

РЕДОКС-СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК СЕРДЦА, СУПЕРОКСИД-АНИОНЫ И МОНООКСИД-АЗОТА В АУТОРЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ПРИ СТРЕССЕ

*А.П. Солодков, А.С. Дорошенко
Витебск, УО «ВГУ им. П.М. Машерова»*

Длительное и интенсивное эмоциональное или физическое напряжение это наиболее распространенная причина стрессовых реакций сопровождающихся нарушением коронарного кровообращения.

Важным механизмом нарушения тонуса артериальных сосудов при стрессе является дисфункция эндотелиоцитов, характеризующаяся увеличением образования монооксида азота (NO), активных форм кислорода (АФК), в частности супероксид-анионов, и снижением антиоксидантной защиты клеток сердца, что приводит к нарушению взаимосвязи коронарного кровотока и сократительной функции миокарда [1].

При этом активные формы кислорода могут не только прямо воздействовать на механизмы регуляции сосудистого тонуса и сократительной активности миокарда, но и влиять на них через изменение редокс-состояния клеток кровеносных сосудов и кардиомиоцитов [2, 3, 4].

Механизмы редокс-регуляции фенотипических свойств клеток реализуются посредством изменения функции протеинов и, возможно, других молекул вследствие их окисления/восстановления. Соотношение между тиоловыми и дисульфидными группами белков и пептидов отражает баланс между выраженностью образования и действия АФК и эффективностью функционирования редокс-систем клетки [2]. Установлено, что в нормальных условиях SH-группы цистеиновых остатков ряда протеинов играют роль “редокс-сенсоров” [1, 2, 3, 4]. Важная роль в поддержании редокс-состояния клеток принадлежит редокс-системе глутатиона (восстановленный/окисленный глутатион) [4].

Цель работы: изучить связь редокс-состояния клеток, супероксид-анионов и монооксида азота сердца в ауторегуляции тонуса коронарных сосудов после 6-ти часового стресса, а также возможность профилактики постстрессорных изменений тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда низкомолекулярным тиолсодержащим антиоксидантом N-ацетил-L-цистеином.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 64 крысах-самках линии Вистар массой 240-320 грамм. Коронарный поток и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах изолированного по Лангендорфу сердца, перфузируемого раствором Кребса - Хензелейта рН – 7,3-7,4; насыщенного карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂), при температуре 37°C, в условиях постоянного давления и сокращающегося в спонтанном ритме.

Для выявления роли супероксид-анионов и NO в регуляции тонуса коронарных сосудов при стрессе в перфузионный раствор добавляли тирон (4,5-дигидрокси-1,3-бензолдисульфоновая кислота, 10 мМ, Sigma USA), ме-

тиловый эфир N- ω -нитро-L-аргинина (L-NAME, 60 мкМ/л, Sigma USA,). Для коррекции измененного редокс-состояния клеток коронарных сосудов и миокарда использовали внутрибрюшинное введение низкомолекулярного тиолсодержащего антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина (40 мг/кг, рН раствора 7,3-7,4, Sigma USA) за 1 час до эксперимента. Содержание общих белковых и небелковых тиоловых групп (глутатион) миокарда и небелковых тиоловых групп в эритроцитах, определяли спектрофотометрическим методом при длине волны равной 412 нм, в реакции с нитротисульфобензоатом [5]. Содержание дисульфидных групп рассчитывали по разнице между концентрацией общих и восстановленных SH-групп.

Стресс вызывали посредством 6-ти часовой иммобилизацией крыс на спине без фиксации головы. Перфузию сердца осуществляли Кребса-Хензелята (рН -7.3-7.4), обогащенным карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂). Перфузионное давление (ПД) в ходе опыта ступенчато повышали с 40 до 120 мм рт. ст.

Цифровой материал обработали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы «Statistica 6.0».

Результаты и обсуждение. Шестичасовой иммобилизационный стресс приводил к увеличению ОСКП, на фоне снижения развиваемого внутрижелудочкового давления, что свидетельствует о развитии при этом состоянии явления гиперперфузии сердца и нарушении существующей в норме тесной взаимосвязи величины коронарного потока и сократительной функции миокарда.

