

УДК 612.2+613.98:616-053.9

Беликова М.В., Пастухова В.А., Лукьянцева Г.В., Краснова С.П., Луценко А.В.

Влияние периодической нормобарической гипоксии на содержание дофамина в стриатуме при старении

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, г. Киев

belikova.maria@gmail.com

Резюме. В статье представлены результаты исследования состояния про- и антиоксидантной системы при естественном старении. Целью исследования было изучение изменения показателей окислительного стресса, активности антиоксидантных ферментов и содержание дофамина у стареющих животных под влиянием интервальных нормобарических гипоксических тренировок. Исследование проводилось на крысах двух возрастных групп - молодых и старых. Выявлено повышение активности антиоксидантной защиты и снижение уровня проявления оксидативного стресса под влиянием интервальных нормобарических тренировок. В результате проведения гипоксических тренировок у животных обеих возрастных групп повышается количество дофамина в стриатуме, однако не обеспечивает восстановления первоначальной асимметрии, характерной молодым животным.

Концентрация стриатного дофамина в правом полушарии мозга исследованных животных под влиянием ИНГТ возрастает пропорционально повышению активности таких ферментов антиоксидантной защиты, как каталазы и супероксиддисмутазы. Концентрация малонового диальдегида в плазме крови у животных обеих возрастных групп уменьшилось в сравнении с контрольными показателями.

Полученные нами изменения активности супероксиддисмутазы и каталазы при одновременном повышении содержания дофамина, особенно в правом полушарии старых крыс указывает, что с помощью гипоксических тренировок удалось не только приостановить дальнейшую нейродегенерацию, но и активировать нейросекреторные резервы сохранившихся нейронов.

Ключевые слова: дофамин, стриатум, периодическая нормобарическая гипоксия, старение.

Постановка проблемы и анализ последних исследований. Общеизвестно, что старение приводит к уменьшению адаптационных возможностей организма и способствует развитию патологических процессов. На позднем этапе онтогенеза происходят молекулярные и клеточные изменения, которые приводят к нарушениям жизнедеятельности организма. Важная роль в механизмах старения принадлежит свободнорадикальным процессам.

Возникновение окислительного стресса в организме человека пожилого возраста обусловлено повышенной генерацией активных форм кислорода (АФК) и снижением активности антиоксидантной (АО) защиты [8]. Вопрос о роли ферментативных и неферментативных АО в процессах старения все еще остается открытым. По мнению Root M. состояние АО системы может выступать модулятором старения, но не детерминирующим фактором его развития [13]. В настоящее время ясно, что решающее значение для скорости старения и продолжительности жизни может быть равновесие между различными компонентами системы АО защиты, а не активность АО как таковых. Изменение содержание дофамина в структурах мозга на протяжении позднего этапа онтогенеза может быть использован как один из показателей старения организма. Вместе с тем, геропротекторный эффект различных влияний на организм может оцениваться по степени восстановления количества дофамина в стриатуме. В связи с этим представляют интерес интервальные нормобарические гипоксические тренировки (ИНГТ), как терапевтический курс, направленный на повышение синтеза дофамина.

Цель исследования - изучить изменения показателей окислительного стресса, активности антиоксидантных ферментов и содержание дофамина (ДА) у стареющих животных под влиянием ИНГТ.

С целью выявления геропротекторного действия интервальной нормобарической гипоксии на организм были

исследованы особенности распределения ДА и показатели про-антиоксидантной системы у крыс молодого возраста и старых животных в возрастном аспекте.

Материал и методы исследования

Исследования проводились на самцах крыс линии Вистар, которые составили 4 группы. Группа 1 состояла из животных в возрасте 6 месяцев (n=12), группа 2 состояла из старых животных (n=12) в возрасте 22-24 месяцев. Обе группы подвергались тренирующему воздействию гипоксии в течение двух недель ежедневно.

Следующие две группы животных составляли контроль по отношению к предыдущим: группа 3 – молодые крысы, группа 4 – старые здоровые крысы.

