

ЭКОЛОГИЯ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА РЕАКЦИЮ СИМПАТО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ И ДИНАМИКУ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ИЗОФОРМ NO-СИНТАЗЫ У БЕРЕМЕННЫХ КРЫС WISTAR ПРИ ГИПОКСИИ

Ю.И. Баева, Е.В. Орлова

Экологический факультет
Российский университет дружбы народов
Подольское шоссе, 8/5, Москва, Россия, 113093

Изучено влияние биологически активных добавок «намивит» и «суперпротамин» на реакцию симпато-адреналовой системы, а также на активность различных изоформ NOS у беременных крыс Wistar при действии острой гипобарической гипоксии. Установлено, что применение «намивита» в значительной степени снижало выраженность ответной стресс-реакции организма на гипоксию, в то время как «суперпротамин» не вызывал достоверно значимого уменьшения содержания катехоламинов в крови. Показано, что введение крысам изучаемых препаратов восстанавливало сниженную в результате развития у них гипоксического стресса активность Ca^{2+} -зависимой NO-синтазы и подавляло индукцию iNOS, повышая тем самым сопротивляемость организма к воздействию гипоксии. При этом антигипоксический эффект «намивита» был выражен в большей мере, чем «суперпротамина».

Ключевые слова: гипоксия, беременность, катехоламины, Ca^{2+} -зависимая NO-синтаза, биологически активные препараты.

Проблема влияния загрязнения окружающей среды (ОС) на состояние здоровья с каждым годом приобретает все большую актуальность. Особое значение имеет воздействие вредных факторов ОС на репродуктивную систему, так как с ее функционированием связано не только здоровье ныне живущих, но и существование будущих поколений людей. Экологически зависимые нарушения репродуктивной функции проявляются в виде клинических, патофизиологических, иммунологических и биохимических изменений, имеющих сходные результаты при воздействии самых разных факторов окружающей среды [1; 4; 5]. Одним из таких универсальных проявлений является гипоксия.

Недостаток кислорода в организме матери в период беременности запускает ответную стресс-реакцию, начальным звеном которой является возбуждение симпато-адреналовой системы (САС) и выброс катехоламинов [3; 8; 11]. На фо-

не активации САС при участии постсинаптических β -адренорецепторов активизируются процессы гликолиза, гликогенолиза, липолиза, что усугубляет развитие кислотических сдвигов, повреждающих клетки [2].

Для гипоксии характерно также накопление ионов кальция, который, связываясь с кальмодулином, приводит к активации NO-синтазы (NOS), фермента, участвующего в окислении гуанидинового азота L-аргинина (L-Arg) до оксида азота (NO) [12; 13; 14]. Гиперпродукция NO может оказывать повреждающее действие на клетку за счет ингибирования ряда ферментов, нарушения структуры ДНК, индукции процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижении антиоксидантного потенциала клеток [6; 7; 9].

В связи с этим целью данного исследования явилось изучение антигипоксических эффектов биологически активных препаратов «намивит» и «суперпротамин» на реакцию САС и активность NOS у беременных крыс Wistar как способа снижения неблагоприятного воздействия загрязнения ОС на организм в период беременности.

Материалы и методы. Исследования выполнены на беременных крысах линии Wistar массой 180—200 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария, получали корм и воду без ограничения и были разделены на шесть групп: 1) беременные крысы (контроль); 2) беременные самки, получавшие «намивит»; 3) беременные самки, получавшие «суперпротамин»; 4) беременные самки, перенесшие гипоксию; 5) беременные самки, перенесшие гипоксию и получавшие «намивит»; 6) беременные самки, перенесшие гипоксию и получавшие «суперпротамин».

Использовали модель острой сублетальной гипобарической гипоксии, создавая ее на 15-й день беременности в барокамере с регулируемым протоком воздуха. Давление снижали до конечного значения, соответствующего условиям подъема на высоту 12 000 м над уровнем моря.

