

© Куценко Л.О.

УДК 616.12-092.9:615.22

РІВЕНЬ ПЕРОКСИДАЦІЇ, ВМІСТ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ В ТКАНИНАХ СЕРЦЯ ТВАРИН ПІД ВПЛИВОМ ПЕПТИДІВ МОЗКУ В УМОВАХ ГОСТРОГО СТРЕСУ

Куценко Л.О.

НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Стрессорные нагрузки являются важной причиной, изменяющей механизмы регуляции организма. Большое внимание уделяется изучению нейропептидов и их участию в различных системах и функциональных состояниях организма. Изучение влияния нейропептидов – окситоцина, питуитрина, тиролиберина, на содержание нуклеиновых кислот и состояние свободнорадикального окисления в тканях сердца животных в условиях острого стресса явилось целью настоящего исследования. Эксперимент проводили на 72 белых крысах массой 180-200 г. Стресс моделировали путем трехчасовой иммобилизации животных на спине. Нейропептиды в виде коммерческих препаратов вводили внутримышечно за 30 минут до начала действия стресса. Перекисное окисление липидов оценивали по концентрации малонового диальдегида в гомогенатах тканей сердца животных. Активность антиоксидантной системы характеризовали по активности супероксиддисмутазы. Содержание нуклеиновых кислот определяли в субклеточных фракциях клеток миокарда животных методом щелочного и кислотного гидролиза. Изучение влияния нейропептидов на процессы перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и содержание нуклеиновых кислот в тканях сердца интактных животных не выявило отличий между контрольной и опытной группами животных. В условиях острого стресса нейропептиды – окситоцин, питуитрин, тиролиберин, значительно не влияли на процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в тканях сердца лабораторных животных. Питуитрин и тиролиберин в этих условиях повышали содержание нуклеиновых кислот в тканях сердца.

Ключевые слова: стресс, нуклеиновые кислоты, нейропептиды, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита

Вступ

Останнім часом викликає занепокоєння зростання стресорного навантаження, в якому доводиться існувати людині. Конфліктні ситуації, розумове та фізичне перевантаження, відчуття тривоги, страху, больові подразнення, перегрівання, переохолодження – такі умови життя викликають нервово-гуморальні зміни, впливають на функції периферичних органів та систем, сприяють розвитку психосоматичних захворювань, таких як ішемічна хвороба серця, артеріальна гіпертензія, виразкова хвороба шлунка, пухлинний ріст та неврози [7, 8]. Ще Г. Сельє у своїй праці про адаптаційний синдром показав, що при стресі основні зміни в системах, які регулюють гомеостаз організму, виникають зі сторони гіпофізу, наднирників та тимусу [15]. Останні два десятиліття проблемі стресу будь-якого ґенезу приділяється значна увага імунологів. Це пояснюється доведеним фактом про тісний взаємозв'язок імунної, нервової та ендокринної систем. Структурна та функціональна подібність рецепторів нейроендокринної та імунної систем дозволила передбачити існування обох етіологічних факторів, які дестабілізують функції всього організму. Таким чином, зміна однієї з функцій цих систем може привести до міжсистемної дисрегуляції та порушення гомеостазу [2].

Значну увагу привертають дослідження механізмів адаптації до екстремальних умов, зокрема до стресу. Актуальним є розгляд захисних реакцій організму, що забезпечують збереження гомеостазу та активної протидії цим умовам [1]. Відомо, що при розвитку адаптивних реакцій організму в залежності від тривалості та сили стресу може спостерігатись активація або пригнічення окремих ланок гомеостазу. У підтримці нормального гомеостазу при стресі приймають участь регуляторні пептиди, які володіють широким спектром біологічної активності.

Розкриття механізмів регуляції різних систем та функціональних станів організму під впливом регуляторних пептидів відкриває широкі перспективи в підтриманні високих адаптивних можливостей організму при стресогенних порушеннях. Із метою корекції стресогенних порушень застосовують препарати-стреспротектори різних груп [11], але можливості використання регуляторних пептидів, як стрес протекторів, досліджені недостатньо. Вивчення впливу нейропептидів – окситоцину, питуїтрину, тиролиберину на вміст нуклеїнових кислот і на стан вільнорадикального окислення в тканинах серця тварин в умовах гострого стресу було метою даного дослідження.

