

ВПЛИВ ХАРЧОВОЇ ДЕПРИВАЦІЇ НА ПОКАЗНИКИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Активация пероксидного окиснения липидов на фоне харчової депривації на 5-ту добу експерименту в щурів призводить до зміни активності ферментної ланки системи антиоксидантного захисту, що проявляється напруженням захисних механізмів протягом перших трьох діб та виснаженням антиоксидантних резервів у крові й гомогенаті печінки через 5 діб аліментарного голодування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: харчова депривація, пероксидне окиснення ліпідів, система антиоксидантного захисту.

ВСТУП. Реакція організму тварини на харчову депривацію значною мірою залежить від ступеня метаболічних процесів у тканинах й органах, які спрямовані на забезпечення гомеостазу та адаптації при дії екстремального фактора. Неминучими є зміни у функціонуванні органів і тканин при аліментарному голодуванні, які викликають перебудову метаболізму клітини. Аналіз літератури показав, що при харчовій депривації відбувається порушення білкового обміну, яке проявляється достовірним зниженням вмісту загального білка в тканині печінки, серця і м'язів, порушенням вуглеводного метаболізму, що характеризується зменшенням рівня глікогену, глюкози, активності ферментів пентозофосфатного шляху, гліколізу, гліоксилатного циклу та рядом інших порушень [2, 5]. Враховуючи те, що зміни у харчовому статусі потребують відносно швидкої адаптації метаболізму, важливим є дослідження регуляторних механізмів. При цьому печінка відіграє головну роль у регуляції прооксидантно-антиоксидантного балансу. Дослідження, проведені іншими авторами, вказують на те, що зменшення калорійності їжі на 30–40 % сприяє зниженню оксидативного стресу в експериментальних тварин [10–13], проте є лише окремі дані щодо розвитку оксидативного дисбалансу за умов повного харчового голодування при достатньому доступі до води, що зумовлює актуальність цього дослідження.

Тому метою даного дослідження було вивчити вплив харчової депривації на показ-

ники пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і системи антиоксидантного захисту (АОЗ) в плазмі крові та гомогенаті печінки у динаміці.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на 38 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 200–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Тварин поділили на шість груп: 1-ша – контрольна; 2-га – харчова депривація тривалістю 24 год; 3-тя – харчова депривація тривалістю 2 доби; 4-та – харчова депривація тривалістю 3 доби; 5-та – харчова депривація тривалістю 5 діб; 6-та – харчова депривація тривалістю 7 діб. Харчову депривацію у тварин викликали шляхом їх утримування в умовах повного харчового голодування при достатньому доступі до води [2, 5].

Через 24 год, 2, 3, 5 та 7 діб проводили евтаназію щурів методом введення тіопенталу натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини, дотримуючись правил гуманного ставлення до тварин. Кров для дослідження брали з порожнини серця. Визначали в гомогенатах тканин печінки та плазмі крові концентрацію дієнових (ДК) і триєнових кон'югатів (ТК), ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) пероксидного окиснення ліпідів [1], активність супероксиддисмутази (СОД) [3] і каталази [4].

Одержані результати статистично обробляли, обчислювали середню арифметичну варіаційного ряду (M), стандартну похибку середньої арифметичної (m) та достовірність відмінностей (p).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження показали, що моделювання харчової депривації у щурів змінює прооксидантно-антиоксидантний баланс у сторону розвитку оксидативного стресу. Встановлено, що на фоні аліментарного голодування протягом перших трьох діб рівень ПОЛ практично не відрізнявся від такого в контрольній групі, тоді як у 5-й експериментальній групі рівень первинних і вторинних продуктів ПОЛ перевищував дані контролю ($p < 0,01$) та показники попередньої групи: ДК – у середньому на 14,1 %, ТК – на 38,6 %, ТБК-АП – на 11,9 % ($p < 0,05$). Через 7 діб моделювання у тварин харчової депривації встановлено максимально високі результати порівняно з іншими дослідними групами. Так, рівень ДК у середньому перевищував дані контрольної групи ($p < 0,001$) на 57 %, ТК – на 78 % та вміст ТБК-АП – на 35 %. Порівнюючи отримані результати у 5-й і 6-й експериментальних групах, ми встановили достовірне зростання в плазмі крові через 7 діб ДК до $(1,67 \pm 0,04)$ мкмоль/л, ТК – до $(1,83 \pm 0,05)$ мкмоль/л та ТБК-АП – до $(4,92 \pm 0,16)$ мкмоль/л порівняно з даними на 5-ту добу ($p < 0,05$).

