

УДК 615.272.6

Кравченко А. Б.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ ВИНОГРАДА НА СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ АДРЕНАЛИНА

Национальный фармацевтический университет, Харьков
E-mail: annabk@rambler.ru

Ключевые слова: белок, стресс, адреналин, полифенолы, виноград

Адаптация биологических систем к изменению условий внутренней или внешней среды всегда имеет в своей основе метаболическую адаптацию, то есть количественные изменения обменных процессов в клетке. Большое значение в этом имеет индукция биосинтеза белков, в том числе ферментов. При этом различают два типа адаптации обмена: срочную и хроническую [4, 6]. В первом случае активность фермента повышается без изменения общего числа его молекул (изменение рН, содержания коферментов и кофакторов, конкурентные отношения за субстрат, аллостерические эффекты). При хронической адаптации изменяется скорость синтеза ферментов, увеличивается общее количество активных единиц. К срочной реакции относится интенсификация синтеза РНК. Усиление синтеза ДНК — проявление долгосрочной адаптации.

Продолжительное или интенсивное влияние приводит к снижению общего уровня стресс-реакции на фоне гормонального дисбаланса: нарушения образования ряда гормонов, в т.ч. глюкагона, инсулина, тироксина, вазопрессина, катехоламинов и др [7, 8].

Возникающий, как следствие нарушения тканевого метаболизма, дефицит энергии, приводит к вторичным метаболическим сдвигам, в том числе, активизирует свободнорадикальное окисление в клетке. Это приводит к повреждению мембран и высвобождения клеточного содержимого.

Основными механизмами активации свободнорадикального окисления является большой выброс катехоламинов при стрессе и их автоокисление; опосредствованное цАМФ возрастание потребления кислорода, при котором разобщается окисление и фосфорилирование и происходит возрастание активности ПОЛ в митохондриях; цАМФ-зависимая активация фосфолипазы A_2 , которая приводит к нарушениям мембран и активации ПОЛ; усиление вхождения Ca^{2+} , который в физиологических концентрациях способен активировать

пероксидное окисление в мембранах митохондрий и микросом [2, 3, 11].

Адреналин, как и другие кальций-мобилизующие стрессорные гормоны, вызывает в клетке сдвиг равновесия в системе прооксиданты↔антиоксиданты, поскольку активирует митохондриальные процессы и стимулирует образование активных форм кислорода в митохондриях, что может приводить к развитию гиперметаболизма и использованию белковых резервов для удовлетворения энергетических потребностей клетки. Поэтому изменения содержания белка в тканях в условиях стресса могут служить показателем переключения метаболизма. Не менее важен и поиск путей коррекции этих изменений, в особенности с использованием соединений природного происхождения.

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования стало изучение содержания белка в тканях крыс, которым вводили адреналин, и определение влияния полифенолов винограда на этот показатель.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали беспородных крыс-самцов, массой 180-220 г, которые содержались в виварии Национального фармацевтического университета. Продолжительный стресс моделировали ежедневным подкожным введением адреналина в дозе 1 мг на 100 г массы тела [1], которое проводили в течение 3 недель. Начиная со 2 недели введения адреналина, животным на протяжении 15 пор каждый день перорально вводили полифенольный концентрат из семян винограда сорта “Каберне”, который содержит около 25 г полифенолов в литре и получен в Национальном институте винограда и вина “Магарач”, в заранее подобранной эффективной дозе (в перерасчете на полифенолы – 9 мг на 100 г массы тела). Контрольным животным вводили соответствующий объем физиологического раствора.

Все манипуляции с животными проводили под хлоралозоуретановым наркозом. Исследование проводилось соответственно национальных “Общих этических принципов экспериментов на животных” (Украина, 2001), которые согласовываются с положениями “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985).

Печень перфузировали холодным физиологическим раствором, почки отмывали на холоде. Кровь собирали для получения сыворотки.

Содержание белка определяли по методу Лоури в модификации Миллера [9].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что непродолжительное влияние адреналина может вызвать активацию синтеза белка, в то время как при длительном или чрезмерном влиянии этого гормона (а также кортикостероидов), наоборот, синтез белка угнетается и активируется протеолиз.

Поэтому снижение общего содержания белка в крови крыс, которые подвергались повторяемому введению высоких доз адреналина (рис. 1), очевидно, можно объяснить именно уменьшением интенсивности биосинтеза белка в печени, поскольку все белки крови имеют печеночное происхождение.

Снижение содержания белка в крови при введении адреналина может поясняться и протеинурией, которая иногда характерна для действия адреналина.

