

Регулирующий эффект витамина Е при повышенной физической нагрузке крыс

Н.А. Багдасарян, Р.Г. Бороян, М.А. Симонян

ЕрГМУ им. М.Гераци, Институт биохимии им. Г.Х. Буянтяна НАН РА
375025, Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: физическая нагрузка, витамин Е, кровь, металлопротеины

При повышенной физической нагрузке в результате принудительного плавания крыс в течение 5 ч наблюдается рост липидной перекисидации, а также активности супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы в печеночной ткани животных. С другой стороны, уровень перекисного окисления липидов в плазме понижается, а уровень каталазы, глутатионредуктазы повышается [7]. Это свидетельствует о том, что в условиях физической нагрузки в организме происходит активирование антирадикальных защитных систем [6].

Целью настоящей работы являлось определение изменения под воздействием витамина Е количественных характеристик оксидативного стресса у интактных крыс и у крыс после принудительного плавания с комплексным выявлением молекулярных механизмов возникновения оксидативного повреждения компонентов крови.

Материал и методы

Белые крысы-самцы массой 180–200 г, содержащиеся на полноценном рационе за 30 дней до начала эксперимента, были разделены на три группы (по 10 в каждой). Животные 1 опытной группы (ОГ-1) получали витамин Е ежедневно в течение 15 дней с пищей в средней суточной дозе 50–60 мг/кг массы животного. Животные ОГ-2 получали витамин Е и в конце срока подвергались 20-минутному принудительному плаванию. Контрольную группу составили интактные животные. Животных всех групп декапитировали под легким эфирным наркозом. Кровь животных каждой группы собирали в отдельности и стабилизировали оксалатом натрия (для полного предотвращения свертывания крови добавляли 2% оксалат натрия в объемном соотношении 5:1 с легким перемешиванием смеси в ходе сбора крови).

Металлопротеины крови проокислительного действия – МПД (цитохром В-5 выделяли из растворимой

фракции эритроцитов, цитохромы В-558 I и В-558 II – из сыворотки крови, цитохромы В-558 III и В-558 IV – из мембран эритроцитов, супероксидпродуцирующий липопротеин – супрол – из сыворотки крови) и металлопротеины крови антиоксидантного действия – МАД (Cu, Zn-СОД и каталаза, выделенные из растворимой фракции эритроцитов, церулоплазмин – ЦП и трансферрин – ТФ – из сыворотки крови) одновременно были выделены и очищены по способу М.А. Симоняна [1], избегая использования детергента при получении эритроцитарных мембранных цитохромов В-558 [2]. В ходе получения металлопротеинов отдиализованные белковые фракции сыворотки эритроцитарных мембран и плазматической части эритроцитов подвергали ионообменной хроматографии на отдельных колонках с целлюлозой ДЕ-52 и КМ-52 ("Whatman", Англия) и сефадексом ДЕАЕ А-50 ("Pharmacia", Швеция) с последующей гелефильтрацией на биогеле Р-100 ("Reanal", Венгрия).

Количество металлопротеинов определяли по величине плотности максимальных оптических поглощений, характерных для цитохрома В-5 при 525 нм, цитохромов В-558 I–IV – при 530 нм, супрола – при 430 нм (слабое поглощение), ЦП – при 610 нм, ТФ – при 470 нм. Супероксиддисмутазную активность фракций и супероксидпродуцирующую активность супрола определяли нитротетразолиевым синим методом (НТС), рассчитав проценты ингибирования или прироста образования фармазана (при 560 нм) при восстановлении НТС супероксидными радикалами (O_2^-) в присутствии Cu, Zn-СОД или супрола соответственно. За единицу активности принимали то количество этих белков, которое способно ингибировать или стимулировать образование фармазана на 50% в случае СОД и супрола соответственно. Каталазную активность фракций определяли перманганометрией, рассчитав количество расщепленной перекиси водорода определенным количеством каталазы за 1 мин при 20°C (за единицу каталазной активности принимали то количество фермента, которое способно расщеп-

лять за 1 мин 0,1 М перекиси водорода). Удельную активность приведенных ферментов определяли в расчете на 1 мл эритроцитов или сыворотки крови.