Для изучения содержания ДА проводилось двухстороннее выделение стриатума у экспериментальных животных. Определение уровня ДА в стриатуме крыс проводили путем оценки флуоресценции его окисленной формы на спектрофлюориметре по методу Jacobwith P.M. и Richardson J.S. [9].

Свободнорадикальное окисление оценивали по концентрации малонового диальдегида (МДА) в плазме крови на спектрофотометре по реакции с тиобарбитуровой кислотой [5].

Система антиоксидантной защиты оценивалась по активности каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД) в плазме крови обследуемых животных. Активность каталазы определяли по методу Королюк М.А. [4]. Активность СОД определяли в плазме крови по методу Чевари С., Чаба И., Секей Й. [6].

Результаты исследования и их обсуждение

Явление асимметрии, характерное для морфологических особенностей строения ЦНС и отражаемое в поведении высших животных и человека характерно также и для образования нейромедиаторов головного мозга. В предыдущих исследованиях нами было установлено, что явление асимметрии характерно молодым интактным животным [1]. В мозге молодых животных содержание ДА в правом полушарии превышало в среднем на 30 % его содержание в левом полушарии. Количество ДА в процессе старения уменьшалось неравномерно справа и слева, что привело к уменьшению асимметрии и потере достоверности отличий (табл.1).

После проведенного курса ИНГТ отмечалось увеличение концентрации ДА в стриатуме обеих полушарий. Изменения в левом полушарии не были статистически достоверными у животных молодого и старого возраста (см. табл.1): у молодых крыс содержание ДА возрастало на 1,12%, у старых на 5,3 %.

Более выраженные изменения после курса ИНГТ определялись в правом полушарии (табл.1). Так, у молодых жи-

Таблица 1. Содержание ДА (нмоль/г) в левом и правом стриатуме до ИНГТ и после них

группы животных		левое полушарие	правое полушарие
контроль	молодые	8,82±0,20	11,52±0,19
	старые	8,39±0,19	10,13±0,17*^
ИНГТ	молодые	8,91±0,23	14,73±0,21^#
	старые	8,86±0,21	12,23±0,27*#^

Примечания: * - различия достоверны в сравнении с содержанием ДА в ЛП соответствующей группы животных, p<0,05; # - различия достоверны в сравнении с содержанием ДА в соответствующем полушарии контрольной группы животных, p<0,05; ^ - различия достоверны в сравнении с содержанием ДА в соответствующем полушарии молодых животных, p<0,05

Таблица 2. Влияние ИНГТ на состояние про-антиоксидантной системы в плазме крови

группы животных		МДА	КАТ	СОД
контроль	молодые	1,43±0,04	49,04±0,98	2,52±0,07
	старые	1,19±0,28 [#]	35,23±1,33 [#]	1,22±0,31 [#]
ИНГТ	молодые	1,13±0,02 [*]	126,43±2,48 [*]	3,14±0,11 [*]
	старые	0,89±0,12 ^{#*}	145,36±2,88 ^{#*}	0,77±0,03 ^{#*}

Примечания: * - различия достоверны в сравнении с показателем до применения ИНГ у соответствующей группы животных, $p < 0,05$; # - различия достоверны в сравнении с группой молодых животных, $p < 0,05$

вотных концентрация дофамина в правом стриатуме возросла в результате гипоксического воздействия на 21,79%, а у старых - на 17,17%. При этом, несмотря на достоверность повышения содержания дофамина в мозге старых крыс первоначальная асимметрия не была восстановлена.

Анализ исходных показателей со стороны свободно-радикальных процессов в плазме крови получены различия в концентрации продуктов МДА, превышающей в среднем на 20,1%, у старых животных по сравнению с молодыми. Активность ферментов антиоксидантной защиты, напротив, понизилась с возрастом: СОД на 6,56%, и КАТ на 39,19% (табл.2).

Под влиянием курса ИНГТ у крыс молодого возраста процессы свободнорадикального окисления претерпевали существенные изменения (табл.2). Так, концентрация МДА в плазме крови у этой группы уменьшилось на 19,16%, в то время, как активность ферментов СОД и КАТ возросла на 69,71% и 39,94% соответственно.