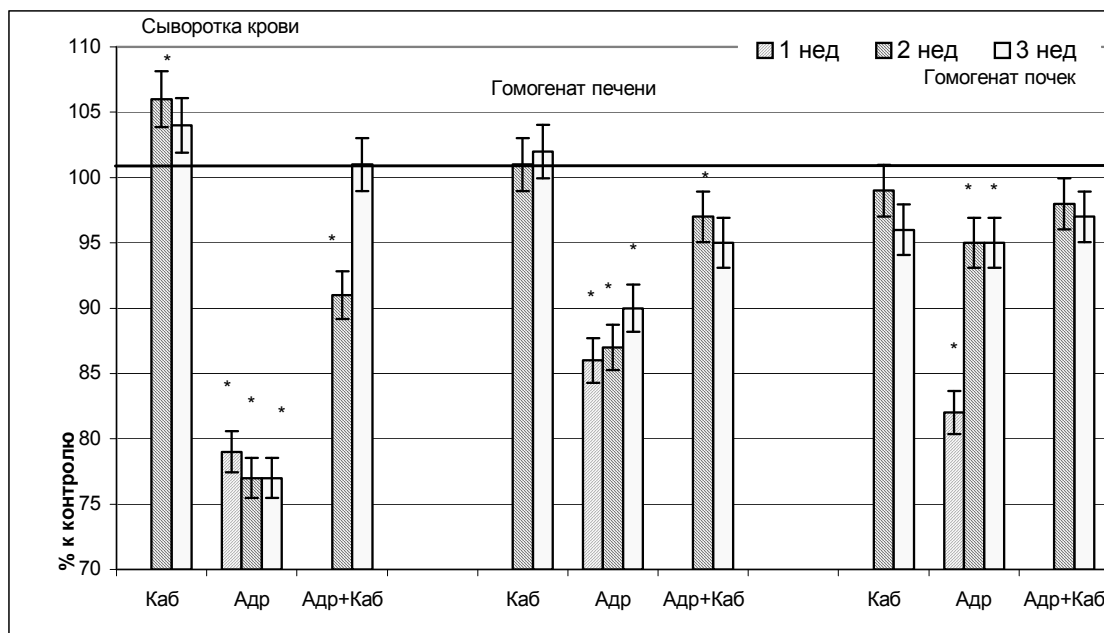


Рис. 1. Содержание общего белка в тканях крыс при продолжительном введении адреналина.

Примечание: * - изменения достоверны, $p \leq 0,05$ к контролю.

Вместе с тем, снижение содержания белка в печени можно объяснить и активацией утилизации белковых резервов, что вообще не очень характерно для этого органа. При истощении запасов углеводов и включении в метаболизм жиров меняется характер

белкового обмена, и расход белков начинает преобладать над их поступлением.

Тенденция к возрастанию содержания белка в печени с течением эксперимента может поясняться адаптационными попытками организма, в частности, синтезом острофазных белков, а отсутствие такой тенденции в крови – указывает на ведущую роль именно использования белков при действии адреналина сравнительно за уменьшением их биосинтеза.

В этих условиях использование полифенольных комплексов винограда существенным образом сглаживало проявления влияния адреналина: гипопроотеинемия была менее выраженной, а введение лишь полифенольного концентрата показывало даже противоположный эффект сравнительно со стрессом – содержание белка в крови превышало контрольные показатели.

Одним из важнейших направлений угнетающего действия флавоноидов на инициативные этапы свободнорадикального окисления и стадию разветвления цепей при ПОЛ считается образование неактивных комплексов с ионами переменной валентности – высокоактивными катализаторами упомянутых процессов. Несомненно доказанной есть железо-хелатирующая способность флавоноидов [10, 13]. В то же время, при действии адреналина может активироваться гемолиз и возрастет уровень гема или железа в крови, что, в свою очередь, существенно для развития оксидативного стресса и повреждения мембран.

Не менее важным в механизме антиоксидантного действия растительных полифенолов является синергизм с другими компонентами ферментного звена антиоксидантной системы.

Легко окисляясь, благодаря соединению окислительно-восстановительных реакций, полифенолы оказывают содействие восстановлению разных субстратов – тиоловых групп белков, ферментов, низкомолекулярных веществ, витаминов А, Е, С, усиливая их антиоксидантный потенциал. Как следствие имеет место повышения суммарного уровня антиоксидантной защиты от оксидативного стресса [5, 12, 14].

Вмешательство флавоноидов в механизмы перекисления имеет место практически на всех этапах формирования окислительного стресса. Они принимают участие в регуляции обмена ионов Ca^{2+} , которым принадлежит роль медиатора повреждения клетки, особенно, при действии адреналина. Доказано, что флавоноиды проявляют способность к блокаде кальциевого тока через трансмембранные кальциевые каналы вследствие ингибирования протеинкиназ.