Оптические спектры поглощения регистрировались на спектрофотометре "Specord UV VIS" (Германия) с длиной оптического пути 1 см. В процессе получения и очистки металлопротеинов были использованы центрифуги К-24 и К-70 (Германия) и стеклянные колонки с фильтрами различных диаметров (2х30, 4х20, 2х80 см). Опыт повторялся 4 раза для проверки воспроизводимости полученных результатов. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли общеизвестным методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера с определением критерия Р.

Результаты и обсуждение

Как показали результаты проведенных экспериментов, витамин Е вызывает снижение по сравнению с нормой суммарного расчетного уровня прооксидантных металлопротеинов крови на 68,8% (таблица, ОГ-1). Это в основном происходит за счет снижения эндогенного уровня цитохрома В-5. Снижение же уровня

Таблица

Относительные изменения (%) эндогенных уровней МПД и МАД в опытных группах (ОГ-1, ОГ-2) по сравнению с показателями интактных животных, которые принимаются за 100% ($P < 0,05$, $n=4$)

Металлопротеины	ОГ-1	ОГ-2
Цитохром В-5	-60,1±5,3 ($P < 0,01$)	-80,3±6,2 ($P < 0,01$)
Суммарная фракция цитохромов В-558 I + В-558-II	-35,4±3,1	+19,3±1,9
Суммарная фракция цитохромов В-558 III + В-558-IV	+22,4±2,0	нет изменений
Супрол	+14,3±0,9	-19,1±1,4
O ₂ - продуц. активность супрола	-15,8±2,4	+21,4±2,6
Церулоплазмин	+18,3±2,6	нет изменений
Трансферрин	+12,7±1,2	+27,3±2,8
Cu, Zn-СОД	+20,8±2,3 ($P < 0,01$)	+12,3±1,1 ($P < 0,01$)
Каталаза	-11,4±1,2	+23,5±1,9

генного уровня цитохрома В-5. Снижение же уровня цитохромов В-558 I и В-558 II компенсируется повышением в таких же размерах уровней цитохромов В-558 III и В-558 IV и супрола. У животных ОГ-1 витамин Е практически не изменяет расчетный уровень (суммарный) МАД, при этом понижение уровня СОД и каталазы компенсируется увеличением в таких же размерах уровней ЦП и ТФ, а расчетный суммарный уровень МПД (ОГ-1) и МАД понижен только в эритроцитах почти в такой же степени (69,9%). Однако у животных ОГ-1 в сыворотке крови расчетный уровень МАД повышен значительно (31%), а уровень МПД понижен почти на столько же (35,4%) по сравнению с нормой. Таким образом, рост МАД в ОГ-1 по сравнению с МПД составляет 104,4%. Это свидетельствует о том, что витамин Е приводит к ощутимому повышению уровней сывороточных МАД, но не эритроцитарных, что и создает определенный дисбаланс между уровнями продуцирующими и утилизирующими активные формы кислорода (АФК) металлопротеинами, вызывая соответственное оксидативное повреждение систем крови, что, естественно, является нежелательным фактором для организма.

У животных ОГ-2 (таблица) под воздействием профилактически назначенного витамина Е наблюдается определенное регулирование уровней МПД и МАД. Полное приближение к норме имеет место в эритроцитарных мембранах относительно цитохромов В-558 и ЦП, уровни же остальных МПД и МАД несколько повышаются по отношению к норме, исключение составляют цитохром В-5 и супрол, уровни которых снижены. Суммарный расчетный уровень МПД в ОГ-2 понижен по отношению к норме на 80% (за счет снижения уровня цитохрома В-5), тогда как уровень МАД повышен по сравнению с нормой на 84,5%. Снижение уровня цитохрома В-5 после принудительного плавания может быть связано с гиперкинезией (по предварительным результатам, при гипокинезии наблюдается ощутимый рост уровня цитохрома В-5). Снижение же уровня супрола с синхронным повышением его O₂⁻ - продуцирующей активности, возможно, связано с повышением расходования супрола путем перекисного окисления собственных фосфолипидных остатков и самоактивации *in vivo* [3].

