

Харьковский государственный университет

На правах рукописи

ВЛЗКОВА Степанка

Влзкова Степанка

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СИСТЕМ ТРАНСПОРТА КАЛЬЦИЯ И АДРЕНОРЕКЦИИ
В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРЕКИСНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА
И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ
В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

03.00.04 - Биохимия

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Харьков - 1994

16С



00756722 (Т)

Диссертация выполнена в Харьковском государственном университете.

Научный руководитель : доктор биологических наук,
профессор Калиман Павел
Авксентьевич

Официальные оппоненты : доктор биологических наук,
профессор Бондаренко Валерий
Антонович
(Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН Украины,
г. Харьков)
кандидат биологических наук,
Древаль Владислав Иванович
(Харьковский государственный
университет)

Ведущая организация: Институт усовершенствования
врачей МЗ Украины,
г. Харьков

Защита состоится "4" марта 1994 г.
в 14.00 часов на заседании специализированного ученого совета
К 053. 06. 07. Харьковского государственного университета
(310 077, г. Харьков, пл. Свободы 4, аудитория 3-15)

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Харьковского госуниверситета.

Автореферат разослан "4" февраля 1994 г.

Ученый секретарь
специализированного ученого совета,
кандидат биологических наук

Некрасова А. В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В последнее время очень интенсивно исследуются биохимические основы механизма клеточного повреждения. Установлено, что именно повреждение мембран клеток, в результате нарушения внутриклеточной сигнализации, является причиной многих патологических состояний, таких как гипертоническая болезнь (ГБ), атеросклероз (АС) или ишемическая болезнь сердца (Меерсон и др., 1986; Костюк, Чазов, 1986).

В различных тканях животных, в том числе и человека, до недавнего времени были известны два типа вторичных посредников. Один из них - это ионы кальция, регулирующие целый ряд физиологических функций. К другому типу вторичных посредников относятся циклические монофосфаты нуклеотидов, главным образом сАМР и сВМР. Недавно была открыта еще одна, более сложная система посредников, в которой участвуют липиды мембран, и которая может мобилизовать из внутриклеточных депо ионы кальция, а также активировать протеинкиназу С (Теппермен, 1989).

В поддержании функций сердечно-сосудистой системы при различных физиологических состояниях и в условиях патологии важная роль принадлежит симпато-адреналовой системе (Васильев, Чугунов, 1985; Коркушко, Мороз, 1989).

На уровне клетки ее влияние осуществляется через адренорецепторы (АР), функция которых сопряжена с аденилатциклазой (АЦ).

Эффекты адренорегуляторов (адреналин, норадреналин) на клетку реализуются через альфа- и бета-АР, каждый из которых подразделяют на два подтипа - альфа-1, альфа-2- и бета-1-, бета-2-АР.

В настоящее время рассматривается точка зрения, согласно которой каждый из подтипов АР отдает "предпочтение" одному или нескольким агонистам или антагонистам. Бета-АР активируют АЦ, альфа-АР, напротив, ингибируют ее активность, в частности альфа-2-АР, альфа-1- АР связаны с действием фосфатидилинозитидного обмена (Авакян, 1988; Теппермен, 1989). Считают, что катехоламины, реагируя с альфа- или бета-АР, часто вызывают разнонаправленные реакции. Например, адреналин через альфа-1-АР вызывает образование диацилглицерола и инозитол-3-фосфата, через альфа-2-АР - повышение концентрации кальция в клетке, через бета-1-, бета-2-АР - образование сАМР (Орлов,

1987; Костик, Чазов, 1988).

✓ Известно, что при длительном стрессорном воздействии на организм повреждающий эффект наступает в результате чрезмерной активации катехоламинами липаз, фосфолипаз и процессов свободнорадикального окисления (Меерсон, 1984). В то же время первоначальный адаптивный эффект стресса проявляется в активации антиоксидантной системы (Гуляева и др., 1988).

✓ Экспериментальные данные свободнорадикального окисления позволили выделить физиологическую антиоксидантную систему, тормозящую самопроизвольное аутоокисление в клетке и неклеточном веществе. Эта система включает эндогенные биоантиоксиданты, к которым можно отнести витамины С, витамин Е, ретинол, серусодержащие аминокислоты и антиоксидантные ферменты, которые можно разделить на две группы.

