

Аналізуються результати досліджень характеру модифікації реактивних властивостей кардіореспіраторної системи, отримані в процесі фізіологічного контролю підготовки спортсменів високого класу. Показана роль такої модифікації для удосконалення регуляції функцій і для підвищення можливостей організму при напруженій фізичній роботі.

Ключові слова: реактивність, кардіореспіраторна система, кваліфіковані спортсмени, фізичні навантаження.

Лысенко Е. Н. Изменение кинетических характеристик реакций кардиореспираторной системы под влиянием утомления в процессе напряженной тренировочной физической нагрузки

Анализируются результаты исследований характера модификации реактивных свойств кардиореспираторной системы, полученные в процессе физиологического контроля подготовки спортсменов высокого класса. Показана роль такой модификации для совершенствования регуляции функций и для повышения функциональных возможностей организма при напряженной физической нагрузке.

Ключевые слова: реактивность, кардиореспираторная система, квалифицированные спортсмены, физические нагрузки.

Lysenko E. N. The change of kinetic characteristics of reactions of the cardiorespiratory system under the influence of fatigue during intense training exercise

Cardiorespiratory reactivity modification was shown as an integrated factor of adaptation process in high intensity physical training for increase of athletes' functional possibilities and specific endurance. The changes of reactivity in different conditions of specific fatigue and its compensations were analyzed also. The role of system control factors modification for training effects formation and long-term specific adaptation were shown.

Key words: reactivity, cardiorespiratory system, skilled athletes, physical loads.

УДК 577.118:546.56:[616.36+616.61]–092.9

С. Н. Мартынова, Н. И. Брыскина

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МЕДИ В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК КРЫС ПРИ УВЕЛИЧЕННОМ ПОСТУПЛЕНИИ ЕЕ В ОРГАНИЗМ

В настоящее время в биологии и в медицине активно развивается учение о микроэлементах. Медики уже давно обратили внимание на то,

что многие болезни связаны с недостаточностью поступления и содержания в организме определенных макро- и микроэлементов. Антропогенное загрязнение окружающей человека природной среды, во многом связанное с микроэлементами из группы тяжелых металлов, привело к росту числа заболеваний, связанных с избыточным поступлением металлов [1, с. 33 – 35]. В настоящее время все большее значение приобретают техногенные микроэlementозы [2, с. 8 – 10]. Загрязнение окружающей среды токсичными металлами в первую очередь сказывается на детях, так как интенсивное накопление различных элементов происходит еще в плаценте [3, с. 8 – 50]. К числу техногенных микроэlementозов относятся и микроэlementозы меди. Медь – один из важнейших незаменимых микроэлементов, необходимых для жизнедеятельности человека, животных и растений [4, с. 791]. В частности, медь входит в состав аминоксидаз, цитохромоксидаз, аскорбатоксидаз, супероксиддисмутаза. Поэтому недостаток меди, как и избыток, ведет к метаболическим нарушениям [2, с. 36]. Ионы меди, попадая в клетку в избыточном количестве, приводят к различным структурно-функциональным нарушениям [5, с. 169; 6, с. 269 – 302]. Главные причины этих изменений – инактивация ферментов вследствие комплексообразования ионов меди с группами белков [7, с. 507 – 513], индукции гидроксильных радикалов и супероксидного аниона [8, с. 53 – 75], активации ПОЛ [9, с. 711]. Высокая токсичность ионов меди, с одной стороны, и их роль в ряде метаболических процессов, с другой стороны придают важное теоретическое и практическое значение исследованию механизмов их действия на биологические системы [10, с. 5 – 6]. Актуальность этот вопрос приобретает также в связи с установленным экологической инспекцией фактом наличия повышенной концентрации меди в поверхностных водах и в питьевой воде многих регионов Украины. Кроме того, ятрогенные формы гиперкупероза могут возникать в результате присутствия этого элемента в различных протезах, при применении противозачаточных средств, а также при гемодиализе в результате контаминации соединениями меди [10, с. 5 – 6]. Благодаря проведенным уже исследованиям установлено, что интоксикация медью и ее солями может приводить к функциональным расстройствам нервной системы, печени и почек, алергодерматозам [2, с. 38]. Однако механизмы развития указанных патологических процессов не изучены. В литературе имеются сведения о действии сублетальных доз меди на метаболические процессы у животных [5, с. 174]. Показано, что медь накапливается в клеточных органеллах, нарушает их функцию. Влияние же малых доз (лишь несколько превышающих физиологические) не изучено.

