

УДК [612.66+616-092.19]:577.15

ОСОБЕННОСТИ ВОЗРАСТНОЙ МОДУЛЯЦИИ АЛЬДЕГИДРЕДУКТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В СЕРДЦЕ И ПЕЧЕНИ КРЫС ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА

Сухова Л.Л.

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков, Украина
E-mail: sukhova@inbox.ru*

В работе было предпринято изучение особенностей изменения активности альдегидредуктазы сердца и печени крыс пубертатного возраста в ответ на действие ряда факторов, возникающих в тканях при оксидативном стрессе (метаболический ацидоз и накопление активных форм кислорода). Установлено, что альдегидредуктазная активность постмитохондриальной фракции миокарда, в меньшей мере, чем альдегидредуктазная активность печени, проявляет чувствительность к модулирующему эффекту подкисления реакционной смеси и внесению в нее активных форм кислорода. В пубертатном возрасте происходит понижение чувствительности альдегидредуктазы печени и миокарда к изученным модулирующим факторам, по сравнению с таковой у взрослых половозрелых животных.

Ключевые слова: альдегидредуктаза, оксидативный стресс, сердце, печень, пубертат.

ВВЕДЕНИЕ

На этапе полового созревания происходит понижение устойчивости тканей к оксидативному стрессу [1, 2]. Одним из проявлений этого становится высокий уровень подверженности подростков заболеваниям сердечнососудистой системы, желудочно-кишечного тракта, головного мозга и др. [3–5]. Однако механизмы данного феномена все еще далеки от окончательного понимания.

К настоящему времени в литературе накоплены убедительные данные в пользу того, что в качестве неспецифического звена патогенеза большинства внутренних заболеваний выступает оксидативный стресс [6, 7]. Его характерным проявлением служит увеличение содержания в клетках цитотоксических карбонильных продуктов обмена веществ, к числу которых относятся многочисленные альдегиды [8, 9]. Эффективность их утилизации оказывает существенное влияние на адаптационные свойства тканей к действию повреждающих факторов внешней среды, реализующих свой эффект через возникновение оксидативного стресса [10, 11].

Особое место в утилизации эндогенных альдегидов занимает путь катаболизма, связанный с их восстановлением в малотоксичные спирты в реакциях, катализируемых альдокеторедуктазами [10, 12, 13]. Все это позволяет предположить важную роль модуляции альдегидредуктазного пути катаболизма альдегидов в возрастном понижении устойчивости организма к оксидативному стрессу в пубертатном возрасте. Однако в литературе до настоящего времени все еще отсутствуют сведения по этому вопросу.

Принимая во внимание выше изложенное, целью настоящего исследования явилось выяснение особенностей возрастного изменения свойств альдегидредуктазы сердца и печени крыс пубертатного возраста. Для реализации данной цели было проведено изучение возрастных особенностей ответа альдегидредуктазы на действие ряда факторов, возникающих в тканях при оксидативном стрессе (метаболический ацидоз и накопление активных форм кислорода).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 57 крысах самцах линии Вистар трех возрастных групп: 1 – 1,5-месячные (ранний пубертат), 2 – 2-месячные (поздний пубертат) и 3 – 12-месячные (взрослые половозрелые), которых содержали на стандартном рационе питания вивария.

Эвтаназию проводили путем декапитации под легким эфирным наркозом. Извлекали сердце и печень, и их помещали в охлажденный изотонический раствор хлористого натрия. Ткани миокарда и печени измельчали ножницами и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера-Эльвегейма в соотношении 1:10 (масса/объем) с раствором, содержащим 0,25 М сахарозы и 0,01М Трис (рН 7,4). Гомогенат фильтровали через 4 слоя марли и центрифугировали 10 минут при 1000g. Супернатант повторно центрифугировали 20 минут при 10000 g. Полученную надосадочную жидкость использовали в работе в качестве постмитохондриальной фракции. Все процедуры проводили при 4–6°C.

В постмитохондриальной фракции сердечной мышцы и печени определяли активность NADH-зависимой альдегидредуктазы с использованием глутарового альдегида в качестве субстрата [14]. В специальных исследованиях уменьшали величину рН реакционной смеси с 6,0 до 5,8, а также вносили в нее соль Мора и аскорбиновой кислоты в конечных концентрациях 0,012 мМоль и 8 мМоль соответственно, или перекись водорода и азид натрия в конечных концентрациях 10 мМоль и 1 мМоль соответственно.