В качестве исследуемых препаратов применяли биологически активные иммуномодуляторы широкого спектра действия: «намивит» (Регистрационное удостоверение Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 77.99.23.3.У.9412.8.05 от 16.08.2005) и «суперпротамин» (Регистрационное удостоверение МЗ РФ № 001374.Р. 643.01.2000 от 17.01.2000), которые вводили с 1-го по 14-й день гистации внутривентриально 1 раз в день в дозе 100 мг/кг массы.

Содержание гормонов определяли в плазме крови, активность NOS — в плазме крови, тканях головного мозга, печени и мышцах бедра подопытных животных. Содержание катехоламинов в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией. Определение активности NOS осуществляли радиометрически по образованию ^3H -цитруллин из ^3H -L-аргинина [10].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью пакета статистических программ SPSS. Достоверность результатов оценивалась с использованием непараметрических критериев Манна—Уитни, Краскала—Уоллиса, Дана при критическом значении уровня значимости 5% ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Исследования реактивности адреноргетической системы беременных крыс Wistar на гипоксическое воздействие показали, что острая гипобарическая гипоксия сопровождается повышением концентрации адреналина и норадреналина в плазме крови в 2,3 и в 1,8 раза соответственно по сравнению с уровнем в контрольной группе (рис. 1, 2). Такое повышение концентрации катехоламинов отражало состояние возбуждения симпатoadреналовой системы у животных, подверженных гипоксическому стрессу, и развитие стресс-реакции, направленной на повышение устойчивости организма в ответ на воздействие гипоксии.

Использование биологически активного препарата «намивит» во время беременности вызывало достоверное снижение уровней катехоламинов в крови крыс по сравнению с их содержанием у животных, которым препарат не вводился. При этом снижение выраженности гиперadreналиемии наблюдалось как в группе, не подверженной гипоксическому воздействию (в 1,7 раза ниже, чем в контрольной группе), так и после моделирования острой гипобарической гипоксии (в 1,8 раза по сравнению с группой, не получавшей препарат). После применения «намивита» уровень адреналина в крови самок в условиях экспериментальной гипоксии достигал контрольных значений ($p < 0,05$) (рис. 1).

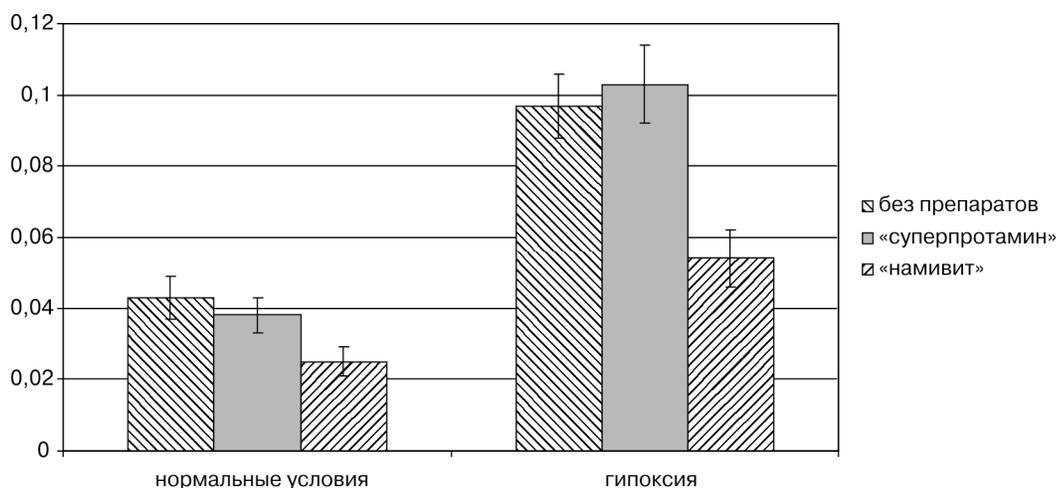


Рис. 1. Влияние «намивита» и «суперпротамина» на содержание адреналина в плазме крови (нг/мл) беременных крыс Wistar при нормальных условиях и в условиях гипоксии (уровень значимости $p < 0,05$)

Эффект «намивита» на стрессорное накопление адреналина у беременных крыс выражен в большей мере, чем на накопление норадреналина. После курса «намивита» у беременных самок при нормальных условиях уровень норадреналина в плазме крови практически не отличался от контрольного ($p < 0,05$). Однако в группе, подверженной гипоксическому стрессу, его значения оказались в 1,5 раза ниже, чем у самок, не получавших препарат, и выше контрольных значений в 1,2 раза (рис. 2).

