

Влияние длительной гипокинезии на уровень катехоламинов, серотонина и активность митохондриальной сукцинатдегидрогеназы миокарда и печени белых крыс

О.П. Соцкий, В.А. Карапетян, И.Ж. Лорян, Л.Г. Жамгарян

ЕрГМУ им. М.Гераци, кафедра фармакологии

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: гипокинезия, сукцинатдегидрогеназа, катехоламины, свободные жирные кислоты

В условиях современной жизнедеятельности человек постоянно сталкивается с различного рода экстремальными и стрессорными факторами. Одним из них является ограничение двигательной активности – гипокинезия (ГК). Считается, что ГК – это хронический стресс, сопровождающийся нарушениями со стороны метаболизма, в частности энергетического [11, 14]. Учитывая важную роль энергетического обмена в ходе адаптационного процесса, становится понятным интерес к исследованиям, направленным на выяснение процессов, лежащих в основе снижения образования макроэргов в клетке, и влияние на него гормональных сдвигов, вызванных стрессом [6].

Целью данного исследования является выяснение характера сдвигов в активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) митохондрий печени и сердца в зависимости от уровня катехоламинов (КА) и серотонина (5-ОТ) в различные сроки ГК.

Материал и методы

В работе использовались белые беспородные крысы массой 180–200 г. ГК достигалась помещением крыс в тесные клетки-пеналы. Животных забивали на 15, 30 и 45-е сутки. Контролем служили интактные крысы. Митохондрии из тканей печени и миокарда выделяли методом дифференциального центрифугирования на холоду. Активность СДГ митохондрий определяли ферроцианидным методом [13]. Белок митохондрий определяли по методу Lowry [17]. Содержание КА и 5-ОТ в тканях оценивали методом ВЭЖХ на хроматографе фирмы "Биохром" (Россия). Хроматографическая система включала стандартную аналитическую колонку, содержащую носитель "Nucleosil 100 C18", электрохимический детектор "ДЭ-108", насос "Марафон" серии 2. Потенциал рабочего электрода против электрода сравнения составлял

0,85V, скорость элюции – 0,4 мл/мин. Подвижная фаза состояла из цитратфосфатного буфера, содержащего 2 мМ ЭДТА, 1,5 мМ октилсульфоната натрия (рН–3,2). Содержание КА и 5-ОТ в тканях выражали в мкг/г замороженной в жидком азоте ткани. Жирные кислоты определяли в сыворотке крови крыс по методу Schuster [19].

Полученные результаты обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

На рис.1 представлены данные по сдвигам в активности СДГ митохондрий мозга, печени и сердца в условиях продолжительной ГК. Выбор изучения активности СДГ митохондрий в условиях ГК основывался на литературных данных, свидетельствующих о важной роли окисления янтарной кислоты в регуляции энергетики клетки в условиях стресса [18].

Как видно из данных, приведенных на рис. 1, сдвиги в активности СДГ митохондрий носят фазный характер, причем степень их выраженности зависит и от вида ткани. Одной из причин различий в количественном ответе СДГ митохондрий печени и сердца при ГК являются особенности биологического статуса этих тканей. К ним относится разное содержание сукцината, АТФ, неодинаковое редокс-состояние пиридинных нуклеотидов. Так, Р.Н. Ахмеров и соавт. [2] выявили тканеспецифический характер ответа митохондрий при стрессе: в митохондриях сердца наблюдается более выраженное нарушение окисления янтарной кислоты, в печени – нарушение окисления НАД-зависимых субстратов. Возможно, с этих позиций следует трактовать разную степень ингибирования и активации СДГ митохондрий печени и сердца в исследуемые сроки ГК. На правоту такой интерпретации указывают особенности сдвигов в активности