К первой группе относятся супероксиддисмутаза, ингибирующая на иницирующей стадии аутоокисление активных форм кислорода в мембранах, и каталаза, расщепляющая перекись водорода.

✓ Вторая группа включает ферменты окислительно-восстановительного превращения аскорбата и глутатиона. Глутатионзависимая антиоксидантная система защиты клетки представлена несколькими ферментами, а именно: глутатионпероксидазой и глутатон-S-трансферазой, восстанавливающими гидроперекиси липидов, и глутатионредуктазой, поддерживающей уровень восстановленного глутатиона в клетке (Кулинский, Колесниченко, 1990).

✓ Функционирование двух механизмов защиты (цепь биоантиоксидантов и групп антиоксидантных ферментов) зависит от общего фонда восстановительного эквивалента (NADH, NADPH), пополняющегося в процессах окислительных реакций пентозофосфатного пути, ключевым ферментом которого является глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа. Конечным звеном антирадикальной цепи является основной липидный биоантиоксидант клеточных мембран - токоферол (Воскресенский, 1975; Воскресенский, Бобырев, 1989, 1992).

Однако конкретные молекулярные механизмы повреждающего действия катехоламинов, а также формирования системы антиоксидантной защиты клетки от развивающегося повреждения изучены недостаточно.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы было изучение взаимодействия систем транспорта кальция и адренорецепции в ре-

гуляции перекисной резистентности и активности ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах человека.

В связи с этим задачи настоящей работы сводились к следующему:

1. Определить различия в состоянии антиоксидантной защиты клетки в норме и при патологии (гипертоническая болезнь, атеросклероз).
2. Рассмотреть особенности усиления адренергических влияний и передачи кальциевого сигнала и ее значение для формирования защиты эритроцитов от клеточного повреждения у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями.
3. Изучить состояние антиоксидантой защиты эритроцитов человека в условиях блокады альфа- и бета-адренорецепторов.
4. Выяснить роль протеинкиназы С в работе адренергических систем регуляции и фосфатидилинозитидного каскада в эритроцитах.

Научная новизна работы. Основные результаты работы получены впервые. Установлено, что ионы кальция в физиологических концентрациях изменяют характер воздействия адреналина на эритроциты здоровых лиц и больных ГБ и АС. Влияние кальция находится в тесной функциональной связи с Са-медленными каналами и кальмодулином в эритроцитах и зависит от адренорецепторных взаимодействий и протеинкиназы С. Активирование протеинкиназы С не позволяет развиваться повреждающему действию адреналина, ее ингибирование снижает этот защитный эффект.

Показано, что кальций осуществляет повреждение эритроцитарной мембраны через альфа-2-адренорецепторы, а эффект адреналина реализуется преимущественно через бета-1-адренорецепторы.

Установлено, что с эффектом действия адреналина на клетку связано повышение ферментативной активности супероксиддисмутазы, а влияние кальция сопровождается модуляцией глутатионзависимых ферментов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные могут являться основой для дальнейшего выяснения механизмов взаимодействия систем транспорта кальция и адренорецепции в регуляции клеточного повреждения и формирования системы антиоксидантной защиты клетки в норме и при сердечно-сосудистой патологии, а также направленного воздействия биологически активных соединений и фарма-

кологических средств на защиту от клеточного повреждения в условиях ГБ и АС. Практическая значимость работы состоит в необходимости учитывать различия, установленные нами в состоянии антиоксидантных ферментов при сердечно-сосудистой патологии.

Апробация работы. Результаты диссертации были представлены на Конференции молодых ученых биологического факультета и НИИ биологии ХГУ (г. Харьков, февраль 1993), на заседаниях Харьковского отделения Украинских обществ биохимиков и геронтологов (г. Харьков, апрель, сентябрь 1993) и в отчетах лаборатории биохимии НИИ терапии АМН Украины (г. Харьков) по темам: "Клеточные механизмы становления, стабилизации и рефрактерности гипертонической болезни, их динамика в ходе медикаментозной и немедикаментозной терапии" и "Изучить роль изменений липидной компоненты мембран клеток крови в реализации трансмембранных сигналов аденилатциклазного комплекса при заболеваниях сердечно-сосудистой системы и разработать способы их коррекции".

Публикации. По материалам диссертации опубликованы две печатные работы.

Объем работы. Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы (4 главы), описания методов, результатов исследований и их обсуждения (4 главы), заключения, выводов, списка литературы, включающего 219 наименований.

