

Розова К.В., Болгова Т.В., Маньковська І.М.

ДЕЯКІ МЕХАНІЗМИ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН У ТКАНИНІ ЛЕГЕНЬ ПРИ ГІПОКСИЧНИХ ВПЛИВАХ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ

ДЕЯКІ МЕХАНІЗМИ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН У ТКАНИНІ ЛЕГЕНЬ ПРИ ГІПОКСИЧНИХ ВПЛИВАХ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ – На 65 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар досліджено взаємозв'язок активності: ПОЛ, системи циклічних нуклеотидів (ЦН) та аденілатциклази (АЦ) з морфофункціональним станом тканини легень при гіпоксичних впливах різного генезу. Показано, що набряк аерогематичного бар'єру (АГБ) при гострій гіпоксичній гіпоксії та гострій крововтраті значною мірою зумовлений інтенсифікацією процесів ПОЛ, при іммобілізаційному стресі такий взаємозв'язок виражений менше. Із змінами концентрацій цАМФ та цГМФ, а також χ співвідношенням співпадає рівень гіпергідратації АГБ при використаних впливах на організм. Однак лише при крововтраті в тканині легень зміни у функціонуванні системи ЦН можна вважати збалансованими. Це припущення підтверджують і дані, отримані при активації АЦ. Виявлені особливості вказують на наявність певно специфічності механізмів змін морфофункціонального стану досліджуваної тканини залежно від типу гіпоксії.

НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНИ ЛЕГКИХ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ РАЗНОГО ГЕНЕЗА – На 65 белых половозрелых крысах-самцах линии Вистар изучена взаимосвязь активности: ПОЛ, системы циклических нуклеотидов (ЦН) и аденилатциклазы (АЦ) с морфофункциональным состоянием ткани легких при гипоксических воздействиях различного генеза. Показано, что отек аэрогематического барьера (АГБ) при острой гипоксической гипоксии и острой кровопотере в значительной степени обусловлен интенсификацией процессов ПОЛ, при иммобилизационном стрессе такая взаимосвязь выражена меньше. С изменениями концентраций цАМФ и цГМФ, а также их соотношением совпадает уровень гипергидратации АГБ при используемых воздействиях на организм. Однако только при кровопотере в ткани легких изменения в функционировании системы ЦН можно считать сбалансированными. Это предположение подтверждается и данными, полученными при активации АЦ. Выявленные особенности указывают на наличие определенной специфичности механизмов изменений морфофункционального состояния исследуемой ткани в зависимости от типа гипоксии.

SOME MECHANISMS OF MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN LUNG TISSUE UNDER HYPOXIC INFLUENCES OF DIFFERENT GENESIS – The interrelation between activity of lipid peroxidation (LP), cyclic nucleotides (CN) and adenylate cyclase (AC) systems and morphofunctional state of lung tissue was studied under hypoxic influences of different genesis. It was shown that the edema of air-blood barrier (ABB) under acute hypoxic hypoxia and acute blood loss is largely determined by intensification of LP processes; at immobilization stress such intercommunication is less expressed. The level of ABB hyperhydration under the used influences on an organism coincides with the changes of CN concentrations, and also with their ratio. However, only at blood loss the changes in CN system function in lung tissue can be considered balanced. This assumption is confirmed by data, received during AC activation. The exposed features specify to the presence of certain specificity of the mechanisms of morphofunctional state changes in probed tissue depending on the type of hypoxia.

Ключові слова: гіпоксична гіпоксія, крововтрата, стрес, тканина легень, аерогематичний бар'єр, перекисне окислення ліпідів, циклічні нуклеотиди, аденілатциклаза.

Ключевые слова: гипоксическая гипоксия, кровопотеря, стресс, ткань легких, аэрогематический барьер, перекисное окисление липидов, циклические нуклеотиды, аденилатциклаза.

Key words: hypoxic hypoxia, blood loss, stress, lung tissue, air-blood barrier, lipid peroxidation, cyclic nucleotides, adenylate cyclase.

ВСТУП Вважають, що зміни інтенсивності ПОЛ відіграють роль одного з основних механізмів, які відповідають за зміни в клітинних мембранах і призводять до порушень ультраструктури клітин та клітинних органел [1,2,9]. Дані про зміни ПОЛ можуть слугувати підґрунтям такого припущення: наявність та інтенсивність структурних змін в біологічних тканинах (зокрема в тканині легень) та клітинних бар'єрах при різних впливах має корелювати з інтенсивністю процесів ПОЛ. З іншого боку, відомо, що

вільні радикали, включаючи і активні форми кисню, що є вторинними месенджерами в клітинах, впливають на накопичення інших посередників, а саме циклічних нуклеотидів (ЦН), з яких цГМФ може сприяти підвищенню проникності мембран, а цАМФ – χ стабілізації [8]. При несприятливих впливах на організм, які супроводжуються розвитком деструктивних процесів, доцільним є підвищення концентрації цАМФ, а зменшення повинно призводити до додаткових негативних структурних змін у клітинах. Тому будь-який вплив на аденілатциклазну систему, зокрема безпосередньо на активність аденілатциклази (АЦ), яка каталізує біосинтез цАМФ, може брати участь у формуванні морфофункціональних змін у тканині легень при гіпоксії різного походження [10].