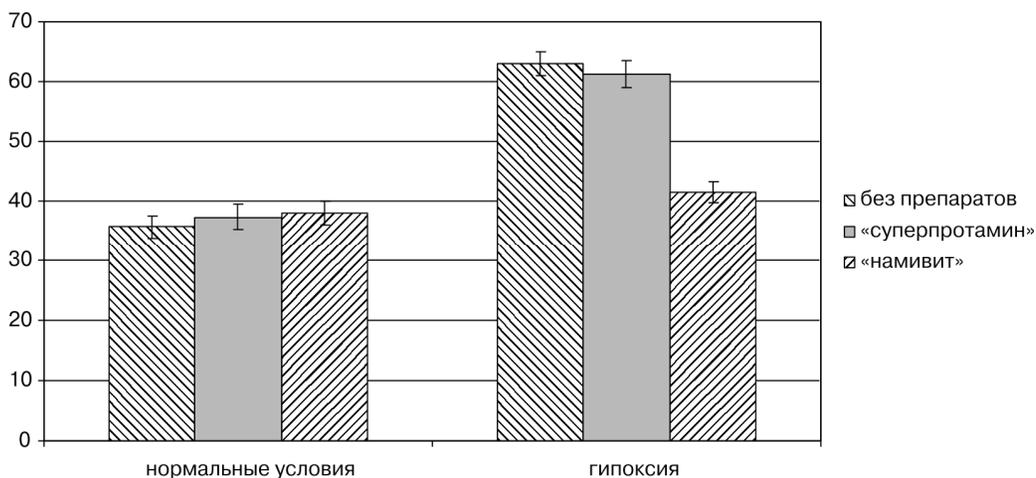


Рис. 2. Влияние «намовита» и «суперпротамина» на содержание норадреналина в плазме крови (нг/мл) беременных крыс Wistar при нормальных условиях и в условиях гипоксии (уровень значимости $p < 0,05$)

После курса «суперпротамина» концентрации катехоламинов достоверно не отличались от исходных уровней как в группах, не подверженных гипоксическому воздействию, так и у животных при гипоксии.

Острая гипобарическая гипоксия оказывает также существенное и весьма неоднозначное влияние на NO-синтазную активность в различных органах и тканях организма беременных крыс. Так, в плазме крови и в головном мозге при гипоксическом стрессе активность синтазы оксида азота достоверно ($p < 0,05$) снижается в 1,4 раза и 1,5 раза соответственно по отношению к контрольным значениям. В печени и мышцах на фоне повышения общей активности ферментного NOS-комплекса (в 1,3 раза в печени и в 2,2 раза в мышцах) недостаток кислорода привел к снижению активности Ca^{2+} -зависимой изоформы NOS и активации iNOS (индуцибельной).

Использование биологически активных препаратов «намовит» и «суперпротамин» во время беременности вызывало достоверное повышение активности фермента ($p < 0,05$) в плазме крови и головном мозге крыс (табл. 1). Активность NOS после 14-дневного приема «намовита» в условиях экспериментальной гипоксии увеличилась на 23% и на 39%, а «суперпротамина» — на 6,5% и на 15% соответственно.

