

УДК 577.352.3

СИСТЕМНЫЙ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ

¹Дзугкоев С.Г., ¹Можаева И.В., ²Гиголаева Л.В., ¹Тедтеева А.И.,
¹Такоева Е.А., ¹Дзугкоева Ф.С., ¹Маргиева О.И.

¹Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН
и Правительства РСО–Алания, Владикавказ, e-mail: etakoeva@mail.ru;

²ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Владикавказ

Хроническая кобальтовая интоксикация, вызванная парентеральным введением хлорида кобальта 6 мг/кг массы тела крысам линии «Wistar», приводит к генерации активных форм кислорода, индуцирующей перекисное окисление липидов в мембранах эритроцитов, гомогенатах почечной, печеночной и миокардиальной тканей. При этом происходит угнетение активности супероксиддисмутазы, тогда как активность каталазы и концентрация церулоплазмينا повышаются. Липопероксидация и ее метаболиты приводят к нарушению продукции оксида азота и его биодоступности, что сопровождается развитием дисфункции эндотелия, являющейся патогенетическим звеном повреждения цитоплазматических мембран внутренних органов: почек, печени и миокарда. Об этом свидетельствует снижение активности Na^+ , K^+ -АТФ-азы в гомогенатах внутренних органов и повышение в сыворотке крови активности органоспецифических ферментов: АЛТ, АсАТ, глутамилтрансферазы и экскреторного – щелочной фосфатазы.

Ключевые слова: оксид азота, перекисное окисление липидов, антиокислительная система, почки, печень, миокард

SYSTEM OXIDATIVE STRESS AND BIOCHEMICAL MARKERS OF THE DAMAGE OF INTERNAL ORGANS

¹Dzugkoev S.G., ¹Mozhaeva I.V., ²Gigolaeva L.V., ¹Tedtoeva A.I.,
¹Takoeva E.A., ¹Dzugkoeva F.S., ¹Margieva O.I.

¹Institute of Biomedical Research of Vladikavkaz Scientific Center of RAS and the Government
of North Ossetia-Alania, Vladikavkaz, e-mail: etakoeva@mail.ru;

²North Ossetian State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladikavkaz

Cobalt Chronic intoxication caused by parenteral administration of 6 mg/kg body weight of cobalt chloride rats «Wistar», leading to generation of reactive oxygen species induce lipid peroxidation in red cell membranes, kidney homogenates, hepatic and myocardial tissues. Thus there is a suppression of the activity of superoxide dismutase, catalase and whereas ceruloplasmin concentration increased. Lipid peroxidation and its metabolites is likely to disrupt production of nitric oxide and its bioavailability, which is accompanied by the development of endothelial dysfunction, which is the pathogenetic link the cytoplasmic membrane damage internal organs: kidneys, liver and myocardium. This is evidenced by decreased activity Na^+ , K^+ -ATPase in homogenates of internal organs and increases in the serum activity of organ-specific enzymes: ALT, AST, glutamyltransferase and excretory – alkaline phosphatase.

Keywords: nitric oxide, lipid peroxidation, antioxidant system, the kidney, hepar, myocardium

Избыточное поступление в организм кобальта индуцирует перекисное окисление липидов и способствует формированию окислительного стресса, сопровождающегося дисфункцией эндотелия, повреждением биологических макромолекул, мембранных структур клеток и ферментов [8]. Принимая на себя влияние солей тяжелых цветных металлов, эндотелий становится прямой мишенью для повреждения, и эндотелиальная дисфункция играет патогенетическую роль в повреждении мембран клеток внутренних органов в условиях окислительного стресса.

Цель исследования – изучение биохимических и функциональных показателей гемодинамических нарушений и повреждений внутренних органов при кобальтовой интоксикации.

