

В.И. Корозин, Ю.Д. Ляшев, А.В. Солин

Влияние фактора роста гепатоцитов на процессы перекисного окисления липидов при стрессе

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 305004, Курск, ул. Карла Маркса, 3

Исследовано влияние фактора роста гепатоцитов (ГФР) на активацию перекисного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной системы в плазме крови крыс при иммобилизационном стрессе. Установлено, что изучаемый пептид снижал стресс-индуцированную активацию перекисного окисления липидов (ПОЛ), что проявлялось уменьшением содержания промежуточных и конечных метаболитов ПОЛ в плазме крови. ГФР также вызывал повышение активности фермента антиоксидантной системы каталазы, которая уменьшалась под влиянием стресса.

Ключевые слова: стресс, фактор роста гепатоцитов, перекисное окисление липидов, ферменты антиоксидантной системы

V.I. Korosin, Yu.D. Lyashev, A.V. Solin

The influence of hepatocyte growth factor on lipid peroxidation processes in stress

Kursk State Medical University, 3, Karla Marksa str., 305004, Kursk, Russia

The influence of hepatocyte growth factor (HGF) on the activation of lipid peroxidation (LP) and activity of antioxidant enzymes in rat plasma was investigated in immobilization stress. It was established that investigated peptide decreases stress-induced activation of lipid peroxidation manifesting by the decrease of the content of intermediate and final metabolites of LP in plasma. HGF causes the increase of the activity of catalase (enzyme of antioxidant system) also, which decreased under stress influence.

Key words: stress, hepatocyte growth factor, lipid peroxidation, antioxidants enzymes

В настоящее время стресс рассматривается как разветвленная системная реакция организма [8]. Развитие острого стресса характеризуется нарушением микроциркуляции в различных органах-мишенях [8], развитием прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса [3], повреждением клеток и тканей. Вышесказанное обуславливает необходимость поиска новых препаратов, обеспечивающих не только предупреждение активации разрушительных механизмов, но и восстановление поврежденных тканевых структур. В связи с этим интерес представляют регуляторные пептиды, обладающие уникальной совокупностью физиологических эффектов.

Цель исследования — изучение влияния фактора роста гепатоцитов (ГФР) на активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при иммобилизационном стрессе.

Для корреспонденции: Солин Алексей Владимирович, канд. мед. наук, старш. преп. каф. анатомии ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России. E-mail: medps@yandex.ru

Методика

Работа выполнена на 80 крысах-самцах Вистар. Животные были разделены на 10 групп по 8 крыс в каждой. Крысы одной группы оставались интактными. Опытных животных подвергали действию 6-часового иммобилизационного стресса путем фиксации животного на спине на специальном столике. Животных выводили из эксперимента через 39 ч, 4 и 7 сут. после окончания иммобилизации. Выбор указанных сроков обусловлен данными литературы о том, что максимальные повреждения внутренних органов развиваются в конце стадии тревоги (39 ч после стресса), а в начале стадии резистентности (на 4 сут.) и через 7 суток после окончания иммобилизации наглядно проявляются компенсаторные процессы в поврежденных органах [1].

Содержание в плазме крови продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ): ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА), а также активность ферментов антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, оценивали

традиционными методами [4, 5, 7]. Уровень АГП определяли добавлением к исследуемой пробе 20% раствора тиоцианата аммония. Об относительном содержании АГП судили по величине оптической плотности при 480 нм. Для определения МДА к исследуемой пробе добавляли тиобарбитуровую кислоту, а затем измеряли оптическую плотность при 532 нм и рассчитывали количество МДА в мкмоль/л.

В работе использован пептид глицил-гистидин-лизин, получивший название фактор роста гепатоцитов, в дозах 2 или 10 мкг на кг. Пептид вводили внутривенно ежедневно 1 раз в сутки в течение 5 дней после проведения иммобилизации в объеме 0,2 мл. Контрольным животным аналогично вводили физраствор.

Результаты исследования обработаны статистически с использованием критериев Стьюдента и Фишера.

Результаты и обсуждение

Моделирование иммобилизационного стресса сопровождается активацией процессов ПОЛ, что проявляется статистически значимым повышением содержания в плазме крови АГП и МДА на всех сроках наблюдения. Кроме того, отмечается снижение активности каталазы. Активность СОД повышается через 39 ч после иммобилизации, а в последующем она снижается и на 7 сут. не отличается значимо от аналогичного показателя в исходной группе.

Введение ГФР в дозах 2 мкг/кг или 10 мкг/кг вызывало уменьшение содержания АГП по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$ — $0,001$), а кон-

центрация МДА существенно не отличалась от контроля через 39 ч после моделирования стресса. Установлено увеличение активности СОД, но не каталазы у крыс, получавших исследуемый пептид. На 4-е сут. эксперимента установлены существенно более низкие значения содержания как АГП, так и МДА по сравнению с контрольной группой. В этот период отмечается более высокая активность ферментов антиоксидантной системы: СОД и каталазы. Следует отметить, что на 4-е сут. активность каталазы у животных, которым вводили ГФР, повышается, тогда как у контрольных крыс продолжается ее снижение. Через 7 сут. после моделирования стресса наблюдается значимо более низкое содержание в плазме крови как АГП, так и МДА по сравнению с контрольными. Активность СОД и каталазы при введении пептида в дозах как 2, так и 10 мкг/кг, также существенно выше, чем у контрольных крыс.

Таким образом, установлено, что применение ГФР в течение 5 сут. после 6-часовой иммобилизации снижает степень стресс-индуцированной активации процессов ПОЛ. Такой эффект проявлялся на 4-е и 7-е сут. эксперимента при использовании пептида в обеих исследованных дозах. В эти же сроки под влиянием ГФР наблюдается повышение активности ферментов антиоксидантной системы. Действие пептида было более выражено при его использовании в дозе 10 мкг/кг, что проявлялось нормализацией содержания МДА и значительным повышением активности каталазы уже на 4-е сут. эксперимента.

