

УДК [57+61]539.1.04

Б. С. Федоренко, С. В. Дружинин, Г. П. Снигирева, Н. Н. Новицкая, А. Н. Богомазова, В. А. Шевченко, А. В. Рубанович, В. В. Цетлин, В. А. Бондаренко

#### ХРОМОСОМНЫЕ НАРУШЕНИЯ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ФАКТОРАМИ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

Исследования цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови космонавтов свидетельствуют о статистически значимом повышении частоты радиационно-зависимых аберраций хромосом (дигцентриков и центрических колец). При изучении влияния антиортогостатической гипокинезии (модель невесомости на Земле) в лимфоцитах испытуемых увеличивалась частота ацентрических фрагментов. В результате психоэмоционального стресса (длительная изоляция) отмечалось увеличение числа ацентрических фрагментов и хроматидных аберраций. Предполагается, что каждый из изученных факторов космического полета способен вызывать повышение определенного вида повреждений хромосом.

**Ключевые слова:** космонавты, факторы космического полета, лимфоциты, аберрации хромосом.

UDC [57+ 61]539.1.04

B. S. Fedorenko, S. V. Druzhinin, G. P. Snigiryova, N. N. Novitskaya, A. N. Bogomazova, V. A. Shevchenko, A. V. Rubanovich, V. V. Tsetlin, V. A. Bondarenko

#### CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN HUMAN BLOOD LYMPHOCYTES INDUCED BY SPACE FLIGHT FACTORS

Cytogenetic studies of chromosomal damage in cosmonauts' blood lymphocytes showed a statistically significant increase in the yields of radiation-dependent chromosomal aberrations (dicentrics and centric rings). The influence of antiorthostatic hypokinesia (simulated weightlessness) results in an increase in the frequency of acentric aberrations. Psycho-emotional stress (long-term isolation) is found to lead to increased yields of acentric fragments and chromatid aberrations. It is supposed that each space factor under consideration can induce chromosome damage of a certain type.

**Key words:** cosmonauts, space flight factors, lymphocytes, chromosomal aberrations.

УДК 616.45-001.1/3:616-008.93

В. М. Єльський, чл.-кор. АМН України, д-р мед. наук,

І. І. Зінкович, д-р мед. наук, О. Д. Якубенко, канд. біол. наук

## РОЛЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ В РЕАЛІЗАЦІЇ СТРЕСУ

Донецький державний медичний університет ім. М. Горького

Сьогодні не викликає сумніву те, що стан вільнорадикального окислення (інтенсивність ліпопероксидації) та сила антирадикального захисту є не лише маркерами вираженості стресорних реакцій, але й відображають ефективність функціонування саногенетичних механізмів, особливості адаптації організму до дії екстремальних факторів [6; 12]. Конкретні ж механізми, які зв'язують вільнорадикальне окислення, з одного боку, і комплекс стресорних реакцій, з другого, все ще залишаються малодослідженими.

Мета роботи — отримання доказів впливу вільнорадикальних реакцій на чутливість тканин до симпатоміметиків як одного з пускових факторів стресорних реакцій організму [7].

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на препаратах ізольованого міокарда 75 білих щурів-самців

масою тіла 190–250 г, яких перфузували ретроградно через аорту впродовж 60 хв при 37°C зі швидкістю 30 мл/год. Виконано 6 серій експериментів різних за складом перфузійного розчину. У контролі (17 препаратів) міокард перфузували фізіологічним розчином; у 1-й дослідній серії (24 препарати) до перфузату додавали ізопротеренол кінцевою концентрацією 10 мкмоль/л; у 2-й серії (12 препаратів) — сірчанокисле залізо концентрацією 25 мкмоль/л; у 3-й серії (6 препаратів) перфузат являв собою суміш ізопротеренолу та двовалентного заліза у тих же концентраціях; перфузат 4-ї серії (7 препаратів) — розчин супероксиддисмутази (СОД) концентрацією 50 мг/л; 9 препаратів 5-ї серії перфузували сумішшю ізопротеренолу та СОД у тих же концентраціях. У перфузаті, який відтікав від міокарда, спектрофотометрично [2] оцінювали інтен-

сивність ліпопероксидації за рівнями дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), а також силу антирадикального потенціалу за вмістом у перфузаті  $\alpha$ -токоферолу ( $\alpha$ -ТФ), активності каталази та СОД. Чутливість міокарда до ізопротеренолу оцінювали за виходом у перфузат загального білка (ЗБ), молекул середньої маси (МСМ), загальних ліпідів (ЗЛ), фосфоліпідів (ФЛ), неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК); активації лізосомальних ензимів катепсину Д (КД) і кислоти фосфатази (КФ); кардіальних ферментів креатинкінази (КК) та лактатдегідрогенази (ЛДГ). Окрім цього, через 20, 40 і 60 хв експерименту імуноферментним методом у перфузаті визначали вміст циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили на ПЕОМ за допомогою ліцензійного пакета прикладних програм.