Известно, что при повышенной физической нагрузке у крыс расходование кислорода увеличивается [4], а витамин Е оказывает мембраностабилизирующий эффект и уменьшает уровень АФК [5]. Действуя аналогичным образом, витамин Е приводит к ощутимому увеличению эндогенных уровней МАД при плавании крыс в приведенном режиме. Однако увеличения эндогенных уровней МАД у интактных крыс под воздействием витамина Е не наблюдается. Можно констатировать, что адаптационные меха-

низмы регуляции метаболизма АФК под влиянием витамина Е при повышенной физической нагрузке (плавание) и в ее отсутствие действуют неодинаковым образом.

Таким образом, витамин Е, назначаемый в профилактическом режиме, оказывает определенный регу-

лирующий эффект при повышенной физической нагрузке (принудительное плавание), в основном приближая к норме уровни МПД и МАД – регуляторов метаболизма АФК.

Поступила 13.07.02

Е վիտամինի կարգավորիչ ազդեցությունը առնետների մոտ ֆիզիկական բարձր ծանրաբեռնվածության ժամանակ

Ն.Ա. Բաղդասարյան, Բ.Գ. Բորոյան, Մ.Ա. Սիմոնյան

Օրգանիզմի պաշտպանիչ համակարգերը տարբեր կերպով են անդադարում E-վիտամին թողած ազդեցությանը ինտակտ եւ ֆիզիկական բարձր ծանրաբեռնվածության ենթարկված (ստիպողական լող) առնետների մոտ՝ բարձրացնելով արյան մեջ հակաօքսիդանտային գործողության մեծա-

ղապրտեխնիկայի էնդոգեն քանակները, հիմնականում թուլացնելով օքսիդատիվ սթրեսի կողմից հարուցված գործոնները ֆիզիկական բարձր ծանրաբեռնվածության ժամանակ:

The regulating effect of vitamin E in rats at physical load

N.A. Baghdasaryan, R.G. Boroyan, M.A. Simonyan

The defending systems of the organism react differently to the influence of vitamin E in intact rats and in those at physical load (compulsory swimming) increasing the endogenous levels of the blood

metalloproteins antioxidant action, on the whole decreasing the factors induced by the oxidative stress initiated by high physical load.

Լիտերատուրա

1. Սիմոնյան Մ.Ա., Սիմոնյան Գ.Մ., Մելկոնյան Ք.Յ. Пром.собств. (официальный бюлл. Армпатента), 1987, N 1(3), с.34.
2. Սիմոնյան Մ.Ա., Սիմոնյան Գ.Մ., Գրիգորյան Գ.Գ., Սիմոնյան Ք.Յ. Лицензия изобр. Армпатента, N 908, 2001.
3. Սիմոնյան Գ.Մ., Բաբայան Մ.Ա., Սիմոնյան Ք.Յ., Սիմոնյան Մ.Ա. Биол. ж. Армении, 1999, 1, с.18.
4. Atalay M., Seene T., Hanninen O., Sen C.K. Acta Physiol. Scand., 1996, 158, p. 129.
5. Balakrishnan S.D., Andeasha C.V. Free Radic. Biol. Med., 1997, 22, p. 509.
6. Siems W.G., Brenke R., Sommerburg O., Grune T. QJM, 1999, 92, p.193.
7. Kishihara C. Hokkaido Idaku, Zasshi, 1980, 55, p.575.