Материал и методы исследования

Для реализации данной цели исследования проведены на крысах-самцах линии «Wistar» одной возрастной группы (10–14 мес.), массой 220–250 г. У экспериментальных крыс моделировали кобальтовые ангиопатии парентеральным введением хлорида кобальта в дозе 6 мг/кг веса животного в течение месяца. Содержание крыс в виварии и проведение экспериментов соответствовали «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», разработанным и утвержденным МЗ СССР (1977 г.), а также принципам Хельсинкской декларации (2000 г.). В эксперименте мы исследовали следующие показатели: интенсивность ПОЛ в эритроцитах, гомогенатах почечной, печеночной и миокардиальной тканей по данным изменения концентрации МДА, определяемого колориметрическим методом с тиобарбитуровой кислотой [9]; состояние антиокислительной системы (АОС) оценивали по активности каталазы [6] и СОД по методу аутоокисления адреналина, концентрацию церулоплазмينا

(ЦП) в сыворотке крови – метод Равина [5]. Изучали активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы в корковом и мозговом слоях почечной, а также в печеночной и миокардиальной тканях по приросту неорганического фосфора в среде инкубации по методу Scou TC (1957). Содержание в плазме крови стабильных суммарных конечных метаболитов оксида азота (NO_2^- и NO_3^- или NO_x) исследовали с помощью реактива Грисса в реакции деазотирования, согласно модифицированному экспресс-методу [7]. Для оценки активности органоспецифических ферментов определяли в крови активность трансаминаз (АлАТ, АсАТ), ГГТП и щелочной фосфатазы наборами фирмы «Витал».

Статистическую обработку результатов проводили методом вариационной статистики, принимая во внимание вариации динамических рядов, и оценивали корреляцию, учитывая ее достоверность по стандартным таблицам (Л.С. Каминский) с использованием программы статанализа «Statistika 6.0 for Windows» фирмы «Stat Soft, Juc» и «Microsoft Office Excel 2003».

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ полученных результатов по определению содержания кобальта в плазме крови и моче выявил прямые корреляционные связи между дозой вводимого хлорида кобальта и содержанием в плазме крови ($r = +0,66$) при подкожном введении хлорида кобальта в течение месяца ($r = +0,61$) и в моче в течение 1 месяца после введения соли ($r = +0,72$). На фоне хронической интоксикации хлоридом кобальта в дозе 6 мг/кг развивается окислительный стресс, который приобретает системный характер, повышается концентрация МДА в эритроцитах, гомогенатах почечной, печеночной и миокардиальной тканей сравнительно с контрольной группой (рис. 1).

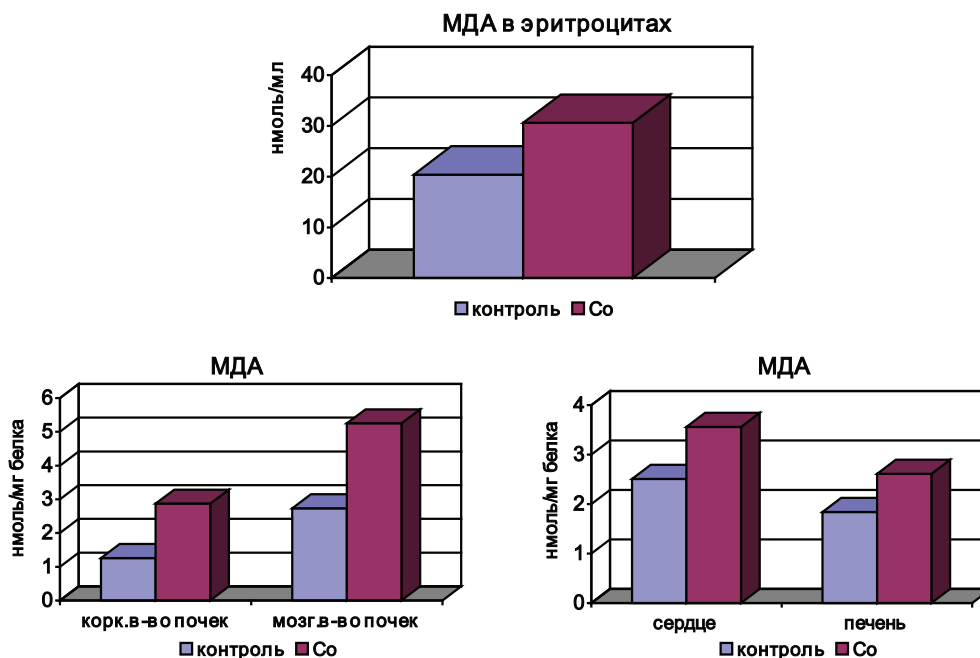


Рис. 1. Изменение биохимических показателей крови и внутренних органов на фоне интоксикации хлоридом кобальта

Анализ данных активности ферментов АОС организма показал, что в условиях окислительного стресса у крыс с интоксикацией хлоридом кобальта в течение 1 месяца выявляется снижение активности СОД в крови ($p < 0,001$), тогда как активность каталазы и концентрация церулоплазмينا существенно возрастают ($p < 0,001$) (рис. 2).

