

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

ІККЕРТ ОКСАНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 612.3:612.33:612.34:612.814

**ВПЛИВ L-АРГІНІНУ ТА N^o-НІТРО-L-АРГІНІНУ НА
ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ З
РІЗНОЮ РЕЗИСТЕНТНІСТЮ ДО ГІПОКСІЇ**

03.00.13 – Фізіологія людини і тварин

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук**

Львів - 2003

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Львівському національному університеті імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України.

Науковий керівник: кандидат біологічних наук, доцент
Гордій Степан Костянтинович
Львівський національний університет імені Івана Франка,
доцент кафедри фізіології людини і тварин

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Смолянinov Борис Вікторович,
Одеський державний аграрний університет,
завідувач кафедри фізіології і біохімії
сільськогосподарських тварин

кандидат біологічних наук, доцент
Островська Галина Віталіївна,
Київський національний університет імені Тараса
Шевченка, доцент кафедри цитології, гістології і біології
розвитку, старший науковий співробітник відділу
цитофізіології

Провідна установа: Національний медичний університет імені
О.О. Богомольця, м. Київ

Захист відбудеться " ____ " _____ 2003 р. о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 35.051.14 у Львівському національному університеті імені Івана Франка за адресою: 79005, м. Львів, вул. Грушевського, 4, біологічний факультет Львівського національного університету імені Івана Франка, аудиторія № 333.

З дисертацією можна ознайомитись в науковій бібліотеці Львівського національного університету імені Івана Франка за адресою: 79005, м. Львів, вул. Драгоманова, 17.

Автореферат розісланий " ____ " _____ 2003 року

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради,
кандидат біологічних наук,
доцент

БІБЛІОТЕКА
Львівського державного
університету фізичної
культури

Д.І. Санагурський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Стан системи енергозабезпечення є важливим показником нормального функціонування клітин, органів і організму в цілому, а її аеробна (мітохондріальна) компонента залишається основним механізмом фазних змін енергозабезпечення клітини за нормальних умов та при дії шкідливих чинників довкілля. У зв'язку з цим вивчення механізмів регуляції процесів енергетичного забезпечення у мітохондріях (МХ) є одним з актуальних питань сучасної фізіології.

У будь-якій популяції тварин постійно існують особини, які значно відрізняються за резистентністю до нестачі кисню (Березовський, 1989). Це обумовлює відмінності перебігу основних метаболічних процесів у клітині і, зокрема, процесів мітохондріального дихання (Луцькіна, 2000). Відомо, що ступінь резистентності до гіпоксії пов'язаний з переважанням холінергічної або адренергічної ланки регуляції фізіологічних функцій (Маркова, 1998; Хара, Денсфіль, 1994). Збільшення або різке зменшення напруження кисню, що виникає під впливом функціональних навантажень, обумовлене змінами чутливості адрено- і холінорецепторів (Гордій, Доліба, 1985). Тому важливе значення має вивчення біоенергетичних механізмів та компенсаторних метаболічних шляхів, що обумовлюють індивідуальну резистентність організму, а також пошук фармакологічних препаратів з метою спрямованої корекції процесів мітохондріального дихання при дії негативних чинників довкілля.

Протягом останніх років доведено, що у внутрішній мембрані МХ локалізована NO-синтаза (Giulivi, 1998). Також показано здатність оксиду азоту (NO) впливати на процеси мітохондріального енергозабезпечення (Shen, Wolin, 1994; Clark, 1996; Vogutaite, Brown, 1996). Модулюючи активність NO-синтази, шляхом використання попередника біосинтезу оксиду азоту амінокислоти L-аргініну або блокатора NO-синтаз N^ω-нітро-L-аргініну (L-NNA), можна впливати на функціональний стан МХ, змінюючи рівень енергопродукції у клітині (Goda, Ishimura, 1996; Sarkela, Giulivi, 2001). Проте особливості впливу L-аргініну та L-NNA на процеси енергетичного забезпечення у тварин з різною резистентністю до гіпоксії за умов окиснення субстратів циклу трикарбонових кислот (ЦТК) з'ясовані неповністю. Тому дослідження функціонального стану МХ печінки шурів з різною резистентністю до гіпоксії під впливом L-аргініну та L-NNA є актуальним питанням сучасної фізіології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на кафедрі фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка в межах держбюджетної теми "Кальцієвий гомеостаз і енергетичний метаболізм секреторних клітин травних залоз та їх зміни під впливом екстремальних факторів", № держреєстрації 0100U0011452. Відповідно до цієї теми здобувачем досліджені зміни процесів АДФ-стимульованого дихання та

0280

кальцієвої смності МХ печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії під впливом L-аргініну та L-NNA за умов стресу.

Мета і задачі дослідження. З'ясувати вплив попередника біосинтезу оксиду азоту амінокислоти L-аргініну та блокатора NO-синтази L-NNA на функціональний стан МХ печінки, інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ) у щурів з різною резистентністю до гіпоксії. Ця мета досягалась вирішенням таких завдань:

1. Дослідити вплив L-аргініну та L-NNA у різних дозах на функціональний стан МХ печінки щурів та процеси ПОЛ у тканинах щурів.
2. З'ясувати ефекти парентерального введення L-аргініну та L-NNA на процеси АДФ-стимульованого дихання та кальцієву смість МХ печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії.
3. Дослідити зміни інтенсивності вільнорадикальних процесів та стан системи АОЗ у тварин з різною резистентністю до гіпоксії при введенні L-аргініну та L-NNA.
4. Вивчити роль адрено- та холінорецепторів у регуляції процесів енергетичного забезпечення МХ печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії при введенні L-аргініну та L-NNA.
5. З'ясувати роль L-аргініну та L-NNA у регуляції процесів АДФ-стимульованого дихання, інтенсивності процесів ПОЛ та активності системи АОЗ за умов стресу.

Об'єкт досліджень: функціональний стан МХ печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії.

Предмет досліджень: процеси дихання та окисного фосфорилування у мітохондріях печінки, інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів, активність системи АОЗ у тканині печінки та крові щурів з різною резистентністю до гіпоксії.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше було проведено комплексне дослідження впливу попередника біосинтезу NO L-аргініну та блокатора NO-синтази L-NNA на процеси мітохондріального дихання, інтенсивність процесів ПОЛ та активність системи АОЗ у печінці щурів з різною резистентністю до гіпоксії.

Показано, що внутрішньочеревне введення L-аргініну обумовлює економізацію процесів споживання кисню МХ печінки щурів з низькою резистентністю до гіпоксії. Вперше виявлено, що введення L-аргініну викликає зниження активності сукцинатдегідрогенази у тварин з низькою (НР) та високою резистентністю (ВР) до гіпоксії та активацію аланін- і аспартатамінотрансфераз у тварин з НР, що обумовлює зростання ролі НАД-залежного окиснення.

З'ясовано, що інтенсивність процесів ПОЛ, яку визначали за вмістом дієнових кон'югатів та продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактивних продуктів), зазнавала зниження в тканинах НР і ВР тварин за умов дії L-аргініну. Вперше виявлена зміна активностей ферментів системи АОЗ у тварин з різною

резистентністю до гіпоксії під впливом L-аргініну та L-NNA. Показано, що у тварин з ВР до гіпоксії активація ферментів глутатионової ланки захисту відбувається при дії L-аргініну, а у тварин з НР до гіпоксії за умов введення L-NNA.

Автором вперше показано, що введення L-аргініну за умов стресу сприяє посиленню холінергічних регуляторних впливів у тварин з НР до гіпоксії, що обумовлює економізацію споживання кисню та зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації. Ці зміни відображають можливість підвищення адаптаційних властивостей організмів з НР до гіпоксії шляхом введення L-аргініну.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати розширюють уявлення про роль L-аргініну та L-NNA у регуляції процесів енергетичного забезпечення у МХ печінки щурів. Показаний взаємозв'язок між процесами енергозабезпечення, ПОЛ та системою циклу NO може використовуватися як ефективний механізм запобігання розвитку окиснювального стресу й обмеження інтенсивності процесів ПОЛ при формуванні адаптаційних реакцій у тварин з НР до гіпоксії. Отримані дані служать теоретичним підґрунтям для подальшої розробки фармакологічних засобів на основі L-аргініну та L-NNA.

Особистий внесок здобувача полягає у виконанні всього обсягу експериментальної частини дисертації, статистичній обробці результатів, підборі та обробці даних літератури, а також за участю наукового керівника і співавторів публікацій в аналізі та інтерпретації одержаних результатів.

