

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

КИСЛОРОД И СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

Материалы Республиканской
научно-практической конференции

Гродно
ГрГМУ
2014

УДК 612.014.464:005.745(06)
ББК 28.707я431
К44

Рекомендовано Редакционно-издательским советом УО «ГрГМУ» (протокол № 6 от 12 мая 2014 г.).

Рецензенты:

Зинчук В.В., проф., проректор по научной работе УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

Пырочкин В.М., проф., зав. каф. внутренних болезней № 1 УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

Лелевич В.В., проф., зав. каф. биологической химии УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

Максимович Н.Е., проф., зав. каф. патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

Балбатун О.А., доц., зав. каф. нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет».

К44 **Кислород** и свободные радикалы : материалы Республиканской научно-практической конференции / под ред. В.В. Зинчука. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – 228 с.
ISBN 978-985-558-388-3.

В сборнике статей представлены работы сотрудников научных и учебных учреждений Республики Беларусь и стран ближнего и дальнего зарубежья по проблемам экспериментальной и клинической медицины.

Представленные работы будут полезны широкому кругу научных сотрудников и работников практического здравоохранения.

УДК 612.014.464:005.745(06)
ББК 28.707я431

ISBN 978-985-558-388-3

©УО «ГрГМУ», 2014

ИЗМЕНЕНИЯ ВО ВРЕМЕНИ ПАРАМЕТРОВ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ И СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ДИАБЕТЕ

*Заводник И.Б., Лапшина Е.А., Чещевик В.Т.,
Дремза И.К., Головач Н.Г.*

Гродненский государственный университет
имени Янки Купалы, Гродно

Печень чрезвычайно чувствительна к токсическим воздействиям благодаря центральной роли в метаболизме ксенобиотиков и портальной локализации. Предполагают, что дисфункция митохондрий представляет начальный этап проявлений гепатотоксичности, а сами митохондрии служат первичной мишенью токсинов. Печень является также ключевым органом, обеспечивающим поддержание системного гомеостаза глюкозы у млекопитающих, регулируя уровень глюкозы плазмы крови. Согласно гипотезе об унифицирующем механизме развития диабета, дисфункция митохондрий и гиперпродукция ими супероксидных радикалов представляет основной механизм активации связанных с гипергликемией метаболических путей повреждения тканей при сахарном диабете.

В настоящей работе мы оценили зависимость степени нарушений функциональной активности и уровня антиоксидантной защиты митохондрий печени крыс от дозы токсического агента (CCl_4), времени токсического воздействия и длительности диабета. Целью работы было выяснение возможности развития компенсаторных механизмов при интоксикации и диабете.

CCl_4 в дозе 4 г/кг спустя 12 ч вызывает выраженные нарушения энергетического обмена в митохондриях: уменьшение скорости потребления кислорода V_3 (на 30% в случае использования глутамата и на 40% в случае использования сукцината); полное разобщение процессов окисления и фосфорилирования при использовании обоих субстратов дыхания (коэффициенты

АК=1 и ДК=1); уменьшение коэффициента фосфорилирования (АДФ/О=0). Скорости потребления кислорода V_2 и V_4 не отличались от контрольных значений при использовании обоих субстратов. Степень нарушений возрастала во времени: спустя 24 ч скорости V_2 и V_4 также не отличались от контрольных значений, тогда как скорость V_3 снижалась на 50% в случае использования глутамата и на 60% в случае использования сукцината; коэффициенты АК и ДК в случае использования обоих субстратов равнялись единице, а коэффициент АДФ/О равнялся нулю.

Подобным образом при острой интоксикации CCl_4 в меньшей дозе (0,8 г/кг) спустя 24 ч также наблюдали выраженное нарушение процессов окислительного фосфорилирования митохондрий (уменьшение скорости V_3 , коэффициентов АДФ/О, ДК, АК) при использовании субстратов I и II комплексов дыхательной цепи на фоне отсутствия изменений антиоксидантной системы митохондрий, что связано, вероятно, с повреждением компонентов дыхательной цепи митохондрий (снижение активности сукцинатдегидрогеназы).