При зіставленні динаміки первинних і вторинних продуктів ПОЛ у плазмі крові виявлено односпрямовані їх зміни, що проявлялися зростанням ПОЛ у 5-й групі та продовженням поглиблення оксидативного стресу до кінця 7-ї доби у тварин при моделюванні харчової депривації (рис. 1).

Потрібно зауважити значиміше зростання первинних продуктів ПОЛ, порівняно з ТБК-АП, у плазмі крові експериментальних тварин при аліментарному голодуванні.

Дані, отримані на експериментальній моделі харчової депривації, вказують на те, що

активація ПОЛ у плазмі крові залежить від тривалості аліментарного голодування.

Проведений аналіз досліджуваних показників ПОЛ у гомогенаті печінки показав таку ж тенденцію, що й у плазмі крові. При цьому відмічали достовірне зростання у гомогенаті печінки щурів при харчовій депривації в 5-й дослідній групі стосовно отриманих результатів попередньої групи і даних контролю. Так, рівень ДК був більшим на 43 %, ТК – на 45 % і ТБК-АП – на 10 % відносно показників попередніх груп дослідження ($p < 0,05$ – $0,001$). Через 7 діб моделювання у тварин харчової депривації встановлено максимально високі результати в гомогенаті печінки порівняно з іншими дослідними групами. Так, рівень ДК у середньому перевищував дані контрольної групи ($p < 0,001$) на 62 %, ТК – на 61 % та вміст ТБК-АП – на 21 %. Порівнюючи отримані результати у 5-й і 6-й експериментальних групах, ми встановили достовірне зростання в гомогенаті печінки через 7 діб ДК до $(2,35 \pm 0,06)$ мкмоль/л, ТК – до $(2,53 \pm 0,05)$ мкмоль/л та ТБК-АП – до $(6,49 \pm 0,05)$ мкмоль/л порівняно з даними на 5-ту добу ($p < 0,05$).

При зіставленні динаміки первинних і вторинних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки виявлено односпрямовані їх зміни, що проявлялися зростанням оксидативного стресу через 5 діб експерименту, який досягав максимуму в 5-й дослідній групі тварин при моделюванні харчової депривації (рис. 2).

Потрібно зауважити, що рівень досліджуваних показників ПОЛ як у контрольній, так і в дослідних групах був достовірно вищим у гомогенаті печінки на відміну від плазми крові.

Активація ПОЛ у печінці може бути зумовлена розвитком стресорної реакції. Стрес є відображенням усіх адаптаційних реакцій

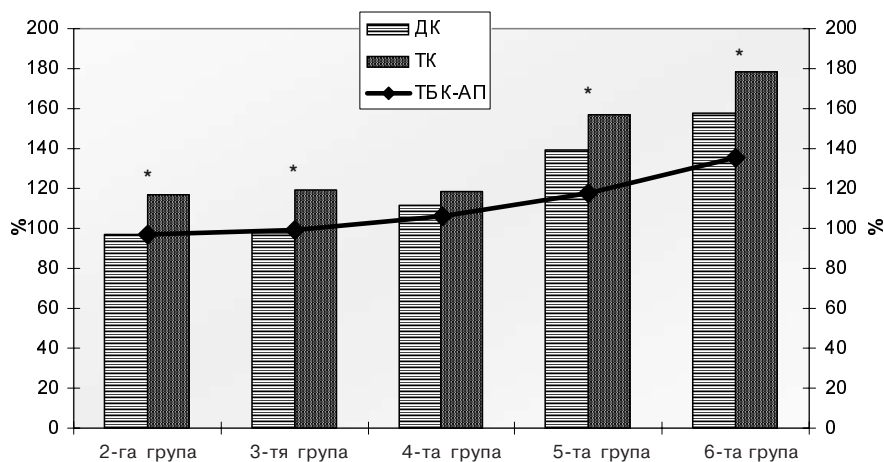


Рис. 1. Динаміка первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові щурів за умов харчової депривації (* – достовірність різниці між первинними і вторинними продуктами ПОЛ у межах однієї групи, $p < 0,05$).