После 6-ти часового иммобилизационного стресса в эритроцитах отмечалось выраженное уменьшение тиол/дисульфидного соотношения, а в миокарде – достоверное снижение содержания белковых и небелковых SH-групп на 57% и 22% соответственно.

В сердцах крыс, перенесших 6-ти часовую иммобилизацию на фоне предварительного введения N-ацетил-L-цистеина ОСКП достоверно не изменилась, а индекс ауторегуляции, коронарный расширительный резерв снизились в меньшей степени, чем у животных, перенесших стресс без введения препарата. Введение N-ацетил-L-цистеина предупреждало характерные для 6-ти часового иммобилизационного стресса падение развиваемого внутрижелудочкового давления и полностью предупреждало вызванное иммобилизацией снижение содержания восстановленного глутатиона и белковых сульфгидрильных групп в миокарде крыс.

Таким образом, предварительное введение N-ацетил-L-цистеина существенно ограничивало неблагоприятные эффекты 6-ти часовой иммобилизации, выражающиеся в появлении коронарной гипотонии, снижении сократительной функции миокарда.

Добавление тирона в раствор, которым перфузировали сердца крыс, перенесших 6-ти часовую иммобилизацию после предварительного введения N-ацетил-L-цистеина, сопровождалось более выраженным по сравнению с животными, подвергнутыми стрессу без предварительного введения препарата, приростом ОСКП. Введение тирона вместе с L-NAME в изолированное сердце крыс, перенесших 6-ти часовую иммобилизацию на фоне

предварительного введения N-ацетил-L-цистеина, не сопровождалось увеличением ОСКП, снижением индекса ауторегуляции, максимального гиперемического коронарного потока и коронарного расширительного резерва по сравнению с данными, полученными при перфузии сердца раствором, содержащим только L-NAME.

Заключение Влияние супероксид-анионов на тонус коронарных сосудов изолированного сердца крыс, перенесших иммобилизационный стресс, в существенной мере, зависит от их взаимодействия с монооксидом азота а N-ацетил-L-цистеин существенно ограничивает постстрессорные изменения супероксид-анион – зависимого механизма регуляции тонуса сосудов сердца.

Изменение редокс-состояния клеток сердца можно рассматривать как один из патогенетических механизмов развития постстрессорных нарушений тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда, а N-ацетил-L-цистеин может быть предложен для дальнейших исследований в качестве профилактика стресс-индуцированных изменений сердца и сосудов.

Список литературы

1. Солодков А.П., Дорошенко А.С., Шебеко В.И., Щербинин И.Ю. Эндотелий, ауторегуляция коронарных сосудов и стресс // Вестник Фонда фундаментальных исследований. – Минск, 2005. -№1. – С.84-99.
2. Шебеко В.И., Редокс-регуляция характера фенотипа эндотелиоцитов: от хаоса к порядку // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2002. – Т.1, №1. – С.30-38.
3. Price D.T., Vita J.A., Keaney J.F.Jr. Redox control of vascular nitric oxide bioavailability // Antioxid. Redox Signal.-2000.-Vol.2, №4.-P.919-935.
4. Schafer F.Q., Buettner G.R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple // Free Radic. Biol. Med.-2001.-Vol.30, №11.-P.1191-1212.
5. Thannauer T., Koniah V., Scherada H. Sensitive quantitative analysis of disulfide bonds in polypeptides and proteins // Analyt. biochem.–1984.-Vol.138, №1.-P.181-188.

ИЗМЕНЕНИЯ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ СТРЕССЕ

Д.Г. Сташкевич, А.Д. Наумов

Гомель, ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси»

По данным ВОЗ болезни, связанные с нарушением функционирования нервной системы, стоят на третьем месте после онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Сердечно-сосудистые реакции неизбежно сопутствуют различным стрессовым состояниям, кроме того, активируются центральные механизмы стресс-реакции. При активации гипоталамо-гипофизарной–адреналовой и симпатико-адренергической систем происходит увеличение синтеза и выброса в кровь АКТГ и катехоламинов. Они, как правило, опосредуют первичные молекулярные изменения функций мозга и, соответственно, воздействия ЦНС на кровеносную систему, происходящие при