

Таким образом, с одной стороны, ВПОУ и ОСО адекватно реагируют на внешние гравитационные воздействия, с другой, динамика их корреляционных связей, регистрируемых ежемесячно, отражает, кроме того, и специфику метеорологических условий Антарктиды.

Наблюдаемые случаи совпадения максимумов ВПОУ и ОСО и изменения связи между ними, вызванные действием космофизических факторов, позволяют думать о том, что эта связь объективна и определяется двумя механизмами, один из которых способствует развитию или торможению окислительной реакции в приземном слое атмосферы, другой – повышению или снижению интенсивности разрушения озона.

Литература

1. Слесарев В.И. Химия. Основы химии живого. СПб.:Химиздат. 2001. 784 с.
2. Александров Э.Л., Израэль Ю.А., Кароль И.Л., Хргиан А.Х. Озонный щит Земли и его изменения. СПб.: Гидрометеоздат. 1992. 288 с.
3. Соколовский В.В. Ускорение окисления тиоловых соединений при возрастании солнечной активности /Проблемы космической биологии: Т. 43 “Влияние солнечной активности на биосферу”. М.: Наука. 1982. С. 194-197.
4. Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды. СПб.: Наука. 2008. 112 с.
5. Горшков Э.С., Шаповалов С.Н., Соколовский В.В., Трошичев О.А. О гравитационной обусловленности флуктуаций скорости реакции окисления унитиола нитритным ионом /Биофизика. 2000. Т. 45, вып. 4. С 631-635.
6. Иванов В.В., Соколовский В.В., Горшков Э.С., Соколовская Т.М., Трошичев О.А. О связи тиолового статуса организма человека с космогеофизическими факторами. III Международный Конгресс “Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине”. СПб, 1-4 июля 2003 г., с. 90.
7. Иванов В.В., Соколовский В.В., Горшков Э.С., Трошичев О.А. Суточные ритмы экскреции тиолов в условиях Антарктиды. Материалы Международной конференции “Погода и биосистемы”. СПб, 11-14 окт. 2006 г., с. 33.
8. Авдюшин С.И., Данилов А.Д. Рассказ о космической погоде. СПб.: Гидрометеоздат. 1993. 160 с.

Адрес этой статьи в интернете: www.biophys.ru/archive/congress2009/pro-p111.pdf

О СВЯЗИ КОЛЕБАНИЙ ИНТЕНСИВНОСТИ ЭКСКРЕЦИИ ТИОЛОВ И УРОХРОМА МОЧИ С ВАРИАЦИЯМИ КОСМОФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Иванов В.В., Горшков Э.С., Соколовский В.В.¹, Соколовская Т.М.¹

Санкт-Петербургский Филиал Института земного магнетизма, ионосферы и распространения радиоволн РАН, Санкт-Петербург, Россия

¹Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Россия

Проведен ежедневный мониторинг динамики выведения с мочой тиоловых соединений и урохрома (у одного испытуемого в экстремальных условиях Антарктики за период февраль 2001 г. – январь 2002 г.). Установлены общность и различия ритмов флуктуаций интенсивности экскреции тиолов и урохрома с периодами вариаций целого ряда космофизических факторов. Показано, что урохром, в силу наличия, в ряде случаев, общих функциональных связей с тиолами мочи и сходного влияния космофизических факторов, также принимает участие в регуляции антиоксидантного статуса организма. Получены новые свидетельства влияния факторов космофизической природы на скорость окисления эндогенных тиолов.

ВВЕДЕНИЕ

Степень выносливости организма человека, его способность адаптироваться к воздействию физических нагрузок или разнообразных экстремальных факторов окружающей среды во многом определяются мощностью адаптационной системы. Согласно современным представлениям увеличение интенсивности функционирования физиологических систем, вызванное этими факторами, сопровождается активацией процессов свободнорадикального окисления, возрастанием риска развития окислительного стресса и связанной с ним патологии [1-4].

Неспецифическим ответом на эти события является активация механизма антиоксидантной защиты (АОЗ), ключевую роль в котором играет тиолдисульфидная система (ТДС) [4-8]. Поэтому определение концентрации тиолов, дисульфидов и их соотношения в тканях организма может служить источником ценной количественной информации о функциональном состоянии АОЗ и, в этой связи, о состоянии неспецифической резистентности и адаптации организма к патогенному воздействию.