У животных старшей возрастной группы курс периодической гипоксии, в целом, оказал положительное воздействие на состояние антиоксидантной системы организма (табл.2). Более выраженное влияние ИНГТ на состояние антиоксидантной защиты наблюдалось у старых крыс с исходно более низкой активностью ферментов СОД и КАТ, активность которых возросла на 59,44% и 30,38%. Наряду с активацией ферментов антиоксидантной защиты у старых крыс уменьшилось содержание МДА в плазме крови на 33,7%.

До сих пор остается не выясненным, приводит ли активация ПОЛ к преждевременному старению или наоборот, старение вызывает активацию ПОЛ. Не исключено их обоюдное усиливающее влияние друг на друга. Некоторыми работами было показано, что уровень оксидативного стресса прямо соотносится со скоростью старения и продолжительностью жизни животных [12, 14]. Уровень оксидативного стресса в свою очередь зависит от уровня продукции АФК и скорости процессов окисления с одной стороны и активностью АО с другой. В связи с этим возникает вопрос о том, что является доминирующим агентом в развитии возрастных изменений, увеличение генерации АФК или понижение защитного действия АО.

Головной мозг характеризуется высоким уровнем кислородного метаболизма и особенностью структуры клеточных мембран, которые содержат много полиненасыщенных жирных кислот и легко поддаются окислению, а также относительным дефицитом ферментативных и не ферментативных АО. Еще одной особенностью мозга является то, что наиболее токсичным для него является пероксинитрит, в то время как для других органов таковым является гидроксильный радикал. Таким образом, для нейропротекции особое значение приобретает СОД, которая ограничивает неферментативное образование ONOO⁻ из супероксида и оксида азота [11]. Однако чрезмерная активность СОД может быть опасной для мозга, потому что ее увеличение более чем на 50%, как это наблюдается при синдроме Дауна, может нарушать транспорт нейротрансмиттеров и обратный захват дофамина в клетках черной субстанции

крыс. Необходимо отметить, что в нашей работе повышение активности названного фермента не достигало указанного 50 %-го уровня.

Все вышесказанное демонстрирует опасность свободно-радикальных процессов именно для мозга, к тому же многими исследователями отмечен риск заболевания болезнью Паркинсона и болезнью Альцгеймера на фоне повышения активности свободных радикалов, ПОЛ и АО ферментов [2].

Полученные нами изменения активности СОД и каталазы при одновременном повышении содержания дофамина, особенно в правом полушарии исследованных животных указывает, что с помощью ИНГТ удалось не только приостановить дальнейшую нейродегенерацию, но и активировать нейросекреторные резервы сохранившихся нейронов.

Известно, что ДА-ергическая нигростриатная система оказывает тормозное влияние на активность холинергической и глутаматергической систем. В свою очередь, нейроны, продуцирующие ацетилхолин и серотонин, тормозят высвобождение ДА [7, 10]. С другой стороны, Р-ергические нейроны оказывают стимулирующее воздействие на синтез и высвобождение ДА в стриатуме. Однако, стойкое повышение содержания ДА в мозге у всех исследованных групп животных говорит о положительном действии ИНГТ на дофаминергические структуры мозга, что может служить основанием для рекомендации этого метода для коррекции относительной дофаминовой недостаточности, возникающей в процессе естественного старения.

ИНГТ в использованном режиме на мозг животных можно рассматривать как дозированное стрессовое. При исследовании содержания катехоламинов в различных структурах мозга под влиянием стрессовых факторов указывается на понижение уровня норадреналина при увеличении концентрации ДОФА в исследованных структурах [3], как результат нарушения их синтеза.

