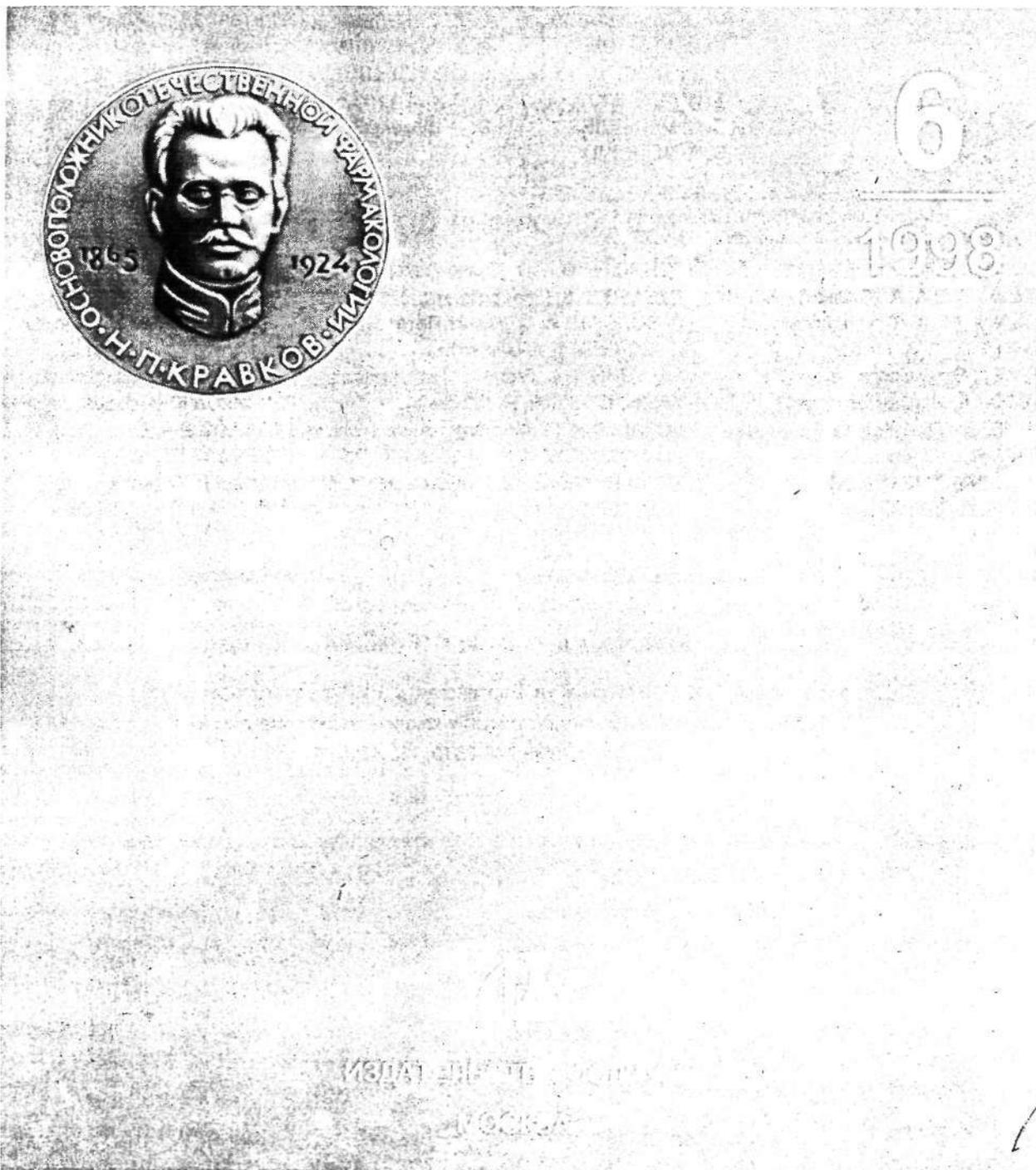


Экспериментальная и клиническая ФАРМАКОЛОГИЯ



ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА НА КАТАЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ МИОКАРДА ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

В. Ю. Гарбузова¹, В. В. Давыдов¹

Изучено влияние внутрибрюшинного введения диметилсульфоксида (ДМСО) в дозе 175 мг / кг массы на каталазную активность миокарда взрослых и старых крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу. Показано, что введение ДМСО способствует активации каталазы в сердце старых подвергнутых иммобилизации крыс, практически не оказывая влияния на величину аналогичного показателя у взрослых животных. Одновременно с активацией фермента происходят такого рода изменения его свойств, которые способствуют повышению эффективности течения каталазной реакции в условиях стимуляции образования активных форм кислорода при окислительном стрессе (повышение сродства к субстрату, увеличение выраженности изменения активности в ответ на изменение рН среды, ограничение действия ингибиторов на фермент).