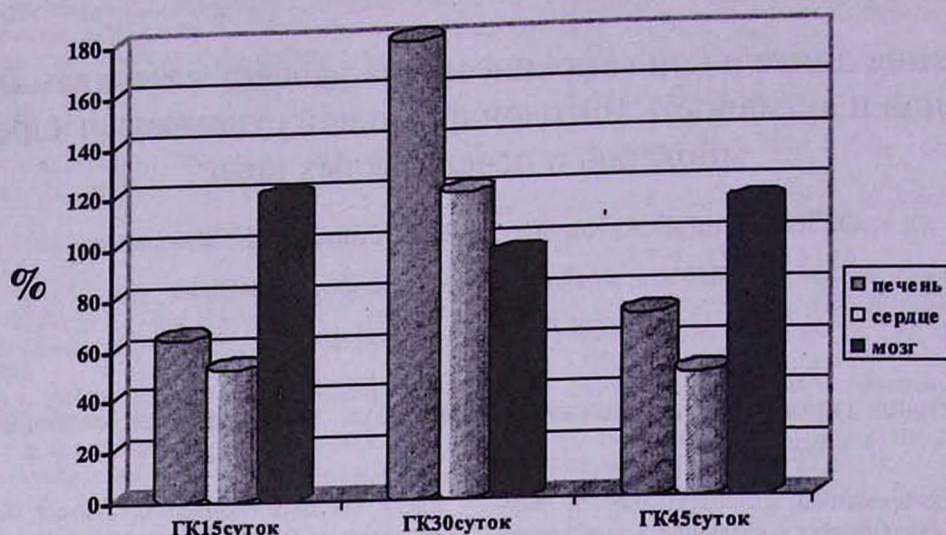


Рис. 1. Изменение в активности СДГ митохондрий тканей печени, сердца и мозга в различные сроки ГК (за 100% взята активность СДГ митохондрий тканей животных интактной группы).

СДГ митохондрий мозга в исследуемые сроки ГК (рис.1). Аналогичные сдвиги в активности СДГ митохондрий сердца на 15- и 45-е сутки ГК выявили Б.М. Курцер и соавт. [8]. Однако ими, в отличие от нас, не было обнаружено повышения активности СДГ митохондрий сердца на 28-е сутки. Эти авторы связывают снижение активности фермента в сердечной и мозговой тканях при ГК не столько с накоплением щавелевоуксусной кислоты – естественного ингибитора СДГ, сколько с увеличением в тканях кортикостерона, угнетающего тканевое дыхание.

Последний факт, несомненно, играет определенную роль в нарушении дыхания митохондрий, ибо, согласно современным представлениям, стресс представляет собой реакцию в ответ на выброс КА, сменяющихся доминированием кортикостероидов, а затем антагонистов адреналина – ацетилхолина и серотонина. Однако Ю.А. Ганин [3] считает, что угнетение активности ряда ферментов цикла Кребса (НАД-ИЦДГ, СДГ) на 45-е сутки ГК обусловлено снижением митохондриального белка [8]. Следовательно, данные, приведенные на рис. 1, свидетельствуют о том, что на 15- и 45-е сутки ГК в митохондриях печени и сердца заметно подавляется сукцинатзависимое дыхание. Особенно следует отметить более выраженное ингибирование СДГ митохондрий сердца по сравнению с СДГ митохондрий печени. Что касается повышения активности СДГ митохондрий печени и сердца

на 30-е сутки, то мы склонны это объяснить тем, что в этот срок ГК адаптационные процессы, возможно, достигают своего максимума. На это указывают данные ряда исследователей, свидетельствующие о том, что на 30-е сутки ГК наблюдается либо нормализация ряда биохимических показателей, либо тенденция к их стабилизации [4, 14].

Установив характер сдвигов в активности СДГ митохондрий миокарда и печени, мы в последующих исследованиях попытались выяснить наличие или отсутствие прямой связи между наблюдаемыми сдвигами и уровнем тканевых КА и 5-ОТ в исследуемые сроки ГК. Необходимость подобных исследований диктовалась, в первую очередь, имеющимися в литературе данными о влиянии КА на функционирование митохондрий. В этом плане наиболее изучено действие адреналина (А) на окислительные процессы в митохондриях. Работами М.Н. Кондрашовой и сотрудников [5] было установлено, что эффект А зависит от концентрации: в малых концентрациях А стимулирует окисление сукцината, а в больших – ингибирует. По их мнению, ингибирование сукцинатзависимого дыхания митохондрий под действием А может иметь место и при продолжительных стрессах.

