

## Влияние резкого ограничения двигательной активности на содержание оксида азота и электролитов крови у интактных и паратиреопривных крыс

Д.Н. Худавердян, К. П. Аракелян

*Кафедра нормальной физиологии ЕрГМУ им. М. Гераци  
375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

**Ключевые слова:** стресс, срочная адаптация, ранние приспособительные реакции, кальций, гипопаратиреоз, оксид азота, NO-синтаза, электролиты крови

Проблема адаптации человека к экстремальным факторам среды издавна привлекала внимание исследователей, а в последние десятилетия в связи с бурным научно-техническим прогрессом приобрела особую актуальность. Физиологической основой адаптации являются механизмы, обеспечивающие регуляцию, координацию и мобилизацию физиологических процессов, направленных на выработку и сохранение оптимальных форм взаимодействия организма и среды в изменившихся условиях [14].

Непосредственно с началом действия экстремального фактора включаются механизмы так называемой срочной адаптации, при которой наряду с соматомоторными рефлексам (или рефлексам избегания), обеспечивающими уклонение и защиту организма от патогенного фактора, активируется симпатoadренальная система и регулируемые ею процессы. Гуморально-гормональные сдвиги, развивающиеся в период срочной адаптации, до запуска общего адаптационного синдрома достаточно сложны и во многом не изучены. Между тем, именно в этот период должны включаться предваряющие долговременную адаптацию приспособительные механизмы. В числе таких факторов реализации последующих неспецифических и специфических реакций адаптации могут выступать легко мобилизуемые различные эндогенно-активные вещества, в числе которых такие универсальные регуляторы физиологических функций, как оксид азота (NO) и ионы.

В начале 80-х годов NO был известен под названием эндотелиальный фактор релаксации сосудов (EDRF), а теперь он рассматривается, как один из важнейших медиаторов, участвующих в регуляции многих физиологических функций организма, таких как регуляция деятельности сердечно-сосудистой, иммунной, эндокринной, мочеполовой систем [21,32], активности генетического аппарата на уровне факторов

транскрипции [28] и трансляции м-РНК [26,32]. Данные литературы свидетельствуют, что при воздействии на организм различных стресс-факторов продукция NO подвергается значительным изменениям [10] без временного анализа участия NO в ранних приспособительных реакциях.

В литературе имеются сведения об участии ионов кальция в адаптации к травмам, острой ишемии миокарда [16], иммобилизации, мышечной нагрузке [4-6,]. Если учесть ключевую роль ионов кальция в функционировании гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) [3,4,7,16] как стержневого звена реализации стресс-реакции, эти работы приобретают особую актуальность. Однако в них нет данных о более ранних сдвигах в содержании кальция, а соответственно, и возможности его влияния на последующие процессы становления и реализации процессов адаптации.

Предпосылкой для исследования ранних сдвигов в содержании ионов натрия при действии тех или иных раздражителей может служить общеизвестная существенная роль этих ионов в определении электрогенного потенциала, а соответственно, и функциональной активности клеточных элементов различных систем, ответственных за запуск и реализацию различных гуморально-гормональных реакций.

Таким образом, цель настоящей работы состоит в выявлении наиболее ранних сдвигов в содержании NO, кальция, неорганического фосфора, натрия у интактных и паратиреопривных крыс, подвергнутых резкому ограничению двигательной активности.

### Материал и методы

Опыты проведены на белых половозрелых крысах обоего пола массой 180-200 г. Крысы были разделены

Концентрация NO и электролитов в крови у интактных и паратиреопривных крыс в покое и на 5-й минуте иммобилизации

Исследуемые показатели	Интактные крысы		Паратиреопривные крысы	
	покой	5-я минута иммобилизации	покой	5-я минута иммобилизации
Ca (ммоль/л)	2.696±0.03 n=5	2.898±0.06 n=5 (p<0.02)	2.292 n=5 (p<0.001)	2.26±0.01 n=5 (p<0.05)
Ca <sup>2+</sup> (ммоль/л)	1.197±0.01 n=5	1.251±0.02 n=5 (p<0.05)	0.674±0.01 n=5 (p<0.001)	0.574±0.01 n=5 (p<0.001)
Неорганический фосфор (ммоль/л)	2.69±0.1 n=5	2.437±0.2 n=5 (p>0.05)	3.216±0.1 n=5 (p<0.001)	3.088±0.01 n=5 (p>0.05)
Na <sup>+</sup> (ммоль/л)	142.6±1.35 n=5	144.9±2.65 n=5 (p>0.05)	138.3±0.32 n=5 (p<0.02)	140±0.19 n=5 (p<0.01)
NO (мкг/мл)	56.67±18.6 n=7	65.17±14.72 n=6 (p>0.05)	94.41±27.7 n=5 (p>0.05)	96.82±26.8 n=5 (p>0.05)

