопічного

порошку аронії чорноплідної на динаміку зміни активності СОД та каталази в сироватці крові щурів з гіпокінетичним стресом наведені в табл. 2.

Згідно з наведеними даними, у сироватці крові контрольних щурів на тлі гіпокінетичного стресу відмічається вірогідне ($p < 0,001$) і тривале (аж до 15 доби спостереження) зниження активності СОД. Так, вже на першу добу після формування патологічного стану активність цього фермента знижується на 48% порівняно з інтактною групою тварин і тримається на зазначеному рівні протягом усього періоду експерименту. Отримані дані свідчать про неспроможність АОС організму реалізувати в повному обсязі захисно-адаптаційні механізми за умов наростаючого оксидативного стресу.

У групі тварин, що отримували аронію чорноплідну, лікувальна ефективність останньої вже помітна з 5 доби спостереження. Так, з табл. 2 видно, що активність СОД у тварин дослідної групи на 28-35% вища за таку в контролі в різні терміни спостереження. Ефективність референс-препарату була на 20-24% нижчою за таку для кріопорошку аронії чорноплідної.

Відносно іншого компонента ферментативної ланки АОС – каталази слід зазначити, що в сироватці крові тварин з гіпокінетичним стресом вже на 1 добу дослідження спостерігається різке (у 2,1 разу) зниження активності цього фермента порівняно з інтактною групою тварин.

У наступні терміни дослідження має місце деяке відновлення активності каталази в контролі, однак її рівень лишається на 54-67% нижчим за такий, що відзначається в інтактній серії щурів.

Протекторний ефект досліджуваного препарату щодо каталази реалізується в запобіганні інгібування її активності в умовах експерименту, що моделюється. Так, активність каталази на тлі застосування кріопорошку аронії чорноплідної в порівнянні з контрольною групою щурів підвищується на 10%, 33% та 58% відповідно через 5, 10 і 15 діб спостереження. Аналіз отриманих даних показав, що потенційний стреспротектор за показниками активності каталази не тільки не поступається референтному препарату, але вірогідно перевершує його.

Як відомо, одним із компонентів неферментативної ланки АОС виступає низькомолекулярна речовина з високою константою швидкості взаємодії з активними формами кисню [7, 11, 12]. До такого роду речовин відносяться тіолові групи (SH-групи), здатні знижувати швидкість утворення вільних радикалів і зменшувати концентрацію продуктів реакцій, що протікають за участю вільних радикалів [12]. Особливу важливість дані з'єднання набувають в умовах окислювального стресу, у тому числі і при гіпокінетичному стресі, коли ферментативна ланка АОС виявляється менш ефективною у зв'язку зі швидкою інактивацією ферментів і тривалим їх синтезом [5, 8, 11].

Динаміка зміни рівня SH-груп у сироватці крові тварин при модельованій патології та при застосуванні аронії чорноплідної наведена в табл. 2, з якої видно, що у тварин контрольної групи рівень аналізованого показника АОС вже в першу добу спостереження істотно (на 38%) знижений у порівнянні з групою інтактних тварин. Однак до кінця експерименту є деяка тенденція до відновлення рівня тіолових груп у сироватці крові тварин контрольної серії. Проте рівень SH-груп у сироватці крові тварин контрольної групи аж до 15 доби спостереження все ж на 31% залишається нижчим у порівнянні з показниками інтактних тварин.

Особливої уваги заслуговує аналіз динаміки змін рівня сульфгідрильних груп у сироватці крові тварин з гіпокінетичним стресом при застосуванні кріопорошку аронії чорноплідної. Як видно з результатів, наведених в табл. 2, даний потенційний лікарський засіб у всі терміни спостереження реалізує свою тіол-протекторну дію, підвищуючи рівень SH-груп на 39-43% порівняно з показниками в контролі у відповідні терміни дослідження. Важливо зазначити,

що до 15 доби спостереження зазначений показник не має вірогідних відмінностей від такого у інтактних щурів. Примітно, що тіол-протекторна активність кріопорошку представляється більш прийнятною, ніж препарату порівняння — фенібуту.

Підводячи підсумок аналізу вивчення впливу аронії чорноплідної на стан компонентів АОС організму, можна з великою часткою ймовірності підтвердити, що кріопорошок у дозі 149 мг/кг, що застосовується протягом 10 днів, має досить виражену здатність надавати протекторну дію щодо ключових компонентів АОС захисту організму в умовах гіпокінетичного стресу, що слід розглядати як одну з важливих сторін фармакодинаміки потенційного стреспротектора.