Как следует из данных таблицы, на 15-е сутки ГК во всех исследованных тканях наблюдается увеличение содержания А, особенно выраженное в печени и надпочечниках при неизменности количества норад-

реналина (НА) в них. В связи с этим общее содержание КА в печени и надпочечниках заметно возрастает (на 165 и 60% соответственно по сравнению с контролем). Эти данные свидетельствуют о высокой активности симпатoadrenalовой системы (САС) в данный срок ГК. Что касается роли повышенного содержания А в печени и его влияния на подавление активности СДГ митохондрий, то можно предположить, что в этот период ГК активируется одна из моноаминоксидаз митохондрий, приводящая к накоплению в них продукта хиноидного окисления КА – адренохрома, который способен подавлять активность СДГ митохондрий [12]. Аналогичным образом невозможно объяснить ингибирование СДГ митохондрий сердца в этот срок, так как из таблицы видно, что содержание А в этот срок увеличивается незначительно и статистически недостоверно. На 30-е сутки ГК также наблюдаются сдвиги в тканевом содержании КА, которые отличаются от сдвигов, наблюдаемых на 15-е сутки. Так, в печени в данный срок наряду с повышением уровня А увеличивается и количество НА. В сердце в этот период выявлен резкий дефицит А и заметное увеличение 5-ОТ. Все эти сдвиги происходят на фоне статистически недостоверного повышения содержания НА в сердце. В надпочечниках в этот период наблюдается статистически недостоверное повышение уровня А и 5-ОТ и статистически достоверное повышение уровня НА.

Связать сдвиги в содержании КА в печени и серд-

це с повышением активности СДГ митохондрий в этот срок также трудно. Так, согласно литературным данным, А и НА обладают противоположным воздействием на СДГ митохондрий печени [12]. В сердце эти КА при увеличении их содержания в миокарде активируют СДГ митохондрий. Однако дефицит А и статистически недостоверное увеличение НА в сердечной ткани не позволяют связать повышение активности СДГ митохондрий сердца на 30-е сутки ГК с выявленными сдвигами. Однако если исходить из позиции, что при ГК происходит нарушение терморегуляции организма животных вследствие выключения из этого процесса скелетных мышц, вносящих основной вклад в теплопродукцию организма, то становится понятным повышение активности СДГ митохондрий печени и сердца на 30-е сутки, когда адаптационные механизмы наиболее выражены. На правомерность такого объяснения данного факта указывают работы В.И. Кулинского и соавт. [7], которые выявили при гипотермии повышение активности НАД-ИЦДГ, СДГ митохондрий. Повышение активности этих ферментов они связывают с увеличением в тканях содержания НА. По их данным, введение в организм животных НА в дозе 10^{-6} М вызывает активацию митохондриальных ферментов печени и сердца. Важно отметить, что предварительное введение животным антагониста β -адренорецепторов анаприлина (пропранолол) полностью снимает активацию ферментов. Данный факт

Таблица

Влияние ГК различной продолжительности на содержание катехоламинов и серотонина (мкг/г ткани) в тканях печени, сердца и надпочечников ($M \pm SD$)

Вид ткани	Катехоламины, серотонин	Контроль (n=7)	Гипокинезия		
			15 сут. (n=10)	30 сут. (n=10)	45 сут. (n=10)
Печень	А	2,23 $\pm$ 0,37	5,92 $\pm$ 0,52*	4,01 $\pm$ 0,53*	4,58 $\pm$ 1,12*
	НА	4,08 $\pm$ 0,85	5,06 $\pm$ 1,23	6,6 $\pm$ 1,55*	6,31 $\pm$ 0,64*
	Σ КА	6,31	10,98	10,61	10,89
	5-ОТ	1,23 $\pm$ 0,13	1,01 $\pm$ 0,14*	1,24 $\pm$ 0,35	1,16 $\pm$ 0,32
Сердце	А	1,99 $\pm$ 0,34	2,26 $\pm$ 0,42	0,93 $\pm$ 0,2*	1,23 $\pm$ 0,41*
	НА	2,91 $\pm$ 0,86	2,2 $\pm$ 0,56	3,43 $\pm$ 0,68	2,75 $\pm$ 0,58
	Σ КА	4,9	4,46	4,36	3,98
	5-ОТ	0,61 $\pm$ 0,16	0,66 $\pm$ 0,07	1,25 $\pm$ 0,2*	0,57 $\pm$ 0,17
Надпочечники	А	155,2 $\pm$ 41,04	284,5 $\pm$ 34,88*	168,87 $\pm$ 27,61	315,5 $\pm$ 75,59*
	НА	42,83 $\pm$ 8,6	31,92 $\pm$ 2,34	51,74 $\pm$ 17,03*	48,15 $\pm$ 23,88
	Σ КА	198,03	316,08	220,61	363,65
	5-ОТ	1,96 $\pm$ 0,96	2,41 $\pm$ 0,31	2,58 $\pm$ 0,44	2,2 $\pm$ 0,27