Апробація результатів дослідження. Матеріали результатів дисертації були представлені на: II науково-практичній медичній конференції "Сучасні проблеми клінічної фармакології, імунопрофілактики та імунотерапії", 2000 р., Київ; IV міжнародній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених "Екологія. Людина. Суспільство" 2001 р., Київ; Всеукраїнської конференції молодих учених "Актуальные вопросы современного естествознания" 2001 р., Симферополь; Міжнародній науково-практичній конференції "Біологічні основи підвищення продуктивності тварин" 2002 р., Львів; II Международной научной конференции "Аминокислоты и их производные в биологии и медицине", 2001 р., Гродно; научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения акад. И.Н.Буланкина, 2001 г., Харьков; 4-й Міжнародній конференції "Гіпоксія в медицині" 2001 р., Женева; Всеукраїнській науковій конференції "Актуальні проблеми гастроентерології" 2001 р., Київ; 6-ой Пушинской школе-конференции молодых ученых, 2002 г., Москва; II Всеукраїнській конференції студентів та аспірантів "Біологічні дослідження молодих вчених на Україні", 2002 р., Київ; 4-й парнасівській конференції "Molecular mechanisms of cell activation: biological signals and their target enzymes", 2002 р., Вроцлав; VIII Українському біохімічному з'їзді, 2002 р., м. Чернівці; III з'їзді Українського біофізичного товариства, 2002 р. Львів; міжнародній конференції, присвяченій пам'яті професора І.В. Шостаковської, 2002 р., Львів; щорічних наукових конференціях біологічного факультету

Львівського національного університету імені Івана Франка 2000-2002 рр., Львів.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 21 друкована праця, з них 13 у фахових наукових виданнях, 8 у збірниках і тезах наукових конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів досліджень, обговорення результатів, висновків та списку використаних джерел (308 назв). Робота викладена на 194 сторінках, ілюстрована 32 таблицями і 23 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень

Дослідження проведені на 306 щурах-самцях лінії Вістар масою 0,20 - 0,22 кг. У серії досліджень дозових впливів L-аргініну та L-NNA на процеси енергетичного забезпечення, ПОЛ та активність системи АОЗ тваринам одноразово, внутрішньочередно вводили L-аргінін у дозах 450 мг/кг, 600 мг/кг, 750 мг/кг, або L-NNA у дозах 5 мг/кг, 35 мг/кг, 50 мг/кг. В кожній групі кількість тварин порівнювала 6.

Окрему серію досліджень проводили на тваринах з різною резистентністю до гіпоксії, яку визначали за методом Березовського В.Я. (1975), згідно якого тварини з НР здатні перебувати в умовах розрідженого повітря (що відповідає висоті 12000 м) у барокамері до появи другого агонального вдиху або судом впродовж 2 хв, а ВР – 7 хв і більше. Тваринам з НР і ВР внутрішньочередно одноразово вводили в об'ємі 1 мл: L-аргінін (600 мг/кг) або L-NNA (35 мг/кг). Час дії кожного препарату складав 30 хв, після чого проводилось швидке декапітування. Контролем служили тварини, яким вводили 1 мл фізіологічного розчину.

З метою визначення ролі адрено- і холінорецепторів у реалізації ефектів NO-ергічної ланки на процеси енергозабезпечення, ПОЛ та активність системи АОЗ тваринам одноразово, на фоні дії адреноблокаторів (АБ) – обзидану (2 мг/кг) та бутироксану (2 мг/кг), або холіноблокаторів (ХБ) – атропіну (5 мг/кг) та бензогексонію (10 мг/кг), вводили L-аргінін або L-NNA. Час дії блокаторів адрено- і холінорецепторів, L-аргініну і L-NNA становив 30 хв.

Окрема серія досліджень проведена на тваринах з різною резистентністю до гіпоксії під впливом блокаторів адрено- та холінорецепторів, L-аргініну та L-NNA за умов стресу. Цей екстремальний вплив, пов'язаний з вільним плаванням щурів у клітці, закритій сіткою, відстань від води до сітки у якій становила 5 см. Температура води 22°C. Час плавання – 30 хв (Бондаренко і соавт., 1999). ВР і НР тваринам перед дослідом вводили внутрішньочередно L-аргінін (600 мг/кг) та L-NNA (35 мг/кг). Час дії кожного препарату складав 30 хв. Контролем служили тварини, яким вводили 1 мл фізіологічного розчину. Тварин декапітували одразу після плавання.

МХ печінки виділяли за методом, що дозволяє зберегти їх нативність (Кондрашова и соавт., 1985). Поглинання кисню та процеси окисного фосфорилування (ОФ) досліджували полярографічним методом (Chance, Williams, 1955). Здатність МХ нагромаджувати кальцій (кальцієву ємність) визначали рН-метричним методом. Як субстрати окиснення застосовували (мМ): сукцинат (СК) – 0,35, α -кетоглутарат (КГ) – 1, піруват – 3, глутамат – 2,5, малат – 2,5. Також використовували наступні інгібітори: мітохондріального ферментного комплексу I – 10 мкМ ротенон, сукцинатдегідрогенази (СДГ) – 2 мМ малонат, реакцій переамінування – 1 мМ амінооксиацетат. Дихання стимулювали додаванням 200 мкМ АДФ. На основі полярографічних записів розраховували швидкості поглинання кисню у 3-ох станах за Чансом, час фосфорилування (Тф), швидкість фосфорилування (Vф), ефективність фосфорилування (АДФ/О) та спряженість процесів дихання та ОФ (V3/V4).

Інтенсивність процесів ПОЛ в тканині печінки та крові щурів оцінювали за накопиченням дієних кон'югатів (Стальная, 1977) та продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактивних) (Гаврилов и соавт., 1987; Тимирбулатов и соавт., 1988). Активність ферментів системи АОЗ у крові і тканині печінки визначалась наступними методами: супероксиддисмутази (СОД) (Костюк и соавт., 1990), каталази (КАТ) (Корольок, 1988), глутатіонредуктази (ГР) (Путилина, 1982), глутатіонпероксидази (ГП) (Моин, 1986), вміст церулоплазміну (ЦП) (Колб, Камышников, 1982). У тканині печінки активність аланін- та аспаратамінотрансфераз (АЛАТ та АСАТ) визначали методом (Осадчая, 1982), СДГ методом (Ещенко, Вольский, 1982). Вміст лактату та пірувату у крові визначали методом (Герасімов, Плаксіна, 2000). Вміст білку визначали за методом Лоурі (Lowry et al., 1951).

Всі отримані результати опрацьовували статистично за Стьюдентом, вірогідними вважали зміни де $P < 0,05$. Крім того, був проведений кореляційний та дисперсійний аналіз з використанням стандартних програм "Statgraf".

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

1. Дозові ефекти впливу L-аргініну та L-NNA на процеси енергетичного забезпечення та ліпопероксидації у МХ печінки щурів. Дані літературних джерел засвідчують, що прояв фізіологічних ефектів NO в організмі залежить від ряду факторів, зокрема, дози, часу дії, умов експерименту і об'єкта досліджень (Shen, Wolin, 1994, Tayen, Marletta, 1990). Враховуючи це, ми досліджували вплив L-аргініну у дозах 450, 600, 750 мг/кг та L-NNA у дозах 5, 35, 50 мг/кг на функціональний стан МХ та процеси ПОЛ у щурів. Аналіз отриманих результатів засвідчив, що внутрішньочеревне введення шурам L-аргініну у вказаних дозах призводило до зниження швидкостей поглинання кисню, що модифікувало й процеси ОФ (рис. 1, а). Зниження ефективності фосфорилування за умов окиснення

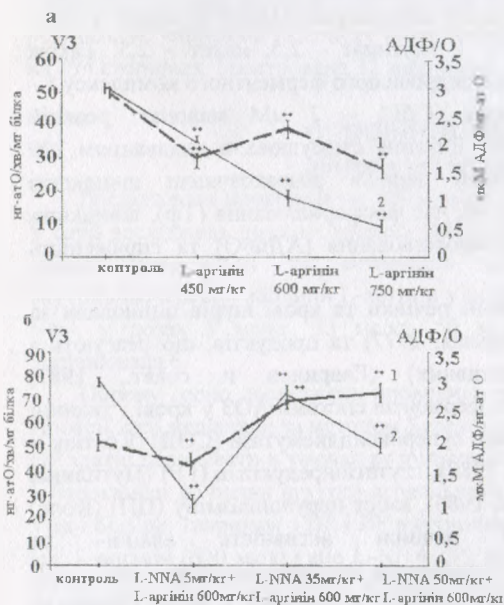
сукцинату знаходилось у прямопропорційній залежності від дози L-аргініну: при дозі 450 мг/кг становило 33,33% ($P < 0,01$), при дозі 600 мг/кг – 67,97% ($P < 0,01$), при дозі 750 мг/кг це зниження було п'ятикратним. Таке зниження викликає незворотні