Зважаючи на вищезазначене, метою роботи було дослідження взаємозв'язку активності ПОЛ, системи ЦН та аденілатциклази з морфофункціональним станом тканини легень при гіпоксичних впливах різного генезу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження проведені на 65 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар із дотриманням міжнародних принципів Європейсько конвенції про захист хребетних тварин, що використовують для експериментальних та інших цілей (Страсбург, 1985). Тварини були розподілені на 4 групи: 1 – контрольні, 2 – тварини, що протягом 30 хв піддавалися гіпоксичному впливу шляхом інгаляції газової суміші, яка містила 7 % O_2 в N_2 (гіпоксична гіпоксія), 3 – тварини, у яких створювали гостру (тривалістю 30 хв) крововтрату, що становила 25-30 % від загального об'єму циркулюючої крові без його заміщення (циркуляторно-гемічна гіпоксія), 4 – тварин піддавали іммобілізації у положенні на спині протягом 6-ти годин – іммобілізаційний стрес (респіраторно-циркуляторна гіпоксія з катехоламінізалежним чинником). Підготовку препаратів для електронно-мікроскопічного дослідження виконували за загальноприйнятими методиками [3]. Препарати продивлялись за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К (Україна). Морфометричні дослідження виконували за комп'ютерною програмою для морфометричних підрахунків Image Tool Version 3 (США). В тканині легень вивчали вміст первинних (дієнові кон'югати – ДК) та вторинних (малоновий дільдегід – МДА) продуктів ПОЛ за стандартними методиками [6,7]. Визначення концентрації циклічних нуклеотидів у тканині легень виконували за допомогою тест-наборів SB-HTG (Франція). Для активації аденілатциклази застосовували класичний негормоніальний активатор NaF – внутрішньочеревно 10^{-2} М розчин по 1 мл на 100 г маси тіла [10]. Результати досліджень були статистично оброблені із застосуванням критерію t Ст'юдента та кореляційного аналізу з визначенням коефіцієнтів кореляції Спірмена [5].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА χ ОБГОВОРЕННЯ Товщина біологічного бар'єру є інтегральним показником його морфофункціонального стану і, до певної міри, критерієм загального стану досліджуваної тканини, тому пошук взаємозв'язку величин середньо арифметично (τ) та гармонічно (τ_h) товщин аерогематичного бар'єру легень (АГБ) з концентраціями первинних і вторинних продуктів ПОЛ буде сприяти формуванню уявлення про роль ПОЛ в змінах ультраструктури та гідратації бар'єру. Проведений аналіз показав, що при гострій гіпоксичній гіпоксії (Г) та гострій крововтраті (КР) виявлявся тісний зв'язок концентрацій як ДК, так і МДА з τ і τ_h (табл. 1).

Таблиця 1. Рівні коефіцієнтів кореляції (Спірмена) величин τ і τ_h АГБ з концентраціями ДК та МДА в тканині легень при гіпоксії різного генезу

Вплив	АГБ			
	τ		τ_h	
	ДК	МДА	ДК	МДА
Гіпоксія	0,616	0,777*	0,898*	0,818*
Крововтрата	0,926*	0,811*	0,876*	0,821*
Стрес	0,513	0,567	0,602	0,754*

Примітка. * – тісний взаємозв'язок між параметрами при $r=0,1$.

Можна вважати, що при даних умовах експерименту активація ПОЛ претендує на роль однієї з провідних причин зміни морфофункціонального стану АГБ, безпосередньо впливаючи на збільшення проникності, що веде до гіпергідратації бар'єру. Що стосується іммобілізаційного стресу (С), то у більшості випадків не виявлено тісної кореляції між досліджуваними параметрами. Імовірно, при С процеси ПОЛ справляють менший вплив на зміни фізико-хімічних характеристик клітинних мембран, а відтак і на стан АГБ, зокрема на його набряк. Суттєва роль може належати іншим факторам, таким, як, наприклад, катехоламін-залежний компонент набряку [4].

Частина процесів, що беруть участь у розвитку набряку, є енергозалежними, тому мають безпосередній зв'язок із функціонуванням системи ЦН. Дійсно, вміст ЦН у тканині легень досить добре відображає ультраструктурні зміни в ній. Виявлене паралельне зростання концентрацій цАМФ та цГМФ при Г та С може бути свідченням розвитку стану декомпенсації гуморальних реакцій на клітинному та тканинному рівнях [1,2,8], при тому ж супроводжує виражену гіпергідратацію АГБ. Додатковим підтвердженням цього є і достовірне зниження в цих умовах співвідношення цАМФ/цГМФ (рис. 1).