Заметим кстати, что в последние десять лет неуклонно растет число публикаций о значении окислительно-восстановительных систем в молекулярных механизмах регуляции биологических процессов. Причем и в этой литературе особое внимание уделяется уникальным свойствам и функциям тиолдисульфидной системы [9-15].

В свете подобных фактов поиски доступных в повседневной практике методических подходов к получению оперативной и объективной информации о функциональной активности ТДС в рутинных медикобиологических и экологических исследованиях представляются перспективными в методическом и практическом плане.

Поскольку необходимый для получения такой информации многократный ежедневный отбор крови практически нереален, единственный выход из положения мы усмотрели в использовании для этой цели мочи.

Таким образом, цель работы состояла в получении информации о функциональном состоянии ТДС человека, находящегося в условиях продолжительного стресса, и в анализе возможностей ее использования для оценки антиоксидантного статуса организма.

Программой биохимических исследований, выполненных в Антарктике (полярная станция Восток) в период февраль 2001 - январь 2002 гг., предусматривалось решение следующих задач.

1. Разработка методики определения концентрации тиолов и урохрома в моче и интенсивности их выведения из организма.
2. Определение концентрации и общего содержания тиолов и урохрома в разовых порциях мочи в течение суток (в среднем 7-8 раз). Определение на этой основе общего количества тиолов и урохрома, выводимых с мочой в течение каждых суток, недели, месяца, с последующей характеристикой годовой динамики показателей.

Использованные нами методические подходы при изучении биохимического и биоритмологического механизмов адаптации человека к экстремальным условиям Антарктики имели две особенности. Первая из них связана с упоминавшимся в обзоре литературы значением АОС в биохимическом механизме адаптации и неспецифической резистентности к экстремальным факторам окружающей среды и с универсальной ролью тиоловых соединений в функционировании этой системы. Вторая особенность обусловлена следующими соображениями. Считается, что нормальная окраска мочи на 95% зависит от присутствия урохрома. Химическое строение (или состав) урохрома недостаточно ясен. Полагают, что этот пигмент образуется в организме при распаде аминокислоты триптофана. Присутствие индольной структуры в составе молекул основных метаболитов триптофана (индолуксусная кислота и др.) и его производных, например, мелатонина, наделяет эти вещества двумя общими свойствами: желтой окраской и способностью к легкому окислению.

Это последнее обстоятельство создало реальную возможность определения тесной функциональной химической связи пигментов мочи с присутствующими в ней тиолами, обусловленной их антиоксидантной активностью.

МЕТОДИКА

Концентрация тиолов в моче определялась фотометрическим методом с использованием дитионитробензойной кислоты (ДТНБ или реактив Эллмана) [16].

Поскольку оказалось, что пигменты мочи и водный раствор нитротиобензойной кислоты с максимальной интенсивностью в одной и той же области поглощают свет с длиной волны 410-420 нм, измерение оптической плотности мочи на фотоэлектрическом микрофотокolorиметре МКМФ-1 с фиолетовым светофильтром проводилось до и после внесения в нее реактива Эллмана. Полученные данные использовали для оценки концентрации в моче тиолов и урохрома. Концентрацию последнего выражали в условных единицах, эквивалентных количеству SH-глутатиона в мкМ, определяемому по калибровочной кривой.

При разработке метода определения концентрации тиолов в моче было обращено внимание на вариабельность концентрации реакционноспособных SH-групп в свежеполученных фильтрах мочи: в одних случаях величины концентрации до и после фильтрования практически не отличались одна

от другой, тогда как в иные дни после фильтрации она оказывалась значительно более низкой в сравнении с исходной.

Это обстоятельство сделало необходимым внесение в свежеприготовленный раствор мочи реактива Элмана до начала фильтрации.

Между тем обнаруженный феномен нуждался в более детальном изучении, непременным условием которого являлось накопление массива данных о значениях концентраций SH-групп в моче до и после ее фильтрования.