Концентрацию белка в постмитохондриальной фракции определяли по методу Лоури [15].

Результаты исследований подвергали статистической обработке с использованием непараметрического метода Wilcoxon – Mann – Whitney.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из таблицы, в постмитохондриальной фракции печени животных пубертатного возраста (1,5–2 месяца) альдегидредуктазная активность выше, чем у взрослых половозрелых крыс. При этом у животных, находящихся на стадии раннего (1,5-месяца) и позднего (2-месяца) пубертата ее величина существенно не различается.

В постмитохондриальной фракции миокарда с увеличением возраста животных от 1,5 до 12 месяцев происходит повышение альдегидредуктазной активности. При этом у крыс раннего и позднего пубертатного возраста ее величина остается одинаковой.

Таблица

Активность альдегидредуктазы (нмоль NADH/мг протеина·мин) в постмитохондриальной фракции сердца и печени крыс разного возраста (M±m, n=6-7)

орган	возраст		
	1,5 мес	2 мес	12 мес
печень	6,82±0,31*	10,15±0,99*	5,51±0,42
сердце	2,31±0,23	2,75±0,22	3,60±0,40

Примечание: *- p < 0,05 по отношению к показателям 12-месячных животных.

Полученные результаты указывают на то, что на этапе полового созревания возникают метаболические предпосылки для формирования тканеспецифических особенностей в функционировании немитохондриальной ферментативной системы, обеспечивающей восстановление цитотоксических карбонильных продуктов свободнорадикального окисления. Их появление предопределяет ограничение эффективности утилизации эндогенных альдегидов в сердце, тогда как в печени формируется сдвиг противоположной направленности. В подобной ситуации большой интерес вызывает выяснение характера ответа альдегидредуктазы на действие регуляторных факторов, возникающих в клетках в условиях накопления в них карбонильных продуктов свободнорадикального окисления. Несомненно, что характер подобного ответа будет оказывать существенное влияние на эффективность утилизации альдегидов в редуктазном пути в условиях оксидативного стресса.

Результаты проведенных исследований представлены на рисунке. Из него видно, что уменьшение рН реакционной смеси сопровождается понижением альдегидредуктазной активности в постмитохондриальной фракции печени. Этот эффект в меньшей мере выражен у крыс пубертатного возраста, чем у взрослых половозрелых животных.

Ингибирующее влияние на альдегидредуктазную активность оказывают и активные формы кислорода. Так при внесении в реакционную смесь перекиси водорода происходит понижение альдегидредуктазной активности в печени до 13–18% от ее исходного уровня. При этом у взрослых половозрелых животных и крыс пубертатного возраста величина подобного одинакова.

Внесение в среду инкубации смеси соли Мора и аскорбиновой кислоты сопровождается понижением альдегидредуктазной активности в постмитохондриальной фракции печени до 17–24% от ее исходного уровня. При этом, как следует из представленного рисунка, ингибирующий эффект в меньшей мере проявляется у 2-месячных, чем у 1,5- и 12-месячных крыс.

Оценивая результаты проведенных исследований, следует обратить внимание, что факторы, возникающие в тканях в условиях оксидативного стресса (ацидоз и накопление активных форм кислорода), способствуют понижению альдегидредуктазной активности в постмитохондриальной фракции печени.