Ключевые слова: диметилсульфоксид, каталазная активность миокарда взрослых и старых крыс, иммобилизационный стресс

ВВЕДЕНИЕ

Важным звеном стрессорного повреждения миокарда является стимуляция перекисного окисления липидов [2, 6]. По этой причине определенные перспективы в лечении и профилактике заболеваний сердца стрессорной этиологии имеет антиоксидантная терапия [2, 3]. Многочисленные клинические наблюдения позволили констатировать зависимый от возраста характер эффективности кардиопротекторного действия антиоксидантов [4, 5]. Однако причины этого феномена до настоящего времени не установлены. Отсутствуют, в частности, сведения о возрастных различиях действия подобных препаратов на состояние естественных антиоксидантных систем тканей внутренних органов. Учитывая это, целью настоящего исследования явилось изучение особенностей влияния диметилсульфоксида (ДМСО) на каталазу миокарда при иммобилизационном стрессе у взрослых и старых крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работу выполняли на 50 крысах-самцах линии Вистар. Использовали животных двух возрастов: взрослые (10–12 мес) и старые (22–25 мес). Обе возрастные группы в свою очередь делили на 3 подгруппы: 1 – интактные, 2 – крысы, подвергнутые иммобилизационному стрессу путем фиксации на спине в течение 30 мин, 3 – животные, которым за 15 мин до иммобили-

зации внутрибрюшинно вводили ДМСО в дозе 175 мг/кг массы. Эффективность развития стресса контролировали патоморфологически по изменению надпочечников и тимуса, а также на основании измерения в крови концентрации глюкокортикоидов.

Животных декапитировали. Извлекали сердце. Из миокарда левого желудочка готовили 2% гомогенаты на 0,1 М трис-хлоридном буфере (рН 7,4), которые использовали для определения каталазной активности [1].

В специальных экспериментах в реакцию смесь для определения активности фермента вносили различные концентрации субстрата, буферные смеси с различной величиной рН, а также ингибиторы каталазы (азид натрия и гидроксилламин). Детали проведения подобных экспериментов приведены в примечании к рисункам.

Содержание белка определяли по Лоури. Полученные данные статистически обрабатывали по методу Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что активность каталазы в миокарде старых крыс была вдвое ниже, чем у взрослых животных (таблица). При иммобилизационном стрессе происходило увеличение активности фермента в сердце у крыс обеих возрастных групп. Однако у взрослых животных при этом она возрастала на 177%, а у старых – только на 54% по сравнению с ее величиной у интактных крыс. Введение ДМСО не оказывало существенного влияния на каталазную активность в сердце взрослых животных, подвергнутых иммобилизационному стрессу, но приводило к ее двукратной стимуляции у старых крыс.

Кафедра нормальной и патологической физиологии (зав. – проф. А. В. Атаман) Сумского государственного университета, Сумы, 244007, ул. Римского-Корсакова, 2;

Кафедра биохимии (зав. – проф. В. В. Давыдов) Запорожского государственного медицинского университета, Запорожье, 330035, пр. Маяковского, 26

Полученные результаты подтверждают имеющиеся в литературе сведения о снижении активности каталазы в тканях при старении [7, 8]. В основе этого сдвига может лежать возрастное ограничение транскрипции кодирующего ее гена [7].

Стресс приводит к снижению каталазы в миокарде. По всей вероятности, подобная стимуляция имеет адаптивное значение, так как в условиях усиления генерации перекиси водорода, она способствует повышению эффективности распада последней. Характерно, что ее эффективность у взрослых животных выше, чем у старых. Ограниченные величины стрессорной активации каталазы в сердце может выступать в качестве одной из причин снижения резистентности миокарда к действию повреждающих факторов при старении.

Введение ДМСО способствует дополнительной активации каталазы в сердце старых подвергнутых иммобилизации крыс, практически не оказывая влияния на величину аналогичного показателя у взрослых животных. В связи с этим для выяснения причин появления возрастных различий в действии ДМСО на активность каталазы далее было изучено его влияние на некоторые свойства этого фермента в миокарде взрослых и старых крыс при стрессе.

Проведенные исследования показали, что введение ДМСО старым подвергнутым иммобилизации крысам способствовало увеличению концентрации субстрата в среде инкубации (рис. 1). У взрослых животных выявлялась противоположная зависимость. Таким образом, при прочих равных условиях в сердце старых крыс после введения антиоксиданта, возникали условия для более эффективного расщепления перекиси водорода, накапливающейся в миокарде в условиях окислительного стресса.