Все эти эффекты приводят к стабилизации биологических мембран при действии полифенолов, уменьшению проявлений цитолиза и сохранению энергетического потенциала клеток.

Кроме того, полифенолы, очевидно, способны уменьшать потребности в катаболическом использовании аминокислот, о чем свидетельствует торможение под влиянием концентрата “Каберне” потерь белка тканями.

Эти результаты указывают на в целом стресс-протекторное действие полифенольного концентрата, что может реализоваться как за счет сохранения источников энергии, так и через регуляцию сосудистого тонуса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Соболев В.И. Влияние многократных инъекций адреналина на энергетику мышечного сокращения / В.И. Соболев, Т.П. Короткова // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2001. – Т. 10, № 2. – С. 216-217.
2. Dean P. J. Radical-free biology of oxidative stress / P. J. Dean // American Journal Physiology - Cell Physiology. – 2008. – V. 295. – P. C849–C868.
3. Droge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function / W. Droge // Physiological Reviews. – 2002. – V. 82. – P. 47–95.
4. Encyclopedia of Stress / [Editor George Fink]. – NY: Academic Press, 2000. – 755 p.
5. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications / R. J Nijveldt, E. van Nood, D. E.C. van Hoorn // American Journal of Clinical Nutrition. – 2001. – V. 74. – P. 418–425.
6. Gavrilovi L. Sympatho-adrenomedullary system responses to various chronic stress situations / L. Gavrilovi, S. D. Jugoslov // Medical Biochemistry. – 2006. – V. 24. – P. 11–15.
7. Goldshtein D. S. Catecholamines and stress / Goldshtein D. S. // Endocrine Regulations. – 2003. –V. 37. – P. 69–80.
8. Kvetnansky R. Catecholaminergic Systems in Stress: Structural and Molecular Genetic Approaches / R. Kvetnansky, E. L. Sabban, M. Palkovits // Physiological Reviews. – 2009. – V. 89. – P. 535-606.
9. Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples / G.L.Miller // Analytical Chemistry. – 1959. – V. 31, N 5. – P. 964-966.
10. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants / N. Salah, N.J. Miller, G. Paganga [et al.] // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 1995. – V. 322. – P. 339-346.
11. Role of Oxidative Stress in Catecholamine-Induced Changes in Cardiac Sarcolemmal Ca²⁺ Transport / P. S. Tappia, T. Hata, L. Hozaima // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 2001. – V. 387, N 1. – P. 85-92.
12. Szmítko P. E. Antiatherogenic potential of red wine: clinician update / P. E. Szmítko, S. Verma // AJP - Heart and Circulatory Physiology. – 2005. – V. 288. – P. 2023-2030.
13. Williams R. J. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? / R. J. Williams, J.P. Spencer, C. Rice-Evans // Free Radical Biology and Medicine. – 2004. – V. 36. – P. 838–849.

14. Ylmaz Y. Major flavonoids in grape seeds and skins. – P. antioxidant capacity of catechin, epicatehin, and garlic acid / Y.Ylmaz, R.T. Toledo // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2004. – V. 52. – P. 255-260.

Г. Б. Кравченко

**ВПЛИВ ПОЛІФЕНОЛІВ ВИНОГРАДУ НА ВМІСТ БІЛКА В
ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ АДРЕНАЛІНУ**

Ключові слова: білок, стрес, адреналін, поліфеноли, виноград

Використання поліфенольних комплексів винограду за умов повторюваного введення адреналіну істотно згладжувало прояви гіперметаболізму: гіпопротеїнемія та втрати білка органами були менш вираженими, а введення лише поліфенольного концентрату показувало навіть протилежний ефект порівняно з стресом – вміст білка в крові перевищував контрольні показники. Ці результати вказують на загалом стрес-протекторну дію поліфенольного концентрата, що може реалізуватися як за рахунок збереження джерел енергії, так і через регуляцію судинного тонууса.

G. B. Kravchenko

**INFLUENCE OF GRAPE POLYPHENOLS ON THE PROTEIN
CONTENTS IN THE RAT TISSUES UNDER THE EPINEPHRINE
INTRODUCTION**

Key words: protein, stress, epinephrine, polyphenols, grapes

The usage of grape polyphenol complexes considerably alleviate hypermetabolism development under the repeated introduction of the epinephrine: hyperproteinemia and the protein loss of the organs were less expressed, and the introduction only of the polyphenol concentrate showed even opposite effect compared with stress – protein contents in blood increased in comparison with control parameters. These results indicate general stress - protective action of polyphenol concentrate that can be implemented both due to energy sources preservation, and through vascular tone regulation.