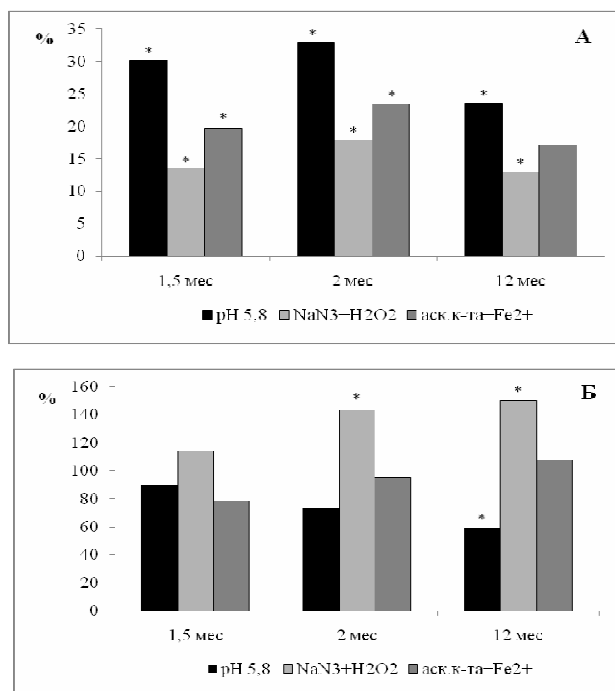


Рис. Изменение альдегидредуктазной активности постмитохондриальной фракции печени (А) и сердца (Б) крыс разного возраста (выражено в % от активности в отсутствии модулятора при pH 6,0).

Примечание: * p < 0,05 по отношению к контрольной группе pH 6,0

В большей мере подобный эффект проявляется под влиянием активных форм кислорода, чем в условиях понижения pH среды. По всей вероятности это обусловлено модификацией молекулы фермента свободнорадикальными активными формами кислорода, предопределяющей выраженное изменение конформации полипептидной цепи и, как следствие того, ингибирование энзима.

Следует заметить, что альдегидредуктазная активность из постмитохондриальной фракции печени крыс пубертатного возраста, в большей мере у 2-месячных животных, проявляет меньшую чувствительность к эффекту изученных модулирующих факторов. Причиной того могут быть возрастные различия в составе изоферментного спектра альдегидредуктаз цитозоля гепатоцитов.

Всесторонний анализ результатов проведенных исследований, позволяет прийти к заключению о том, что повышение активности альдегидредуктазы в постмитохондриальной фракции печени крыс пубертатного возраста сопровождается понижением ее чувствительности к действию ингибирующих факторов, возникающих в ней в условиях оксидативного стресса. По всей вероятности, данный сдвиг направлен на повышение устойчивости печени к действию неблагоприятных факторов внешней среды, реализующих свое повреждающее действие через стимуляцию свободнорадикальных процессов в гепатоцитах.

В ткани сердца выявляются определенные тканеспецифические особенности со стороны ответа альдегидредуктазной активности на действие исследованных модуляторов. Они проявляются в понижении величины ингибирующего эффекта ацидоза (понижения рН среды инкубации), отсутствии такового при внесении в среду инкубации постмитохондриальной фракции сердца смеси соли Мора и аскорбиновой кислоты, а также инверсии направленности действия перекиси водорода на альдегидредуктазную активность.

Как следует из представленного рисунка, у крыс пубертатного возраста не происходит изменения активности альдегидредуктазы в постмитохондриальной фракции сердца при понижении рН реакционной смеси с 6,0 до 5,8. При этом у взрослых животных регистрируется уменьшение альдегидредуктазной активности до 59% от ее исходного уровня. Вместе с тем, у 12-месячных крыс происходит полуторакратное повышение альдегидредуктазной активности при внесении в реакционную смесь перекиси водорода. Аналогичный по величине и направленности сдвиг возникает и у 2-месячных животных, тогда как у 1,5-месячных крыс эффекта перекиси водорода на альдегидредуктазную активность вообще не выявляется.

Результаты проведенных исследований указывают на то, что альдегидредуктазная активность постмитохондриальной фракции миокарда, в меньшей мере, чем альдегидредуктазная активность печени, проявляет чувствительность к модулирующему эффекту подкисления реакционной смеси и внесению в нее активных форм кислорода. Более того, перекись водорода вызывает повышение ферментативной активности в сердце, тогда как в печени она оказывает на нее противоположный по направленности эффект. Подобные тканеспецифические особенности в действии модуляторов на альдегидредуктазную активность можно объяснить различиями изоферментного спектра альдокеторедуктаз в печени и сердце [10]. Несомненно, что различные изоферменты альдегидредуктазы проявляют неодинаковую чувствительность к действию модулирующих факторов и имеют разную базальную активность.