Матеріали і методи дослідження

У досліді використали 72 семи-восьми місячних білих лабораторних щурів масою тіла 180-200 г, які знаходились у стандартних умовах утримання в приміщенні віварію Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» на повноцінному раціоні у відповідності з нормами та вільним доступом до питної води. Проведені експериментальні дослідження були узгоджені комісією з біоетики ВДНЗУ «УМСА». Тварини були розділені на такі групи: інтактна – тварини отримували внутрішньом'язово фізіологічний розчин по 0,05 мл (контрольна група). Група тварин, які отримували окситоцин, група тварин, які отримували питуїтрин, група тварин, які отримували тиролиберин. Ці групи склали дослідну групу. Названі групи тварин входили до першої серії дослідів. У другій серії дослідів виділили наступні групи щурів: інтактна, стресована та тварин, яким проводилась корекція на фоні стресу окситоцином, питуїтрином, тиролиберином. Стрес моделювали шляхом трьохгодинної іммобілізації тварин на спині. Нейропептиди у вигляді комерційних препаратів вводили тваринам внутрішньом'язово за 30 хвилин до

початку дії стресу в таких дозах – окситоцин і пітуїтрин – 10 ОД/кг маси тіла, тироліберин – 40 мкг/кг маси тіла (серія 2). Було також досліджено вплив означених препаратів у таких же дозах на інтактних тваринах (серія 1). У ході експерименту велося спостереження за зовнішнім виглядом, поведінкою, масою тіла тварин. Через 2 години після завершення стресу тварин забивали шляхом знекровлення під гексеналовим наркозом. Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням критерію Ст'юдента.

Перекисе окислення ліпідів (ПОЛ), визначали за вмістом малонового діальдегіду в гомогенаті тканин серця в реакції з тіобарбітуровою кислотою та його приріст при 1,5 годинній інкубації в прооксидатному буфері. Активність системи антиоксидантного захисту

(АОЗ) оцінювали визначенням активності супероксиддисмутази (СОД) [5]. Вміст нуклеїнових кислот (РНК та ДНК) визначали в субклітинних фракціях клітин міокарду тварин методом лужного та кислотного гідролізу [10].

Результати та їх обговорення

Проведені дослідження впливу окситоцину, пітуїтрину і тироліберину на стан процесу ПОЛ та АОЗ в тканинах серця інтактних тварин не виявили відмінностей між контрольною та дослідною групами тварин. У цій серії дослідів нейропептиди не викликали змін вмісту нуклеїнових кислот в субклітинних фракціях міокарду тварин (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив нейропептидів на рівень пероксидації і вміст нуклеїнових кислот у серці інтактних щурів

| Групи тварин | Статистичний показник | ТБК-реактанти (мкмоль/кг) | | % приросту МДА | СОД, од. | РНК, мг/г | ДНК, мг/г |
|----------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------|------------------|------------|-------------|-------------|
| | | 0 год., | 1,5 год | | | | |
| Інтактні (n=7) | M±m | 134,9±13,21 | 182,4±22,27 | 35,2 (10,0-88,0) | 0,52±0,086 | 0,776±0,07 | 0,725±0,064 |
| Фізіологічний розчин (n=9) | M±m | 122,4±7,63 | 143,1±9,60 | 16,9 (2,6-21,4) | 0,59±0,135 | 0,709±0,031 | 0,735±0,052 |
| Окситоцин (n=6) | M±m | 113,6±10,04 | 135,0±10,18 | 19,7 (9,3-27,3) | 0,68±0,13 | 0,702±0,029 | 0,704±0,060 |
| Пітуїтрин (n=8) | M±m | 117,6±10,99 | 141,9±13,37 | 21,5 (7,7-44,4) | 0,65±0,13 | 0,690±0,040 | 0,733±0,051 |
| Тироліберин (n=7) | M±m | 119,3±15,98 | 144,8±14,41 | 25,4 (5,9-57,5) | 0,71±0,085 | 0,630±0,052 | 0,652±0,054 |

Дія іммобілізаційного стресу істотно не впливала на абсолютні величини ТБК-реактивів, вторинних продуктів ліпідної пероксидації в тканинах серця тварин на початку і після 1,5 годинної інкубації порівняно з інтактними тваринами (табл. 2), що може залежати від стадії стресу і умов даного експерименту [6, 12].

Водночас за умов стресу в гомогенаті тканин серця тварин приріст ТБК-реактивів збільшувався у 3,5 рази порівняно з інтактними тваринами, що очевидно

відображає зменшення запасів низькомолекулярних антиоксидантів у дослідній тканині. Активність СОД, яка не вирізнялась від активності у гомогенаті тканин серця інтактних тварин, можливо обумовлювала низький рівень ПОЛ в гомогенаті тканин серця тварин через 2 години після стресу. В ці строки не виявлено істотних змін вмісту РНК і ДНК в тканинах серця тварин у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 2), що підтверджується даними літератури [4].