Интоксикация CCl_4 (4 г/кг) через 24 ч приводила к снижению уровня глутатиона (на 25%) в митохондриях, увеличению содержания GSSP в митохондриях (на 30%) и активности митохондриальной глутатионпероксидазы (на 90%), что отражает развитие окислительного стресса в митохондриях. В то же время интоксикация CCl_4 через 12 ч вызывала значительное повышение содержания глутатиона в 2,5 раза в цитоплазме клеток печени крыс, тогда как спустя 24 ч концентрация глутатиона уже не отличалась от контрольных значений, а уровень GSSP был повышен в 2,2 раза. Активности ферментов антиоксидантной защиты глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы в цитоплазме клеток печени спустя 12 ч были снижены на 25% и 30%, соответственно, а через 24 ч при той же дозе токсиканта не отличались от контрольных значений. Таким образом, из результатов видно, что активность ферментов метаболизма глутатиона в митохондриях и цитоплазме клеток печени коррелирует с уровнем глутатиона. Изменения ряда параметров, в первую очередь уровень GSH, активность сукцинатдегидрогеназы носят колебательный характер. Параллельно наблюдали окислитель-

ные повреждения белков и липидов ткани печени. Содержание белковых карбониллов в ткани печени спустя 24 ч после интоксикации CCl_4 (4 г/кг) было повышено на 60%. Уровень ТБКРС в ткани печени при интоксикации CCl_4 (4 г/кг) через 12 ч оставался неизменным, тогда как спустя 24 ч наблюдали повышение содержания ТБКРС на 40%.

Уровень NO в ткани печени при дозе CCl_4 (4 г/кг) через 12 ч и 24 ч был повышен на 50%, что коррелирует с возрастанием оксида азота в плазме крови. Спустя 12 ч и 24 ч при интоксикации CCl_4 активность одного из основных антиоксидантных ферментов в ткани печени, каталазы, оставалась неизменной, также как и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, поставляющего восстановительные эквиваленты.

Таким образом, мы наблюдали определенные компенсационные процессы в ткани печени, развивающиеся во времени: возрастание активности сукцинатдегидрогеназы, значительное увеличение уровня восстановленной формы глутатиона, снижение активностей глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы без изменения активности каталазы. Возрастание уровня глутатиона и снижение активности глутатион-метаболизирующих ферментов, вероятно, обусловлено воздействием либо развивающегося окислительного стресса [Deneke S.M., 1987], либо повышенного уровня NO, который способен активировать γ -глутамилцистеинсинтазу [Kurozumi, 2005]. Митохондрии, таким образом, представляют собой одну из наиболее чувствительных мишеней в клетках печени, повреждаемых при токсическом воздействии.

При хронической интоксикации CCl_4 (1,6 г/кг) мы не наблюдали изменения содержания TSH, PSH, активности глутатионтрансферазы в митохондриях печени крыс, тогда как уровень GSH и GSSP возрастал на 60% и 30%, соответственно, а активность глутатионпероксидазы снижалась на 40% без изменения активности глутатионтрансферазы. В цитоплазме клеток печени крыс наблюдали повышение содержания TSH (на 30%) вследствие возрастания содержания глутатиона в 2,5 раза, увеличение содержания GSSP в 1,5 раза и отсутствие изменений содержания PSH. Кроме того, наблюдали повышение содержания ТБКРС на

85% и снижение активности каталазы на 60%, что отражает развитие механизмов адаптации к длительному окислительному стрессу.

На ранних этапах экспериментального диабета (18 дней) мы наблюдали уменьшение уровня GSH (на 15%), снижение активности ферментов глутатионпероксидазы (на 25%) и каталазы (на 20%), уменьшение активности ферментов пентозофосфатного метаболического пути: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (на 60%) и транскетолазы (на 40%) в цитоплазме клеток печени крыс. В то же время уровень GSH и активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на более поздних этапах диабета (60 дней) значительно не отличались от контрольного уровня. В наших экспериментах развитие диабета сопровождалось нарушением метаболизма глюкозы и генерации НАД(Ф)Н вследствие ингибирования активности ферментов пентозофосфатного пути, повышением содержания NO и нарушением биоэнергетики клетки. Длительный экспериментальный диабет I типа (30 дней) приводит к нарушению параметров окислительного фосфорилирования в митохондриях печени (уменьшение V_3 , АК, ДК) на фоне неизменной активности фермента сукцинатдегидрогеназы и значительного возрастания активности α -кетоглутаратдегидрогеназы при сохранении эффективности потребления митохондриями кислорода (коэффициент АДФ/О не изменялся) и мембранного потенциала. При длительном сахарном диабете I типа также как и при токсическом поражении печени мы наблюдали развитие адаптивных механизмов к длительному действию окислительного стресса: нормализация уровня восстановленной формы глутатиона и снижение активности глутатионсвязанных ферментов в митохондриях и ткани печени.