## Результати дослідження та їх обговорення

Перфузія препаратів ізольованого міокарда щурів фізіологічним розчином практично не позначалася на виході цАМФ у перфузат: у кінці експерименту значення цього показника зростали лише на 24 % порівняно з аналогічними результатами на 20-й хвилині дослідження (рис. 1).

Зовсім інша динаміка цАМФ спостерігалась у 1-й серії дослідження — обробка ізольованого міокарда ізопротеренолом. Уже на 40-й хвилині дослідження концентрація нуклеотиду в перфузаті перевищувала аналогічну на 20-й хвилині перфузії більше ніж на

50 %. У кінці спостереження, через 60 хв експерименту, рівень цАМФ досяг  $(3,81 \pm 0,17)$  пмоль/л, що статистично вірогідно перевищує як значення 20-ї хвилини перфузії ізопротеренолом  $(2,14 \pm 0,14)$  пмоль/л, так і відповідний показник контрольної серії дослідження через 60 хв експерименту  $(2,21 \pm 0,13)$  пмоль/л.

Враховуючи, що цАМФ є основним месенджером передачі сигналу з мембранних  $\beta$ -адренорецепторів на метаболічні системи кардіоміоцитів [8], виявлені відмінності між контрольною та 1-ю дослідною серіями свідчать про те, що вплив ізопротеренолу на ізольований міокард опосередкований лігандрецепторною взаємодією.

Такий висновок підтверджений раніше в дослідженнях, коли перфузійний розчин разом з ізопротеренолом вміщував селективний  $\beta$ -адреноблокатор пропранолол. У такому випадку попереджувалося не лише раніше показане ізопротеренол-індуковане підсилення виходу в перфузат лізосомальних ферментів та інших маркерів ушкодження міокарда [4], але й практично нормалізувався вихід у перфузат цАМФ.

Взаємодія ізопротеренолу з міокардом призводила до зміни біохімічного складу перфузату, який відтікав з міокарда (таблиця). Підсилювався вихід продуктів ліпопероксидації — концентрація МДА в перфузаті перевищувала свій контрольний рівень більше ніж утричі. Водночас відмічено виснаження сили компонентів антирадикального захисту, що підтверджувалося зниженою майже на 20 % активністю СОД у перфузаті та майже вдвічі зменшеним рівнем  $\alpha$ -ТФ, який вимивався з міокарда. При цьому активність каталази, навпаки, зростала майже на 40 %, а інтегральний показник антиокислювальної активності (АОА) відтікаючого перфузату залишався на рівні, властивому для контрольної серії досліджень (таблиця).

Виявлені зміни в перфузаті є зрозумілими і закономірними. Інтенсифікація ліпопероксидації — результат як специфічної для симпатоміметиків стимуляції метаболізму кардіоміоцитів [10], так і прояв ушкоджуючих ефектів, властивих катехоламінам [9]. Виснаження ендогенного антиоксиданта  $\alpha$ -ТФ та зниження активності СОД — очевидні наслідки започаткованого ізопротеренолом «окислювального стресу». Причиною ж стабільності показника АОА може бути виявлене зростання виходу в перфузат продуктів ліпідного і, особливо, білкового обміну. Рівень МСМ у 1-й серії досліджень становив  $0,263 \pm$

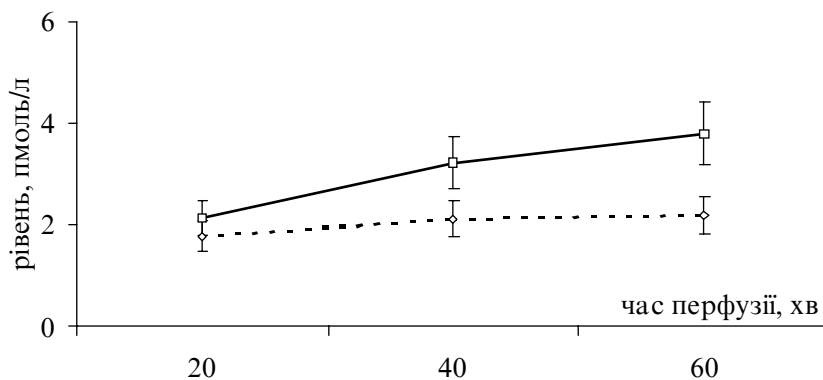


Рис. 1. Рівень цАМФ у динаміці експерименту: - ◊ - - — перфузія фізіологічним розчином (контроль); — ◻ — перфузія ізопротеренолом (серія 1)