Таблиця 2

Вплив нейропептидів на рівень пероксидації і вміст нуклеїнових кислот у серці інтактних щурів в умовах гострого стресу

| Групи тварин | Стат показн. | ТБК-реактанти (мкмоль/кг) | | % приросту МДА | СОД од. | РНК мг/г | ДНК мг/г |
|---------------------------|--------------|---------------------------|--------------|------------------|------------|-----------------------|-----------------------|
| | | 0 год., | 1,5 год | | | | |
| Інтактні (n=7) | M±m | 287,7±58,04 | 321,17±58,25 | 9,2 (0,4-18,5) | 1,02±0,082 | 0,630±0,050 | 0,562±0,051 |
| Стрес (n=7) | M±m | 192,26±15,88 | 250,47±21,37 | 31,6 (1,1-67,5) | 1,11±0,12 | 0,621±0,036 | 0,570±0,030 |
| Стрес + окситоцин (n=8) | M±m | 220,07±31,56 | 262,53±35,22 | 19,9 (3,0-50,0) | 0,93±0,092 | 0,582±0,041 | 0,603±0,045 |
| Стрес + пітуїтрин | M±m | 182,6±18,0 | 215,49±19,68 | 23,2 (2,4-64,23) | 1,23±0,12 | 0,777±0,041 | 0,603±0,045 |
| Стрес + тироліберин (n=8) | M±m | 218,31±47,40 | 262,07±55,37 | 21,4 (8,3-52,6) | 1,24±0,10 | 0,736±0,049 p<0,05 | 0,682±0,033 p<0,05 |

Примітка: p – достовірність між даною групою та групою тварин із стресом

Введення нейропептидів істотно не впливало на абсолютні величини вмісту ТБК-реактивів у тканинах серця, але сприяло зменшенню приросту продуктів ПОЛ при інкубації на 28-37% порівняно зі стресом без корекції (табл. 2). Досліджені пептиди не змінювали активності СОД у тканинах серця тварин порівняно з інтактними тваринами. Найбільш суттєві зміни показників рівня нуклеїнових кислот відзначали в гомогенатах серця тварин при уведенні пептидів. Так, пітуїтрин достовірно збільшував вміст РНК у тканинах серця при незмінному вмісті ДНК порівняно з дією стресу без корекції, що вказує на посилення процесів транскрипції під впливом цього препарату. Відсутність такого ефекту в окситоцину дозволяє віднести посилення транскрипції за рахунок вазопресину, який входить до складу пітуїтрину [9].

Під впливом тироліберину в гомогенаті тканин серця тварин достовірно збільшувався вміст РНК і ДНК (табл. 2), що свідчить про посилення як транскрипції, так і реперативного синтезу ДНК.

Таким чином, наведені результати дозволяють дійти висновку, що за умов гострого стресу нейропептиди – окситоцин, вазопресин (у складі пітуїтрину) і тироліберин істотно не впливали на ПОЛ і активність СОД в тканинах серця лабораторних тварин. Вазопресин (пітуїтрин) і тироліберин в умовах гострого стресу підвищували вміст нуклеїнових кислот у тканинах серця, що очевидно, пов'язано з посиленням репаративних процесів у міокарді.

Літературні джерела свідчать, що окситоцин є протитривожним пептидом. Така його роль особливо виражена в комплексі з жіночими статевими гормонами

ми-естрогенами [3, 14]. Вазопресин на рівні ЦНС проявляє протитривожні функції через V1-рецептори. Обговорюється перспектива створення анксиолітичних препаратів-антагоністів цих рецепторів. Подібні препарати можуть бути більш ефективними в комплексі з іншими пептидергічними препаратами [3].

Отже, подальше вивчення впливу нейропептидів та стресового фактору дадуть можливість виявити динаміку розвитку компенсаторно-адаптаційних та репаративних механізмів, розробити методи корекції [13].

Висновки

1. Уведення окситоцину, пітуїтрину, тироліберину істотно не впливало на рівень пероксидації в тканинах серця тварин в умовах гострого стресу.

2. Уведення пітуїтрину підвищувало вміст РНК, тироліберину – вміст РНК і ДНК в тканинах серця тварин в умовах гострого стресу.

3. Нейропептиди мозку (окситоцин, пітуїтрин, тироліберин) беруть участь в регуляції функцій серця, позитивно впливають на репаративні процеси в міокарді тварин, що передбачає існування в цьому органі власної системи пептидної регуляції.