ВИСНОВОК

Таким чином, біохімічний аналіз стреспротекторної активності кріоскопічного порошку аронії чорноплідної при формуванні гіпокінетичного стресу дозволив встановити, що в основі лікувальної ефективності даного препарату лежить здатність регулювати прооксидантно-антиоксиданту рівновагу шляхом попередження інгібування таких компонентів ферментативної ланки антиоксидантної системи, як супероксиддисмутази та каталаза при одночасному збереженні кількості вільних сульфгідрильних груп, що реалізується суттєвим уповільненням швидкості та інтенсивності ліпопероксидації за умов формування стресу будь-якого генезу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С.Гланц; пер с англ. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
2. Коваленко Е.А. Гипокинезия / Е.А.Коваленко, Н.Н.Гуровский. — М.: Медицина, 1980. — 307с.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы / М.А.Королюк, Л.И.Иванова, И.Г.Майорова // Лаб. дело. — 1988. — №1. — С. 16-18.
4. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А.Костюк, А.И. Потапович, Ж.А.Ковалев // Вопросы медицинской химии. — 1990. — №2. — С. 88-91.
5. Курашвили Л.В. Окислительный стресс при инфаркте миокарда и эффективность его коррекции препаратом триметазидином / Л.В.Курашвили, С.В.Ушаков // Клиническая медицина. — 2008. — №7. — С. 26-31.
6. Липперт Г. Международная система единиц (СИ) в медицине / Г.Липперт. — М.: Медицина, 1980. — 208 с.

7. Лук'янчук В.Д. Стан компонентів антиоксидантної системи захисту організму у щурів з каловим перитонітом на тлі фармакологічної корекції корвітином / В.Д.Лук'янчук, В.В.Деркачевська // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О.Можаєва. — 2009. — Т.10, №1. — С. 55-60.
8. Нестеров Ю.В. Влияние стресс-индуцированных воздействий разной модальности и антиоксиданта на свободнорадикальные процессы в легких и печени белых крыс / Ю.В.Нестеров, А.С.Чумакова, Н.В.Турченко // Естественные науки. — 2010. — №3 (32). — С. 122-128.
9. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д.Стальная, Г.Г.Гаршвили // Современные методы в биохимии — М.: Медицина, 1977. — С. 57-59.
10. Страшок Л.А. Оксидативный стресс и гормональный статус у подростков с дуоденальной язвой / Л.А.Страшок // Международный медицинский журнал. — 2008. — №1. — С. 88-91.
11. Frye R.F. Liver disease selectively modulates cytochrome P450-mediated metabolism / R.F.Frye, N.K.Zgheib, G.R.Matzke et al. // Clin Pharmacol Ther. — 2006. — Vol. 80 (3). — P. 235-245.
12. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl group / G.L.Ellman / Arc. Biochem. Biophys. — 1959. — Vol. 82. — P. 70-77.
13. Koshoridze N.I. Quantitative Alterations in the Products of Lipid Peroxidation under Stress / N.I.Koshoridze, K.O.Menabde, Z.T.Kuchukashvili // Journal of stressphysiology & biochemistry. — 2010. — №6. — P. 5-13.

Л.В.Савченкова, М.С.Акимова. Влияние аронии черноплодной на состояние окислительно-гомеостаза крыс при гипокинетическом стрессе. Луганск, Украина.

Ключевые слова: стресс, протекция, арония черноплодная, перекисное окисление липидов.

В работе представлены данные о влиянии криоскопического порошка аронии черноплодной на состояние прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в сыворотке крови крыс при гипокинетическом стрессе. Потенциальный стресспротектор эффективно сдерживает процесс пероксидации липидов и сохраняет активность компонентов ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы. Полученные результаты убедительно свидетельствуют об антиоксидантных свойствах криоскопического порошка аронии черноплодной и целесообразности дальнейшего изучения в качестве эффективного стресспротекторного средства при стрессе различного генеза.

L.V.Savchenkova, M.S.Akimova. Influence of Aronia Melanocarpa on the state of oxidizing homeostasis of rats at hypokinetic stress. Lugansk, Ukraine.

Key words: stress, protection, aronia melanocarpa, lipid peroxidation.

In-process the presented is given about influence of cryoscopic powder aronia melanocarpa on the state of prooxidant-antioxidant homeostasis in the serum of blood rats at hypokinetic stress. Potential stress protection effectively restrains the process of peroxide lipid and keeps activity, and also not non-enzymatic links of the antioxidant system. Our results convincingly testify to antioxidant properties of cryoscopic powder aronia melanocarpa and expediency of further study as an effective stress protection mean at stress of different genesis.

Надійшла до редакції 12.05.2011 р.