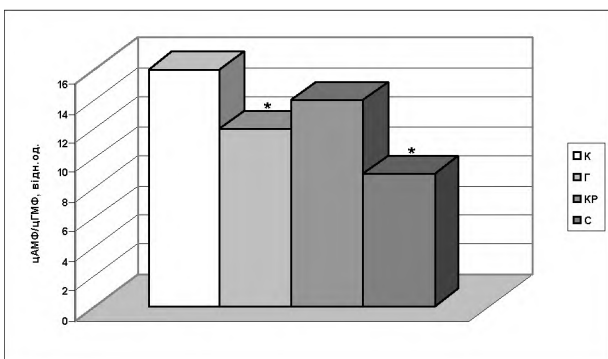


Рис. 1. Зміни співвідношення цАМФ/цГМФ в тканині легень при гіпоксії різного генезу.

Примітки: 1. * – зміни достовірні відносно контролю ($p < 0,05$); 2. К – контроль; 3. Г – гіпоксія; 4. КР – крововтрата; 5. С – стрес.

Натомість, при КР спостерігалось паралельне зниження концентрацій обох ЦН та незмінність x співвідношення, що, як правило, характеризує позитивну гістологічну динаміку [8]. І саме в цій серії досліджень виявлялись найменші зміни рівнів τ і τ_h АГБ, тобто слабкі прояви набряку.

Слід звернути увагу на те, що отримані дані не дають підстав виводити чіткий взаємозв'язок між посиленням ПОЛ та змінами концентрацій ЦН у легеневій тканині, оскільки збільшення концентрації ДК та МДА мало місце в

усіх серіях досліджень, а зростання цАМФ та цГМФ при КР, не спостерігалось.

При несприятливих впливах на організм, які супроводжуються розвитком деструктивних та набрякових процесів в тканинах, рівень цАМФ буває значно підвищеним. З іншого боку, цАМФ до певної міри є відповідальним за пригнічення накопичення вільних радикалів і стабілізацію мембран [1,8,9], тобто переважання позитивного чи негативного впливу цАМФ пов'язано з концентрацією цього агента, що визначає стан тканини в кожній конкретній ситуації.

За концентрацію цАМФ у тканинах значною мірою відповідає аденілатциклазна сигнальна система через зміни активності АЦ. Активація АЦ шляхом введення NaF призвела до того, що при Г та С ультраструктурні порушення АГБ помітно збільшувалися. Поряд з цим зростає і набряк АГБ, причому переважно зростає величина τ (у середньому на 20-25 % відносно величин, визначених без застосування NaF) при достовірно незмінній τ_h , що свідчить про практично рівномірне потовщення бар'єру. При КР в цих умовах не виявлено додаткових змін ультраструктури та товщини АГБ. Такі результати є законними, оскільки тільки при КР мало місце зниження концентрації цАМФ, тому активація АЦ, імовірно, лише нормалізувала вміст цього ЦН, що не повинно супроводжуватися додатковими морфофункціональними змінами.

ВИСНОВКИ Проведені дослідження показали, що набряк АГБ при гострій гіпоксичній гіпоксії та гострій крововтраті значною мірою зумовлений інтенсифікацією процесів ПОЛ, при іммобілізаційному стресі такий взаємозв'язок виражений меншою мірою. Із змінами концентрацій цАМФ та цГМФ, а також x співвідношенням добре співпадає рівень гіпергідратації АГБ при застосованих впливах на організм. При цьому лише при крововтраті в тканині легень зміни у функціонуванні системи ЦН можна вважати збалансованими. На користь такого припущення свідчать і дані, отримані при активації аденілатциклази. Виявлені особливості вказують на наявність певно специфічності механізмів змін морфофункціонального стану досліджуваної тканини залежно від типу гіпоксії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Чернобильинтеринформ, 1997. – 420 с.
2. Заморский И.И., Пишак В.П. Роль неадренергической регуляции в реакции шишковидного тела крыс на острую гипоксическую гипоксию и введение эпителиамина. – Вопросы медицинской химии. – 2000. – № 1. – С. 48-53.
3. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. – К.: Вища школа, 1984. – 208 с.
4. Меерсон Ф.З., Пшеникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
5. Осипов В.П., Лукьянова Е.М., Антипкин Ю.Г. и др. Методика статистической обработки медицинской информации в научных исследованиях. – К.: Планета людей, 2002. – 200 с.
6. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63-65.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
8. Степанова Н.В. Изучение влияния гипоксической гипоксии на концентрацию циклических нуклеотидов в почечной ткани при гиперсеротонинемии // Актуальні питання фармацевтично та медично науки та практики. – 1999. – №4. – С. 95-97.
9. Ahuja G.K., Malhotra A., Wallia L., Narula M. (2001). Lipid peroxidation in haemorrhagic shock and after transfusion of blood in dogs // Indian J. Physiol. Pharmacol. – 2001. – V. 45, № 1. – P. 314-318.
10. Hattori Y., Matsuda N., Sato A. et al. Predominant contribution of the G protein-mediated mechanism to NaF-induced vascular contraction in diabetic rats: association with an increased level of expression // J. Pharmacol. Exp. – 2000. – V. 292, № 6. – P. 761-768.