Примечание. Σ КА – сумма адреналина и норадреналина

* статистически достоверные данные по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

свидетельствует о важной роли эндогенных КА и β -адренорецепторных механизмов в стимуляции НАД-ИЦДГ и СДГ при охлаждении.

На 45-е сутки ГК (таблица) также выявляются сдвиги в содержании эндогенных КА как по сравнению с контролем, так и с предыдущими сроками. Так, по сравнению с 30-ми сутками, наибольшие сдвиги в содержании КА наблюдаются в печени и надпочечниках. В миокарде в этот период содержание НА и 5-ОТ нормализуется, уменьшается дефицит А по сравнению с 30-ми сутками.

Повышение уровня А, НА в печени и надпочечниках на 45-е сутки ГК свидетельствует о второй волне активации САС. Не исключается, что активацией САС в этот период объясняется аналогичная направленность в сдвигах активности СДГ митохондрий, как мы наблюдали на 15-е сутки. Однако степень выраженности торможения активности СДГ митохондрий отличается и зависит от вида ткани. Исходя из литературных данных, мы в определенной степени эти сдвиги можем связать с изменениями эндогенного содержания КА (увеличение НА в печени, дефицит А в сердце). Однако разнонаправленность количественных сдвигов КА в исследуемых тканях при однонаправленности изменений в активности дегидрогеназ на 15- и 45-е сутки ГК не дает нам оснований считать определяющей роль сдвигов в уровне КА в изменении активности СДГ митохондрий.

Учитывая, что при любом стрессе (острый или

хронический) вследствие изменений в гормональном гомеостазе наблюдаются выраженные сдвиги в содержании глюкозы, свободных жирных кислот (СЖК) в тканях и крови, мы в последующих исследованиях провели изучение динамики уровня СЖК в крови.

Как показали исследования, вне зависимости от степени активации САС во все сроки ГК выявляется высокий уровень СЖК в сыворотке крови, превышающий в 2–2,3 раза уровень контрольных животных. Следует отметить, что уровень СЖК крови наряду с КА является важным индикатором активности САС. По литературным данным, использование жирных кислот (ЖК) в качестве основного энергетического субстрата в митохондриях является основной причиной нарушения работы цикла Кребса [9]. Из-за изменения соотношения окисления глюкоза/ЖК в митохондриях особенно страдает сердечная мышца в отличие от печени (что подтверждается вышеприведенными исследованиями), так как она не обладает механизмами, способствующими снижению уровня ацетил-СоА за счет направления последнего на синтез холестерина, кетоновых тел. Кроме того, для образования эквивалентного количества АТФ при окислении ЖК требуется на 10% больше кислорода по сравнению с глюкозой. Последний факт приобретает определенное значение в нарушении работы сердечной мышцы при ГК, так как установлено, что изменения в микроциркуляции приводят к частичной ишемизации тканей [1].