При этом в качестве количественной меры интенсивности окисления тиолов служило соотношение концентраций SH-групп до и после фильтрования (индекс спонтанной окисляемости тиолов: $I_{ok} \geq 1$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты заставляют обратить внимание на следующие факты. Прежде всего, необходимо отметить колебательный характер изменений регистрируемых показателей, особенно заметный в еженедельной динамике. Конфигурация кривых свидетельствует о существовании определенных ритмов флуктуаций, периоды которых были выявлены с помощью спектрального Фурье-анализа. Эти периоды для концентрации в моче и количества выводимых из организма тиолов (C_{sh} и Σ_{sh}) и урохрома (C_{ur} и Σ_{ur}), а также индекса окисляемости (I_{ok}) составляют ряды последовательных значений периодов - 5.12, 7.53, 10.24, 14.22, 15.06, 23.27, 25.6, 28.44, 32, 36.57, 42.67, 51,2 и 64 суток, близких к периодам для показателей состояния солнечной и геомагнитной активности, солнечно-лунных возмущений гравитационного поля, а также скорости реакции окисления унитиола нитритом *in vitro*. Наиболее представительными по мощности являются периоды из спектра солнечной активности (СА): 36.57, 28.44 и 42.67 сут, что определяется временем проведения исследований – в год максимума СА.

Рассмотрение динамики среднемесячных данных, касающихся тиолов (рис. 1-а), выявило тенденцию к постепенному увеличению концентрации - C_{sh} (кривая 2) и общего количества выводимых с мочой тиоловых соединений – Σ_{sh} (кривая 1), проявившуюся в течение года. Этот факт может рассматриваться как признак устойчивого повышения неспецифической резистентности организма в процессе адаптации, о чем позволяет говорить и четкий, близкий к шестидесятисуточному, ритм флуктуаций среднемесячных величин, установившийся с мая - 4-го месяца пребывания зимовщика на станции Восток. Отсутствие таких ритмов в начальный период зимовки, по всей видимости, может быть связано с дезадаптацией организма и являться признаком десинхроноза. Заметим далее, что в течение апреля, при наступлении полярной ночи, концентрация тиолов в моче, судя по среднемесячной кривой, возрастала, тогда как количество удаляемых из организма тиолов убывало. В период завершения полярной ночи, оба показателя снижались, а с наступлением сентября (начало полярного дня) повышались.

Влияние фотопериодичности более эффективно проявилось в динамике среднемесячных величин, характеризующих концентрацию – C_{ur} (рис. 1-б, кривая 2), общее количество выводимого из организма урохрома – Σ_{ur} (кривая 1) и индекс окисляемости - I_{ok} (рис. 1-в). Так, с наступлением полярной ночи уровни C_{ur} и Σ_{ur} заметно возросли (C_{ur} в 1.5 раза превысил исходное значение), тогда как с “первым” появлением диска Солнца над горизонтом (в начале сентября) снизились до минимума. В динамике же I_{ok} наблюдается выраженный провал уровня на интервале полярной ночи.

При рассмотрении средних за неделю флуктуаций концентрации и содержания тиолов и урохрома в моче в течение года (рис. 2) выявлена заметная корреляционная связь между C_{sh} и C_{ur} ($r = 0.67$), которая при анализе среднесуточных данных существенно повышается: $r = 0.81$. При этом уровень корреляции между Σ_{sh} и Σ_{ur} составил 0.41.

Исследована внутрисуточная динамика среднечасовых показателей (рис. 3). Установлено, что средние уровни Σ_{sh} (кривая 1-а) и Σ_{ur} (кривая 1-б) на ночном интервале с 21.00 до 9.00 час достоверно выше, чем на дневном - с 9.00 до 21.00 час. В динамике I_{ok} (рис. 3-в) присутствуют два интервала с превышением среднего уровня показателя: первый от 3-х до 7-ми час местного времени с выраженным максимумом в диапазоне 3-4 час, второй от 16 до 22 час. Данным интервалам четко соответствуют участки кривой 2-а, включающие минимумы C_{sh} .

Важным итогом исследований является установление общности и индивидуальных различий периодов ритмов флуктуаций интенсивности экскреции тиолов и урохрома с периодами вариаций целого ряда космофизических факторов: солнечная активность, уравнение времени (УВ), уравнение равноденствий (УР), фазы Луны.

При этом наиболее эффективно эти связи проявились между их полиномиальными трендами. Так изменения полиномиальных трендов СА и тиоловых показателей – Σ_{sh} , C_{sh} носят прямой

характер ($r = 0.94$, $r = 0.53$, соответственно), а для СА и урохрома – Σur , Cur – обратный ($r = -0.29$, $r = -0.27$). Уровни корреляции полиномиальных трендов тиолов, урохрома и I_{ok} с УР низкие (от -0.2 до -0.28), однако, при сопоставлении со скоростью изменения УР (линейные тренды исключены), обратные связи между ними становятся более выраженными. Если между полиномиальными трендами Σsh , Csh и УВ корреляционная связь имеет место ($r = 0.57$, $r = 0.57$), то между аналогичными кривыми Σur , Cur и УВ она не выявлена.