Диссертация иллюстрирована 12 таблицами и 7 рисунками.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом служили эритроциты, полученные из свежей донорской крови человека (здоровые лица и больные ГБ и АС) при использовании в качестве антиоксиданта и антикоагулянта 6 % раствора ЭДТА.

В эксперименте изучали влияние следующих факторов:

1. Адреналин (А, 10^{-5} М).
2. Адреноблокаторы (АБ): альфа-1-АБ - празозин (10^{-4} М); альфа-1 - , альфа-2-АБ - фентоламин (ФА, 10^{-4} М); бета-1-АБ - метопролол

(МП, 10^{-4} М); бета-1-, бета-2-АВ - пропранолол (ПН, 10^{-4} М).

3. Ионы кальция (Ca^{2+} , 2,75 ммоль/л).

4. Са-ионофор (А 23187, $5 \cdot 10^{-6}$ М).

5. Антагонисты кальциевого транспорта:

- медленных каналов - верапамил (ВП, 10^{-4} М);

- кальмодулина - галоперидол (ГП, 10^{-4} М);

- хлорпромазин (ХП, 10^{-4} М).

6. Модуляторы протеинкиназы С (ПК С): активатор - фоболовый эфир (фобол-миристат-ацетат, ФМА, 10^{-9} М); ингибитор - неомидин (НМ, 10^{-7} М).

Действующие агенты без присутствия кальция добавляли в кровь. Добавки вместе с кальцием осуществляли в эритроциты, отмытые от следов ЭДТА. После инкубации при 37°С в термобане с разной экспозицией в зависимости от условий поставленной задачи, эритроциты и плазму разделяли центрифугированием в течение 15 мин. Эритроциты отмывали от следов плазмы путем трехкратного центрифугирования при 500g в течение 10 мин охлажденным физиологическим раствором. В соответствии с целями и задачами исследований изучали изменения про- и антиоксидантных систем клетки.

В работе были изучены: перекисная резистентность эритроцитов (ПРЭ), содержание гидроперекисей липидов (ГПЛ) в эритроцитах и плазме, ферментативная активность супероксиддисмутазы (СОД, К.Ф. 1.15.1.1), каталазы (КАТ, К.Ф. 1.11.1.6), глутатионпероксидазы (ГПО, К.Ф. 1.11.1.9), глутатион-S-трансферазы (ГТ, К.Ф. 2.5.1.18), глутатионредуктазы (ГР, К.Ф. 1.6.4.2), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (К.Ф. 1.1.1.49) и содержание восстановленного глутатиона (GSH).

✓ ПРЭ определяли методом (Воскресенский, Туманов, 1982). ✓

Содержание ГПЛ в эритроцитах и плазме изучали с применением метода (Assakawa, Matsushita, 1980; Бахова, Лазарева, Фадеева, 1991) с использованием тиобарбитуровой кислоты.

Количество белка определяли по Лоури (Кочетов, 1980).

Для определения активности СОД был использован метод, основанный на способности фермента конкурировать с нитросиним тетраволом за супероксидные анионы (Журкин и др., 1986; Дубинина и др., 1988).

Ферментативную активность КАТ определяли по ее способности уменьшать концентрацию перекиси водорода на единицу в минуту (Жмакина, 1974; Дубинина и др., 1988).

ГПО изучали с применением нитропруссид натрия методом (Гаврилова, Хмара, 1986).

Активность ГТ определяли по скорости образования конъюгатов глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом (Habig et al., 1981).

✓ ГР измеряли по скорости восстановления глутатиона методом (Макаренко, 1988).

Содержание GSH определяли методом, основанным на принципе взаимодействия аллоксана с избытком глутатиона (Штутман, 1970; Путилина, 1982).

Для определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы был использован тест-набор Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica, ФРГ.

Полученные в опытах результаты обрабатывались статистически согласно (Корниш-Бууден, 1979). Оценку достоверности различий между изучаемыми величинами проводили с помощью t-критерия Стьюдента (Лякин, 1980).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что причиной патологических состояний сердечно-сосудистой системы, таких как ГБ и АС, является повреждение клеточных мембран в результате стрессорных воздействий, вызывающих активацию липаз, фосфолипаз, свободнорадикального окисления и процессов ПОЛ, поэтому нашей задачей явилось изучение состояния системы АО защиты клетки, обеспечивающей первоначальный адаптивный эффект при стрессе.