Таблиця

Біохімічні показники перфузату міокарда при перфузії ізопротеренолом,  $M \pm m$

Показники	Серії досліджень	
	Фізіологічний розчин, n=17	Ізопротеренол, n=24
ДК, ОД/мл	2,7±0,17	3,22±0,61
МДА, ммоль/г білка	70,6±9,58	220±33,3*
Каталаза, мкат/л	16,0±1,53	22,1±1,52*
СОД, ОД/мг білка	6,12±0,81	5,01±1,11
$\alpha$ -токоферол, мкмоль/л	3,25±0,50	2,11±0,19*
АОА, %	32,31±2,37	35,2±5,57
КК, мкат/л	0,208±0,03	0,613±0,085*
ЛДГ, мкмоль/(л·хв)	47,03±2,35	91,92±6,54*
Катепсин Д, ОД/(л·хв)	1,13±0,093	2,89±0,35*
КФ, мкмоль/(л·хв)	0,154±0,02	0,453±0,068*

Примітка. \* — відмінності з перфузією фізіологічним розчином,  $P < 0,05$ .

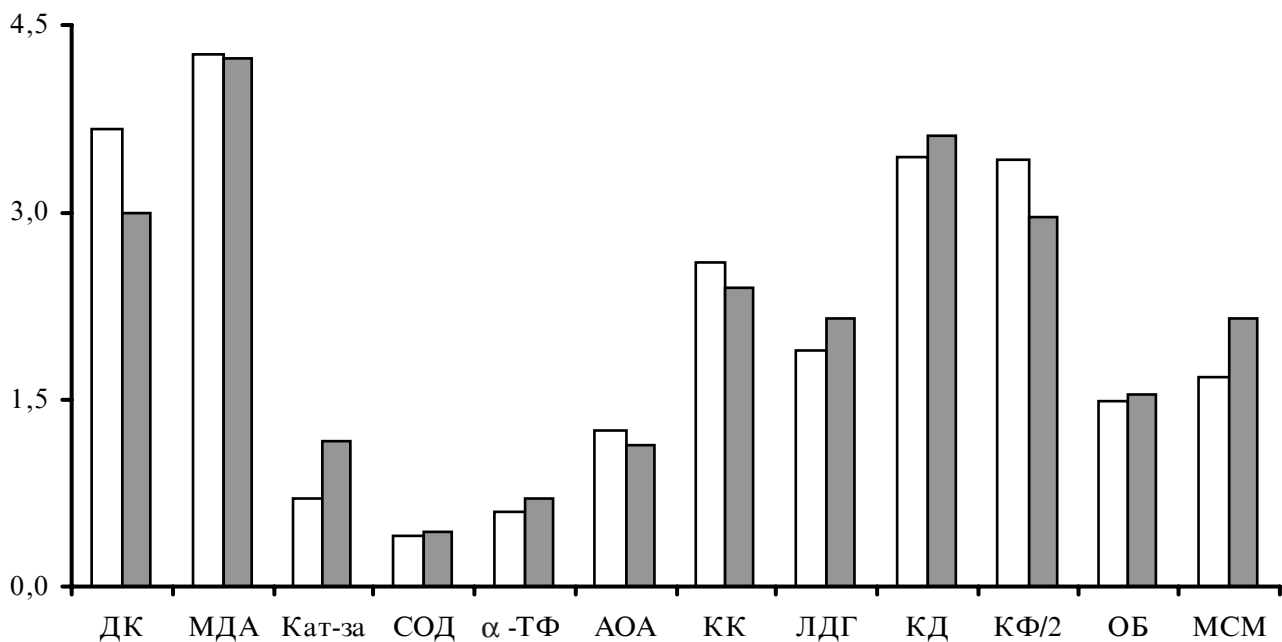


Рис. 2. Нормовані до контрольних значень біохімічні показники перфузату за різного вмісту перфузійного розчину: світлі стовпчики — перфузія солями двовалентного заліза (серія 2), темні стовпчики — перфузія сумішшю ізопротеренол+сірчанокисле залізо (серія 3)

0,021 ОД/мл порівняно з 0,178±0,014 ОД/мл у контрольній серії досліджень ( $P < 0,05$ ). Аналогічні зв'язки між силою антирадикального потенціалу та рівнем білкових компонентів крові описані раніше при моделі індукційного стресу у кроликів [3].