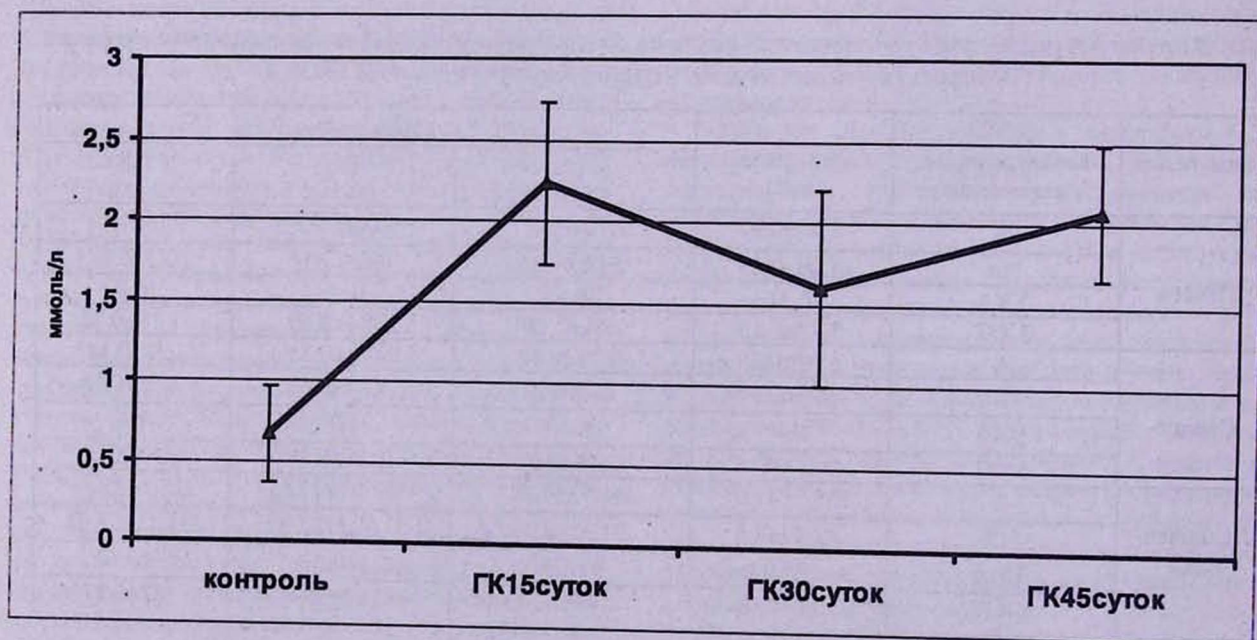


Рис. 2. Изменения в содержании СЖК в сыворотке крови белых крыс в различные сроки ГК (все изменения в пределах достоверности $p < 0,01$).

Более выраженное повреждающее действие избытка ЖК на сердечную мышцу послужило для кардиологов основанием к разработке медикаментозного воздействия на энергетический метаболизм миокарда в условиях инфаркта, ИБС, направленного на стимуляцию внутриклеточного обмена глюкозы и подавления метаболизма ЖК. Из целого ряда апробированных препаратов (никотиновая кислота, дихлорацетат, L-карнитин и т.д.) наиболее эффективным оказался три-метазидин (предуктал) [15]. По данным фармацевтической группы "Сервье", предуктал подавляет β -окисление ЖК, в результате чего окисление глюкозы становится одним из основных источников энергии в

сердечной мышце.

Таким образом, наши данные по изучению сдвигов в содержании КА в тканях печени, сердца и надпочечников, СЖК в крови свидетельствуют о фазности изменения активности САС, наиболее выраженной на 15- и 45-е сутки, в то время как на 30-е сутки она наименее активна. Увеличение содержания СЖК в крови при ГК создает метаболический фон, который нивелирует непосредственное действие КА на СДГ митохондрий печени и сердца. В условиях ГК наиболее выражено подавляется активность СДГ митохондрий сердца.

Поступила 15.01.04

Երկարատև սակավաշարժության ազդեցությունը կադեխոլամինների, սերոտոնինի պարունակության և միտոքոնդրիալ սուկցինատդեհիդրոգենազի ակտիվության վրա սպիտակ առնետների սրտամկանում և լյարդում

Օ.Պ. Սոցկի, Վ.Ն. Կարապետյան, Ի.Ժ. Լոռյան, Լ.Գ. Ժամհարյան

Սպիտակ առնետների լյարդում, սրտամկանում և մակերկամներում ԲԱՀԶ-ի մեթոդով որոշվել է կադեխոլամինների և սերոտոնինի պարունակությունը սակավաշարժության 15-, 30- և 45-րդ օրերին: Սակավաշարժության 15- և 45-րդ օրերին մակերկամներում և լյարդում կադեխոլամինների քանակի առավել արտահայտված բարձրացումը՝ 30-րդ օրվա համեմատ, վկայում է սիմպաթոադրենալային համակարգի ակտիվության փոփոխման փուլայնության մասին:

Լյարդում և սրտամկանում սակավաշարժության հետազոտվող ժամկետներում կադեխոլամինների պարունակության և միտոքոնդրիալ սուկցինատ-

դեհիդրոգենազի ակտիվության համեմատումը չհայտնաբերեց նրանց միջև ուղղակի կապի առկայություն:

Սակավաշարժության հետազոտվող օրերին սպիտակ առնետների արյան մեջ ազատ ճարպաթթուների քանակի բարձրացումը հիմք է տալիս ենթադրելու, որ լյարդի և հատկապես սրտամկանի սուկցինատդեհիդրոգենազի ընկճման հիմնական պատճառը միտոքոնդրիալ սուկցինատդեհիդրոգենազի օքսիդացմանը, որը բերում է Կրեբսի ցիկլի ֆերմենտների և, հատկապես, սուկցինատդեհիդրոգենազի, աշխատանքի խաթարմանը:

The influence of prolonged hypokinesia on the levels of catecholamines, serotonin and mitochondrial succinate dehydrogenase activity in white rat heart and liver

O.P. Sotski, V.H. Karapetyan, I.Zh. Loryan, L.G. Jamgaryan

The changes in contents of catecholamines and serotonin in liver, heart and adrenal glands were revealed by HPLC method on the 15, 30 and 45th days of hypokinesia.

The fact that the increase of the levels of catecholamines in adrenal glands and liver was more expressed on the 15th and 45th days of hypokinesia compared to the 30th day testify that the changes in sympathoadrenal system

have a phase nature.

The comparison between catecholamines and mitochondrial succinate dehydrogenase activity in liver and heart in investigated periods of hypokinesia did not reveal any direct correlations.

The increased levels of blood free fatty acids in rats allow us to suppose that the inhibition of succinate dehy-

drogenase in heart and liver was due to transfer of mainly free fatty acids to oxidation in that relationship.

The latter leads to the disturbance of enzyme activity

participating in TCA cycle, particularly succinate dehydrogenase.

Литература

1. Аюбян В.П. Гипокинезия и мозговое кровообращение. М., 1999.
2. Ахмедов Р.Н., Саакян И.Р. Биофизика живой клетки. Пушино, 1973, 4, 1, с. 51.
3. Ганин Ю.А. Кардиология, 1983, 23, с. 87.
4. Еришников С.М. Вопросы мед. химии, 1987, 33, с. 87.
5. Кондрашова М.Н., Бабский А.М. Укр. биохим. журн., 1986, 58, 5, с. 49.
6. Кондрашова М.Н. Молекулярные механизмы в регуляции энергетического обмена, Пушино. 1987, с. 140.
7. Кулинский В.И., Медведев А.И., Кунцевич А.К. Вопросы мед. химии, 1986, 32, 5, с. 84.
8. Курцер Б.М., Зорькина Т.А. Пат. физ. эксперим. терапия, 1987, 1, с. 11.
9. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. М., 1980.
10. Медведев А.Е. Вопросы мед. химии, 1990, 36, 5, с. 18.
11. Соцкий О.П., Аюбян В.П., Жамгарян Л.Г., Жамгарян А.Г. Вопросы мед. химии, 2002, 48, 5, с. 485.
12. Танбергенев С.О. Вопросы мед. химии, 1982, т XX, 2, с. 52.
13. Ущунко Н.Д. Методы биохимических исследований. Л., 1982.
14. Федоров И.Ф. Обмен веществ при гиподинамии. Проблемы космической биологии. М., 1982.
15. Шахнович Р.М. РМЖ, 2001, 9, 15, с. 5.
16. Breton L., Clot J.P., Bourianes J., Brandy M. CR Sciences soc. biol. fil., 1987, 181:3.
17. Lowry O.H., Rosebrough N.I., Farr A.L., Randall R.I. J. Biol.Chem., 1951, 193, 1:265.
18. Saakyan I.R., Saakyn S.G., Kondrashova M.N. Biochemistry, 2001, Moscow, 66, 7:795.
19. Schuster H.G. Pilz K.L. Med. labor.-diagn., 1979, 20:212.