В эксперименте *in vitro* на эритроцитах здоровых лиц и больных ГБ и АС установлены существенные отличия в состоянии процессов ПОЛ и формировании АО защиты клетки, а также различия в ответах на факторы воздействия (адреналин, ионы кальция, антагонисты кальциевого транспорта), проявляющиеся в изменении активности липопероксидации и состояния систем АО защиты.

Состояние антиоксидантной защиты клетки в норме и при патологии

Как показывают данные, представленные в таблице 1, в норме

клетки устойчивы к липоперекисям, и этому соответствует характер АО защиты. Так, в эритроцитах доноров (здоровые лица) главным звеном в АО системе защиты клетки является глутатионзависимая, и среди глутатионазависимых ферментов преимущественная роль отводится ГПО, активности СОД и КАТ при этом невелики, что согласуется с литературными данными (Хмелевский, Усатенко, 1984).

Таблица 1

Активность перекисного окисления липидов и ферментов антиоксидантной защиты клетки в норме и при патологии.

Показатели	Норма		ГБ <i>гипертофия</i>		АС <i>атеросклероз</i>	
	n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m
ПРЭ (% гем.)	25	7,6 ± 0,44	10	30,2 ± 0,74*	10	4,4 ± 0,3*
ГПЛ <i>црр</i> эр.	18	9,8 ± 0,5	16	14,3 ± 0,44*	14	13,3 ± 0,57*
(нмоль/мг белка) <i>перекиси</i> пл.	18	3,4 ± 0,49	16	24,2 ± 0,87*	14	7,5 ± 0,54*
СОД (Е/г мин)	16	26,8 ± 1,65	9	15,8 ± 0,34*	8	20,0 ± 0,76*
КАТ (Е/мг. мин)	20	3,6 ± 0,27	16	4,2 ± 0,23	10	4,8 ± 0,37*
ГПО (нмоль/мин. л)	20	73,6 ± 1,32	14	104,3 ± 1,29*	12	139,0 ± 2,04*
ГТ (Е/мг. мин)	25	5,1 ± 0,48	16	5,8 ± 0,36	15	13,8 ± 0,74*
ГР (мкмоль/г)	16	3,0 ± 0,29	10	3,6 ± 0,3	10	5,4 ± 0,25*
GSH (мкмоль/г)	12	1,6 ± 0,26	10	1,7 ± 0,24	8	2,4 ± 0,17*

Примечание : * - достоверность различий по отношению к норме.

✓ Инициация и становление ГБ сопровождается активацией процессов ПОЛ, снижением устойчивости эритроцитов к липоперекисям, то есть

наблюдается явление клеточного повреждения, вероятно связанного с недостаточностью СОД, активность которой понижается, что подтверждают и данные литературы (Ярема и др., 1992). В глутатионовой системе возрастает роль лишь ГПО, что вероятно может быть обусловлено изменением липидного состава мембран эритроцитов, как результат усиления обменяемости липидов между клеткой и внеклеточной средой, о чем свидетельствует значительный перекисный гемолиз эритроцитов у больных ГБ.

✓ Иная зависимость наблюдается при АС. Активность процессов ПОЛ повышается, однако не достигает уровня, характерного для больных ГБ, где содержание продуктов ПОЛ в плазме почти в 8-9 раз выше по сравнению с обнаруживаемым у здоровых, в то время как при АС это увеличение всего в 2 раза. В соответствие этому снижается перекисный гемолиз и изменяется вклад АО ферментов в защиту от повреждения, что выражено в снижении СОД и значительном повышении ГПО, ГТ, ГР и следовательно, содержания GSH. В глутатионовой защите отмечается превалирование роли ГТ в гашении липоперекисей.

Роль кальцевого транспорта и действия адреналина на состояние системы антиоксидантной защиты эритроцитов в норме и патологии

При развитии ГБ и АС большую роль играет изменение кальцевого транспорта и нарушение адрен. реактивности клетки.

Влияние повреждающей дозы А существенно меняет судьбу клетки у больных ГБ и АС, резко при этом отличается от нормы. Так, в норме в ответ на адреналиновое воздействие повышается активность процессов ПОЛ и снижается устойчивость эритроцитов к липоперекисям (повышение % гемолиза), но не столь значительно, что, по нашему мнению, можно объяснить достаточной мощностью АО систем в защите от клеточного повреждения. При этом клетка реализует защиту от избыточно протекающих процессов ПОЛ в основном за счет СОД и ГПО, активность которых значительно возрастает. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (табл. 2) при этом повышается, что вероятно связано с увеличением мощности пентозофосфатного пути окисления углеводов и его роли в защите клеток от повреждения.