Література

1. Дія екзогенного мелатоніну на екскреторну функцію нирок за умов іммобілізаційного стресу / Н. М.Шумко, В. П. Пішак, Ю. М. Вепрюк [та ін.] // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 192-195.
2. Интоксикационный стресс и иммунокоррекция / В. Я. Арион, И. В. Зимица, С. Н. Москвина [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т. 9, № 4. – С. 438-439.
3. Кост Н. В. Нейропептиды в регуляции тревоги / Н. В. Кост, В. К. Мешавкин, А. А. Зозуля // Психиатрия. – 2010. – № 4. – С. 64-75.
4. Мерсон Ф. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам / Ф. Мерсон, М. Пшенникова. – М. : Медицина, 1988. – 256 с.

5. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Беркало Л.В., Бобович В.О., Боброва Н.О. та ін.]; під ред. І. П. Кайдашева – Полтава: Полімет, 2003. – 320 с.
6. Перекисное окисление и стресс / [Барабой В. А., Брехман И. И., Голотин В. Г., Кудряшов Ю. Б.]. – СПб. : Наука, 1992. – 148 с.
7. Петришен О. І. Морфологічна перебудова печінки за умов хронічної алюмінієво-свинцевої інтоксикації, іммобілізаційного стресу та гіпофункції шишкоподібної залози / О. Петришен, Н. Мельник // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 129-131.
8. Петришен О. І. Структурна перебудова нирок за умов поєднаної дії солей алюмінію, свинцю та стресу на фоні гіпофункції шишкоподібної залози / О. І. Петришен // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 122-124.
9. Теппермен Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы / Дж. Теппермен, Х. Теппермен. – М. : Мир, 1989. – 656 с.
10. Трудолюбова М. Т. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных / М. Т. Трудолюбова. – М. : Медицина, 1977. – 313 с. – (Современные методы в биохимии).
11. Шабанов П. Д. Фармакология лекарственных препаратов пептидной структуры / П. Д. Шабанов // Психофармакол. биол. наркол. – 2008. – Т. 8, № 3-4. – С. 2399-2425.
12. Швец В. Н. Состояние ферментативного перекисного окисления липидов в сердце молодых и старых крыс при стрессе / В. Н. Швец, В. В. Давыдов // Вопр. мед. химии. – 1995. - № 3. – С. 23-26.
13. Holmes A. Neuropeptide systems as novel therapeutic targets for depression and anxiety disorders / A. Holmes, M. Heilig, N. M. Rupniak [et al.] // Trends Pharmacol. Sci. – 2003. – Vol. 24, №11. – P. 580-588.
14. McCarthy M. M. An anxiolytic action of oxytocin is enhanced by estrogen in the mouse / M. M. McCarthy, C. H. McDonald, P. J. Brooks [et al.] // Physiol.Behav. – 1996. – Vol. 60. – P. 1209-1215.
15. Selye H. What is stress? / H. Selye // Metabolism. – 1956. – Vol. 5, № 5. – P. 525-530.

Summary

PEROXIDATION LEVEL, NUCLEIC ACIDS CONTENT IN CARDIAC TISSUES OF ANIMALS UNDER THE INFLUENCE OF BRAIN PEPTIDES IN CONDITIONS OF ACUTE STRESS

Kutsenko L.O.

Key words: stress, nucleic acids, neuropeptides, lipid peroxidation, antioxidant defense.

Stress loads are important factors in modifying the regulatory mechanisms of the body. Much attention is given to the study of neuropeptides and their participation in the various systems and functional states of organism. The aim of the research was to investigate the effect of neuropeptides – oxytocin, pituitrin, thyrotropin, – on the nucleic acids content and status of free radical oxidation in cardiac tissues of animals under conditions of acute stress. The experiment was performed on 72 white rats weighing 180-200 g. Stress was modeled through the immobilization of animals lying on their backs during three hours. Neuropeptides in the form of commercial medications were injected intramuscularly 30 minutes before the start of stress effect. Lipid peroxidation was assessed by the concentration of malonic dialdehyde in the homogenates of cardiac tissues of animals. The activity of antioxidant system was characterized by the activity of superoxide dismutase. Nucleic acids content was assessed in subcellular fractions of myocardial cells of animals by means of alkaline and acid hydrolysis. Studies on the effect of neuropeptides on the processes of lipid peroxidation, antioxidant defense and nucleic acids content in cardiac tissues of intact animals showed no differences between control and experimental groups of animals. Under conditions of acute stress the neuropeptides – oxytocin, pituitrin, thyrotropin, – have not significantly affected the lipid peroxidation and antioxidant defense in cardiac tissues of laboratory animals. It has been found that in these conditions pituitrin and thyrotropin increase the nucleic acids content in cardiac tissues.

Research Institute for Genetics and Immunological Grounds of Pathology and Pharmacogenetics

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 12.12.2011 р.