

4. Davani, S. Delayed 24 hours Nomega-nitro-L-arginine methyl ester injection induces pharmacological cardioprotection against reperfusion injury / S. Davani [et al.] // Cell Mol Biol. – 2007. – V. 52 (Suppl). – OL868-OL873.
5. Горячева, А.В. Роль предупреждения гиперпродукции оксида азота в кардиопротекторном эффекте адаптации к периодической гипоксии / А.В. Горячева [и др.] // Патол. физиол. эксперим. Терапия – 2012. – № 1. – С. 23–28.
6. Chang, K. Nitric oxide suppresses inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting post-translational modification of I-kappa-B. / K. Chang [et al.] // Exp Mol Med. – 2004. – 36 – P. 311–324.

ВЛИЯНИЕ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОХОМА P450 И УРОВЕНЬ СУР3А-ЗАВИСИМОГО МОНООКСИГЕНИРОВАНИЯ У БЫСТРЫХ И МЕДЛЕННЫХ МЕТАБОЛИЗЕРОВ

Цейликман В.Э., Козочкин Д.А., Цейликман О.Б.

Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск

Южно-Уральский государственный университет, г. Челябинск

Известно, что определенные изоформы цитохрома P450 вовлечены в терминальную биотрансформацию глюкокортикоидов[2]. Поэтому их участие в метаболической регуляции стресса представляется вполне вероятным. Имеются данные о сопряженности между собой содержания кортикостерона и активностей изоформ семейства СУР 3А, осуществляющих реакции 6 бета гидроксирования глюкокортикоидов [3]. В связи с этим, представляется важным изучение соотношения между исходным уровнем микросомального окисления и стрессорными изменениями содержания цитохрома P450 и СУР 3А- зависимого монооксигенирования в зависимости от длительности стресса. Изучением этого вопроса являлось целью настоящего исследования.

Методика. Исследование выполнено на 38 крысах линии Sprague-Dowley. Гипокинетический стресс моделировали путем помещения животных в клетки-пеналы из органического стекла сроком 1 день и 3 дня. Изучали непосредственное и отсроченное действие стресса на исследованные показатели. Состояние микросомального окисления оценивали по «времени гексеналового сна», с помощью теста «гексеналовый сон». Гексенал вводили внутрибрюшинно в виде 5% водного раствора из расчета 60 мг на 1кг массы. Длительность сна оценивали по времени нахождения животных в боковом положении. Окончанием сна считали момент восстановления рефлекса переворачивания. Это позволило, по скорости метаболизма гексенала, разделить особей на фенотипические группы по каталитической активности изоформ цитохрома P-450 зависимых монооксигеназ. Активность изоформ СУР3А определяли по реакции диметилирования эритромицина[2]. Содержание кортикостерона определяли спектрофлуориметри-

чески по методике Ю.М.Балашова. Результаты обрабатывались общепринятыми методами дескриптивной статистики и выражались в виде среднеарифметической (M) и её стандартной ошибки (m). Статистически значимые различия определяли с использованием критерия непараметрической статистики Манна-Уитни (U).

Результаты и обсуждение. В исследуемой экспериментальной серии у нестрессированных крыс не обнаружены статистически значимые различия по содержанию кортикостерона между быстрыми и медленными метаболизерами. У быстрых метаболизеров наблюдался транзиторный прирост уровня кортикостерона непосредственно после завершения однодневного гипокинетического стресса (ГК1) и его нормализация через сутки после завершения воздействия. У медленных метаболизеров отсутствовали статистически значимые изменения уровня кортикостерона при некоторой тенденции к его снижению.

Через 24 часа после воздействия уровень кортикостерона не претерпел существенных изменений по сравнению с контролем. У медленных метаболизеров в отличие от быстрых при однодневном гипокинетическом стрессе не наблюдался прирост содержания кортикостерона непосредственно после завершения воздействия. Через 24 часа после завершения ГК1 также отсутствовали статистически значимые различия с контролем.

У быстрых метаболизеров непосредственно после завершения гипокинетического стресса наблюдался прирост содержания кортикостерона. Через сутки после завершения воздействия содержание кортикостерона восстановилось до исходного уровня. У медленных метаболизеров также отсутствовали статистически значимые изменения содержания кортикостерона непосредственно после завершения воздействия и спустя 24 часа. Установлено, что в общей выборки животных, однодневный гипокинетический стресс не сопровождался статистически значимыми изменениями по содержанию цитохрома P450 и уровню CYP3A-зависимого монооксигенирования как непосредственно после завершения воздействия, так и 24 часа спустя.

Не обнаружено статистически значимых изменений и непосредственно после завершения трехдневного гипокинетического стресса. Однако 24 часа спустя наблюдается снижение содержания цитохрома P450 при одновременном повышении уровня CYP3A-зависимого монооксигенирования. Причем у животных группы «ГК3+24 часа» содержание цитохрома P450 меньше чем у животных группы «ГК1+24 часа». Таким образом пролонгирование гипокинетического стресса привело к отсроченному снижению содержания цитохрома P 450. Но при этом активность изоформ цитохрома P450, метаболизирующие глюкокортикоиды было несколько повышенным.

Исследование зависимости микросомального окисления от исходного состояния позволило выявить некоторые различия между быстрыми и медленными метаболизерами по содержанию цитохрома P450 и уровню CYP3A-зависимого монооксигенирования при гипокинетическом стрессе.