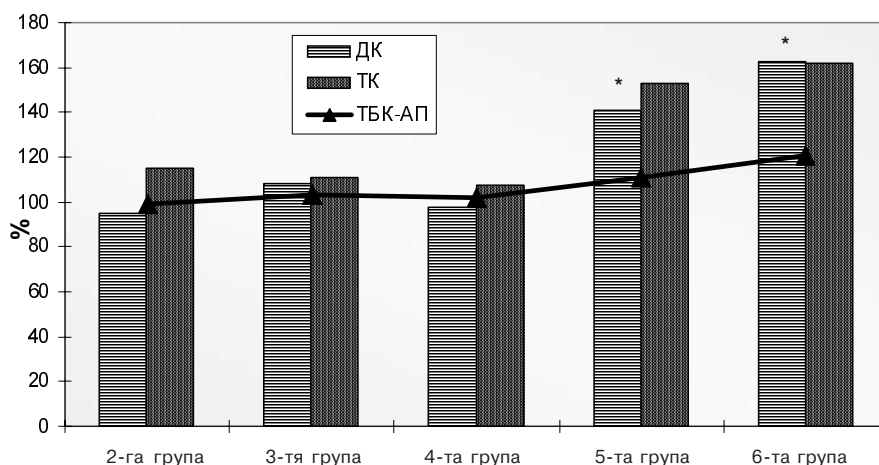


Рис. 2. Динаміка первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті печінки щурів за умов харчової депривації (* – достовірність різниці між первинними і вторинними продуктами ПОЛ у межах однієї групи, $p < 0,05$).

організму, що виникають у відповідь на певний подразник (у нашому дослідженні це харчова депривація), та направлений на реалізацію пристосувальних механізмів [7]. При цьому стресова реакція проявляється зростанням катехоламінів, які активують ПОЛ [6]. З іншого боку, зменшення доставки кисню до органів шлунково-кишкового тракту, в тому числі й до печінки, зумовлює розвиток гіпоксії, при якій теж відбувається активація ПОЛ.

Відомо також, що за умов харчової депривації порушується гомеостаз глюкози, внаслідок чого знижується рівень інсуліну та підвищується рівень глюкагону. Зменшений рівень інсуліну призводить до зниження регуляції глюконеогенезу, а зменшений рівень глюкагону стимулює розпад глікогену та зростання рівня глюкози [8, 9]. Відомо, що підвищення рівня глюкози викликає збільшення продукції активних форм кисню та активацію вільнорадикального окиснення.

Активация ПОЛ на фоні харчової депривації в щурів може зумовлювати зміну активності ферментної ланки системи АОЗ, що було наступним етапом нашого дослідження. Встановлено, що у плазмі крові відбувалася активація СОД і каталази з максимумом на 3-тю добу, коли активність СОД досягала $(54,23 \pm 0,62)$ ум. од., а каталази – $(54,30 \pm 0,76)$ мкат/л. Дані величини достовірно відрізнялись від таких у попередній ($p < 0,05$) і контрольній експериментальних групах ($p < 0,001$). У 5-й дослідній групі відмічали вірогідне зниження активності досліджуваних ферментів у плазмі крові щурів на фоні харчової депривації ($p < 0,001$). Так, активність СОД зменшилася через 5 днів на 11,5 %, каталази – на 18,9 % відносно аналогічних показників на 3-тю добу. При дослідженні ферментної ланки АОЗ через 7 днів експерименту

виявлено найнижчі параметри серед усіх груп спостереження. При цьому активність СОД становила $(44,28 \pm 0,59)$ ум. од., що на 9,0 % менше, ніж у попередній групі ($p < 0,001$). Активність каталази в 6-й дослідній групі складала $(41,92 \pm 0,91)$ мкат/л, що на 10,2 % менше від аналогічного показника на 5-ту добу ($p < 0,01$). Варто також зазначити, що активність каталази в 3–6 експериментальних групах достовірно перевищувала активність СОД ($p < 0,05$) (рис. 3).