на 4 группы (по 5 животных в каждой): в первую (контрольную) группу вошли интактные крысы; во вторую – крысы, подвергнутые резкому ограничению двигательной активности (иммобилизация) в течение 5 минут; в третью – паратиреопривные крысы и в четвертую – паратиреопривные крысы, подвергнутые иммобилизации в течение 5 минут. Иммобилизацию проводили в специально сконструированных нами иммобилизационных камерах, которые полностью ограничивали движения животного в пространстве, не мешая при этом осуществлению дыхания. Подобная модель исключала жесткую фиксацию, а соответственно, и мощную афферентацию от болевых рецепторов и проприорецепторов. Паратиреоидную недостаточность у животных 2- и 3-й групп вызывали путем прижигания околотитовидных желез (ОЦЖ) под уретановым наркозом. О развитии паратиреоидной недостаточности судили по уровню общего и ионизированного кальция и фосфора в сыворотке крови и состоянию животных. Эксперименты ставились на животных с развившимися двигательными расстройствами и пониженным уровнем кальция в крови. Опыты проводили в утренние часы. Животных забивали моментальной декапитацией. Содержание неорганического фосфора и общего кальция в сыворотке крови определяли фотозлектрокалориметрическим методом

с использованием специальных тест-наборов фирм "Delta" (Армения) – для общего кальция и "Lachema" (Чехия) – для неорганического фосфора. Концентрацию ионов Na<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> определяли на ионо-селективном анализаторе "Microlyt 493" фирмы "KONE" (Финляндия). Количественное определение NO в сыворотке крови определяли, измеряя концентрацию нитрат- и нитрит-анионов с помощью набора иммуноферментного анализа, используя спектрофотометр МПХ (Dunattech UK). Статистическую обработку материала проводили методом Фишера-Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Как показали результаты проведенных исследований, уже на 5-й минуте иммобилизации наблюдаются заметные сдвиги в содержании NO и исследуемых электролитов как у интактных, так и паратиреопривных крыс (таблица).

Как видно из таблицы, концентрация общего и ионизированного кальция у интактных крыс на 5-й минуте их иммобилизации достоверно повысилась. Аналогичной направленности изменения наблюдались и в показателях уровня натрия, хотя для последнего эти колебания были недостоверными. На 5-й минуте

иммобилизации наблюдалось понижение содержания неорганического фосфора. Как и следовало ожидать, у паратиреопривных крыс содержание обеих форм кальция в крови достоверно понизилось. Иммобилизация этих животных, в отличие от интактных крыс, сопровождалась понижением содержания неорганического фосфора, общего и, в особенности, ионизированного кальция. Уровень натрия при этом несколько повысился.

Заслуживают внимания изменения, обнаруженные в содержании NO у интактных и паратиреопривных животных до и после иммобилизации. По сравнению с интактными крысами у крыс с паратиреопривной недостаточностью отмечается существенное повышение содержания NO. Причем, если при иммобилизации интактных животных наблюдается тенденция к повышению содержания NO в крови, то у паратиреопривных животных его концентрация не меняется.

Таким образом, можно заключить, что в целом иммобилизация на ранних сроках сопровождается активацией ионных сдвигов у интактных животных и подавлением у крыс с паратиреопривной недостаточностью. В этих же условиях происходит активация NO-системы у интактных животных без ее существенной ответной реакции на иммобилизацию у паратиреопривных.