зміни процесів МХ енергозабезпечення та вказує на його цитотоксичний ефект. Отже, L-аргінін змінює функціональні показники дихання МХ, починаючи із дози 450 мг/кг, і його вплив має дозозалежний характер. Аналогічні результати були отримані і за умов використання КГ, глутамату з малатом та глутамату з піруватом. З метою з'ясування NO-синтазних механізмів в реалізації ефектів L-аргініну порівняно з іншими альтернативними шляхами утворення NO (нітрит-редуктазними), нами досліджено вплив L-аргініну на фоні попередньої дії L-NNA. Отримані результати засвідчили, що нівелювання ефектів впливу L-аргініну на процеси дихання МХ печінки щурів відбувалось починаючи з дози L-NNA 35 мг/кг (рис. 1, б).

Щодо впливу вказаних доз L-аргініну на процеси ПОЛ, то L-аргінін у дозі 600 мг/кг обумовлював зниження вмісту ТБК-реактивних продуктів у крові на 14,29% ($P < 0,01$), у тканині

Рис. 1. Зміни швидкості АДФ-стимульованого дихання (1) та ефективності фосфорилування (2) під впливом L-аргініну (а) у різних дозах та на фоні попередньої дії L-NNA (б) при окисненні сукцинату. ** - $P < 0,01$.

печінки на 35,09% ($P < 0,01$). L-аргінін у дозі 600 мг/кг викликав зниження інтенсивності процесів ПОЛ, ймовірно, шляхом перехоплення вільних радикалів і утворення інтермедіатів, які зупиняють ланцюгову реакцію, оскільки показано, що тканини тварин адаптовані до низьких рівнів пероксинітриту (Волин, Девідсон, 1998). Збільшення дози L-аргініну до 750 мг/кг характеризувалось різнонаправленими змінами вмісту ТБК-реактивних продуктів у крові та печінці: у крові спостерігалось подальше зниження їх концентрації на 71,43% ($P < 0,01$), тоді як у печінці змін не було встановлено. Нівелювання ефектів впливу L-аргініну на інтенсивність процесів ПОЛ відбувалось за умов використання L-NNA у дозі 35 мг/кг. Тому, для проведення наших подальших досліджень, ми використовували L-аргінін у дозі 600 мг/кг та L-NNA у дозі 35 мг/кг.



2. Вплив L-аргініну та L-NNA на процеси енергетичного забезпечення, ПОЛ та стан системи АОЗ у тварин з різною резистентністю до гіпоксії. Особини з різною резистентністю до гіпоксії відрізняються за показниками метаболічної активності, зокрема, окиснювального метаболізму (Луцькіна, 2000). Відомо, що у дихальному ланцюзі МХ тварин з НР переважає окиснення ФАД-залежних субстратів (СК), у ВР – НАД-залежних (КГ). Введення L-аргініну засвідчило різну чутливість цих двох шляхів до його дії. При окисненні СК досліджено зниження ефективності фосфорилування у НР на 20% ($P < 0,05$), у ВР на 24% ($P < 0,05$) (рис. 2, а), за умов окиснення КГ змін цього показника не відмічалось (рис. 2, б). Нами було зроблено припущення, що сукцинат-залежний шлях є більш чутливим до дії L-аргініну.

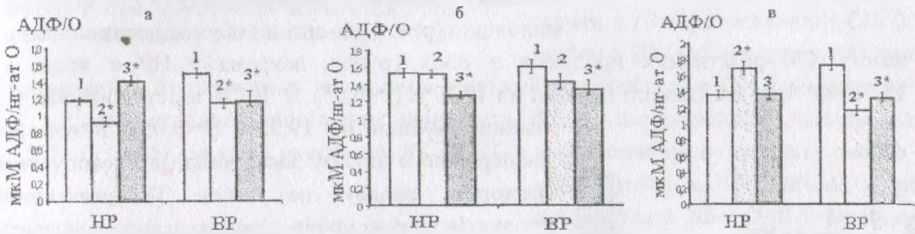


Рис. 2. Вплив L-аргініну та L-NNA на ефективність фосфорилування в МХ печінки шурів з різною резистентністю до гіпоксії за умов окиснення СК (а), КГ (б), КГ+малонат (в). 1 – контроль, 2 – L-аргінин, 3 – L-NNA. * – $P < 0,05$.

Ендогенний СК здатний модифікувати фосфорилуюче дихання при окисненні НАД-залежних субстратів (Кондрашова, 1991). Тому ми застосовували інгібітор СДГ – малонат. З'ясування СК-залежного внеску у окиснення КГ за умов введення L-аргініну підтвердило його різну дію на НР та ВР тварин. У НР за цих умов зростала ефективність фосфорилування на 24% ($P < 0,05$), а у ВР знижувалась на 13,85% ($P < 0,05$) (рис 2, в). Оскільки зниження показника ефективності фосфорилування відбувалось лише за умов окиснення СК, це дозволило припустити, що СДГ виступає тим чинником, через який L-аргінин здійснює свій модифікуючий вплив на процеси енергозабезпечення мітохондрій.

Активність СДГ, за умов введення L-аргініну, знижувалась в обох групах тварин на 25% ($P < 0,05$) (рис. 3). У тварин з НР L-NNA викликав зростання активності СДГ, що обумовлювало активацію процесів енергетичного забезпечення мітохондрій. Окиснення КГ, за умов введення L-NNA, є більш чутливим до обмеження синтезу NO в NO-синтазних реакціях, що підтверджується зниженням ефективності фосфорилування в обох групах (рис. 2)

У своїх дослідженнях ми використали глутамат і малат та глутамат і піруват як субстрати, що забезпечують інтенсивне переамінування з утворенням КГ в АлАТ і АсАТ реакціях. L-аргінин при окисненні глутамату з малатом знижував швидкість АДФ-стимульованого дихання у НР тварин на 36,89% ($P < 0,05$), на фоні зростання

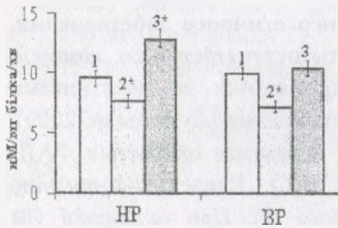


Рис. 3. Зміни активності СДГ у тварин з різною резистентністю до гіпоксії під впливом L-аргініну та L-NNA. 1 - контроль, 2 - L-аргінін, 3 - L-NNA. * - $P < 0,05$.

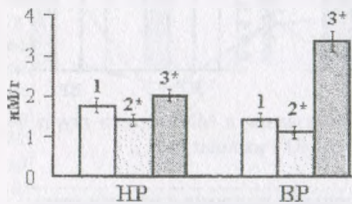


Рис. 4. Зміни вмісту ТБК-реактивних продуктів у печінці щурів з різною резистентністю до гіпоксії при введенні L-аргініну та L-NNA. 1 - контроль, 2 - L-аргінін, 3 - L-NNA. * - $P < 0,05$.

ефективності фосфорильовання на 109,28% ($P < 0,05$). Підвищення ефективності фосфорильовання досліджено і при окисненні глутамату з піруватом. Вимірювання активностей АсАТ і АлАТ, за дії L-аргініну, підтвердило їх активацію у НР, яка корелювала із пригніченням активності СДГ ($r = -0,89$). Вплив L-NNA обумовлював зменшення показника спряженості дихання та ОФ у тварин з НР та інтенсифікацію процесів ПОЛ. Зокрема, вміст ТБК-реактивних продуктів у крові НР зростав на 19,92% ($P < 0,05$), у печінці на 13,56% ($P < 0,05$). У ВР ці зміни становили 17,68% ($P < 0,05$) та 13,9% ($P < 0,05$) відповідно (рис. 4.) L-аргінін обумовлював зниження

вмісту ТБК-реактивних продуктів в обох групах, зокрема у НР в крові на 13,22% ($P < 0,05$), в тканині печінки на 19,77% ($P < 0,05$). У ВР їх вміст знижувався у тканині печінки на 19,72% ($P < 0,05$). Результати дисперсійного аналізу засвідчили, що домінуючим фактором впливу на вміст ТБК-реактивних продуктів у крові щурів є тип введеного препарату, його частка становить 42,10% ($p > 0,99$), на залежність від гіпоксичного фактору припала лише 3,16% ($p > 0,7$). Ймовірно, цим пояснюються односпрямовані зміни вмісту ТБК-реактивних продуктів у тварин з різною резистентністю при введенні L-аргініну або L-NNA.