Однако, учитывая понижение ДА на фоне повышения ДОФА и понижения норадреналина может свидетельствовать о более быстром накоплении ДОФА как субстрата для синтеза ДА, и про торможение синтеза норадреналина, который должен синтезироваться позже, используя ДА как субстрат. Возможно, увеличение концентрации ДОФА является компенсирующим при снижении активности ферментов синтеза последующих групп катехоламинов. С учетом зависимости активности фермента тирозингидроксилазы от уровня обеспечения нейронов кислородом, можно предположить, что выявленное изменение является не нарушением синтеза биологических аминов, а закономерным приспособительным механизмом, который приводит к увеличению синтеза ДА под влиянием ИНГТ.

Выводы

1. ИНГТ оказывают положительное влияние на синтез стриатного дофамина у животных молодого и старого возраста, что имеет особенно важное значение для животных старшей возрастной группы, где имело место исходное снижение уровня изучаемого нейромедиатора.
2. В результате проведения ИНГТ у животных повышается активность антиоксидантной защиты и снижается уровень проявления оксидативного стресса.
3. Увеличение концентрации стриатного дофамина в правом полушарии мозга исследованных животных под влиянием ИНГТ пропорционально повышению активности ферментов антиоксидантной защиты.

Литература

1. Беликова М.В. Изменение содержания дофамина в структурах стриатума крыс при старении и дофаминовой недостаточности / М.В. Беликова, Е.Э. Колесникова // Проблемы старения и долголетия. – 2006. – Т.15, №3. – С.187-192.
2. Взаимосвязь патологических процессов в мозге и крови больных болезнью Паркинсона / Внуков В.В., Даниленко А.О., Милютин Н.П. и др. // Материалы научно-практической кон-

ференції «Нейрохимические подходы к исследованию функционирования мозга». Ростов-на-Дону, 2011. – С. 59-60.

3. Гаврилов В.Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В.Б. Гаврилов, А.П. Гаврилова // Вопр. мед. химии. – 1987. – №1. – Р.118-122.

4. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

5. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // В кн.: Совр. методы в биохимии. Под ред. Ореховича В.Н. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-67.

6. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

7. Ambani L. Brain peroxidase and catalase in Parkinson's disease / L. Ambani, M. Van Voert, S. Murphy // Arch. Neurol. – 2005. – V.32, №2. – Р. 114-118.

8. Bolzan A.D. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarette smoking / A.D. Bolzan, M.S. Bianchi, N.O. Bianchi // Clin. Biochem. – 2007. – № 6. – Р. 449-454.

9. Hormonal modulation of antioxidant enzyme activities in young and old rats / A.D. Bolzan, O.A. Brown, R.G. Goya, M.S. Bianchi // Exp. Gerontol. – 2005. – V. 30, № 2. – Р. 169-175.

10. Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease / P. Jenner // Ann. Neurol. – 2008. – V.53, №1. – Р. 26-36.

11. Noor R. Superoxid dismutase – applications and relevance to human diseases / R. Noor, S. Mittal, J. Iqbal // Medical science monitor. – 2007. – V.8, №9. – Р. 210-215. 12. Pong K. Oxidative stress in neurodegenerative diseases / K. Pong // Expert Opin Biol. – 2003. – V.3, №1. – Р. 127-139.

13. Poot M. Oxidants and antioxidants in proliferative senescence / M. Poot // Mutation res. – 1991. – V. 256, № 2. – Р.117.

14. Warner H.R. Superoxide dismutase, aging and degenerative disease / H.R. Warner // Free Rad. Biol. Med. – 2004. – V.17, № 3. – Р. 249-258.

Белікова М.В., Пастухова В.А., Лук'янцева Г.В., Краснова С.П., Луценко О.В.

Вплив періодичної нормобаричної гіпоксії на вміст дофаміну в стріатумі під час старіння

Національний університет фізичного виховання і спорту України, м.Київ

belikova.maria@gmail.com

Резюме. В статті надається результат дослідження стану про-оксидантно – антиоксидантної системи під час природного старіння. Метою дослідження було вивчення змін показників окислювального стресу, активності антиоксидантних ферментів і вмісту дофаміну у старіючих тварин під впливом інтервальних нормобаричних гіпоксичних тренувань. Дослідження проводилося на щурах двох вікових груп - молодих і старих. Знайдено під-

вищення активності антиоксидантного захисту і зменшення рівня оксидативного стресу під впливом інтервальних нормобаричних тренувань. В результаті проведення гіпоксичних тренувань у тварин підвищується кількість дофаміну в стріатумі, проте асиметрія, яка була притаманна молодим тваринам, не відновлюється.