Возникает вопрос: каковы возможные причины обнаруженных изменений и как они могут отразиться на течении приспособительных реакций. По данным литературы, при различных по этиологии экстремальных ситуациях (травмы, острая ишемия и инфаркт миокарда, физическая нагрузка, иммобилизация) концентрация кальция может быстро повышаться в течение одного часа [16], а по некоторым данным, даже за 15 минут [4–6]. Авторы объясняют этот факт дополнительным выбросом паратгормона (ПТГ). По некоторым данным, активация ОЦЖ может наблюдаться уже на 5-й минуте действия стресс-фактора [31]. Способна ли эта активация привести к обнаруженному нами повышению содержания кальция на 5-й минуте иммобилизации? Мы не отрицаем участия в этом процессе ПТГ как специфического кальцийрегулирующего гормона. Хотя, по данным литературы [18], специфический эффект повышения уровня кальция в крови развивается в лучшем случае лишь через 1.5–2 часа после введения ПТГ. А это означает, что столь раннее повышение содержания кальция может быть связано с другими, более быстрыми, реакциями, такими как активация симпато-адреналовой системы, при которой наблюдается повышение концентрации кальция в крови [13] и поступление в систему кровообращения порций сравнительно более концентрированной крови из кровяных депо. Вероятно, в организме существуют и другие, еще недостаточно изученные механизмы, приводящие к быстрому повышению концентрации кальция, как одного из неспецифических факторов, акти-

вирующих ГГНС.

Как показывают результаты наших исследований, повышение концентрации ионизированного кальция на 5-й минуте иммобилизации интактных крыс несколько отстает от повышения общего кальция. Так, общий кальций повышен на 0.2 ммоль/л, а ионизированный, на 0.05 ммоль/л. В научной литературе описаны аналогичные сдвиги у птиц. В период, предшествующий яйцекладке, уровень общего кальция возрастает в 2–3 раза без каких-либо сдвигов в содержании ионизированного кальция. Это объясняется образованием белково-кальциевых комплексов, являющихся своеобразным депо для кальция, предохраняющих организм и прежде всего нервную систему от избыточных количеств физиологически активного ионизированного кальция [13]. Понижение в крови содержания обеих форм и, в особенности, ионизированного кальция после иммобилизации паратиреопривных животных может быть связано в первую очередь с глубоким нарушением при гипопаратиреозе кальциевого обмена и усилением поглощения кальция тканями. Перераспределение и накопление кальция в митохондриях паратиреопривных животных показано в исследованиях нашей лаборатории [18]. Известно также, что при различных экстремальных ситуациях резко активируется захват тканями катиона  $Ca^{2+}$  и соответственно повышается его концентрация в миокарде, скелетных мышцах, гепатоцитах и почках на 30–40% [8,16]. Поэтому можно полагать, что у животных с гипопаратиреозом при исходно нарушенном кальций-фосфорном обмене и истощенной системе его регуляции иммобилизация приводит не к увеличению, а, наоборот, к уменьшению концентрации кальция и, как следствие, – связанному с дефицитом кальция ограничению активации ГГНС, и соответственно понижению устойчивости паратиреопривных животных к стрессу. Это находит свое подтверждение в исследованиях, где показана гибель паратиреопривных животных от судорог при введении им подпороговых доз адреналина [12].

Механизмы, лежащие в основе установленной нами столь ранней тенденции к повышению уровня NO в крови иммобилизованных интактных крыс и относительной ареактивности NO-системы на стресс у паратиреопривных трудно объяснимы. Известно, что уже на этапе срочной адаптации происходит активация не только стресс-реализующих, но и стресс-лимитирующих систем, в числе которых особое место занимает система генерации NO [10]. По данным литературы, при воздействии различных стрессоров на организм имеет место как увеличение [17,22], так и уменьшение [2,23,29] продукции NO. Причем, при действии кратковременных или умеренных стрессоров, как правило, обнаруживалось увеличение продукции NO, а при действии длительных и повреждающих факторов ее понижение [10]. Можно полагать,

синтез NO на столь ранних этапах может происходить за счет активации уже имеющегося фермента NO-синтазы [30], хотя не исключается и активация синтеза NO-синтазы *de novo* [22]. Известно, что NO играет важную роль в регуляции функции гипофиза, ограничивая выброс стресс-гормонов [25,26]. Кроме того, NO ограничивает выброс катехоламинов в надпочечниках [20,27] и симпатических медиаторов на уровне нервных окончаний [20]. Известно, что NO-ергические нейроны богато иннервируют мозговое вещество надпочечников и входят в непосредственный контакт с хромоафинными клетками [33]. А это означает, что дополнительное повышение содержания NO с первых же минут ограничивает чрезмерную активацию стресс-реализующих механизмов и, соответственно, защищает организм от их повреждающего действия.