Следует отметить, что исходно между быстрыми и медленными метаболитерами не было обнаружено статистически значимых различий между содержанием цитохрома P450, а также активности изоформ CYP3A.

Непосредственно после завершения однодневного гипокинетического стресса у быстрых метаболитеров (группа δ ГК1(0ч)) наблюдалось снижение уровня CYP3A-зависимого монооксигенирования при наличии тенденции к увеличению содержания цитохрома P450 (не достигших значимых различий по сравнению с контролем). Отсроченное действие однодневной гипокинезии у быстрых метаболитеров (группа δ ГК1(24 ч)) проявлялось в повышении активности изоформ CYP3A и в снижении содержания цитохрома P450 по сравнению с группой δ ГК1(0). У медленных метаболитеров непосредственно после завершения однодневного гипокинетического стресса (группа μ ГК1(0)) отмечено снижение содержания цитохрома P450 по сравнению с контролем, а также по сравнению с группой δ ГК1(0ч).

Причем у медленных метаболитеров содержание цитохрома P450 в 4 раза ниже, чем у быстрых. Отсроченное действие однодневной гипокинезии у медленных метаболитеров сопровождалось повышением содержания цитохрома P450.

Непосредственно после завершения трехдневного гипокинетического стресса у быстрых метаболитеров не наблюдалось статистически значимых изменений содержания цитохрома P450 и активности изоформ CYP3A по сравнению с контролем (группа δ ГК3(0)). Также у быстрых метаболитеров отсутствовали статистически значимые различия по этим показателям с контролем и спустя 24 часа после завершения воздействия (группа δ ГК3(24)). Однако в группе δ ГК3(24) по сравнению с группой δ ГК3(0) наблюдалось снижение содержания цитохрома P450. Таким образом, у быстрых метаболитеров отсроченное действие трехкратного гипокинетического стресса проявлялось в снижении содержания цитохрома P450. У медленных метаболитеров непосредственно после завершения трехдневного гипокинетического стресса (группа μ ГК3(0)) не наблюдалось статистически значимых изменений в контроле по сравнению с контролем.

Однако через 24 часа после завершения воздействия наблюдалось снижение содержания цитохрома P450. Таким образом, отсроченным эффектом трехдневной гипокинезии у медленных метаболитеров также как и у быстрых является сниженный уровень цитохрома P450, что в итоге проявилось значимым снижением его содержания в обобщенной выборке.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что увеличение продолжительности гипокинезии снижает зависимость отсроченных эффектов стрессора на показатели микросомального окисления от исходного состояния. Это выражается в отсутствии различий между быстрыми и медленными метаболитерами по содержанию цитохрома P450 в микросомах печени. Менее продолжительная гипокинезия продемонстрировала более высокую чувствительность показателей микросомального окисления

к предъявленному стрессу у быстрых метаболизеров по сравнению с медленными. Особенно интересно разнонаправленные изменения между содержанием цитохрома P450 и уровнем активности изоформ CYP3A. Следует обратить внимание на вовлеченность CYP3A-зависимого монооксигенирования в регуляцию стресса за счет их участие в метаболизме глюкокортикоидов. В таких случаях возможна селективная «ир- регуляция» CYP3A активности, имеющая цитокин-зависимый характер. Ранее ее наличие было продемонстрировано в экспериментах на крысах с введением рекомбинантного IL-1 β (Сибиряк С.В. и соавт., 2004). В этих исследованиях снижалась активность изоформ CYP1A1 и CYP2B1/2 в ответ на введение препарата беталейкина. Но при этом был повышен уровень CYP3A-зависимого монооксигенирования на фоне повышенного содержания кортикостерона. Аналогия между полученными нами результатами и данными С.В.Сибиряка и соавторов становится понятной- если учесть, что при односторонней и трехдневной гипокинезии наблюдалось повышение содержания провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6, TNF.

Литература

1. Балашов, Ю.Г. Флюорометрический микрометод определения кортикостероидов: сравнение с другими методами / Ю.Г. Балашов // Физиол. журн. СССР. – № 12. – С. 280–283.
2. Сибиряк, С.В. Цитокиновая регуляция биотрансформации ксенобиотиков и эндогенных соединений / С.В.Сибиряк [и др.]. – Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2006. – 162 с.
3. Sapolsky, R. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions / R.M. Sapolsky, M. Romero, A. Munck // Endocrine Reviews. – 2000. – №1. – P. 55–82. Поддержано грантом РФФИ 14-04-01381

NITRIC OXIDE STORES IN CORONARY BLOOD VESSELS OF DOGS WITH METABOLIC SYNDROME

Barlow M.A., Caffrey J.L.,* Downey H.F.,* Manukhina E.B.* ***

** University of North Texas Health Science Center, Fort Worth, USA*

*** Institute for General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia*

Introduction. Nitric oxide (NO) is a highly reactive substance which can be bound into complexes (NO stores) used for transport and intracellular storage of NO. S-Nitrosothiols (RS-NO) and dinitrosyl iron complexes (DNIC) are the main forms of NO storage and transport [4]. Both RS-NO and DNIC exist in two forms---high molecular weight, i.e. bound to thiol groups in proteins, and low molecular weight, i.e. attached to crystalloid thiols such as cysteine or glutathione. The high molecular weight complexes are much more stable than the low molecular weight ones, and they are considered to be the primary intracellular NO stores [4].