Концентрація стріатного дофаміну в правій півкулі мозку піддослідних тварин під дією ІНТ зростає пропорційно підвищенню активності таких ферментів антиоксидантного захисту, як каталаза та супероксиддисмутаз. Концентрація малонового діальдегіду в плазмі крові у тварин обох вікових груп зменшилася в порівнянні з контрольними показниками.

Отримані нами зміни активності супероксиддисмутазі і каталази при одночасному підвищенні вмісту дофаміну, особливо в правій півкулі старих щурів вказує на те, що за допомогою гіпоксичних тренувань вдалося не тільки призупинити подальшу нейродегенерацію, але і активувати нейросекреторні резерви збережених нейронів.

Ключові слова: дофамін, стріатум, періодична нормобарична гіпоксія, старіння.

Belikova M.V., Pastukhova V.A., Lukiantseva H.V., Krasnova S.P., Lutsenko O.V.

Influence of the Periodic Normobaric Hypoxia on Dopamine Supply in Striatum during Aging

National University of Physical Education and Sport of Ukraine, Kiev

belikova.maria@gmail.com

Abstract. This article presents results of the research of the condition of pro- and antioxidant systems in natural aging. The aim was to study the changes in the indices of oxidative stress, antioxidant enzyme activity and dopamine content in aging animals under the influence of interval normobaric hypoxic training. The study was conducted on rats in two age groups - young and old. Research revealed increased activity of antioxidant protection and reduction of symptoms of oxidative stress under the influence of normobaric interval training. Because of hypoxic training the amount of dopamine in the striatum of animals increases, that does not provide recovery of the initial asymmetry, which is inherent to young animals. The concentration of striatal dopamine in the right hemisphere of the brain of the studied animals, while they are under the influence of INHT, increases in proportion to increase of the activity of antioxidant enzymes such as catalase and superoxide dismutase. The concentration of malondialdehyde in the blood plasma of the animals of both age groups decreased compared with controls.

The obtained changes in the activity of catalase and superoxide dismutase, while increasing the content of dopamine, especially in the right hemisphere of old rats indicates that using hypoxic training not only managed to suspend further neurodegeneration, but also activate neurosecretory reserves surviving neurons.

Key words: dopamine, the striatum, intermittent normobaric hypoxia, aging.

Поступила 22.06.2015 года.

УДК 575.16+616.36+616-092.9+616.379-008.64

Боднарчук Ю.В.

Вікові особливості структурної перебудови печінкової часточки щурів

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», м. Івано-Франківськ, Україна

kupchak.yulya@gmail.com

Резюме. Предметом нашого дослідження стала печінка інтактних 12- та 24-міс. тварин. Використали гістологічний (забарвлення гематоксилін-еозином і за Шабдашем) та електронномікроскопічний методи дослідження. В результаті проведеного дослідження у 12-міс. щурів у часточці печінки можна виділити 3 зони: периферичну (Zona I), проміжну (Zona II) та центральну (Zona III). Гепатоцити Z I мають добре розвинений білок-синтезуючий апарат і, ймовірно, здійснюють синтез глікогену та білка. Гепатоцити Z III є депо глікогену та в них відбувається глікогеноліз. Старечі

зміни у паренхіматозних клітинах печінки проявляються деструктивними змінами білок-синтезуючого апарату та мітохондрій, накопиченням у цитоплазмі ліпідних крапель. З віком відмічається порушення мікроциркуляції, а саме: вікові дистрофічні зміни ендотеліоцитів, зменшення кількості пор та фенестр у них, перикапілярний склероз та розширення просвітів Діссе. Такі зміни призводять до погіршення трансендотеліального обміну і до розвитку дистрофічних змін в гепатоцитах.

Ключові слова: гепатоцити, печінкова часточка,