Досліджено, що особливості впливу NO-ергічної ланки регуляції на систему АОЗ є активація глутатіонової ланки на фоні пригнічення активності СОД і КАТ. Зокрема, при введенні L-аргініну, у тварин з ВР зростали активності ГР та ГПІ на 53% ($P < 0,05$) і 93,97% ($P < 0,05$) відповідно. Ці зміни корелювали із зниженням процесів ПОЛ ($r = -0,80$). У тварин з НР активація глутатіонової ланки відбувалась за умов введення L-NNA. Активність ГР зростала на 22,84% ($P < 0,05$), активність ГПІ - на 76,95% ($P < 0,05$).

3. Роль NO-ергічної ланки регуляції у підтриманні процесів енергетичного забезпечення та інтенсивності процесів ПОЛ під впливом блокаторів адрено- та холінергетичних рецепторів. Функціональні зміни у клітині, при дії різноманітних чинників, обумовлені змінами чутливості адрено- і холінергетичних рецепторів. Важливим модулятором цих змін є NO [Henry, Guissani, 1999, Schmidt, Lohmann, 1993]. Отримані нами результати засвідчують, що використання АБ, яке обумовлює посилення холінергічних регуляторних впливів, сприяє виявленню ефектів L-

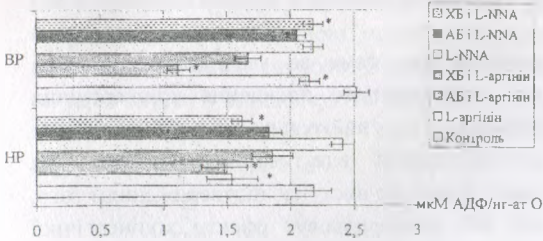


Рис. 5. Зміна ефективності фосфорилювання МХ печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії при введенні L-аргініну та L-NNA за умов окиснення СК на фоні впливу адрено- і холіноблокаторів. * - $P < 0,05$.

переважанням холінергічних механізмів регуляції, використання ХБ при окисненні СК супроводжувалось зростанням швидкості АДФ-стимульованого дихання на 25,54% ($P < 0,05$). За умов окиснення КГ та КГ з малонатом зміни процесів енерго-

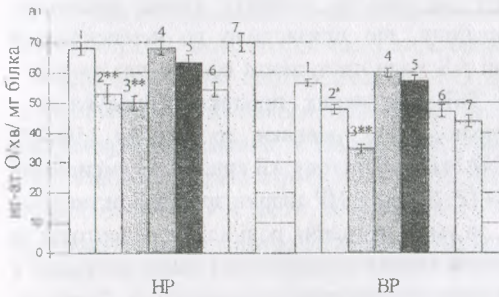


Рис. 6. Зміна швидкості АДФ-стимульованого дихання МХ печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії при введенні L-аргініну та L-NNA за умов окиснення СК на фоні впливу адрено- і холіноблокаторів. 1 – контроль, 2 – L-аргінін, 3 – AB+L-аргінін, 4 – XB+L-аргінін, 5 – L-NNA, 6 – AB+L-NNA, 7 – XB+L-NNA. * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$

обумовлювало зниження ефективності фосфорилювання на 25,69% ($P < 0,01$) у тварин з НР.

Введення AB, що обмежують роль адренорецепторних структур, які значно активують вільнорадикальні процеси, призводило до зниження інтенсивності процесів ПОЛ в обох групах тварин. Зокрема, у НР вміст ТБК-реактивних продуктів

аргініну на досліджувані процеси в обох групах тварин. Показано, що за умов окиснення СК зміни показників ефективності фосфорилювання (рис. 5) та швидкості АДФ-стимульованого дихання (рис. 6) під впливом L-аргініну та на фоні дії AB були односпрямовані. Застосування ХБ, з наступною ін'єкцією щуром L-аргініну не змінювало показників споживання кисню МХ печінки тварин з НР при окисненні СК. У тварин з ВР, які характеризуються

характеризувались однонаправленими змінами із введенням L-аргініну. Це вказує на зв'язок ефектів його впливу з холінергічною ланкою регуляції. Введення L-NNA за умов попередньої дії AB при окисненні СК призводило у тварин з НР до зниження швидкості АДФ-стимульованого дихання на 43,74% ($P < 0,01$). У ВР тварин досліджено зниження ефективності фосфорилювання на 18,65% ($P < 0,01$). Введення L-NNA при окисненні СК за умов дії ХБ

характеризувались однонаправленими змінами із введенням L-аргініну. Це вказує на зв'язок ефектів його впливу з холінергічною ланкою регуляції. Введення L-NNA за умов попередньої дії AB при окисненні СК призводило у тварин з НР до зниження швидкості АДФ-стимульованого дихання на 43,74% ($P < 0,01$). У ВР тварин досліджено зниження ефективності фосфорилювання на 18,65% ($P < 0,01$). Введення L-NNA при окисненні СК за умов дії ХБ

характеризувались однонаправленими змінами із введенням L-аргініну. Це вказує на зв'язок ефектів його впливу з холінергічною ланкою регуляції. Введення L-NNA при окисненні СК за умов дії ХБ

становив становив 44,43% ($P<0,01$), у ВР 37,59% величини від контролю ($P<0,01$) (рис. 7).

Таким чином, ці результати свідчать, що саме за умов зниження ролі адренорецепторів і пов'язаного з

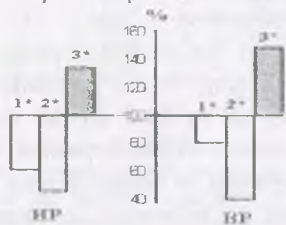


Рис. 7. Зміни вмісту ТБК-реактивних продуктів у НР та ВР тварин при введенні L-аргініну на фоні дії адрено- та холіноблокаторів. 1 – L-аргінін, 2 – АБ+L-аргінін, 3 – ХБ+L-аргінін. * – $P<0,05$.

цим реципрокного посилення впливів, найкраще проявляються антиоксидантні властивості L-аргініну. На нашу думку, це виступає підтвердженням того, що NO опосередковує ефекти холінергічної ланки регуляції організму. За умов дії АБ та L-аргініну досліджено зниження активності СОД у тварин з ВР та КАТ в обох групах. Концентрація ЦП зростала у групі ВР на 74,45% ($P<0,01$), що підтверджує його важливу роль у підтриманні антиоксидантного статусу тварин з ВР. На протипагу цьому, використання L-аргініну після введення ХБ супроводжувалось інтенсифікацією процесів ПОЛ у НР на 33,7% ($P<0,01$), у ВР на 48,11% ($P<0,01$). Отже, блокатори холінорецепторів знімали ефекти L-аргініну, що призводило до інтенсифікації процесів ПОЛ. Дія L-NNA при введенні АБ мала протилежні ефекти для тварин з різною резистентністю: у НР вміст ТБК-реактивних продуктів знижувався і становив 82,42% ($P<0,05$) щодо контролю, у ВР, навпаки, зростав до 150,46% ($P<0,05$) щодо контролю. Введення L-NNA на фоні впливу АБ викликало зменшення концентрації ЦП у ВР тварин на 56,89% ($P<0,01$). У НР тварин зростала активність СОД на 19,02% ($P<0,05$). Таким чином, за умов зниження ролі адренорецепторів та пов'язаного з цим реципрокного посилення впливу холінергічної ланки регуляції у тварин з НР, під впливом L-NNA, досліджено пригнічення процесів ПОЛ. Отже, дія L-аргініну опосередковується участю холінорецепторів, оскільки ефекти його впливу на клітинний метаболізм нівелюються під впливом ХБ.