Развитие стрессорной реакции сопровождается нарушениями микроциркуляции и гипоксией тканей и

Таблица

Влияние фактора роста гепатоцитов на содержание малонового диальдегида, ацилгидроперекисей и активность ферментов антиоксидантной системы в плазме крови при иммобилизационном стрессе

Исследуемая группа	Показатель				
	Срок после иммобилизации	Содержание малонового диальдегида, мкмоль/л ($M \pm m$)	Содержание ацилгидроперекисей, условные единицы ($M \pm m$)	Активность супероксиддисмутазы, условные единицы/мл ($M \pm m$)	Активность каталазы, мкат/л ($M \pm m$)
Исходная группа		2,09±0,03***	0,15±0,02***	1,39±0,04*	14,29±0,23***
Контрольная группа	39 часов	6,12±0,14	0,85±0,03	1,55±0,05	11,01±0,55
	4 суток	4,73±0,22	0,37±0,03	1,47±0,05	10,86±0,25
	7 суток	3,41±0,22	0,37±0,03	1,36±0,03	11,59±0,29
Группа, получавшая фактор роста гепатоцитов в дозе 2 мкг/кг	39 часов	6,03±0,09	0,62±0,06*	1,73±0,03*	10,7±0,30
	4 суток	3,46±0,18***	0,23±0,02**	1,76±0,05**	13,51±0,26***
	7 суток	2,61±0,15*	0,25±0,02**	1,52±0,08**	14,16±0,55***
Группа, получавшая фактор роста гепатоцитов в дозе 10 мкг/кг	39 часов	6,33±0,25	0,53±0,04***	1,80±0,02**	11,25±0,65
	4 суток	1,91±0,06***	0,26±0,02*	1,63±0,03*	16,40±0,33***
	7 суток	2,32±0,07**	0,26±0,02*	1,48±0,03*	16,75±0,27***

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** — $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; *** — $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой

органов [6]. Это способствует активации ПОЛ, что приводит к повреждению клеточных структур. Ранее показано, что ГФР и его производные обладают протективным действием при поражениях различных органов, вызванных ишемией-реперфузией [11, 12]. Кроме того, этот пептид предотвращает послеоперационное повреждение печени, сопровождающееся расстройствами микроциркуляции [2]. В литературе имеются сведения об эффективности ГФР при ферритин-зависимой активации ПОЛ [10]. Как установлено, в нашем исследовании защитное действие ГФР при его длительном введении, связанное с предупреждением избыточной активации ПОЛ, наблюдается и при стрессе. Это открывает новые возможности применения регуляторных пептидов для предупреждения стресс-индуцированных повреждений, поскольку ГФР не только, уменьшает тканевую деструкцию, но и усиливает регенерацию тканей [9].

Список литературы

1. *Выборова И.С., Ханджиев Удвал, Васильева Л.С., Макарова Н.Г.* Структура печени в динамике иммобилизационного стресса // Сибирский медицинский журнал. — 2005. — №3. — С. 30-33.
2. *Гальперин Э.И., Абакумова О.Ю., Платонова Л.В.* и др. Термостабильный фактор роста гепатоцитов и энергетический обмен после частичной гепатэктомии у крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1999. — Т. 127, №1. — С. 53-56.
3. *Заводская И.С., Сапронов Н.С., Бульон В.В., Хныченко Л.К.* Экспериментальное обоснование фармакотерапии сердечно-сосудистой и гастроудоденальной патологии, вызванной экстремальными воздействиями на организм // Вестник Российской академии медицинских наук. — 1998. — №1. — С. 23-26.
4. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.* Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. — 1988. — №1. — С. 16-19.
5. *Макаренко Е.В.* Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах больных с хроническими заболеваниями печени // Лабораторное дело. — 1988. — №11. — С. 48-50.
6. *Симоненков А.П., Федоров В.Д.* Современная концепция стресса и адаптации с учетом новых данных о генезе тканевой гипоксии // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2008. — №5. — С. 7-14.
7. *Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича.* — М.: Медицина, 1977. — 391 с.
8. *Судаков К.В.* Новые акценты классической концепции стресса // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1997. — Т. 123, №2. — С. 124-130.
9. *Kato K.* Effect of hepatocyte growth factor on the proliferation of intrasplenically transplanted hepatocytes in rats / K. Kato, K. Onodera, M. Sawa // Biochemistry Biophysics Research Communications. — 1996. — Vol. 222, №1. — P. 101-106.
10. *Miller D.M., DeSilva D., Pickart L., Aust S.D.* Effects of glycyl-histidyl-lysyl chelated Cu(II) on ferritin dependent lipid peroxidation // Advanced Experimental Medical Biology. — 1990. — Vol. 264, №1. — P. 79-84.
11. *Shi E., Jiang X., Wang L.* и др. Intrathecal injection of hepatocyte growth factor gene-modified marrow stromal cells attenuates neurologic injury induced by transient spinal cord ischemia in rabbits // Anesthesiology. — 2010. — Vol. 113, №5. — P. 1109-1117.
12. *Xue F., Zhang J.J., Xu L.M.* и др. Protective effects of HGF-MSP chimera (metron factor-1) on liver ischemia-reperfusion injury model // Journal of digestive Diseases. — 2010. — Vol. 11, №5. — P. 299-305.

Поступила 12.10.11

Сведения об авторах:

Ляшев Юрий Дмитриевич, д-р мед. наук, проф. каф. патофизиологии ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России

Корозин Василий Игоревич, асс. каф. ортопедической стоматологии ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России