На фоне развившегося системного окислительного стресса у крыс с кобальтовой интоксикацией снижается концентрация в сыворотке крови суммарных метаболитов NO (рис. 2). Корреляционный анализ пока-

зал наличие отрицательной сильной связи между повышением МДА в крови и снижением концентрации суммарных метаболитов NO ($r = -0,74$).

Эти изменения метаболизма NO и продукты ПОЛ способствуют развитию эндотелиальной дисфункции, нарушению проницаемости клеточных мембран внутренних органов: почек, печени и миокарда. Об этом свидетельствуют данные угнетения активности мембранного фермента Na^+ , K^+ -АТФ-азы в корковом и мозговом слоях почечной ткани, а также в гомогенатах печени и миокарда (рис. 3).

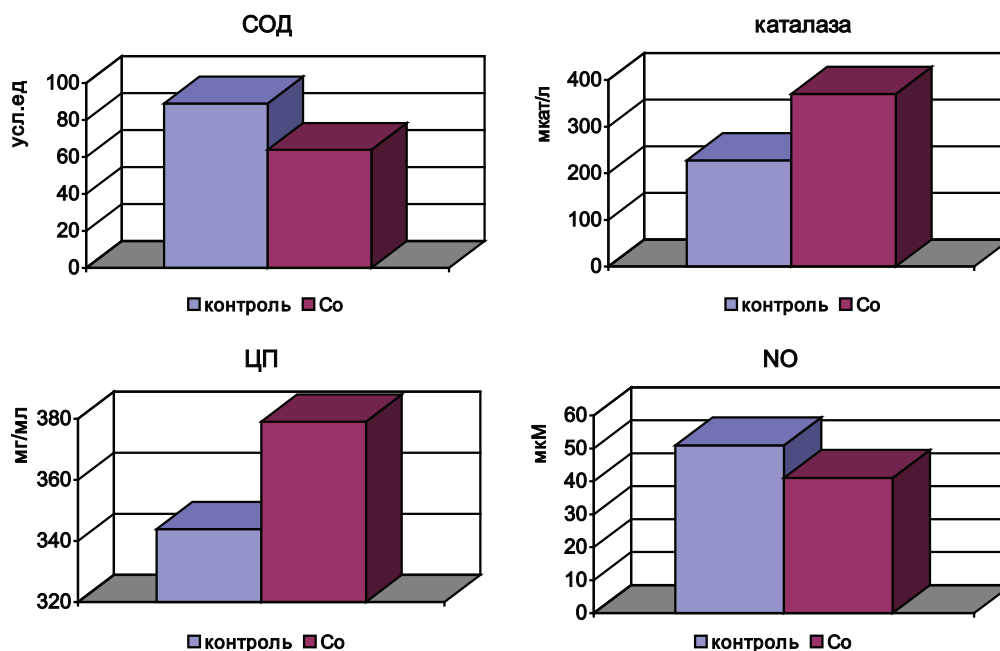


Рис. 2. Активность ферментов АОС в условиях кобальтовой интоксикации у крыс

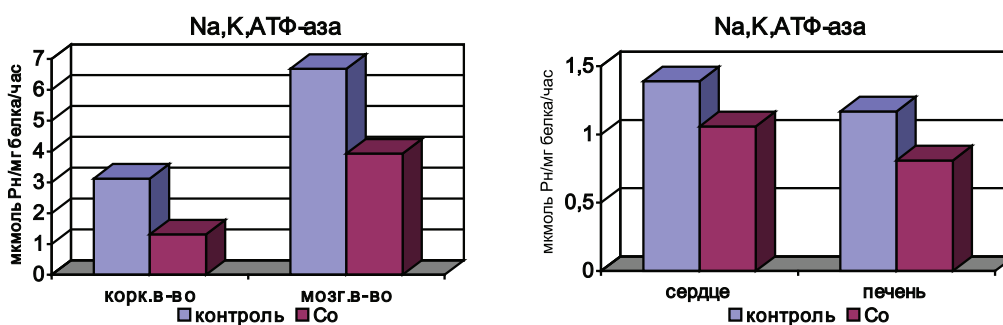


Рис. 3. Активность Na⁺, K⁺-АТФ-азы внутренних органов у крыс с экспозицией хлоридом кобальта