4. Вплив L-аргініну та L-NNA на процеси енергетичного забезпечення, ПОЛ та стан системи АОЗ у тварин з різною резистентністю до гіпоксії за умов стресу. Згідно даних літератури, NO сприяє обмеженню розвитку стресу та активації ендogenous захисних систем організму (Мальпєв, Манухина, 2000; Реутов, 1997; Goda, Ishimura, 1997). З метою оцінки змін функціонального стану МХ, інтенсивності процесів ліпопероксидації та активності системи АОЗ за умов стресу у тварин з різною резистентністю до гіпоксії ми досліджували ефекти введення L-аргініну та L-NNA за цих умов. Показано, що обраний нами метод стресу супроводжувався значним зростанням інтенсивності процесів ПОЛ. Зокрема, вміст ТБК-реактивних продуктів зростав у крові тварин з НР у 5,2 рази, у тварин з

ВР у 8,3 разів (рис. 8). Це обумовлювало зміни функціонального стану МХ, які супроводжувались більшою ушкодженістю НАД-залежного шляху окиснення незалежно від резистентності. Відомо, що гальмівними факторами, які розвиваються за умов стресу і модифікують дихання МХ, є продукти окиснення адреналіну та ПОЛ, що нагромаджуються при сильних і тривалих впливах на організм й гальмують активність СДГ.

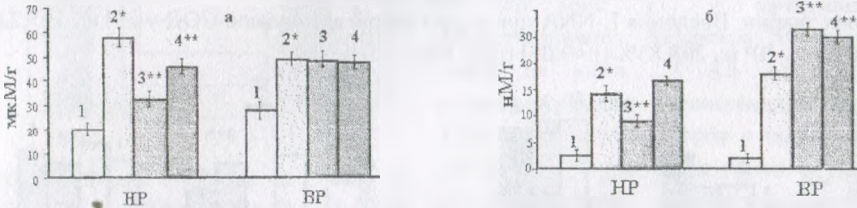


Рис. 8. Зміни вмісту ДК (а) та ГБК-реактивних продуктів (б) у тканині печінки тварин з різною резистентністю до гіпоксії за умов стресу під впливом L-аргініну та L-NNA. 1 – контроль, 2 – стрес, 3 – L-аргінін+стрес, 4 – L-NNA+стрес. * – $P < 0,05$ щодо контролю, ** – $P < 0,05$ щодо стресу.

Таким чином, термінова мобілізація організму під впливом стресу, аналогічна до тієї, що застовувалась у наших дослідженнях, викликає метаболічне пригнічення активності СДГ мітохондрій через оксалоацетат, який утворюється із СК.

Для з'ясування, опосередкованих NO, механізмів регуляції енергозабезпечення за умов стресу, ми використали ефект зняття оксалоацетатного інгібування СДГ мітохондрій глутаматом. У тварин з HP L-аргінін знімав оксалоацетатне інгібування СДГ, викликане дією стресу, шляхом підвищення спряженості процесів дихання і фосфорилування та його ефективності. У тварин з BR, навпаки, такі зміни відбувались за умов використання L-NNA (рис. 9).

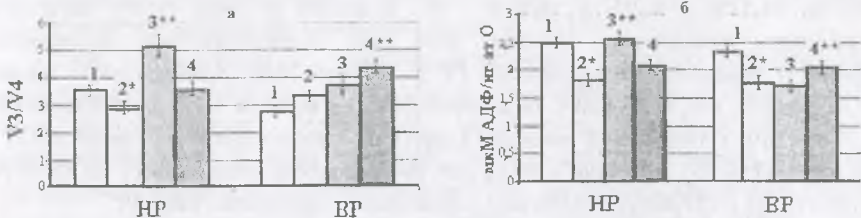


Рис. 9. Зміни спряженості процесів дихання та ОФ (а) і ефективності фосфорилування (б) у МХ печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії під впливом L-аргініну та L-NNA при окисненні сукцинату та глутамату за умов стресу. 1 – контроль, 2 – стрес, 3 – L-аргінін+стрес, 4 – L-NNA+стрес.

* – $P < 0,05$ щодо контролю, ** – $P < 0,05$ щодо стресу.

Отже, NO-залежні механізми мітохондріального контролю пов'язані з функціонуванням СДГ та зниженням інтенсивності процесів ліпопероксидації, що

дозволяє обмежувати негативні стресорні впливи в організмі з НР та підвищувати їх адаптаційні можливості.

Таким чином, отримані нами результати дозволяють стверджувати, що парентеральне введення L-аргініну сприяє економізації процесів енергетичного забезпечення шляхом підвищення спряженості процесів дихання та ОФ на фоні зниження процесів ліпопероксидації у тварин з НР за умов стресу (рис. 8).

Встановлено, що стрес викликав підвищення активності СОД та КАТ в обох групах тварин. Введення L-NNA при стресі також активувало СОД у НР на 195,23% ($P<0,05$), у ВР на 208,83% ($P<0,05$) (рис. 10).

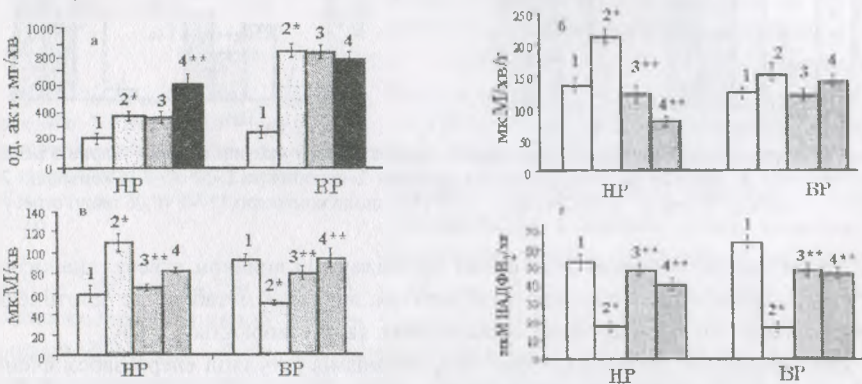


Рис. 10. Зміни активності ферментів системи антиоксидантного захисту (а-СОД, б-КАТ, в-ГП, г-ІР) у тварин з різною резистентністю до гіпоксії при введенні L-аргініну та L-NNA за умов стресу. 1 – контроль, 2 – стрес, 3 – L-аргінін+стрес, 4 – L-NNA+стрес. * – $P<0,05$ щодо контролю, ** – $P<0,05$ щодо стресу.

Однак активність глутатіонредуктази знижувалась на 65,17% ($P<0,05$) у тварин з НР, на 71,51% ($P<0,05$) у тварин з ВР. L-аргінін за умов стресу активував глутатіонову компоненту системи АОЗ. Це підтверджується величинами коефіцієнту кореляції між активністю ІР та вмістом МДА в обох групах тварин ($r=0,75$ для НР, $r=0,51$ для ВР), та активністю ГП і вмістом МДА ($r=0,86$ для НР, $r=0,79$ для ВР). У тварин з НР введення L-аргініну сприяло зростанню активності ГР на 163,75% ($P<0,05$). У тварин з ВР за цих умов зростала активність ГР на 167,34% ($P<0,05$) та ГП на 57,48% ($P<0,05$) щодо величини у стресованих тварин.

5. Рецепторний контроль функціонального стану МХ та процесів ПОЛ у тварин з різною резистентністю до гіпоксії під впливом L-аргініну та L-NNA при дії стресу. Відомо, що посилення впливів регуляторної ланки катехоламіні-сукцинат обумовлює зростання швидкостей поглинання кисню МХ за умов дії стресу. Такі результати були отримані нами під впливом L-аргініну на фоні дії ХБ за умов стресу. Ефективність фосфорильовання за цих умов знижувалась на 27,36% ($P<0,05$), однак відсоток зниження був меншим щодо значень при введенні L-

аргініну та L-аргініну на фоні дії АБ. Отже, наведені дані підтверджують нашу концепцію щодо реалізації ефектів екзогенного L-аргініну через холінергічну ланку регуляції у тварин з НР. У тварин з ВР вплив L-аргініну на фоні дії ХБ та стресу за умов окиснення СК призводив до зниження спряженості процесів дихання та ОФ (рис. 11) й ефективності фосфорилування. Активація NO-ергічної ланки за умов дії АБ при стресі супроводжувалась зменшенням вмісту ТБК-реактивних продуктів у тварин з НР на 49,62% ($P < 0,05$), у тварин з ВР на 69,62% ($P < 0,05$).