Результаты изучения влияния внутрибрюшинного введения ДМСО на ингибирующий эффект азид натрия и гидроксиламина на каталазу мио-

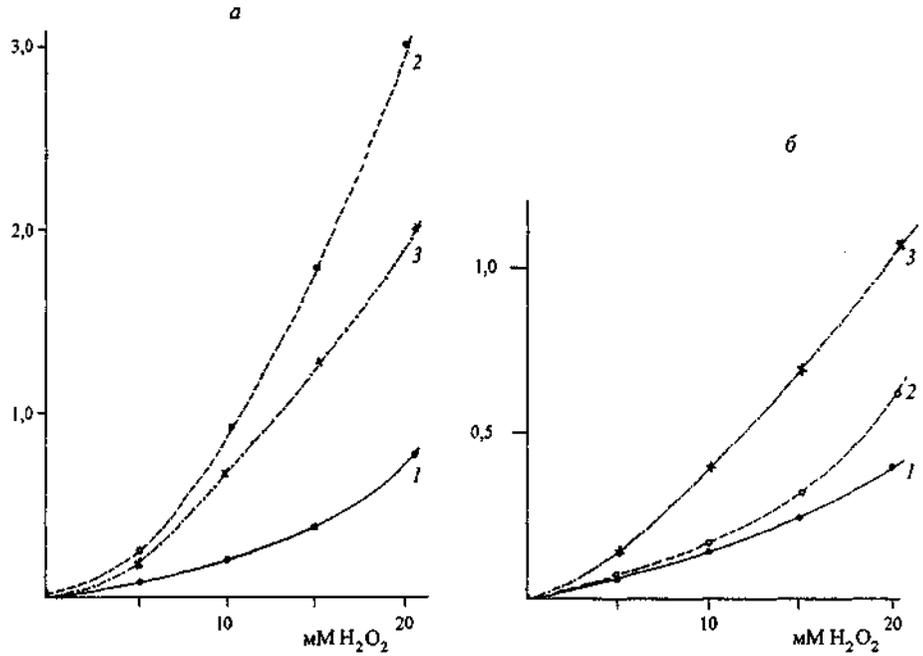


Рис. 1. Влияние концентрации H_2O_2 в среде инкубации на каталазную активность миокарда взрослых (а) и старых (б) крыс.

По оси ординат – активность каталазы, усл. ед. За единицу активности принято изменение оптической плотности при длине волны 410 нм за время инкубации в расчете на 1 мг белка пробы. 1 – Интактные; 2 – стресс; 3 – введение диметилсульфоксида + стресс.

карда при стрессе у крыс различных возрастных групп представлены на рис. 2. Из него видно, что при иммобилизационном стрессе происходило увеличение силы ингибирующего эффекта азид натрия у крыс обеих возрастных групп. Причем у старых крыс этот эффект был в 1,4 раза более выражен, чем у взрослых. Аналогичное действие на активность каталазы у изученных групп животных оказывал гидроксиламин.

Введение антиоксиданта ограничивало ингибирующее влияние азид и гидроксиламина на каталазу в миокарде при стрессе. При этом соотношение величины тормозящего эффекта ингибиторов у взрослых крыс, которым перед иммобилизацией вводили ДМСО к его величине у стрессированных животных, которым препарат не вводили было в среднем в 1,3 раза ниже, чем у старых крыс. Более выраженный эффект при этом был характерен для гидроксиламина (см. рис. 2).

Анализ проведенных исследований однозначно указывает на то, что ДМСО оказывает модулирующее

Влияние ДМСО на каталазную активность миокарда взрослых и старых крыс при стрессе ($M \pm m$)

Взрослые			Старые		
Интактные	Стресс	ДМСО	Интактные	Стресс	ДМСО
$0,69 \pm 0,01$ (6)	$1,91 \pm 0,04^*$ (6)	$1,85 \pm 0,02^*$ (5)	$0,32 \pm 0,01$ (6)	$0,55 \pm 0,01^*$ (6)	$1,18 \pm 0,01^*$ (5)

Примечание. Каталазная активность выражена в условных единицах. За единицу активности принято изменение оптической плотности при длине волны 410 нм за время инкубации в расчете на 1 мг белка пробы. В скобках – количество исследований. * – Различия достоверны от интактных при $p < 0,05$.