Распределения среднесуточных показателей тиолов – Σsh и урохрома - Σur (рис. 4-а) после приведения к единому лунному месяцу обнаруживают явную связь их уровней с фазами Луны: высокие уровни наблюдаются при новолунии, низкие – при полнолунии. Выявлен (рис. 4-б) общий характер распределений среднесуточных показателей I_{ok} и количества проб мочи (n) для дней с $n \leq 6$ [17] в пределах лунного месяца, за исключением участка: новолуние-1/4 Луны. Данному интервалу соответствуют в аналогичных распределениях (кривые 1-а, 2-а) максимальные уровни тиолов и урохрома, что и обеспечивает эффект снижения I_{ok} , не наблюдаемый в распределении n для $n \leq 6$.

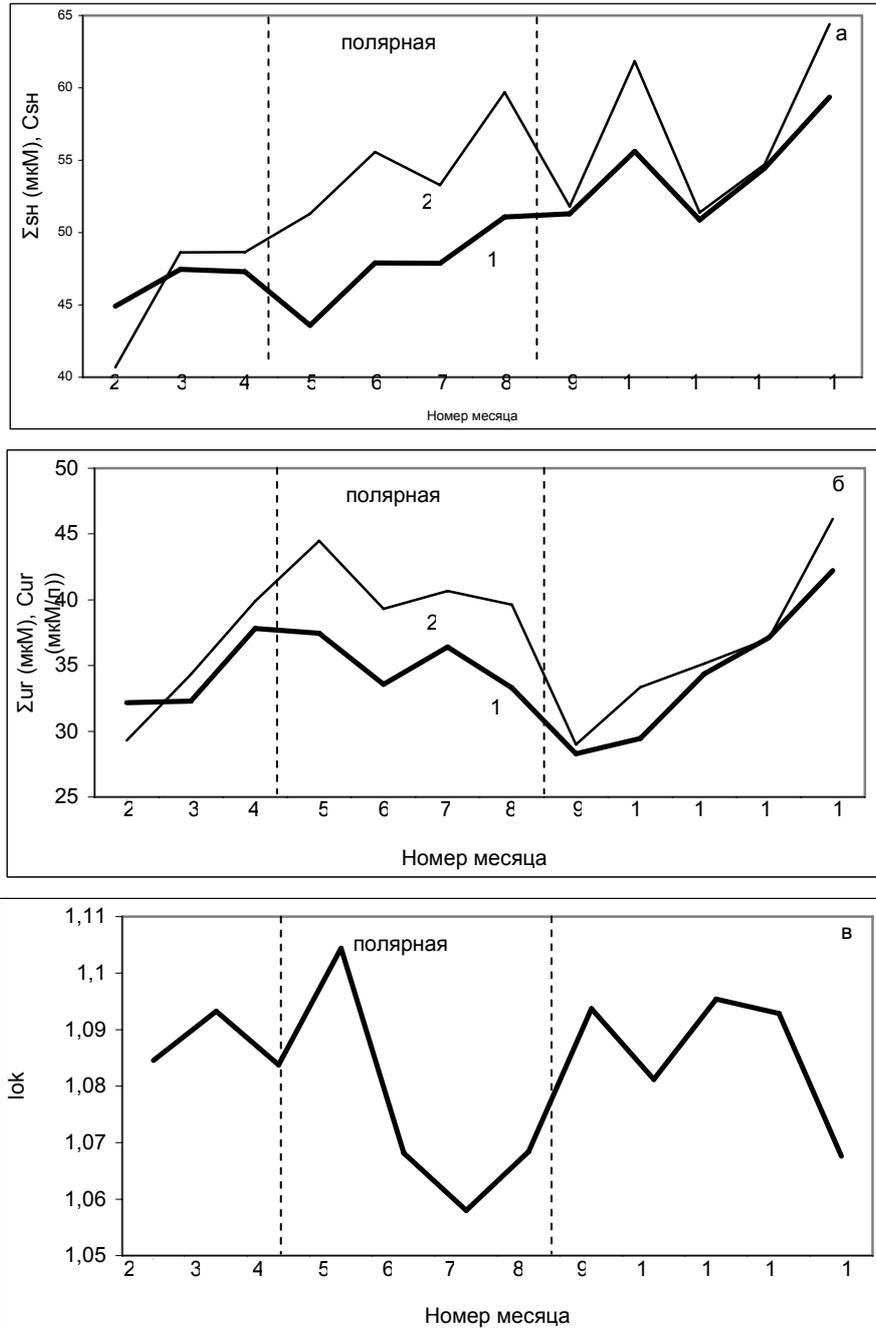


Рис.1. Среднемесячная динамика суммарного количества выведенных с мочой за сутки тиолов (1-а), урохрома (1-б) и их концентрации (2-а и 2-б, соответственно), а также индекса окисляемости тиолов (в).

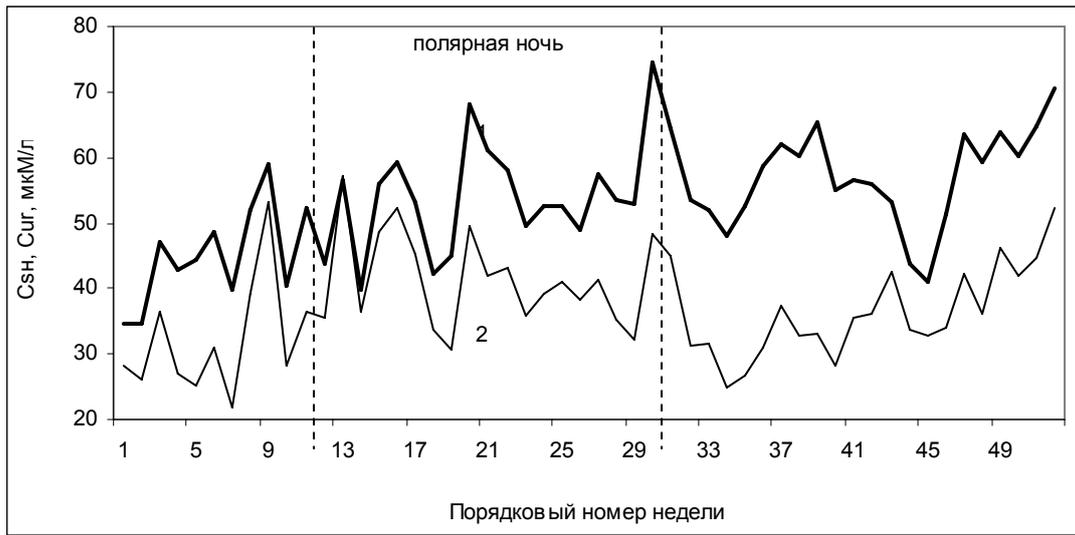


Рис.2. Средняя за неделю динамика концентрации тиолов (1) и урохрома (2) в суточной моче.