У животных с паратиреопривной гипокальциемией наблюдается повышение содержания NO почти на 66.5 %. Какие факторы могут привести к такому повышению? Увеличение содержания NO на фоне гипокальциемии трудно объяснимо, если учитывать то обстоятельство, что ферменты, ответственные за генерацию NO (nNOS, iNOS и eNOS), являются кальцийзависимыми. Однако следует отметить, что только уровень кальция в крови не может служить объективным критерием оценки NO-системы, поскольку показано, что при недостаточности ОЩЖ происходит перераспределение кальция и даже увеличение его содержания (в первые дни) в некоторых органах. Саму операцию по прижиганию ОЩЖ и послеоперационный пе-

риод можно рассматривать как сильный стресс-фактор, приводящий к активации стресс-лимитирующей NO-ергической системы. В свою очередь, развивающаяся недостаточность функции ОЩЖ способствует глубоким нарушениям кальций-фосфорного обмена, развитию гипоксии, повышению активности перекисного окисления липидов и ослаблению антиоксидантных систем [18]. Известно, что в условиях гипоксии может происходить образование NO из нитритов в ходе нитритредуктазных реакций [10]. NO может увеличивать активность антиоксидантных ферментов, с другой стороны, сама молекула NO обладает антиоксидантными свойствами [10]. Таким образом, повышение концентрации NO в условиях недостаточности ОЩЖ играет защитную роль.

Иммобилизация паратиреопривных животных сопровождается фактической ареактивностью NO-ергической системы. Мы считаем, что причиной такой ареактивности является истощение у паратиреопривных крыс функциональных возможностей NO-системы и приспособительных механизмов в целом.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что в экстремальных ситуациях наряду с активацией уже известных ранних механизмов адаптации очень быстро в приспособительные реакции включаются электролиты крови и NO, а соответственно, и системы, обеспечивающие их гомеостаз. В условиях паратиреопривной гипокальциемии происходит подавление функциональных возможностей этих систем.

Поступила 13.02.02

## Շարժողական ակտիվության կտրուկ սահմանափակման ազդեցությունը ազոտի օքսիդի և արյան էնդոթելիումների մակարդակի վրա առողջ և պարաթիրեոպրիվ առնետների մոդ

Դ.Ն. Խուրավերդյան, Կ. Պ. Առաքելյան

Շարժումների կտրուկ սահմանափակման պայմաններում ուսումնասիրվել է ազոտի օքսիդի (NO), կալցիումի, անօրգանական ֆոսֆորի և մատրիումի մասնակցությունը օրգանիզմի վաղ հարմարողական ռեակցիաներում առողջ և պարաթիրեոպրիվ առնետների մոտ: Առողջ կենդանիների մոտ ինտրիլիզացիայի 5-րդ րոպեին դիտվել է ընդհանուր և ինդիզացված կալցիումի, մատրիումի մակարդակի բարձրացում և անօրգանական ֆոսֆորի մակարդակի իջեցում: Նույն առնետների մոտ հայտնաբերվել է NO-ի մակարդակի բարձրացման միտում:

Պարաթիրեոպրիվ կենդանիների ինտրիլիզացիայի պայմաններում NO-ի մակարդակը մնացել է անփոփոխ: Նույն պայմաններում դիտվել է ընդհանուր և ինդիզացված կալցիումի, անօրգանական ֆոսֆորի մակարդակի իջեցում և մատրիումի կոնցենտրացիայի բարձրացում: Յույց է տրված, որ էքստրենալ պայմաններում հայտնի վաղ հարմարողական մեխանիզմներին զուգահեռ հարմարողական ռեակցիաների մեջ արագ ընդգրկվում են մաև արյան էնդոթելիումները և ազոտի օքսիդը:

## The influence of motor activity strict limitation on content of the nitric oxide and the blood electrolytes in intact and parathyreoprived rats

D.N. Khudaverdyan, K. P. Arakelyan

Under the conditions of strict immobilization the nitric oxide (NO), calcium, inorganic phosphorus, as well as the sodium involvement in the early adaptive reactions of organism has been studied. By the fifth minute of immobilization the calcium and sodium blood concentrations are increased and that of the inorganic phosphorus – decreased in healthy rats. In the same rats the NO content increasing tendency is observed. Under

the conditions of parathyreoprived hypocalcemic immobilization there are no changes in the NO content. At the same time a decrease of calcium, inorganic phosphorus contents as well as an increase of sodium content were observed. It has been shown that along with already known early adaptative mechanisms the blood electrolytes and NO and their homeostasis regulating mechanisms are rapidly involved in adaptive reactions.