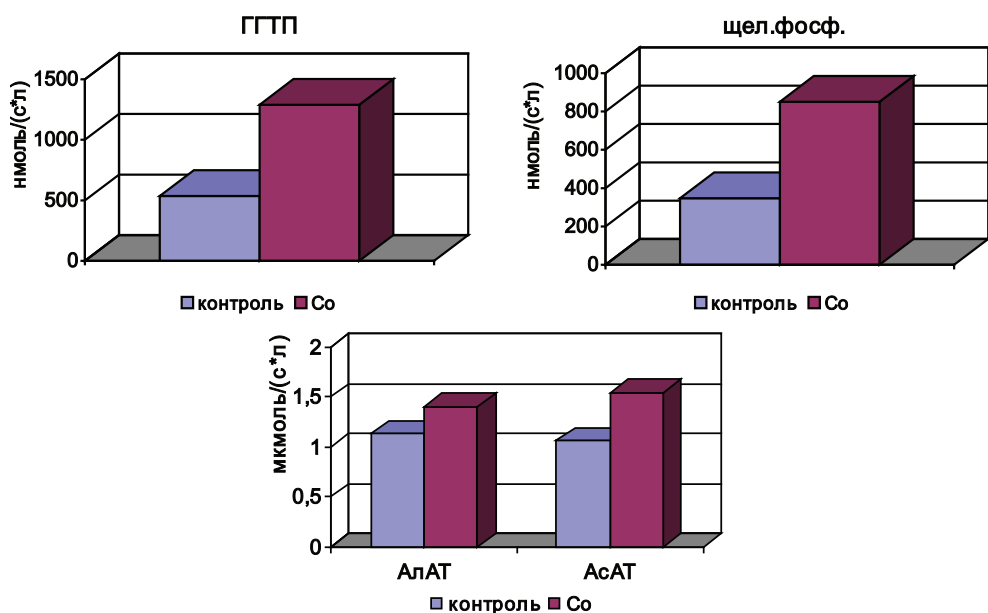


Рис. 4. Активность ферментов сыворотки крови в условиях экспериментальной кобальтовой интоксикации

Биохимическими маркерами повышения проницаемости клеточных мембран являются изменения активности ферментов сыворотки крови. В результате активации ПОЛ происходит нарушение проницаемости клеточных мембран кардиомиоцитов и гепатоцитов, повышение в крови активности трансаминаз: АлАТ, АсАТ, мембранного фермента – ГГТП и экскреторного щелочной фосфатазы (рис. 4).

Заключение

При хронической кобальтовой интоксикации в течение 1 месяца отмечается развитие системного окислительного стресса, который сопровождается снижением содержания суммарных метаболитов NO и повреждением клеточных мембран внутренних органов – почек, печени и миокарда по данным угнетения активности Na^+ , K^+ -АТФ-азы. Другим показателем нарушения проницаемости цитоплазматических мембран внутренних органов является повышение в сыворотке крови следующих ферментов: АлАТ, АсАТ, ГГТП и щелочной фосфатазы. Участие дисфункции эндотелия в нарушении функциональной способности внутренних органов установлено в нашей лаборатории в других исследованиях [3].