Целью нашей работы явилось изучение распределения меди в клеточных органеллах печени и почек животных при избыточном поступлении меди в организм.

Эксперименты проведены на 1-месячных крысах линии Вистар, содержащихся в стандартных условиях вивария. Животным ежедневно в течение 1 месяца внутривентриально через зонд вводили раствор сульфата меди в скваженной питьевой воде № 721 (с содержанием меди 1,75 мг/л из расчета 1 мл на 100 г веса животного). Контрольной группе животных в тех же условиях вводили воду № 721. Животных выводили из эксперимента путем декапитации. Печень и почки гомогенизировали в 50 мМ трис-НСl, буфере (рН 7,4). Гомогенаты центрифугировали при 3000 g 10 мин при 2 – 4 °С. Белки осаждали смесью хлороформ-метанол (1:2), которую вносили в пробы в соотношении 4:1. Через 2 часа осадки 2 раза промывали 75-процентным метанолом, высушивали, прибавляли 0,3 мл хлорной кислоты (60 %), а через 24 часа – 0,3 мл серной (96 %) и азотной (55%) кислот, через 24 часа проводили минерализацию при 130 – 150 °С в течение 2 часов, образцы нейтрализовали 20-процентным водным раствором аммиака, доводили водой до 3,5 мл, добавляли по 0,1 мл натриевой соли ЭДТА (5 г / 100 мл) и по 0,2 мл 0,1 % раствора натриевой соли N,N-диэтилдитиокарбомата и определяли оптическую плотность при 430 нм на СФ-46. Количество ионов меди, связанных с белками фракций, рассчитывали по калибровочной кривой, результаты представляли в мкг меди на мг белка. Концентрацию церулоплазмينا в сыворотке крови определяли по методу Ревина [11, с. 285].

Известно, что основные процессы всасывания меди происходят в желудке и тонком кишечнике, слизистая оболочка которых содержит металлотионеины, образующие комплексные соединения с медью. Ключевую роль в обмене меди играют печень и ее основные структурные элементы – гепатоциты. Поступающая в них через систему воротной вены медь связывается первоначально металлотионеином, найденным в печени человека и большинства животных. Синтез металлотионеинов регулируется содержанием цинка и меди в печени на уровне транскрипции мРНК. Тионеин выполняет функции детоксикации меди и ее внутриклеточного транспорта. Повышение содержания меди может привести к амплификации тионеиновых генов и резкому повышению синтеза данного белка [12, с. 117 – 127]. Медь, первоначально связанная металлотионеином, в дальнейшем включается в церулоплазмин, другие медьсодержащие ферменты и компоненты желчи. Церулоплазмин наряду со своими функциями оксидазы выполняет также роль транспортного белка, переносящего медь на тканевые ферменты. Механизмы транспорта меди дают основание предполагать возможность ее накопления в организме. Учитывая, что 80 % меди выводится желчью, 16 % – стенками ЖКТ, около 4 % – почками, можно предположить, что избыточное количество меди приводит к нарушению метаболизма в печени и почках. По данным А. В. Скального и соавторов, избыточное поступление меди в организм приводит к нарушению метаболических процессов в печени и почках [2, с. 37]. Для выяснения механизмов

повреждения печени и почек необходимо изучить распределение меди в клетках.

На первом этапе исследований мы изучали возможность накопления меди в тканях, содержание меди и церулоплазмينا (медь транспортного белка) в сыворотке крови. Проведенные исследования показали, что внутривенное введение меди в повышенной концентрации приводит к увеличению содержания меди в сыворотке крови и тканях (табл. 1). Отмечается также увеличение содержания церулоплазмينا в сыворотке крови: у контрольных животных – $1,65 \pm 0,08$ мкмоль/л; у крыс, которым вводили 721-воду с медью, – $3,79 \pm 0,22$ мкмоль/л.