Таблица 1

Влияние «намовита» и «суперпротамина» на активность NO-синтазы в плазме крови и в головном мозге беременных крыс Wistar

Группа	Активность NO-синтазы (пмоль цитруллин/мин/мг белка)	
	плазма крови	головной мозг
Контрольная группа (1)	29,3 ± 0,6	46,4 ± 3,1
«Намовит» (2)	31,2 ± 0,5	55,5 ± 3,0
«Суперпротамин» (3)	29,9 ± 0,6	50,0 ± 2,9
Группа с экспериментальной гипоксией (4)	21,4 ± 0,4	30,5 ± 2,9
Гипоксия + «намовит» (5)	26,3 ± 0,5	42,5 ± 2,5
Гипоксия + «суперпротамин» (6)	22,8 ± 0,3	35,1 ± 1,6

Таблица 2

Влияние «намивита» и «суперпротамина» на активность различных изоформ NO-синтазы в печени и мышцах бедра беременных крыс Wistar

Группа	Активность NO-синтазы (пмоль цитруллина/ мин/мг белка)	
	Ca ²⁺ -зависимая NOS	iNOS
Печень		
Контрольная группа (1)	0,327 ± 0,042	0,315 ± 0,054
«Намивит» (2)	0,157 ± 0,038	0,298 ± 0,048
«Суперпротамин» (3)	0,257 ± 0,056	0,336 ± 0,057
Гипоксия (4)	0,025 ± 0,023	0,798 ± 0,040
Гипоксия + «намивит» (5)	0,148 ± 0,077	0,457 ± 0,047
Гипоксия + «суперпротамин» (6)	0,066 ± 0,050	0,683 ± 0,042
Мышцы бедра		
Контрольная группа (1)	0,423 ± 0,049	0,219 ± 0,053
«Намивит» (2)	0,326 ± 0,031	0,178 ± 0,031
«Суперпротамин» (3)	0,408 ± 0,047	0,209 ± 0,037
Гипоксия (4)	0,209 ± 0,038	1,225 ± 0,059
Гипоксия + «намивит» (5)	0,372 ± 0,035	0,693 ± 0,063
Гипоксия + «суперпротамин» (6)	0,305 ± 0,028	1,005 ± 0,045

«Намивит» и «суперпротамин» тормозят индукцию iNOS и способствуют возрастанию уровня Ca²⁺-зависимой NOS (см. табл. 2). Так, для «намивита» характерно повышение активности Ca²⁺-зависимой NOS при гипоксическом стрессе в печени в 5,9 раза, а в мышцах — в 1,8 раза и снижение iNOS в 1,8 раза. Эффект «суперпротамина» выражен слабее: активность Ca²⁺-зависимой NOS растет в 2,6 раза в печени и в 1,5 раза в мышцах, а активность iNOS падает в 1,2 раза.

Анализ полученных данных позволяет сделать следующие выводы.

Изменения уровней гормонов мозгового вещества надпочечников в плазме крови свидетельствуют о развитии стресс-реакции в ответ на воздействие гипоксии и направлены на повышение устойчивости к ней.

Биологически активные пептидные препараты «намивит» и «суперпротамин» неодинаково влияют на содержание адреналина и норадреналина в крови беременных животных, подверженных острой гипоксии. Так, применение «намивита» в значительной степени снижало выраженность ответной стресс-реакции организма на гипоксию, в то время как «суперпротамин» не вызывал достоверно значимого уменьшения степени гипоксического стресса.

Острая гипобарическая гипоксия оказывает существенное влияние на активность различных изоформ NO-синтазы: недостаток кислорода подавляет активность Ca²⁺-зависимой NOS и индуцирует iNOS. При этом сила такого воздействия зависит от вида исследуемой ткани.

Внутрижелудочное введение крысам изучаемых биологически активных препаратов восстанавливало сниженную в результате развития у них гипоксического стресса активность Ca²⁺-зависимой NO-синтазы и подавляло индукцию iNOS, повышая тем самым сопротивляемость организма к воздействию гипоксии.

«Намивит» и «суперпротамин» с разной силой воздействуют на активность NOS в органах и тканях беременных крыс. При этом антигипоксический эффект «намивита» выражен в большей мере, чем суперпротамина.