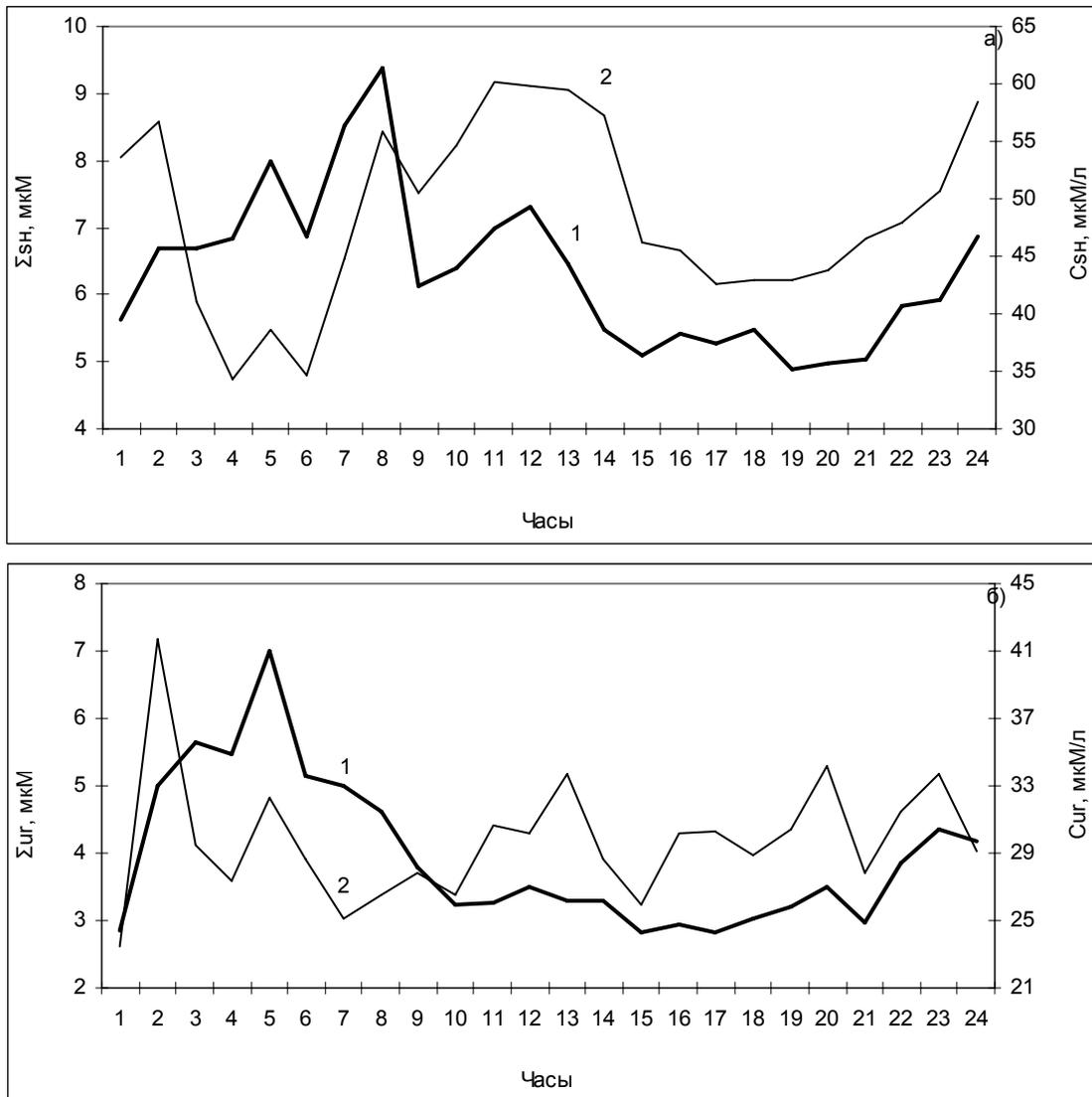


Рис.3-а, б. Суточная динамика среднечасовых показателей суммарного количества выведенных с мочой тиолов (1-а), урохрома (1-б) и их концентрации (2-а и 2-б, соответственно).

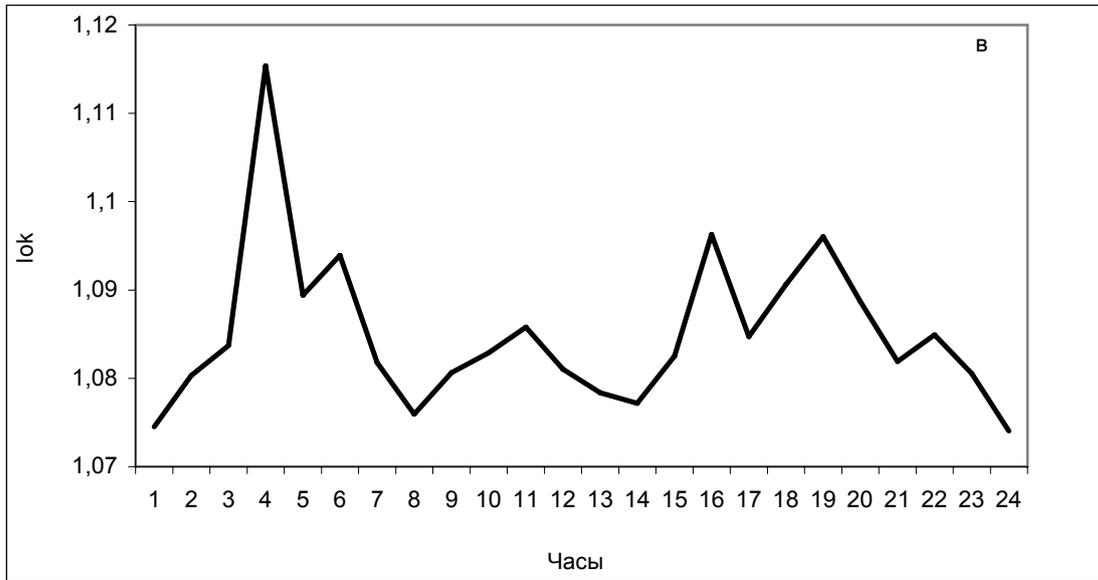


Рис.3-в. Суточная динамика среднечасовых показателей индекса спонтанной окисляемости тиолов.