Таблица 1

**Содержание меди в тканях и сыворотке крови
экспериментальных животных**

| Группы животных | Сыворотка крови, мкмоль/л | Печень, мг/100г ткани | Почки, мг/100г ткани |
|--|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Контрольная группа (n = 20) | $50,11 \pm 2,41$ | $9,75 \pm 0,48$ | $16,9 \pm 1,05$ |
| Введение 721-воды с добавкой меди (n = 20) | $56,23 \pm 1,84$ p > 0,02 | $18,11 \pm 3,12$ p < 0,001 | $81,05 \pm 4,32$ p < 0,001 |

Как видно из приведенных в таблице данных, накопление меди в почках более значительно, чем в печени. Известно, что накопление меди в органах вызывает ряд патохимических процессов, из которых основное значение имеют, по-видимому, угнетение мембранной АТФазы, а также ингибирование некоторых ферментов и кофакторов, содержащих сульфгидрильные группы (глутатион, липоевая кислота), что, в свою очередь, ведет к задержке окисления в тканях пировиноградной кислоты и других метаболитов углеводного обмена [12, с. 117 – 127]. Для выяснения механизмов патохимических нарушений необходимо изучение распределения меди во фракциях гепатоцитов и нефроцитов.

Проведенные эксперименты показали, что у животных контрольной группы, получавших в суточном рационе медь в дозе, соответствующей физиологической потребности, в печени концентрация меди убывала в ряду фракций: митохондрии – микросомы – цитозоль – ядра (табл. 2), в почках медь распределяется практически равномерно в изучаемых фракциях (табл. 3).

У животных, получавших избыточное количество меди в суточном рационе (за счет ежедневного введения раствора CuSO_4), содержание меди в гомогенатах печени и почек было существенно выше, чем в соответствующих фракциях клеток печени и почек в контрольной группе животных (табл. 2, 3). В цитозоле гепатоцитов практически не увеличилось количество связанной меди. Этот факт позволяет

предположить, что белки цитозоля (переносчик меди, связывающий медь специфически) служат лишь для быстрого транспорта ионов и при попадании в клетку повышенных концентраций меди не могут депонировать ее избыток, а лишь активируют транспорт меди в другие компартменты. Наиболее значительный прирост меди у животных опытной группы отмечается в микросомальной фракции гепатоцитов, по-видимому, компоненты микросомальной фракции являются местом утилизации избытка меди в клетках. Значительное накопление меди происходит и в митохондриях (табл. 2), что может привести к снижению интенсивности окислительного фосфорилирования, т. к. из литературных данных известно, что избыток меди в митохондриях приводит к ингибированию цитохромоксидазы.

Таблица 2

**Содержание меди во фракциях гепатоцитов
экспериментальных животных**

| Группы животных | Исходный уровень | Через 1 месяц после начала эксперимента |
|---|------------------|---|
| Контрольная группа, n = 20 | | |
| Ядра | 0,048±0,003 | 0,052±0,004 |
| Цитозоль | 0,082±0,003 | 0,086±0,005 |
| Микросомы | 0,112±0,005 | 0,119±0,008 |
| Митохондрии | 0,155±0,011 | 0,161±0,014 |
| Опытная группа (введение раствора меди), n = 20 | | |
| ядра | 0,048±0,012 | 0,077±0,004* |
| цитозоль | 0,082±0,003 | 0,091±0,004 |
| микросомы | 0,112±0,005 | 0,384±0,007* |
| митохондрии | 0,155±0,011 | 0,307±0,014* |