Список литературы

1. Бондаренко Л.В. Генетическая токсикология // Экологическая генетика. – 2007. – Т.5. № 1. – С. 39–41.
2. Бурдин Н.В. Кобальт-никелевые арсенидные руды и проблемы биоэкологии / Н.В. Бурдин, В.В. Гребенникова, В.И. Лебедев, А.А. Монгуш, В.Н. Бурдин // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 7. – С. 64–64.
3. Дзугкоев С.Г. Биохимические маркеры дисфункции эндотелия при экспериментальном сахарном диабете / С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева, И.В. Можаяева, Ф.С. Дзугкоева, Ж.Р. Битарова // Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине: 2 международная научно-практическая конференция. – СПб., 2011. – Т. 3. – С. 131–133.
4. Дзугкоева Ф.С. Биохимические и функциональные показатели дисфункции эндотелия у крыс с хронической кобальтовой интоксикацией / Ф.С. Дзугкоева, Л.В. Гиголаева, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева, В.Т. Дряев, А.Р. Кусова // Владикавказский медико-биологический вестник. – 2012. – Вып. 23. – Т. 15. – С. 43–47.
5. Камышников В.С. Определение содержания (активности) церулоплазмينا / В.С. Камышников // Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Минск. – 2003. – Т.2. – С. 71–79.
6. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
7. Метельская В.А. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови челове-

ка / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 19–24.

8. Охрименко С.М. Адаптация ферментов липидного и азотистого обмена у крыс при оксидативном стрессе, вызванном солями кобальта и ртути / С.М. Охрименко, Н.Ю. Гурьева, П.А. Калиман // Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Серия: биология. – 2005. – № 1–2. – С. 56–60.

9. Asakawa T., Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituricacid test, for detecting lipid hydroperoxides // Lipids. – 1980. – Vol. 15. – P. 137–140.

References

1. Bondarenko L.V. Geneticheskaja toksikologija, Jekologicheskaja genetika. 2007. T.5. no. 1. pp. 39–41.
2. Burdin N.V., Grebennikova V.V., Lebedev V.I., Mongush A.A., Burdin V.N. Kobal't-nikelevye arsenidnye rudy i problemy biojelogii, Uspehi sovremennoego estestvoznaniya. 2008. no. 7. pp. 64–64.
3. Dzugkoev S.G., Takoeva E.A., Mozhaeva I.V., Dzugkoeva F.S., Bitarova Zh.R. Biohimicheskie markery disfunkcii jendotelija pri jeksperimental'nom saharanom diabete. 2 mezh-dunarodnaja nauchno-prakticheskaja konferencija «Vysokie tehnologii, fundamental'nye i prikladnye issledovanija v fiziologii i medicine». Sankt-Peterburg. 2011. Tom 3. pp. 131–133.
4. Dzugkoeva F.S., Gigolaeva L.V., Mozhaeva I.V., Dzugkoev S.G., Takoeva E.A., Drjaev V.T., Kusova A.R. Biohimicheskie i funkcional'nye pokazateli disfunkcii jendotelija u krysa s hronicheskoy kobal'tovoj intoksikaciej. Vladikavkazskij mediko-biologicheskij vestnik. 2012. Vol. 23. T. 15. pp. 43–47.
5. Kamyshnikov V.S. Opredelenie soderzhaniya (aktivnosti) ceruloplazmina. Spravochnik po kliniko-biohimicheskoj laboratornoj diagnostike. Minsk. 2003. T. 2. pp. 71–79.
6. Koroljuk M.A., Ivanova L.I., Majorova I.G. Metod opredelenija aktivnosti katalazy. Laboratornoe delo, 1988. no. 1. pp. 16–19.
7. Metel'skaja V.A., Gumanova N.G. Oksid azota: rol' v reguljacii biologicheskij funkcij, metody opredelenija v krvi cheloveka. Laboratornaja medicina. 2005. no. 7. pp. 19–24.
8. Ohrimenko S.M., Gur'eva N.Ju., Kaliman P.A. Adaptacija fermentov lipidnogo i azotistogo obmena u krysa pri oksidativnom stresse, vyzvanom soljami kobal'ta i rtuti. Vestnik Har'kovskogo nacional'nogo universiteta im. V.N.Karazina. Serija: biologija. 2005. no. 1–2. pp. 56–60.
9. Asakawa T., Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituricacid test, for detecting lipid hydroperoxides. Lipids. 1980. Vol. 15. pp. 137–140.

Рецензенты:

Брин В.Б., д.м.н., профессор, зав. отделом физиологии и патологии висцеральных систем, ФГБУН «Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН и Правительства РСО–Алания», г. Владикавказ;

Джиоев И.Г., д.м.н., профессор, зав. центральной научно-исследовательской лабораторией, ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владикавказ.

Работа поступила в редакцию 04.06.2014.