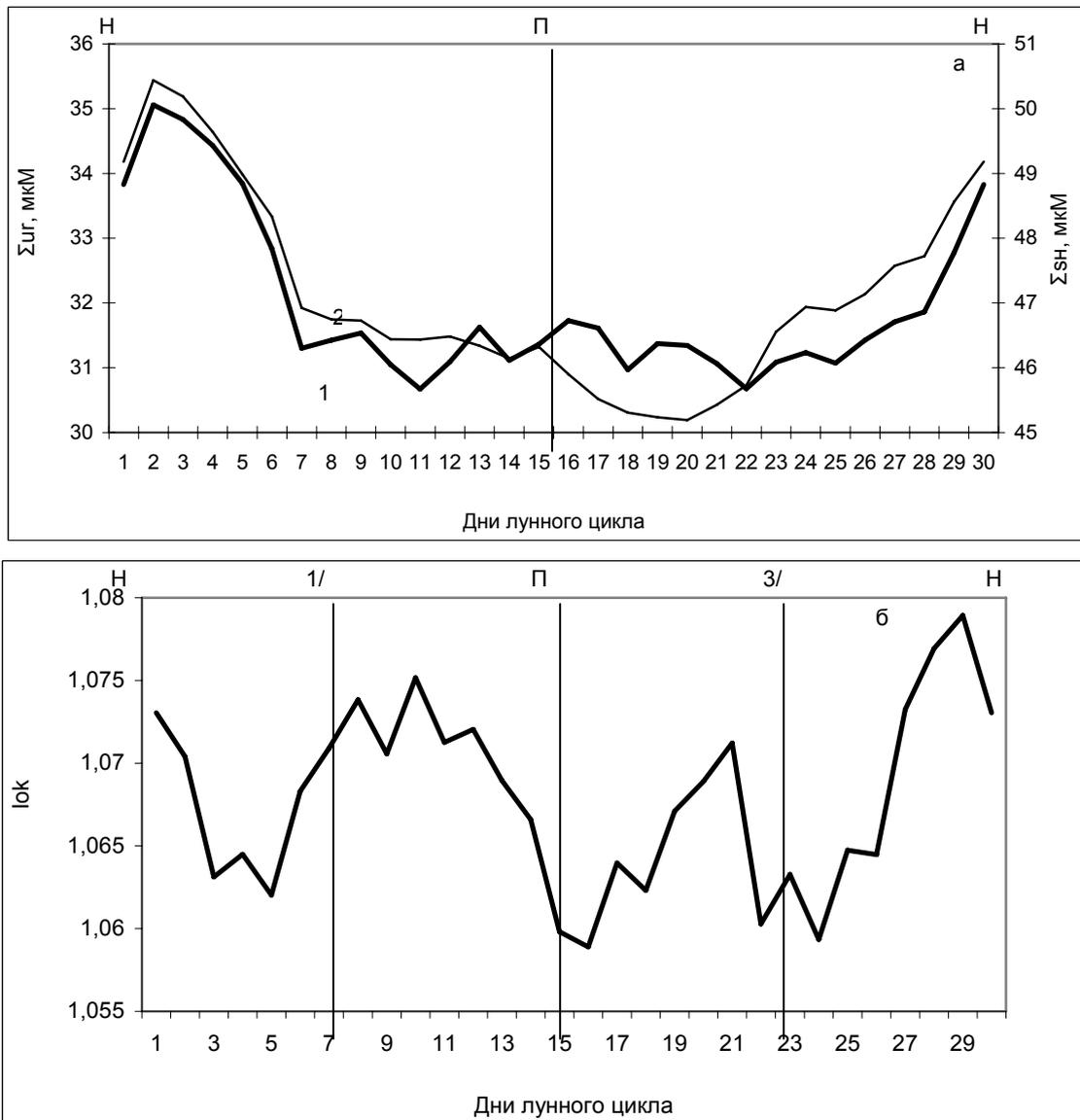


Рис.4. Распределение суммарного количества выведенных с мочой за сутки тиолов (1-а) и урохрома (2-а), а также индекса окисляемости тиолов (б) после приведения к единому лунному месяцу (НЛ – новолуние, ПЛ – полнолуние).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые (судя по известной нам литературе) проведен мониторинговый анализ содержания тиоловых соединений в моче человека, причем в период его длительного пребывания и работы в экстремальных условиях Антарктики. Эти исследования позволили обнаружить ритмический характер экскреции тиолов из организма и связь этой ритмики с воздействием ряда космофизических факторов, оказывающих влияние на процессы адаптации.