Примечание: * – достоверные отличия с контрольной группой

Как видно из полученных нами данных (табл. 3), в почках наибольшее количество меди связывается в цитозоле. Отмечается значительный рост концентрации меди и в митохондриях, менее выраженные изменения – в микросомах. По всей видимости, введение избыточного количества меди сопровождается увеличением содержания медьсвязывающих белков в цитозоле нефроцитов, что увеличивает депонирование ионов меди. Активируется также и транспорт меди в клеточные органеллы – митохондрии и микросомы. Вероятно, высокие концентрации меди значительно ингибируют митохондриальные ферментные комплексы, в частности путем неспецифического связывания с белками. А это, в свою очередь, приводит к нарушениям важнейших процессов клеточного метаболизма. По-видимому, накопление меди в митохондриях оказывает повреждающее действие на систему окислительного фосфорилирования. В литературе имеются

сведения о том, что накопление меди в тканях приводит к фрагментации митохондрий, развитию энергодефицитного состояния [12, с. 117 – 127]. Эти результаты получены при введении больших количеств меди. В наших исследованиях применялись небольшие дозы металла, однако накопление меди в митохондриях значительно (как в печени, так и в почках). Можно ожидать, что присутствие меди вызовет активацию ПОЛ, дестабилизацию мембран и, как следствие, снижение дыхательного контроля, развитие энергодефицита.

Таблица 3

**Распределение меди во фракциях нефроцитов
экспериментальных животных**

| Группы животных | Исходный уровень | Через 1 месяц с момента начала эксперимента |
|---|------------------|---|
| Контрольная группа, n = 20 | | |
| Ядра | 0,035±0,011 | 0,038±0,012 |
| Цитозоль | 0,157±0,005 | 0,153±0,007 |
| Микросомы | 0,083±0,004 | 0,091±0,005 |
| Митохондрии | 0,194±0,007 | 0,201±0,013 |
| Опытная группа (введение раствора меди), n = 20 | | |
| ядра | 0,035±0,002 | 0,044±0,002 |
| цитозоль | 0,157±0,005 | 0,377±0,015* |
| микросомы | 0,083±0,004 | 0,098±0,005* |
| митохондрии | 0,194±0,007 | 0,268±0,011* |

Следовательно, адаптивность к действию меди на клеточном уровне во многом зависит от количества и активности белков цитозоля, выполняющих функции транспорта проникающей в клетку меди. Скорее всего, именно их индуктивный синтез и определяет, будут ли ионы меди связываться с ними, либо они, мигрируя в цитозоле, будут попадать в различные органеллы, в частности митохондрии, ядра, микросомы, и нарушать структуру макромолекул.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. Избыточное поступление меди с водой приводит к ее накоплению в печени и почках.
2. Недостаточное содержание медьсвязывающих белков в цитозоле гепатоцитов и нефроцитов является причиной увеличения содержания меди в митохондриях и микросомах при избыточном поступлении ионов меди в организм.

Литература

1. **Полякова А. Н.** Результаты клинико-лабораторных исследований населения для выявления неблагоприятного воздействия на организм солей тяжелых металлов как экологического фактора /

А. Н. Полякова // Гигиена и санитария. – 1995. – № 1. – С. 33 – 35. **2. Скальный А. В.** Микроэлементозы человека (диагностика и лечение) : практ. руководство для врачей и студ. мед. вузов / А. В. Скальный. – М., 1997. – С. 8 – 38. **3. Тяжелые металлы** внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин : монография / А. М. Сердюк, Э. Н. Белицкая, Н. М. Паранько, Г. Г. Шматков. – Днепропетровск : АРТ-ПРЕСС, 2004. – 148 с. **4. Olivares O.** Copper as an essential nutrient / O. Olivares, R. Vaury // Am. J. Clin. Nutr. – 1996. – Vol. 63. – P. 791 – 796. **5. Микроэлементозы** человека: этиология, классификация, органопатология / А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш, Л. С. Строчкова. – М. : Медицина, 1996. – 192 с. **6. Озернюк Н. Д.** Механизмы адаптации / Н. Д. Озернюк. – М. : Наука, 1992. – С. 269 – 302. **7. Metallothionein** in copper deficiency and toxicity / Eds. M. Anke, D. Meissner, C. F. Mills // Trace Elements in Man and Animals – ТЕМА-8. – Dresden. – 1993. – P. 507 – 513. **8. Engel D. N., Brover M.** // Adv. Comp. Environ. Physiol. – 1989. – Vol. 5. – P. 53 – 75. **9. Metal toxicology** / R. A. Goyer, C. D. Klaassen, M. P. Waalkes, eds. – Academic Press. – 1995. – 705 p. **10. Тяжелые металлы** в окружающей среде и их влияние на организм (Обзор) / Гильденских Р. С. и др. // Гигиена и санитария. – 1992. – № 5 – 6. – С. 6 – 9. **11. Практикум з біологічної хімії** / Д. П. Бойків, О. Л. Іванків, Л. І. Кобилянська та ін. ; за ред. О. Я. Солярова. – К. : Здоров'я, 2002. – С. 285 – 286. **12. Beattie J. H.** Roles of metallothionein in cellular metabolism / Eds. Ph. Collery, P. Bratter, V. Negretti de Bratter, L. Khassanova, J.C. Etienne // Metal Ions in Biology and Medicine. – Paris : John Libbey Eurotext. – 1998. – Vol. 5. – P. 117 – 127.