### Литература

1. Голиков П.П. В кн.: Рецепторные механизмы глюкокортикоидного эффекта. М., 1988.
2. Голиков П.П., Картавенко В.И., Николаева Н.Ю. и др. Патол. физиол. и эксперим. терапия, 1998, 3, с. 20.
3. Довлатян Р.А. В сб.: Кальцийрегулирующая система в норме и патологии. Ереван, 1988, с. 71.
4. Држевецкая И.А., Држевецкий Ю.М. Итоги науки и техники: Физиология человека и животных, т.27, с. 93.
5. Држевецкая И.А., Мишина Н.Ф., Лиманский Н.Н. В кн.: Гистогематические барьеры и нейрогуморальная регуляция. М., 1981, с. 273.
6. Држевецкая И.А., Мишина Н.Ф. Физиологический журнал СССР им.Сеченова, 1978, т. LXIV, 6, с. 864.
7. Золоев Г.К., Слепушкин В.Д., Ивакин С.Н. и др. Проблемы эндокринологии, 1982, т. 28, 5, с. 69.
8. Золоев Г. К., Слепушкин В. Д., Васильцев Я. С. Кардиология, 1983, 1, с. 65.
9. Кудрин А.В. Вопросы биологической медицинской фармацевтической химии, 2000, 1, с. 3.
10. Мальшев И.Ю., Манухина Е.Б. Биохимия, 1998, 63, 7, с. 992.
11. Марков Х.М. Вестн. Рос. АМН., 1996, 7, с. 73.
12. Покровский Н. Г. Врач. дело, 1924, 7, с. 315.
13. Романенко В.Д. В кн.: Физиология кальциевого обмена. Киев, 1975, с. 8.
14. Сапов И.А., Новиков В.С. Физиологический журнал СССР им.Сеченова, 1986, т.72, 1, с. 78.
15. Северина И.С. Бюлл. эксперим. биол., 1995, 3, с. 230.
16. Слепушкин В.Д., Лишманов Ю.Б., Золоев Г.К. Успехи физиологических наук, 1985, т.16, 4, с. 106.
17. Солодков А. П., Божко А. П. Бюлл.эксперим. биол. и мед., 1994, 9, с. 245.
18. Худавердян Д.Н., Тер-Маркосян А.С. В кн.: Система паратгормон-кальций в регуляции функциональной активности нейрона. Ереван, 1998, с. 135.
19. Худавердян Д.Н., Чурсина Ю.Я. Физиологический журнал СССР им.Сеченова, 1996, т.82, 4, с. 102.
20. Addicks K., Bloch W., Feilisch M. Microscopy Res. Tech., 1994, 29, p. 161.
21. Busse R., Fleming I. Ann. Med., 1995, 27, p. 331.
22. Calza L., Giardino L. and Ceccatelli S. Neuro. Report, 1993, 4, p. 627.
23. Jakob T.D., Ochoa J. B. J. Trauma, 1993, 35, p. 590.
24. Kader A., Frazzini V. I., Baker C. J., Solomon R. A. and Trifiletti R. R. Neurosurgery, 1994, 35, p. 272.
25. Karanth S., Lyson K., and McCann S.N. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90, p. 3383.
26. Malek I. Am. J. Physiol., 1992, 263, p. 389.
27. Moncada S. J. Hypertension, 1994, 12, Suppl. 10, p. 35.
28. Nunoshiba T., de Rojas-Walker T., Wishnok J. S. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90, p. 9993.
29. Ochoa J.B., Udekwu A.O., Billar T.R. Ann. Surg., 1991, Vol. 214, p. 621.
30. Altman C.L., Parker J.L., Laughlin M.H. J. Appl. Physiol., 1995, 79, p. 33.
31. Shak J.H., Motto J.S., Kukreja S.P. et al. J. Clin. Endocrinol. and Metabol., 1975, 41, 4, p. 692.
32. Shyy Y.J., Hsieh H.J., Usami S. and Chien S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, 91, p. 4678.
33. Snyder S.H. and Bredt D.S. TIPS, 1991, 12, p. 125.
34. Star R.A. Am. J. Med. Sci., 1993, 306, p. 348.