✓ При ГБ адреналин вызывает повышение активности процессов ПОЛ в эритроцитах, но содержание продуктов ПОЛ в плазме не отличается от исходного уровня, что может свидетельствовать об ослаблении обменяемости липидами между клеткой и внеклеточной средой, вероятно за счет увеличения микровязкости плазматической мембраны. Об этом свидетельствует и понижение перекисного гемолиза. Характер систем АО защиты клетки остается прежним, повышается лишь роль ГТ в глутатионзависимой системе АО ферментов, что подтверждает наше предположение об изменении под воздействием А липидного состава эритроцитарных мембран и свидетельствует в пользу существующей точки зрения о роли А в патогенезе заболевания (Васильев, Чугунов, 1985).

При АС дополнительное введение А оказывает неблагоприятное влияние. Это выразилось в повышении активности процессов ПОЛ и перестройке АО защиты клетки, а именно: в снижении СОД, ГПО, ГТ и содержания GSH, повышении KAT, что свидетельствует об изменении в липидном составе мембраны, с выраженной недостаточностью глутатионовой системы.

Добавление кальция вместе с ионофором А 23187 не повлияло на эффект А в эритроцитах здоровых лиц, что выражается в активации процессов ПОЛ и состоянии АО защиты, не отличающихся от обнаруживаемого при действии только А.

Таким образом, кальций не оказывает в норме существенного влияния на эффект А. Вместе с тем, обнаруженная активация процессов ПОЛ может быть связана с повышением роли кальция в процессах липопероксидации, что согласуется и с литературными данными о возможной роли кальция как стимулятора ПОЛ (Nelson, Lefkovitz, Huestis, 1980; Jain, Shohet, 1981; Clemens, Waller, 1988).

При ГБ и АС кальций влияет на эффект адреналинового повреждения, ослабляя его выраженность, как это наблюдается в случае ГБ, или усиливая выраженность действия А, что отмечается при АС.

По результатам, полученным на эритроцитах здоровых и больных лиц после воздействия антагонистов кальциевого транспорта, в частности ВП, ГП и ХП, можно предположить, что кальций осуществляет свое действие через Са-медленные каналы и его эффект на клетку связан с кальмодулином.

Антиоксидантная защита эритроцитов в условиях блокады альфа- и бета-адренорецепторов

Во взаимодействии регуляторов клеточной активности - адреналина и кальция - существенную роль играют альфа-1-, альфа-2-, бета-1- и бета-2-АР. Данные представлены в таблицах 2,3.

При блокаде альфа-1-АР А (табл. 2) приводит к выраженному эффекту клеточного повреждения. Так, усиливается активность ПОЛ, повышается роль СОД и КАТ в АО защите клетки, выражена недостаточность глутатионзависимых ферментов, о чем свидетельствует снижение активностей ГПО и ГТ, и, как результат, развивается значительный перекисный гемолиз эритроцитов. Можно предположить, что с эффектом действия А на клетку связано повышение ферментативной активности СОД. Высказанное нами предположение о повышении значения СОД в защите при стресс-реакции, когда роль А в его влиянии на клетку повышена, согласуется с данными литературы (Вобров, Полевода, 1992).

В условиях полной блокады альфа-АР либо бета-АР (табл. 2) происходит значительное ослабление повреждающего действия А. Доказательством этого, прежде всего, является уменьшение перекисного гемолиза и активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы до исходного состояния. Однако в условиях альфа-блокады резко повышаются активности СОД и КАТ, снижается ГПО, в то время как при бета-блокаде СОД и КАТ снижены, ГПО повышена. По-видимому, условие полной бета-адреноблокады в большей мере препятствует эффекту повреждающего действия А на клеточном уровне. Следовательно, эффект влияния А связан с бета-АР. При блокаде бета-1-АР эритроциты полностью защищены от повреждающего действия А. Можно предположить, что А реализует свое воздействие преимущественно через бета-1-АР.