Мартінова С. М., Бриськіна Н. І. Розподіл міді у клітинах печінки та нирок щурів при збільшеному надходженні її в організм

Вивчено вміст міді у нирках та печінці, а також у клітинних фракціях нефроцитів та гепатоцитів щурів лінії Вістар, яким щоденно протягом місяця внутрішньошлунково було введено розчин міді у питній воді. Встановлено, що мідь накопичується у нирках та печінці, значне накопичення міді відбувається у мітохондріях гепатоцитів та нефроцитів, що може стати причиною пригнічення тканинного дихання.

Ключові слова: метали, нефроцити, гепатоцити, ядро, цитозоль, мітохондрії, мікросоми, печінка, нирки, щури.

Мартынова С. Н., Брыскина Н. И. Распределение меди в клетках печени и почек крыс при увеличенном поступлении ее в организм

Изучено содержание меди в печени и почках, а также в клеточных фракциях гепатоцитов и нефроцитов крыс линии Вистар, которым ежедневно в течение месяца внутрижелудочно вводился

раствор меди в питьевой воде. Показано, что происходит накопление меди в почках и печени, отмечается существенное накопление меди в митохондриях гепатоцитов и нефроцитов, что может стать причиной угнетения тканевого дыхания.

Ключевые слова: металлы, нефроциты, гепатоциты, ядра, цитозоль, митохондрии, микросомы, печень, почки, крысы.

Martynova S. N., Bryskina N. I. The spread of increased entry of copper to organism in liver and kidneys of rats

The copper content has been studied in homogenates and cellular fractions of hepatocytes and nephrocytes of Wistar rats to be injected intragastrically by solution of copper in potable water. Accumulation of copper in liver and kidney especially in mitochondria of hepatocytes and nephrocytes was shown. It may be cause of tissue respiration inhibition.

Key words: metals, nephrocytes, hepatocytes, nucleus, cytosol, mitochondria, microsoms, liver, kidneys, rats.

УДК 616.831-005-092.9:[615.31:547.856.1:547.792:547.495.9]-07

С. А. Моргунова, И. Ф. Беленичев

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ТИОХИАЗОЛИНА NS-224, ТИОТРИАЗОЛИНА И НИТРОАРГИНИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Мозговые инсульты являются не только медицинской, но и социальной проблемой Евросоюза, США, Канады, Японии и СНГ, являясь причиной ранней смертности населения этих стран, ограничивая социальную активность больных, перенесших инсульт. К сожалению, для состояния организма данный показатель также работает в сторону появления и усугубления проблем в частной и общей жизнедеятельности. Как показывает статистика, после 20 – 25 лет жизни человека промышленно развитых стран, каждое прожитое десятилетие в два раза увеличивает риск развития мозговой катастрофы. Неоспоримым является факт, что инсульт имеет генетическую предрасположенность. Приблизительно у 20 % людей европеоидной расы существует данный генетический вариант, увеличивающий вероятность инсульта на 30 % [1, с. 34]. Но при своевременной и полноценной профилактике данного заболевания можно избежать. По количеству смертельных исходов во всем мире инсульт занимает второе место после инфаркта миокарда. При