Данный феномен, будучи рассмотрен в свете представлений о роли тиоловых соединений в биохимическом механизме антиоксидантной защиты, позволяет прийти к заключению о существовании периодических вариаций уровня неспецифической резистентности и адаптивных возможностей организма, вызванных внешними факторами.

Одним из существенных результатов настоящей работы явилось обнаружение функциональной связи между тиолами и урохромом мочи, позволяющей рассматривать урохром как химический компонент мочи, отражающий в определенной степени антиоксидантный статус организма.

Получены новые свидетельства влияния факторов космофизической природы на скорость окисления эндогенных тиолов.

Литература

1. Прайор У. Роль свободнорадикальных реакций в биологических системах /Свободные радикалы в биологии. М.: “Мир”. 1979, т. 1, с. 13-67.
2. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И., Козлов А.В., Осипов А.А., Рошупкин Д.И. Свободные радикалы в живых системах /Итоги науки и техники. Сер. “Биофизика”. М.: 1991, т. 29, 250 с.
3. Петров Ю.А., Гончарова Л.Л., Ковшик А.О. и др. Влияние физических нагрузок на состояние некоторых звеньев антиоксидантной системы крови у спортсменов /Теория и практика физической культуры. 1991. № 8, с. 38-40.
4. Packer L. (ed). Biothiols. Part. A.: Monothiols and dithiols, proteinthiols and thiyl radicals /Methods in enzymol. San Diego. Acad. Press. 1995. V. 251. 382 p.
5. Соколовский В.В. (ред). Антиоксиданты и адаптация. Л.: ЛСГМИ. 1984. 63 с.
6. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальные воздействия (обзор) /Вопросы медиц. химии. 1988, т. 34, вып. 6, с. 2-11.
7. Соколовский В.В. Тиолдисульфидное соотношение крови как показатель состояний неспецифической резистентности организма. СПб. МАПО. 1996. 30 с.
8. Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система в биохимическом механизме реакции организма на экстремальные воздействия /Вестник СПб гос. медиц. академии им. И.И.Мечникова. 2004. № 4, с. 97-100.
9. Sen C. Redox signaling and the emerging therapeutic potential of thiol antioxidants /Biochem. Pharmacol. 1998. V. 55. № 11, p. 1747-1758.
10. Moran L., Gutteridge J., Quinlan G. Thiol in cellular redox signaling and control /Curr. Med. Chem. 2001. № 8, p. 763-772.
11. Das D. Thioredoxin regulation of ischemic preconditioning /Antioxid. and redox signal. 2004. V. 6. № 2, p. 405-412.
12. Fernandes A., Holmgren A. Glutaredoxins: glutathione – dependent redox enzymes with functions far beyond a simple thioredoxin backup system /Antioxid. And redox signal. 2004. V. 6. № 1, p. 63-74.
13. Nakamura H. Thioredoxin as a key molecule in redox signaling /Antioxid. And redox signal. 2004. V. 6. № 1, p. 15-17.
14. Ghezzi P., Bonetto V., Fratelli M. Thiol – disulfide balance: from the concept of oxidative stress to that of redox regulation /Antioxid. and redox signal. 2005. V. 7. № 7-8, p. 964-972.
15. Leichert L., Jacob U. Global methods to monitor the thiol – disulfide stutp of proteins in vivo /Antioxid. and redox signal. 2006. V. 8. № 5-6, p. 763-772.
16. Ellman G. Tissue sulfhydryl groups //Archives of biochemistry and biophysics. - 1959. - V. 82. - P. 70-77.
17. Иванов В.В., Горшков Э.С., Соколовский В.В., Соколовская Т.М. О связи ритмов экскреции тиолов из организма человека с вариациями гравитационного поля. IV Международный Конгресс “Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине”. СПб.: 2007, с. 385-400.