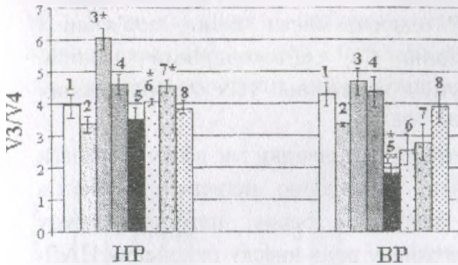


Рис. 11. Вплив L-аргініну та L-NNA на спряженість процесів дихання та ОФ у МХ печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії при дії адрено- та холіноблокаторів умов окиснення СК. 1 – контроль, 2 – стрес, 3 – L-аргінін і стрес, 4 – АБ, L-аргінін і стрес, 5 – ХБ, L-аргінін і стрес, 6 – L-NNA і стрес, 7 – АБ, L-NNA і стрес, 8 – ХБ, L-NNA і стрес. * – $P < 0,05$ щодо стресу.

на 49,62% ($P < 0,05$), у тварин з ВР на 69,62% ($P < 0,05$). Введення L-аргініну обумовлювало зниження активності СОД у тварин з ВР як за умов блокади адренотак і холінорецепторів: у першому випадку – на 49,43% ($P < 0,05$), у другому – на 11,27% ($P < 0,05$). Цей факт відображає роль холінергічної ланки регуляції у

реалізації ефектів NO у тварин з ВР. Введення L-NNA призводило до зростання активності СОД за умов дії АБ на 41,55% ($P < 0,01$), а ХБ на 39,00% ($P < 0,01$). Це підтверджує інгібуючу роль NO у реалізації ефектів СОД, тому зниження активності NO-синтази сприяло активації цього ферменту. Введення L-аргініну на фоні дії АБ за умов стресу супроводжувалось значним зниженням вмісту ЦПІ в обох групах тварин: у НР на 62,30% ($P < 0,01$), у ВР на 35,60% ($P < 0,01$). Вплив L-NNA на фоні дії ХБ супроводжувався зростанням вмісту ЦПІ у НР на 58,86% ($P < 0,01$). У ВР, навпаки, за цих умов відбувалось зниження його вмісту на 55,76% ($P < 0,01$).

Отже, використання АБ викликає реципрокну активацію холінореактивних структур, які у значній мірі обумовлюють поглиблення ефектів ендогенного NO. Ймовірно, в основі структурної перебудови, пов'язаної із змінами енергозабезпечення і рівня продукції АФК, лежать механізми ефективного використання кисню при менших значеннях pO_2 , що створює сприятливі умови для синтезу і депонування NO. Тому, у наших дослідженнях отримано значний протекторний ефект системи АОЗ при дії L-аргініну на фоні введення адреноблокаторів.

6. Вплив L-аргініну та N^o-нітро-L-аргініну на процеси поглинання кальцію мітохондріями печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії. Враховуючи важливу роль іонів Ca^{2+} у регуляції енергетичних процесів у мітохондріях (Denton, Mc Cormack, 1980), ми дослідили зміни кальцієвої смності МХ печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії за умов ведення L-аргініну або L-NNA при

окисненні субстратів ЦТК. Показано, що кальцієва ємність МХ печінки шурів з НР характеризується нижчими значеннями щодо ВР. Введення L-аргініну обумовлювало зростання показника кальцієвої ємності мітохондрій печінки шурів з НР до рівня тварин з ВР. У тварин з ВР односпрямовані зміни, пов'язані з пригніченням процесу акумулювання катіонів Ca^{2+} мітохондріями печінки, досліджено при використанні L-NNA за умов окиснення усіх досліджуваних субстратів.

Можливо, вища кальцій-акумулююча здатність МХ печінки дає вагомі переваги ВР організмам за умов дії стресу і сприяє зменшенню негативних ефектів порушення кальцієвого гомеостазу, який лежить в основі патогенезу ряду захворювань. Наші результати свідчать, про важливу роль внеску окиснення НАД-залежних субстратів у підтриманні транспорту Ca^{2+} мембраною МХ печінки тварин з ВР, оскільки за дії стресу спостерігалось зниження цього показника саме при їх окисненні: КГ на 23,63% ($P < 0,05$), КГ з малонатом на 15,48% ($P < 0,05$), глутамату з малатом на 32,42% ($P < 0,05$), глутамату з піруватом на 22,48% ($P < 0,05$). У НР тварин, навпаки, стрес сприяв акумуляції МХ печінки іонів Ca^{2+} : при окисненні СК на 172,32% ($P < 0,05$), КГ на 222,94% ($P < 0,05$), КГ з малонатом на 236,82% ($P < 0,05$), глутамату з малатом та глутамату з піруватом на 315,92% ($P < 0,05$) та 88,31% ($P < 0,05$) відповідно. Введення L-аргініну призводило до подальшого зниження кальцієвої ємності МХ печінки ВР тварин: при окисненні СК на 16,80% ($P < 0,05$), КГ на 36,29% ($P < 0,05$), КГ з малонатом на 24,42% ($P < 0,05$) щодо стресованих тварин. Однак активація трансаміназних шляхів викликала зростання кальцієвої ємності МХ печінки: при окисненні глутамату з малатом на 32,97% ($P < 0,05$), глутамату з піруватом на 38,23% ($P < 0,05$). Введення L-NNA за умов стресу супроводжувалось зростанням кальцієвої ємності мітохондрій печінки тварин з ВР. У НР тварин зниження здатності МХ печінки акумулювати Ca^{2+} досліджено у разі введення L-NNA: на 45,46% ($P < 0,05$) при окисненні СК, на 61,14% ($P < 0,05$) при окисненні КГ, на 59,03% ($P < 0,05$) при окисненні КГ з малонатом, глутамату з малатом на 62,11% ($P < 0,05$), глутамату з піруватом на 45,74% ($P < 0,05$). Зменшення кальцієвої ємності МХ сприяє вивільненню кальцію з МХ в цитозоль. Це сприяє перенесенню клітиною несприятливих станів. Однак надсильна або тривала стрес-реакція, коли кількість Ca^{2+} зростає надмірно може призводити до пошкодження клітини. Отримані результати, дозволяють модулювати рівень кальцію у клітині шляхом використання попередника біосинтезу оксиду азоту L-аргініну або блокатора NO-синтаз L-NNA.

7. Зміни співвідношення аеробних та анаеробних шляхів мітохондріального енергозабезпечення залежно від вихідного стану фізіологічної реактивності та ролі системи оксиду азоту. Відомо, що за змінами співвідношення лактат/піруват можна стверджувати про переважання шляхів енергозабезпечення залежно від змін функціонального стану організму, пов'язаних з гіпоксійними процесами.

Показано, що за умов введення L-NNA, співвідношення лактат/піруват знижувалось у НР при зростанні вмісту пірувату. У тварин з ВР, навпаки, відбувалось його підвищення за рахунок зростання вмісту лактату (рис. 12). За умов дії АБ та введення L-аргініну співвідношення лактат/піруват зростало у ВР: підвищувався вміст лактату при зниженні вмісту пірувату. L-аргінін на фоні дії ХБ обумовлював зростання співвідношення лактат/піруват в обох групах тварин при зростанні вмісту лактату. Однак відсоток підвищення був більшим у тварин з ВР.

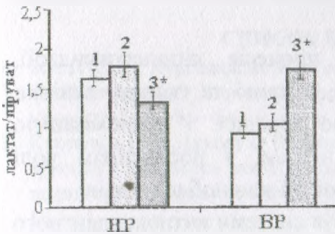


Рис. 12. Співвідношення лактат/піруват у крові щурів з різною резистентністю до гіпоксії під впливом L-аргініну та L-NNA. 1- контроль, 2- L-аргінін, 3- L-NNA. * - $P < 0.05$.

Дія стресу супроводжується активацією стрес-системи та викидом катехоламінів, це сприяє посиленню енергозабезпечення, однак одночасно з цим активуються процеси ПОЛ, що призводить до модифікації або uszkodження основних функцій біологічних мембран. Виникає своєрідне коло: порушується енергетичний обмін і стимулюється вільнорадикальне окиснення, а активація ПОЛ через uszkodження мембран МХ і лізосом поглиблює енергодефіцит у клітині. Тому за цих умов досить важливою є здатність клітин переключатись на інші типи енергозабезпечення,

зокрема, гліколіз. За умов стресу досліджено зростання співвідношення лактат/піруват в обох групах тварин з більш високим відсотком зростання у ВР. Вплив L-аргініну при стресі супроводжувався зниженням співвідношення лактат/піруват у тварин з НР, яке підвищувалося під впливом L-NNA. У щурів з ВР L-аргінін викликав зростання величини цього співвідношення, а L-NNA -- його зниження. Зниження співвідношення лактат/піруват спостерігалось у тварин з ВР також і за умов дії ХБ при введенні L-NNA за стресу.