Новые данные об антигипоксических эффектах «намивита» и «суперпротамин», связанные с их воздействием на САС и активность NOS, открывают возможности использования этих биологически активных препаратов во время беременности с целью повышения неспецифической резистентности организма к вредному влиянию загрязнения ОС.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Баряева О.Е., Игнатъева Л.П., Флоренсов В.В. Плацентарная недостаточность как индикатор эколого-гигиенического неблагополучия // Сибирский медицинский журнал. — 2005. — Т. 54. — № 5. — С. 66—71.
- [2] Зарубина И.В., Смирнов А.В., Криворучко Б.И. Роль гликолиза в реализации защитных эффектов атмизола при острой гипоксии // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 2000. — Т. 86. — № 4. — С. 440—446.
- [3] Коркушко О.В., Иванов Л.А. Современные представления о патогенетических факторах гипоксии в пожилом и старческом возрасте // Вестн. АМН СССР. — 1990. — № 1. — С. 41—45.
- [4] Никитин А.И. Вредные факторы среды и репродуктивная система человека (ответственность перед будущими поколениями). — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008.
- [5] Ревич Б.А., Авалиани С.Л., Тихонова Г.И. Экологическая эпидемиология: Учебник для вузов / Под ред. Б.А. Ревича. — М.: Академия, 2004.
- [6] Рябов Г.А., Азизов Ю.М. Роль оксида азота как регулятора клеточных процессов при формировании полиорганной недостаточности // Анестезиология и реаниматология. — 2001. — № 1. — С. 8—13.
- [7] Чеснокова Н.П. Типовые патологические процессы. — Издательство Саратовского медицинского университета, 2004.
- [8] Физиология адаптационных процессов: Руководство по физиологии / Под ред. Ф.З. Меерсона. — М.: Наука, 1989.
- [9] Шепелев А.П., Корниенко И.В., Шестопалов А.В., Антипов А.Ю. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней // Вопросы медицинской химии. — 2000. — № 2. — С. 54—59.
- [10] Bredt D.S., Snyder S.H. Isolation and characterisation of nitric oxide synthases // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1994. — V. 93. — P. 682—685.
- [11] Esler M.D., Thompson J.M., Kaye D.M. et al. Effects of aging on the responsiveness of the human cardiac sympathetic nerves to stressors // Circulation. — 1995b. — 91, № 2. — P. 351—358.
- [12] Kelm M., Schrader J. Nitric Oxide from L-arginine: a Bioregulatory System // Eds. S. Moncada, E.A. Higgs. — Amsterdam: Excerpta medica, 1990. — P. 47—53.
- [13] Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Biothynthesis of nitric oxide from L-arginine: a pathway for the regulation of cell function and communication // Biochem. pharmacol. — 1989. — V. 38. — P. 1709—1715.
- [14] Palmer R.M.J., Ashton D.S., Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine // Nature. — 1988. — V. 333. — P. 664—666.

**THE INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE AGENTS
ON THE REACTION SYMPATHETIC ADRENAL SYSTEM
AND DYNAMICS OF ACTIVITY OF DIFFERENT ISOFORMS
OF NO-SYNTASE IN PREGNANT WISTAR RATS OF HYPOXIA**

Y.I. Baeva, E.V. Orlova

Ecological faculty
Peoples' Friendship University of Russia
Podol'skoye shosse, 8/5, Moskow, Russia, 133093

The influence of dietary supplements namivit and superprotamin on the reaction sympathetic adrenal system, as well as on the activity of different isoforms of NOS in pregnant Wistar rats under the influence of acute hypobaric hypoxia. It was revealed that namivit significantly reduced the severity of stress-response reaction of the organism to hypoxia, whereas superprotamin caused no significant decrease significantly the content of catecholamines in the blood. It is shown that the introduction of rats studied drugs restored decreased from the onset of hypoxic stress activity of Ca²⁺-dependent NO-synthase and suppressed the induction of iNOS, thus increasing the body's resistance to the effects of hypoxia. This antihy effect namivit was expressed to a greater extent than superprotamin.

Key words: hypoxia, pregnancy, catecholamines, Ca²⁺-dependent NO-synthase, biologically active agents.