После добавления Са и А (табл. 3) в среду инкубации блокада альфа-1-АР приводит к мощному гемолизу эритроцитов и активации ПОЛ при выраженной недостаточности АО защиты. Полная блокада альфа-АР препятствует развитию клеточного повреждения. Можно предположить, что эффект клеточного повреждения связан с взаимодействием Са и А и реализуется через альфа-2-АР или бета-АР, но не через альфа-1-АР.

В условиях селективной бета-1-адреноблокады или полной бета-адреноблокады развивается кальциевое повреждение эритроцитов, выразившееся в повышении активности процессов ПОЛ при значительном

Таблица 2

Формирование антиоксидантной защиты эритроцитов в условиях блокады альфа- и бета- адренорецепторов.

Воздействие	К		А		П + А		ФА + А		МП + А		ПН + А	
	п	M ± m	п	M ± m	п	M ± m	п	M ± m	п	M ± m	п	M ± m
ПРЭ	25	7,6 ± 0,44	19	9,7 ± 0,49	10	9,0 ± 0,18	10	8,5 ± 0,36	12	6,2 ± 0,28	12	6,9 ± 0,18
				*		*				*	*	(*)
ГПИ	18	0,8 ± 0,5	12	12,6 ± 0,52	7	13,4 ± 0,36	7	15,0 ± 0,32	7	12,6 ± 0,83	7	13,7 ± 1,35
				*		*		*		*	*	*
	17	3,4 ± 0,49	12	2,7 ± 0,35	7	1,6 ± 0,15	7	2,5 ± 0,55	7	3,4 ± 0,48	7	3,7 ± 0,41
						*						*
СОД	16	26,8 ± 1,65	9	109,3 ± 3,01	10	105,4 ± 0,87	10	116,8 ± 1,05	10	25,5 ± 0,87	10	30,3 ± 0,87
				*		*		*		*	*	(*)
КАТ	20	3,6 ± 0,27	15	4,2 ± 0,28	10	4,6 ± 0,25	10	5,3 ± 0,17	10	3,5 ± 0,33	10	2,9 ± 0,3
						*		*		*	*	(*)
ГПО	20	73,6 ± 1,32	16	107,5 ± 1,88	10	62,9 ± 1,35	10	45,4 ± 1,35	10	62,0 ± 1,06	10	83,8 ± 1,21
				*		*		*		*	*	(*)
ГТ	25	5,1 ± 0,40	17	4,1 ± 0,42	10	3,1 ± 0,33	10	5,7 ± 0,38	10	6,7 ± 0,46	10	5,6 ± 0,4
								*		*	*	(*)
ГР	16	3,0 ± 0,28	10	2,5 ± 0,33	10	3,1 ± 0,3	10	2,6 ± 0,2	10	2,2 ± 0,31	10	1,6 ± 0,22
											*	(*)
GSN	12	1,6 ± 0,26	12	2,3 ± 0,2	10	1,7 ± 0,22	10	2,3 ± 0,3	10	1,5 ± 0,23	10	1,9 ± 0,23
				*						*	*	(*)
ГБФ - ДГ	9	24,2 ± 1,75	9	42,6 ± 2,66	10	19,49 ± 1,49	9	27,0 ± 2,05	12	20,8 ± 1,76	9	18,4 ± 0,75
				*		*		*		*	*	(*)

Примечание: * - достоверность различий по отношению к контролю; (*) - по отношению к А

Таблица 3

Состояние показателей антиоксидантной защиты
в условиях взаимодействия адренорегуляции и кальциевого транспорта в клетке.

Воздействие	Ca + П + А		Ca + ФА + А		Ca + МП + А		Ca + ПН + А	
Показатели	n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m
ПРЭ	12	13,7 ± 0,58 * (*)	12	7,6 ± 0,36 (*)	12	10,6 ± 0,55 *	10	12,1 ± 0,5 * (*)
ГПД	7	12,6 ± 0,38 *	7	14,2 ± 0,29 * (*)	8	17,2 ± 0,79 * (*)	7	15,1 ± 0,56 * (*)
	7	4,2 ± 0,56 - (*)	7	3,3 ± 0,59	8	5,9 ± 0,44 * (*)	7	6,0 ± 0,51 * (*)
СОД	10	40,8 ± 0,92 * (*)	10	74,0 ± 1,53 * (*)	10	20,6 ± 0,73 (*)	10	33,0 ± 0,94 *
КАТ	10	3,7 ± 0,17	10	4,5 ± 0,23 *	10	3,7 ± 0,31	10	3,9 ± 0,32
ГПО	10	60,9 ± 1,21 * (*)	10	70,8 ± 0,58 (*)	10	55,5 ± 1,26 * (*)	10	56,1 ± 1,15 * (*)
ГТ	10	1,7 ± 0,24 * (*)	10	4,5 ± 0,29	10	5,7 ± 0,35 (*)	10	5,4 ± 0,32 (*)
ГР	10	3,9 ± 0,28 (*)	10	1,5 ± 0,21 * (*)	10	2,8 ± 0,27	10	1,9 ± 0,26 *
GSH	10	2,3 ± 0,21	10	1,7 ± 0,34	10	2,4 ± 0,3	10	2,0 ± 0,3