При дослідженні ферментної ланки системи АОЗ у гомогенаті печінки щурів на фоні харчової депривації виявлено таку ж тенденцію, як у плазмі крові. Встановлено достовірне зростання досліджуваних показників протягом перших трьох днів експерименту, коли активність СОД перевищувала дані контролю на 25,8 %, каталази – на 60,9 %. Проте вже через 5 днів харчової депривації відбувалося достовірне зниження активності досліджуваних ферментів, зокрема СОД досягала $(50,48 \pm 1,14)$ ум. од., а каталаза – $(38,88 \pm 0,61)$ мкат/кг. Дані, отримані на моделі харчової депривації, показали, що в щурів протягом 7-ми днів за умов повного голодування виснажувались антиоксидантні резерви, при цьому активність СОД і каталази у гомогенаті печінки була найнижчою. Потрібно зауважити, що активність каталази у всіх групах моделювання харчової депривації була достовірно вищою від активності СОД ($p < 0,05$) (рис. 3).

За умов харчової депривації, завдяки змінам функціональної активності печінки, збільшується антиоксидантний потенціал плазми крові за рахунок СОД і каталази. Це, у свою чергу, сприятливо впливає на функціональний стан печінки завдяки збереженню киснетранспортної функції крові, зменшенню ступеня мікроциркуляторних порушень та рівня

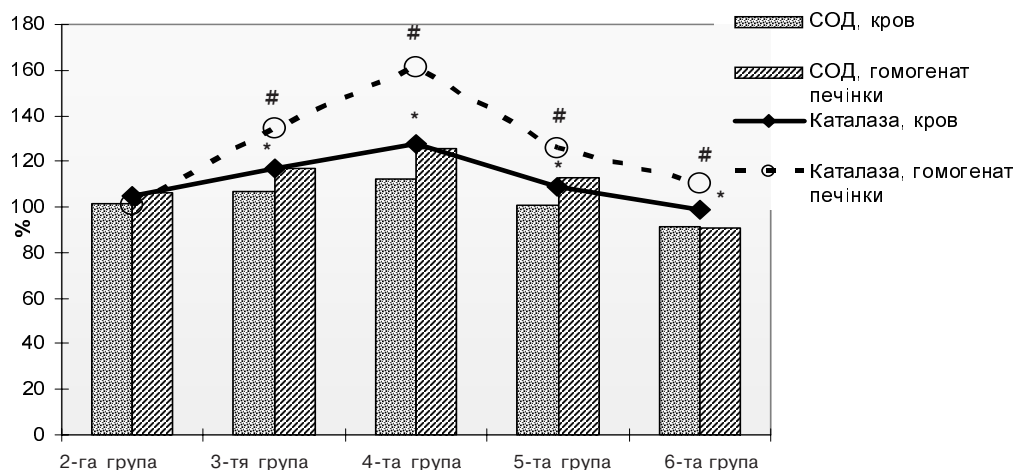


Рис. 3. Динаміка показників ферментної ланки антиоксидантного захисту в плазмі крові й гомогенаті печінки щурів за умов харчової депривації (* – достовірність різниці між супероксиддисмутазою і каталазою у межах однієї групи в плазмі крові; # – достовірність різниці між супероксиддисмутазою і каталазою у межах однієї групи в гомогенаті печінки, $p < 0,05$).

тканинної гіпоксії печінки. Подібні позитивні зміни компонентів антиоксидантного захисту сприяють адаптації і виживанню клітин у несприятливих умовах протягом перших трьох діб, проте через 5 діб аліментарного голодування відбувається виснаження антиоксидантних резервів у крові та гомогенаті печінки.

ВИСНОВКИ. 1. За умов харчової депривації у щурів через 5 діб моделювання активується вільнорадикальне окиснення, що проявляється достовірним зростанням первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові та гомогенаті печінки.