Введення L-аргініну сприяло зростанню концентрації лактату у крові тварин, що засвідчує переважне використання анаеробних шляхів синтезу енергії. Крім того, NO_2^- також може виступати акцентором електронів і забезпечувати підтримання енергосинтезуючої функції дихального ланцюга, з переважним використанням відновлених еквівалентів, які надходять через трансаміназні шляхи, про що свідчить активне використання пірувату.

ВИСНОВКИ

1. Екзогенний L-аргінін має дозозалежний характер впливу на процеси функціонування мітохондрій печінки при використанні основних субстратів окиснення. L-аргінін у дозах 450-600 мг/кг викликає зниження величини фосфорилуючого дихання на фоні зростання спряженості процесів дихання та окисного фосфорилування. Дія L-аргініну у дозі 750 мг/кг супроводжується незворотніми змінами функціонування дихального ланцюга мітохондрій печінки,

що оцінюється за величиною дихального контролю та ефективності фосфорилування.

2. Ефекти впливу L-аргініну на процеси енергетичного забезпечення мітохондрій печінки щурів з низькою резистентністю пов'язані із зростанням ролі субстратів переамінування, зокрема глутамату з малатом й глутамату з піруватом, та активацією аланін- і аспартатамінотрансфераз. L-аргінін обумовлює зниження активності сукцинатдегідрогенази та ролі сукцинат-залежного окиснення незалежно від резистентності до гіпоксії.
3. Екзогенний L-аргінін обмежує інтенсифікацію процесів ліпопероксидації, оцінюваних за вмістом ТБК-реактивних продуктів, в крові та тканині печінки щурів з низькою резистентністю до гіпоксії, що корелює з економізацією споживання кисню мітохондріями. Ці зміни пов'язані з посиленням ролі холінергічної ланки регуляції, що виявляється за умов дії холіноблокаторів.
4. L-аргінін викликає пригнічення активності ферментів системи антиоксидантного захисту супероксиддисмутази та каталази у тварин з низькою та високою резистентністю до гіпоксії. Зміни функціонування NO-ергічної системи супроводжуються активацією глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у щурів з низькою та високою резистентністю до гіпоксії. У тварин з високою резистентністю активація ферментів глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази відбувається під впливом L-аргініну. У тварин з низькою резистентністю активність глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази зростає при введенні N^o-нітро-L-аргініну.
5. Тварини з високою резистентністю характеризуються вищим вихідним рівнем кальцієвої ємності мітохондрій печінки порівняно з низькорезистентними тваринами. Введення L-аргініну викликає зростання кальцієвої ємності мітохондрій печінки тварин з низькою резистентністю до рівня високорезистентних тварин у контролі. N^o-нітро-L-аргінін обумовлює зниження здатності мітохондрій печінки тварин з високою резистентністю до гіпоксії поглинати кальцій при окисненні основних субстратів циклу трикарбонових кислот.
6. Стрес викликає інтенсифікацію процесів ліпопероксидації, яка корелює з активацією сукцинат-залежного окиснення на фоні зниження ролі НАД-залежних субстратів. Ефект впливу L-аргініну за умов стресу супроводжується зниженням інтенсивності процесів перекисного окиснення та обмеженням оксалоацетатного інгібування сукцинатдегідрогенази у мітохондріях печінки щурів з низькою резистентністю.
7. Зміни функціонального стану мітохондрій печінки та інтенсивність процесів ліпопероксидації під впливом L-аргініну залежать від функціонального стану холінорецепторів, оскільки усуваються під впливом їх блокаторів – атропіну та бензогексонію.

8. Зміни функціонування NO-ергічної ланки регуляції модулюють співвідношення аеробних та анаеробних шляхів енергозабезпечення, оцінюваних за співвідношенням лактат/піруват. N⁰-нітро-L-аргінін обумовлює зниження цього співвідношення у тварин з низькою резистентністю до гіпоксії, а у тварин з високою резистентністю, навпаки, зростання. Введення холіноблокаторів при введенні N⁰-нітро-L-аргінину сприяє зростанню співвідношення лактат/піруват за рахунок значного зниження вмісту пірувату.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Іккерт О.В., Кургалюк Н.М., Гордій С.К. Вплив L-аргінину та N⁰-нітро-L-аргінину на окисне фосфорилування і процесі ліпопероксидації у щурів з різною резистентністю до гіпоксії за умов стресу // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т.73, №6. – С. 49-57.
2. Кургалюк Н.М., Іккерт О.В., Вовканич Л.С., Горинь О.В., Гальків М.О., Гордій С.К. Вплив L-аргінину і блокатора синтази оксиду азоту L-NNA на кальцієву сміть мітохондрій печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії під // Укр. біохім журн. – 2001. – Т.73, №5. – С. 82-86.
3. Іккерт О.В., Кургалюк Н.М., Гордій С.К., Гальків М.О. Вплив L-аргінину та N⁰-нітро-L-аргінину на функціональний стан ізольованих мітохондрій печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії // Вісник проблем біології і медицини. – 2000. – №5-6. – С. 17-20.
4. Кургалюк Н.М., Іккерт О.В., Горинь О.В., Гордій С.К., Сребровська Т.В., Гальків М.О. Вплив оксиду азоту на механізми регуляції вмісту активних форм кисню в адаптивних відповідях організмів з різною резистентністю до дії гіпоксичного фактора // Медична хімія. – 2001. – Т.3, №3. – С. 14-18.
5. Кургалюк Н.М., Іккерт О.В., Гордій С.К., Гальків М.О., Ткаченко Г.М. Регуляція L-аргініном транспорту іонів кальцію і окиснювального фосфорилування у мітохондріях печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії при дії стресорних навантажень // Біологія тварин. – 2000. – Т.2. – №2. – С. 143-151.
6. Іккерт О.В. NO-ергічна ланка регуляції мітохондріального дихання та окисного фосфорилування в тканині печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії // Вісник Київського національного університету. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. – 2002. – Вип.8. – С. 37-40.
7. Кургалюк Н.М., Іккерт О.В., Горинь О.В., Гальків М.О., Гордій С.К. Вплив L-аргінину і блокатора синтази оксиду азоту N⁰-нітро-L-аргінину на стан кальцієвої ємності мітохондрій печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії за умов дії стресорних навантажень // Вісник Львівського ун-ту. Сер. біол. – 2001. – №27. – С. 236-244.
8. Іккерт О.В., Кургалюк Н.М., Гордій С.К. Вплив L-аргінину та N⁰нітро-L-аргінину на стан енергозабезпечення мітохондрій печінки щурів із різною резистентністю до гіпоксії при дії стресових навантажень // Вісник Львівського ун-ту. Сер. біол. – 2002. – №28. – С. 271-279.
9. Іккерт О., Кургалюк Н., Ткаченко Г., Гальків М., Гордій С.К. Стан системи антиоксидантного захисту і процесів ліпопероксидації у мітохондріях щурів за умов зміни функціонального стану NO-ергічної ланки регуляції // Вісник Львівського ун-ту. Сер. біол. – 2002. – №29. – С. 157-165.
10. Іккерт О.В. Роль амінотрансферазних реакцій у підтриманні функцій енергозабезпечення мітохондріями печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії при введенні L-аргінину та N⁰-нітро-L-аргінину // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин. – 2001. – Вип. 1-2, С. 130-134.
11. Іккерт О.В., Кургалюк Н.М., Гордій С.К., Гальків М.О., Ткаченко Г.М. NO-ергічна ланка регуляції мітохондріального дихання у щурів з різною резистентністю до гіпоксії // Ученіє записки ТНУ. – 2001 – Т.14, №2. – С. 80-83