Показана в нашій роботі різнобічна динаміка вивчених антиоксидантних ферментів узгоджується також з думкою інших дослідників [1; 11]. Такий дисонанс дозволяє припускати існування незалежних шляхів регуляції активностей цих ферментів.

Серед механізмів, відповідальних за прискорений вихід із міокарда лізосомальних і кардіальних ферментів (див. таблицю), не останню роль відіграє означена інтенсифікація вільнорадикального окислення [6; 12], що підтверджується результатами 2-ї серії дослідів.

Дія солей двовалентного заліза проявлялася прискоренням виходу в перфузат маркерів ушкодження міокарда: кардіальних та лізосомальних ферментів, продуктів деградації білкових і ліпідних компонентів (рис. 2). Ступінь виявлених змін може бути зіставлений, а інко-

ли навіть переважає той, який відмічено у серії з перфузією ізопротеренолом. Вочевидь, що механізми таких дій опосередковані інтенсифікацією ліпопероксидації та виснаженням антиокислювального захисту в міокарді. Оскільки розчин двовалентного заліза є сильним індуктором вільнорадикальних реакцій [5], відмічені особливості біохімічного складу перфузату є проявами «окислювального стресу» [3; 6; 10].

Відмічено, що на фоні стимульованої ліпопероксидації міокард був менш чутливим до ізопротеренолу. Порівняння даних 2-ї та 3-ї серій досліджень (див. рис. 2) демонструє вірогідні відмінності лише для показника активності каталази.

Як і в ситуації зі стимульованою ліпопероксидацією, аналогічна дія на чутливість міокарда до ізопротеренолу продемонстрована і в серіях, де додаванням СОД у перфузійний розчин пригнічували вільнорадикальні реакції. Перфузія міокарда тільки СОД (4-та серія досліджень) не виявляла помітного впливу на біохімічний склад перфузату, що відтікав, оскільки відмічено лише стабілізаційний ефект на струк-

тури міокарда — обмежений вихід у перфузат КД, ОЛ і ЗБ.

Додавання ізопротеренолу в перфузійний розчин, який вміщує СОД, практично не давало притаманних для симпатоміметиків ефектів і описаних у 1-й серії досліджень. Супероксиддисмутаза повністю попереджувала ізопротеренол-індуковану активацію вільнорадикальних реакцій (рис. 3). Обмежувався вихід у перфузат ДК і МДА, попереджувалося виснаження α-ТФ. Рівень маркерів ушкодження міокарда (продукти деградації білків, ліпідів, кислі гідролази, кардіальні ферменти) також був подібним до тих досліджень, коли міокард перфузували фізіологічним розчином.

Помітна відсутність у цій серії змін активності каталази: значення показника не відрізнялися від контрольних, тимчасом як у інших серіях з перфузією ізопротеренолом активність каталази зростала більше як на 40 % (1-ша серія) і на 20 % (3-тя серія — перфузія ізопротеренолом на фоні двовалентного заліза). Із врахуванням наочних даних про можливий прямий вплив вегетативного тону на активність даного

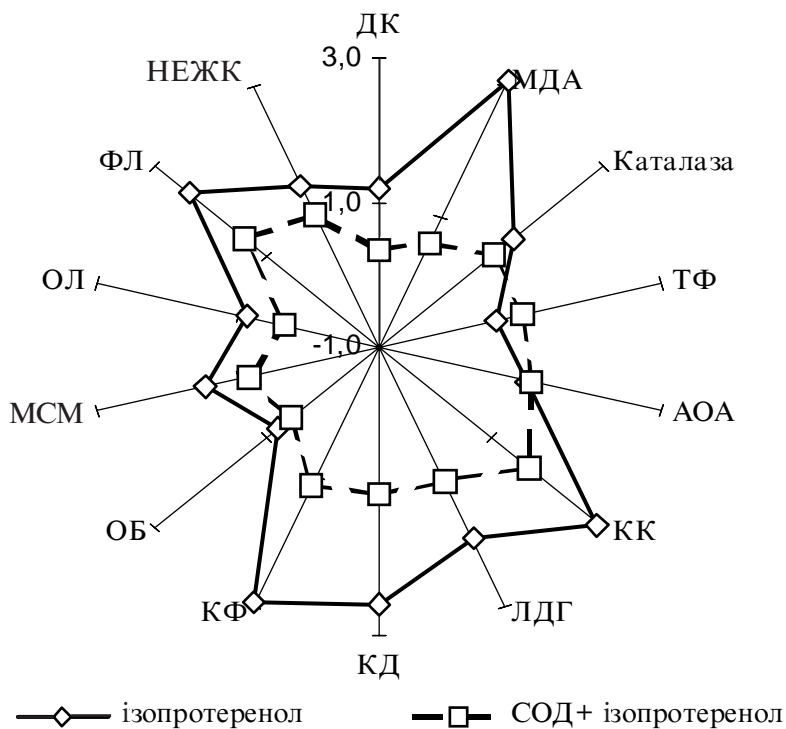


Рис. 3. Нормовані до значень контрольної серії біохімічні показники перфузату при обробці міокарда розчином ізопротеренолу (суцільна лінія) та сумішшю ізопротеренол+СОД (пунктирна лінія)