2. Активація пероксидного окиснення ліпідів на фоні харчової депривації у щурів зумовлює зміну активності ферментної ланки системи антиоксидантного захисту, що проявляється напруженням захисних механізмів протягом перших трьох діб та виснаженням антиоксидантних резервів у крові й гомогенаті печінки через 5 діб аліментарного голодування.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі планується дослідити механізми дії медикаментозних середників на пероксидне окиснення ліпідів та систему антиоксидантного захисту за умов харчової депривації.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Влияние пищевой депривации на углеводный метаболизм в органах и тканях крыс / Т. А. Косматых, М. Ю. Шевченко, В. Н. Попов, А. Т. Епринцев // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология. – 2001. – № 2. – С. 118–120.
3. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2000. – 280 с.
4. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Марчишин С. М. Дослідження анаболічної дії екстракту пірію повзучого на моделі харчової депривації / С. М. Марчишин // Мед. хімія. – 2005. – 7, № 4. – С. 85–87.
6. Нестеров Ю. В. Влияние стресс-индуцированных воздействий разной модальности и антиоксиданта на свободнорадикальные процессы в легких и печени белых крыс / Ю. В. Нестеров, А. С. Чумакова, Н. В. Турченко // Естественные науки. – 2010. – № 3. – С. 122–126.
7. Чумакова А. С. Изменение свободнорадикальных процессов в различных органах крыс разного возраста при остром стрессе / А. С. Чумакова, Д. Л. Теплый, Ю. В. Нестерова // Биологические исследования. – 2009. – № 4. – С. 34–37.
8. Authier F. Glucagon receptors / F. Authier, B. Desbuquois // Cell Mol. Life Sci. – 2008. – 65 (12). – P. 1880–1899.
9. Behavioral and biochemical effects of various food-restriction regimens in the rats / P. Marinković, V. Pesić, N. Loncarević [et al.] // Physiol. Behav. – 2007. – 92 (3). – P. 492–499.
10. Caloric Restriction decreases mitochondrial free

radical generation at complex I and lowers oxidative damage to mitochondrial DNA in the rat heart / R. Gredilla, A. Sanz, M. Lopez-Torres, G. Barja // *FASEB J.* – 2001. – **15** (9). – P. 1589–1591.

11. Calorie restriction improves cardiovascular risk factors via reduction of mitochondrial reactive oxygen species in type 2 diabetic rats / Y. Minamiyama, Y. Bito, S. Takemura [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* – 2007. – **320** (2). – P. 535–543.

12. Dietary restriction at old age lowers mitochondrial oxygen radical production and leak at complex I and oxidative DNA damage in rat brain / A. Sanz, P. Caro, J. Ibanez [et al.] // *J. Bioenerg. Biomembr.* – 2005. – **37** (2). – P. 83–90.

13. Zheng J. Calorie restriction delays lipid oxidative damage in *Drosophila melanogaster* / J. Zheng, R. Mutcherson II, S. L. Helfand // *Aging Cell.* – 2005. – **4** (4). – P. 209–216.

Н. В. Гембаровский, И. Н. Клищ, М. И. Марущак

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПЕЧЕНИ КРЫС

Резюме

Активация пероксидного окисления липидов на фоне пищевой депривации на 5 сутки эксперимента у крыс приводит к изменению активности ферментного звена системы антиоксидантной защиты, что проявляется напряжением защитных механизмов на протяжении первых трех суток и истощением антиоксидантных резервов в крови и гомогенате печени через 5 суток алиментарного голодания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пищевая депривация, пероксидное окисление липидов, система антиоксидантной защиты.

M. V. Hembarovsky, I. M. Klishch, M. I. Marushchak
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EFFECT OF FOOD DEPRIVATION ON LIPID PEROXIDATION INDICES AND ANTIOXIDANT STATUS IN RAT LIVER

Summary

Activation of lipid peroxidation in rats with food deprivation on the 5th day of the experiment leads to the change of the enzyme antioxidant activity level, which is manifested stress defense mechanisms during the first three days, and the depletion of antioxidant reserves in the blood and liver homogenate after 5 days of nutritional starvation.

KEY WORDS: food deprivation, lipid peroxidation, antioxidant status.

Отримано 24.01.13

Адреса для листування: М. В. Гембаровський, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.