3280

12. Іккерт О.В., Гордій С.К. Рецепторний контроль функціонального стану мітохондрій печінки щурів з різною резистентністю при стресових навантаженнях під впливом L-аргініну та N⁰-нітро-L-аргініну // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. Київ-Луганськ-Харків, 2002 – Вип. 2 (41) – С. 100-110.
13. Іккерт О.В., Ткаченко Г.М., Кургалюк Н.М., Гальків М.О., Гордій С.К. Система антиоксидантного захисту та процеси ліпопероксидації у тварин з різною резистентністю до гіпоксії за умов зміни функціонального стану NO-ергічної ланки регуляції та введення адрено-і холіноблокаторів // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – Київ-Луганськ-Харків, 2002 – Вип. 2 (41). С. 24-32
14. Іккерт О.В., Кургалюк Н.М., Гордій С.К., L-аргінин і ефективність мітохондріального дихання як чинники корекції енергозабезпечення у щурів за умов гіпоксії // Мат. IV Міжнародної науково-практичної конф. "Екологія, людина, суспільство". – Київ. – 2001. – С. 27-28
15. Іккерт О.В., Кургалюк Н.М., Ткаченко Г.М., Гальків М.А., Гордій С.К. Роль NO-зависимих механізмів мітохондріального енергозабезпечення в формуванні резистентності крыс к острому стресорному воздействию // Сб. тез. 6-ой Пушинской школы-конференции молодых ученых. – Т.1. – 2002. – С. 83-84.
16. Іккерт О., Кургалюк Н., Ткаченко Г., Гордій С. Роль NO-ергічної ланки регуляції у підтриманні антиоксидантного статусу організму // Мат. II Всеукраїнської конференції студентів та аспірантів "Біологічні дослідження молодих вчених на Україні". – Вип. I. – 2002. – С. 20-21.
17. Кургалюк Н.М., Іккерт О.В., Гордій С.К., Гальків М.О., Ткаченко Г.М. Корекція процесів перекисного окиснення ліпідів і системи антиоксидантного захисту у щурів з різною резистентністю до гіпоксії залежно від функціонального стану NO-ергічної ланки регуляції // 36. праць наук. конф. до 100-річчя з дня народження І.М.Буланкіна. – Харків. – 2001. – С. 53-54.
18. Кургалюк Н.М., Іккерт О.В., Гальків М.А., Гордій С.К., Ткаченко Г.М. L-аргінин как фактор корекції процесов мітохондріального дихання, системи антиоксидантної захисти і перекисного окислення ліпідів у крыс с разной резистентностью к гипоксии в условиях стресса // Мат. II международной науч. конф. "Аминокислоты и их производные в биологии и медицине". – Гродно. – 2001. – С. 64-65.
19. Кургалюк Н.М., Іккерт О.В., Гальків М.О., Гордій С.К., Ткаченко Г.М. Транспорт кальцію у мітохондріях печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії під впливом L-аргініну та блокатора синтази оксиду азоту L- NNA // Мат. XVI з'їзду Укр. фізіол. т-ва. Фізіологічний журнал. – 2002. – Т. 48, №2. – С. 88.
20. Kurgalyuk N.M., Ikkert O.V., Gordy S.K., Galkiv M.A., Tkachenko G.M. Exogenous L-arginine correction of ADP-stimulated respiration and calcium transport in the liver mitochondria of rats with high and low hypoxic resistance during stress // Fourth International Conference "Hypoxia in medicine". -Geneva (Switzerland). – 2001. – P. 20.
21. Ikkert O., Kurhalyuk N., Tkachenko G., Hordii S. Aerobic and anaerobic pathways of energy support in L-arginine-treated rats with different resistance to hypoxia // 4th Parnas conference "Molecular mechanisms of cell activation: biological signals and their target enzymes. – Wrocław (Poland). – P. 86.

АНОТАЦІЯ

Іккерт О.В. Вплив L-аргініну та N⁰-нітро-L-аргініну на функціональний стан мітохондрій печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук по спеціальності 03.00.13 – фізіологія людини і тварин. Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 2003.

Досліджено вплив L-аргініну та N⁰-нітро-L-аргініну (L-NNA) на процеси АДФ-стимульованого дихання, перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активність

системи антиоксидантного захисту (АОЗ) у тварин з різною резистентністю до гіпоксії. Показано, що L-аргінін та L-NNA модулюють процеси мітохондріального енергозабезпечення за рахунок впливу на шляхи використання субстратів окиснення (НАД- і ФАД-залежних), зміни активності ферментів переамінування і СДГ. Зниження процесів ПОЛ у НР отримано при дії L-аргініну, у ВР – введенням L-NNA. L-аргінін викликає зниження активності СОД і КАТ і стимулює активність глутатионової ланки системи АОЗ. У НР тварин L-аргінін викликав зростання кальцієвої ємності МХ печінки НР тварин до рівня ВР, дія L-NNA супроводжувалась пригніченням здатності МХ ВР тварин акумулювати Ca^{2+} . Отримані результати дають можливість коригувати мітохондріальні процеси в організмі тварин з різною резистентністю, шляхом функціональних змін NO-ергічної ланки регуляції.

АННОТАЦИЯ

Иккерт О.В. Влияние L-аргинина и N^0 -нитро-L-аргинина на функциональное состояние митохондрий печени крыс с разной резистентностью к гипоксии. – Рукопись.

Дисертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 – физиология человека и животных. Львовский национальный университет имени Ивана Франка, Львов, 2003.

Исследовано влияние L-аргинина и N^0 -нитро-L-аргинина (L-NNA) на процессы АДФ-стимулированного дыхания, перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность системы антиоксидантной защиты (АОЗ) у животных с разной резистентностью к гипоксии. Показано, что L-аргинин и L-NNA модулируют процессы митохондриального энергообеспечения за счет влияния на пути использования субстратов окисления (НАД- и ФАД-зависимых), изменений активности ферментов переаминирования и СДГ. Процессы ПОЛ у НР снижались под действием L-аргинина, у ВР – введением L-NNA. L-аргинин снижает активность СОД и КАТ и стимулирует активность глутатионового звена системы АОЗ. У НР животных L-аргинин вызывал увеличение кальциевой емкости МХ печени НР животных до уровня ВР, действие L-NNA сопровождалось уменьшением способности МХ ВР животных аккумулировать Ca^{2+} . Полученные результаты дают возможность корректировать митохондриальные процессы в организме животных с разной резистентностью через функциональные изменения NO-эргического звена регуляции.

ANNOTATION

Ikkert O.V. The influence of L-arginine and N^0 -nitro-L-arginine on mitochondrial energy support of rats with different resistance to hypoxia. – Manuscript.

The Doctoral Dissertation on biological science on speciality 03.00.13 – physiology of humans and animals. Ivan Franko Lviv National University, Lviv, 2003.

The dissertation is devoted to investigation of the influence of L-arginine (nitric oxide precursor) and NO-synthase blocator N^ω-nitro-L-arginine (L-NNA) on processes of ADP-stimulated respiration, lipid peroxidation and antioxidant system activities with different resistance to hypoxia.

Present study demonstrated that intraperitoneal injection of L-arginine (600 mg/kg) and L-NNA (35 mg/kg) can modulate mitochondrial energy support processes by changes of substrate oxidation ways, transaminases and succinatdehydrogenase (SDG) activity. Because L-arginine treated animals with high and low resistance to hypoxia were characterised decreasing of SDG activity and processes of oxidative phosphorylation under succinate acid oxidation. L-NNA levelled this effects. L-arginine injection caused increasing of aminotransferases activity in low resistance animals under glutamate and malate and glutamate and pyruvate oxidation. It was shown that L-arginine stimulated calcium capacity of low resistance animals under succinate, α -ketoglutarate, glutamate and pyruvate oxidation. On the contrary, decreasing of high resistance animals calcium capacity was conditioned by L-NNA under succinate, α -ketoglutarate, glutamate and pyruvate and glutamate and malate oxidation. We have investigated the influence of intraperitoneal injection of L-arginine and L-NNA on antioxidant systems (the activity of superoxididismutase (SOD), catalase (KAT), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GP) and ceruloplasmine) and processes of lipid peroxidation (the concentration of diens conjunctions and malonic dialdehyde) in rats with different resistance to hypoxia. Our results suggested that AOZ system activity depend on NO-ergic link of regulation: L-arginine caused decreasing of lipid peroxidation processes in low resistance animals, but in high resistance animals this effect was obtained by L-NNA treatment. Stimulation of NO-synthase activity made for SOD and KAT inhibition and activation of glutatione link of AOZ system in high resistance animals. Low resistance animals had glutatione link of AOZ system activation under L-NNA treatment.

A suggestion was made that mitochondrial processes in animals organisms with different resistance to hypoxia can be corrected by functional changes of NO-ergic link of regulation activity.