ферменту [7], виявлену при наявності СОД, відсутність впливу ізопротеренолу на активність каталази можна вважати наслідком зниження чутливості міокарда до симпатоміметиків.

Отже, отримані результати показують, що вплив ізопротеренолу на препарати ізольованого міокарда опосередковується лігандрецепторними взаємодіями, і чутливість міокарда до  $\beta$ -симпатоміметиків суттєво залежить від інтенсивності реакцій вільнорадикального окислення.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гарбузова В. Ю., Давыдов В. В. Каталазная активность в миокарде

при стрессе у взрослых и старых крыс // Укр. биохим. журн. — 1999. — Т. 71, № 1. — С. 83-85.

2. Горячковский А. М. Клиническая биохимия: Справ. пособие. — Одесса: Астропринт, 1998. — 608 с.

3. Зинкович И. И. Состояние липопероксидации при экстремальных воздействиях // Вестн. гигиены и эпидемиологии. — 2001. — Т. 5, № 2. — С. 172-175.

4. Зинкович И. И., Якубенко Е. Д. Гуморально-метаболические системы изолированного миокарда при перфузии изадринном // Там же. — 2002. — Т. 6, № 1. — С. 28-30.

5. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин и др. // Лаб. дело. — 1988. — № 5. — С. 59-62.

6. Тимочко М. Ф., Кобилінська Л. І. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль // Мед. хімія. — 1999. — № 1. — С. 19-25.

7. Cohn J. N. Sympathetic nervous system in heart failure // Circulation. — 2002. — Vol. 106, N 19. — P. 2417-2418.

8. Cyclic nucleotides attenuate lipid peroxidation-mediated neuron toxicity / J. N. Keller, K. B. Hanni, M. P. Mattson, W. R. Markesbery // Neuroreport. — 1998. — Vol. 9, N 16. — P. 3731-3737.

9. Antioxidant and pro-oxidant effects of epinephrine and isoprenaline on peroxidation of LDL and lipid liposomes / K. Ondrias, A. Stasko, D. Gergel et al. // Physiol. Res. — 1998. — Vol. 47, N 2. — P. 119-124.

10. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in isoproterenol induced oxidative stress in rat erythrocytes / N. Rathore, M. Kale, S. John, D. Bhatnagar // Indian J. Physiol. Pharmacol. — 2000. — Vol. 44, N 2. — P. 161-166.

11. EUK-134, a synthetic superoxide dismutase and catalase mimetic, prevents oxidative stress and attenuates kainate-induced neuropathology / Y. Rong, S. R. Doctrow, G. Tocco, M. Baudry // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1999. — Vol. 96, N 17. — P. 9897-9902.

12. Vendemiale G., Grattagliano I., Altomare E. An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease // Int. J. Clin. Lab. Res. — 1999. — Vol. 29, N 2. — P. 49-55.

УДК 616.45-001.1/3:616-008.93  
В. М. Єльський, І. І. Зінкович, О. Д. Якубенко  
РОЛЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ  
В РЕАЛІЗАЦІЇ СТРЕСУ

Вивчено вплив ізопротеренолу на препарати ізольованого міокарда. Встановлено, що чутливість міокарда до  $\beta$ -симпатоміметиків залежить від інтенсивності вільнорадикального окислення. Активация та інгібування вільнорадикальних реакцій викликає втрату чутливості міокарда до ізопротеренолу.

**Ключові слова:** стрес, симпатоміметики, вільнорадикальне окислення.

UDC 616.45-001.1/3:616-008.93  
V. M. Yelsky, I. I. Zinkovich, O. D. Yakubenko  
THE ROLE OF FREE-RADICAL OXIDATION IN  
STRESS REALIZATION

The izoproterenol influence on the preparations of isolated myocardium was studied. It is found, that sensitivity to  $\beta$ -sympathomimetic agents depends on the free-radical oxidation intensity. Activation and inhibition of free-radical reactions cause the loss of myocardium sensitivity to isoproterenol.

**Key words:** stress, sympathomimetic agents, free-radical oxidation.