Примечание: * - достоверность различий по отношению к контролю; (*) - по отношению к А

понижении устойчивости клетки к липоперекисям, что, вероятно, связано с недостаточностью АО защиты клетки.

Таким образом, Са действительно реализует эффект повреждения эритроцитарной мембраны во взаимосвязи с альфа-АР и как показано нами, влияние Са осуществляется через альфа-2-АР. Эффект же А связан с бета-АР.

Влияние модуляторов протеинкиназы С на формирование антиоксидантной защиты клетки

Как было показано, в развитии сердечно-сосудистой патологии играют роль альфа- и бета- АР. Но известна их возможная взаимосвязь с другими регуляторами, а именно протеинкиназой С.

При активации ПК С в условиях селективной и неселективной блокады альфа-АР усиливается перекисный гемолиз эритроцитов, в то время как активность АО ферментов в целом сходна с исходным состоянием. Селективная или полная блокада бета-АР при активации ПК С препятствует развитию клеточного повреждения, однако активность процессов ПОЛ при этом усиливается, что указывает на взаимосвязь этого явления с какими-то иными механизмами клеточной регуляции.

Ингибирование ПК С снижает, выявленный при ее активации, защитный эффект, что выражено в условиях полной блокады альфаАР в торможении перекисного гемолиза. При селективной альфа-1-адреноблокаде происходит, напротив, активирование гемолиза эритроцитов. В условиях бета-адреноблокады ингибирование ПК С защищает клетку от повреждающих влияний Са и А.

Полученные данные подтверждают наше предположение о том, что Са осуществляет повреждение эритроцитарной мембраны при взаимодействии с альфа-2-АР.

ВЫВОДЫ

1. В эксперименте на эритроцитах здоровых лиц (норма) и больных ГБ и АС установлены существенные отличия в состоянии процессов ПОЛ и формировании антиоксидантной защиты клетки, а также различия в ответах на факторы воздействия (адреналин, кальций, кальциевый ионофор, антагонисты транспорта кальция).

460761

ЛНБ им. В. Стефаника
АН України

2. Повреждающее влияние адреналина у животных усиливается при ГВ в повышении роли СОД и ГПО в защите клетки от липопероксидов, при ГВ характер антиоксидантной защиты остается прежним, однако повышается вклад ГТ, при АС дополнительное введение адреналина оказывает неблагоприятное влияние на клетку.

3. Ионы кальция в норме не оказывают существенного влияния на эффект адреналинового повреждения эритроцитов, при ГВ кальций ослабляет его выраженность, при АС усиливает.

4. Показано, что эффект кальция реализуется во взаимодействии с Са-медленными каналами и кальмодулином.

5. Установлено, что кальций осуществляет повреждение эритроцитарной мембраны через альфа-2-адренорецепторы, а эффект адреналина связан с бета-адренорецепторами и реализуется преимущественно через бета-1-адренорецепторы.

6. Протеинкиназа С играет важную роль в механизме повреждения, вызываемого адреналином и кальцием. Ее активация не позволяет развиться повреждающему действию адреналина, ингибирование снижает ее защитный эффект.

Публикации по теме диссертации

1. Влчкова Ш. Влияние адреналина на перекисную резистентность эритроцитов и состояние антиоксидантной защиты клеток крови человека /М. материалы научн. конф. мол. уч. биол. ф-та и НИИ биол. ХГУ. - Харьков, 1993. - С. 7.

2. Калиман П. А., Влчкова Ш. Взаимодействие систем транспорта кальция и адренорецепции в регуляции перекисной резистентности эритроцитов и активности ферментов антиоксидантной защиты - Харьков, 1993. - 80. - Деп. в ГНТБ Украины 18. 11. 93, N2301-Ук 93.