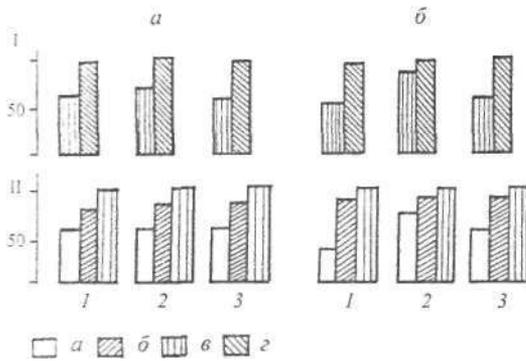


Рис. 2. Влияние ингибиторов на каталазную активность миокарда взрослых (я) и старых (б) крыс.

Результаты представлены в % ингибирования. I – Гидроксиламин, II – азид натрия. 1 – интактные; 2 – стресс; 3 – введение диметилсульфоксида – стресс. Концентрация ингибиторов (в М); а – 0,001; б – 0,01; в – 0,05; г – 0,075.

влияние на каталазную активность миокарда крыс при стрессе. Этот эффект препарата имеет зависимый от возраста характер, он проявляется только у старых животных. Под влиянием ДМСО возникают такого рода изменения свойств каталазы, которые способствуют повышению эффективности ее функционирования в условиях окислительного стресса, когда в ткани формируются предпосылки для увеличения концентрации перекиси водорода (повышение сродства к субстрату, увеличение выраженности изменения активности в ответ на изменение pH среды, ограничение действия ингибиторов на фермент).

Обращает на себя внимание тот факт, что направленность изменения свойств каталазы в сердце крыс после введения ДМСО аналогична таковой при стрессе. Сдвиги со стороны свойств каталазы, возникающие

при стрессе, направлены на адаптацию миокарда к действию его альтерирующих факторов и, по всей вероятности, у взрослых животных адекватны их силе.

У старых крыс имеет место ограничение выраженности компенсаторных сдвигов со стороны каталазы. Под влиянием ДМСО происходит их усиление. Обнаруженное свойство препарата оказывать корригирующее влияние на состояние системы ферментативных антиоксидантов в миокарде старых животных предвещает к возникновению возрастной зависимости в проявлении его антистрессорной и кардиопротекторной активности.

ВЫВОД

Диметилсульфоксид оказывает возрастзависимый эффект на каталазную активность миокарда при стрессе, проявляющийся стимуляцией фермента у старых животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Барабой, В. Э. Орел, И. М. Карнаух, *Перекисное окисление липидов и радиация*, Наукова Думка, Киев (1991), с. 256.
2. Ф. 3. Меерсон, *Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца*, Медицина, Москва (1984), с. 270.
3. Ф. 3. Меерсон, *Бюл. ВКНЦ АМН СССР*, 8(1), 34 – 42 (1985).
4. Ф. 3. Меерсон, *Адаптация, стресс и профилактика*, Наука, Москва (1981).
5. Ф. 3. Меерсон, *Стресс-лимитирующие системы организма и новые принципы профилактики*, Союзмединформ, Москва (1989).
6. А. И. Сауля, Ф. 3. Меерсон, *Постстрессорные нарушения функции миокарда*, Штинца, Кишинев (1990), с. 160.
7. A. Richardson, *Age*, **13(4)**, 97 – 99 (1990).
8. J. Semsei, G. Rao, and A. Richardson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **164(2)**, 620 – 625 (1989).

Поступила 08.04.98

AGE PECULIARITIES OF THE EFFECT OF DIMETHYL SULFOXIDE ON MYOCARDIAL CATALASE ACTIVITY IN IMMOBILIZATION STRESS

V. Yu. Garbuzova¹ and V. V. Davydov²

¹ Department of Normal and Pathological Physiology, Sumy State University.

2, Rimskogo-Korsakova Str., 244007, Sumy, Ukraine

² Department of Biochemistry, Zaporozhye State Medical University.

26, Prosp. Mayakovskogo, 330036, Zaporozhye, Ukraine

The effect of intraperitoneal injection of dimethyl sulfoxide (DMSO) in a dose of 175 mg/kg on the catalase activity of the myocardium of adult and old-aged rats subjected to immobilization stress was studied. DMSO injection promoted catalase activation in the heart of old-aged rats subjected to immobilization and practically had no effect on the analogous parameter in adult animals. Together with activation of the enzyme, changes occur in it which raise the effectiveness of the catalase response under conditions of stimulated production of active forms of oxygen in oxidation stress (increased affinity for the substrate, more expressed changes in activity in response to a change in pH of the medium, limited effect of the inhibitors on the enzyme).