В пубертатном возрасте происходит понижение чувствительности альдегидредуктазы из постмитохондриальной фракции миокарда к изученным модулирующим факторам, по сравнению с таковой у взрослых половозрелых животных. Таким образом, понижение альдегидредуктазной активности в сердце крыс на этапе полового созревания, сопровождается ограничением силы ингибирующего действия на нее ацидоза. При этом у животных позднего пубертатного возраста, подобно 12-месячным крысам, регистрируется появление активирующего эффекта перекиси водорода.

Анализируя полученные результаты можно предположить, что ограничение ингибирующего эффекта модулирующих факторов, возникающих в миокарде в условиях оксидативного стресса и появление в 2-месячном возрасте активирующего эффекта перекиси водорода, является своеобразной компенсаторной реакцией миокардиальных клеток, на уменьшение в них на этапе полового созревания базальной альдегидредуктазной активности. Появление этих сдвигов направлено на снижение чувствительности миокардиальных клеток к действию повреждающих факторов оксидативного стресса в пубертатном возрасте.

Таким образом, можно предположить, что на этапе полового созревания, в большей мере в его позднем периоде, возникают адаптивные сдвиги, направленные на повышение устойчивости клеток в печени и сердца к повреждающему действию оксидативного стресса. В основе их формирования могут лежать возрастные особенности экспрессии генов альдегидредуктаз, обусловленные повышением уровня секреции половых стероидов в организме на данном этапе онтогенеза [16]. Результатом из возникновения становится изменение изоферментного спектра альдегидредуктаз в пубертатном возрасте и появление в нем изоферментов, обладающих меньшей чувствительностью к ацидозу, а в печени еще и к ингибирующему действию активных форм кислорода. Однако данное предположение требует экспериментальной проверки, которой и будут посвящены наши дальнейшие исследования.

ВЫВОДЫ

1. У крыс пубертатного возраста альдегидредуктазная активность в постмитохондриальной фракции печени выше, а в постмитохондриальной фракции миокарда ниже, чем у взрослых половозрелых животных.
2. Ацидоз и накопление активных форм кислорода способствуют понижению альдегидредуктазной активности в постмитохондриальной фракции печени. У крыс в пубертатном возрасте альдегидредуктазы менее чувствительны к ингибирующему эффекту ацидоза, чем у взрослых половозрелых животных, и одинаковы к активирующему действию перекиси водорода.
3. Повышение активности альдегидредуктазы в постмитохондриальной фракции печени крыс пубертатного возраста сопровождается понижением ее чувствительности к действию ингибирующих факторов, возникающих в ней в условиях оксидативного стресса.
4. В пубертатном возрасте происходит понижение чувствительности альдегидредуктазы постмитохондриальной фракции миокарда к ингибирующему эффекту ацидоза и активирующему действию перекиси водорода, по сравнению с взрослыми половозрелыми животными.

Список литературы

1. Волкова Ю.В. Влияние иммобилизационного стресса на содержание продуктов свободнорадикального окисления липидов и белков в субклеточных фракциях мозга крыс разного возраста / Ю.В. Волкова, В.В. Давыдов // Укр. біохім. журн. – 2009. – Т. 81, № 2. – С. 45-49.
2. Activity of the first line antioxidant defense enzymes in the liver of pubertal rats during stress / Yu.V. Volkova, L.L. Sukhova, V.V. Davydov, A.V. Goloborodko // Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry – 2011. – Vol. 5, No 4 – P. 389-391.
3. Коренев Н.М. Механизмы формирования инвалидности у детей с патологией системы кровообращения / Н.М. Коренев, Л.Ф. Богмат, С.Р. Толмачева // Медико-соціальні аспекти реабілітації дітей-інвалідів: матеріали наук.-практ. конф. Харків. – 2000.- С. 3-6.
4. Коренев М.М. Артериальная гипертензия у подростков. Прогнозування та профілактика артеріальної гіпертензії в дитячому та підлітковому віці: матеріали симп. – Харків. – 2001. – С. 3-7.
5. Коренев М.М. Клініко-гемодинамічні показники формування церебральних порушень у підлітків з первинною артеріальною гіпертензією / М.М. Коренев, О.М. Носова // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2002. – 2. – С. 15-18.

6. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular disease / K Uchida. // Free Radical. Biol. Med. – 2000. – Vol. 28, № 12. – P. 1685-1696.
7. Davydov V.V. Possible role of aldehyde,s scavenger enzymes during aging / V.V. Davydov, N.M. Dobaeva, A.I. Bozhkov. // Exp. Gerontol. – 2004. – Vol. 39. – P. 11-16.
8. Davydov V.V. Age-dependent differences in the stimulation of lipid peroxidation in the heart of rats during immobilization stress / V.V. Davydov, V.N. Shvets // Exp.Gerontol. – 2003. – Vol. 38, No 6. – P. 693–698
9. Spiteller G. Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases / G. Spiteller // Experimental Gerontology. – 2001. – Vol. 36, N 9. – P. 1425-1457.
10. Давыдов В.В. Физиологическая и патофизиологическая роль эндогенных альдегидов. / В.В. Давыдов, А.И. Божков, О.К. Кульчицкий - Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2012. – 240 с.
11. Antioxidant function of corneal ALDH3A1 in cultured stromal fibroblasts / N. Lassen, A. Pappa, W.J. Black et al. // Free Radic. Biol. Med. – 2006. – Vol. 41, N9. – P. 1459–1469.
12. Esterbauer H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes / H. Esterbauer, R.J. Schaur, H. Zollner // Free Radic. Biol. Med. – 1991. – Vol. 11, No 1. – P.81-128.
13. O’Brein P.J.O. Aldehyde sources metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health / P.J.O. O’Brein, A.G. Siraki, N. Shangari // Critical Reviews in Toxicology. – 2005. – Vol. 35. – P. 609–662.
14. Фомина Е.В. Альдегидредуктазная активность печени крыс разного возраста при иммобилизационном стрессе / Е.В. Фомина, В.В. Давыдов // Проблемы старения и долголетия. – 2004. – Т.13, № 4. – С. 510-517.
15. Lowry O.H. Protein measurement with the Pholin phenol reagent / O.H. Lowry, K.J. Rosenbrough, A.L. Farr, R.J. Rendall // J.Biol.Chem. – 1951. – Vol. 193, №1. – P. 265-275.
16. Grant A. Expression of rat aldehyde reductase AKR7A1: influence of age and sex and tissue-specific inducibility / A. Grant, L. Staffas, L. Mancowitz // Biochem. Pharmacol. – 2001. – Vol. 62, No 11. – P. 1511–1519.

Сухова Л.Л. Особливості вікової модуляції альдегидредуктазної активності в серці і печінці щурів пубертатного віку / Л.Л. Сухова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 1. – С. 218-224.

В роботі було проведено вивчення особливостей зміни активності альдегидредуктази серця і печінки щурів пубертатного віку у відповідь на дію ряду чинників, що виникають в тканинах при оксидативному стресі (метаболический ацидоз і накопичення активних форм кисню). Встановлено, що альдегидредуктазна активність постмітохондріальної фракції міокарду, в меншій мірі, чим альдегидредуктазна активність печінки, проявляє чутливість до модулюючого ефекту підкислення реакційної суміші і внесення до неї активних форм кисню. У пубертатному віці відбувається пониження чутливості альдегидредуктази печінки і міокарда до вивчених модулюючих чинників, в порівнянні з такою у дорослих статевозрілих тварин.

Ключові слова: альдегидредуктаза, оксидативний стресс, серце, печінка, пубертат.

Sukhova L.L. Special features of age modulation of aldehydreductase activity in heart and liver of pubertal age rats / L.L. Sukhova // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 1. – P. 218-224.

The purpose of this work is to study features of changing in aldehyde reductase activity in heart and liver of pubertal age rats in reply to the action of some factors that arise in tissues at oxidative stress (metabolic acidosis and accumulation of reactive oxygen species). It has been shown that aldehyde reductase activity from post mitochondrial fraction of myocardium is less sensitive to effect of assay factors than from liver ones. There is decrease in sensitivity of aldehyde reductase from postmitochondrial fraction of a myocardium in pubertal age to acidation in reactionary mixture and addition to reactionary mixture an active forms of oxygen, in comparison with that at sexual mature animals.

Keywords: aldehyde reductase, oxidative stress, heart, liver, pubertal age.

Поступила в редакцію 29.01.2013 г.