

УДК 577.12:612.22

ВПЛИВ ГІПОКСІЇ ТА АДАПТАЦІЇ ДО НЕЇ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ МЕТАБОЛІЗМУ ГЛУТАТІОНУ У ЩУРІВ

О. Абрамова

*Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова
вул. Дворянська, 2, м. Одеса 65026, Україна
e-mail: abbie@inbox.ru*

Досліджено вміст відновленого глутатіону та активність ферментів метаболізму глутатіону в органах щурів за умов гіпоксії та переривчастої адаптації до неї. За гіпоксії зростає глутатіонпероксидазна та зменшується глутатіонредуктазна активність, концентрація глутатіону знижується. За тривалої інтервальної адаптації до гіпоксії відбувається послаблення активності більшості ферментів метаболізму глутатіону на фоні зростання вмісту відновленого глутатіону. Зміни активності g-глутамілтрансферази зумовлені змінами концентрації глутатіону.

Ключові слова: гіпоксія, адаптація, глутатіон, ферменти метаболізму глутатіону.

Гіпоксія супроводжує більшість патологічних станів організму та спричинює активізацію процесів вільнорадикального та перекисного окиснення, що призводить до розвитку оксидативного стресу [6]. Найпомітнішу роль у системі антиоксидантного захисту біологічних молекул у водній фазі відіграє глутатіон, який завдяки структурі нейтралізує вільні радикали та запобігає їхньому утворенню [8]. Глутатіонпероксидаза (ГПО) каталізує реакцію окиснення глутатіону, в процесі якого відбувається знешкодження вільних радикалів [14]. Високу концентрацію відновленого глутатіону в крові підтримує глутатіонредуктаза (ГР), яка, отже, є важливим регулятором антиоксидантного потенціалу організму [12]. Головним ферментом катаболізму глутатіону є g-глутамілтрансфераза (ГГТ) [15].

У літературі чимало праць присвячено адаптації до періодичної гіпоксії за різних патологічних станів організму [4–5, 7, 12]. Дослідженнями Ф. З. Меєрсона доведено, що в основі адаптації організму до гіпоксії є адаптивне збільшення потужності центральних та периферійних стрес-лімітувальних систем [9]. Активність системи антиоксидантного захисту може значно лімітувати адаптаційну здатність організму [11]. Тому ми мали на меті дослідити вміст глутатіону та активність ключових ферментів його метаболізму в органах щурів за умов гіпоксії та переривчастої адаптації до неї.

Досліди проводили на щурах лінії Вістар, яких утримували в стандартних умовах віварію. Тварин було розділено на три групи. Для створення гіпобаричної гіпоксії щурів першої групи поміщали в камеру, звідки викачали повітря до рівня парціального тиску кисню 148 мм рт. ст, що відповідає підйманню на висоту 12 000 м над рівнем моря. Декапітацію щурів проводили в агональній стадії гіпоксії, час настання якої визначали візуально (від 30 до 45 хв). Тварин другої групи переривчасто “піднімали” у барокамері на висоту 5–6 км над рівнем моря для адаптації до гіпобаричної гіпоксії впродовж 2 год п’ять разів у тиждень протягом шести тижнів. Контрольну групу становили десять інтактних тварин.

Після декапітації тварин усі наступні операції виконували на холоді. З тканин серця, печінки, головного мозку та нирок готували 10% гомогенати у буфері виділення (0,25 М сахароза, 0,01 М трис, 1 мМ ЕДТА; рН 7,4). Гомогенізацію проводили протягом

3 хв при 1200 г. Фракцію надосадової рідини отримували центрифугуванням при 14 000 г протягом 30 хв. У надосадовій рідині визначали вміст відновленого глутатіону за реакцією з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою [3], активність ГПО – за кількістю НАДФН, що утворюється під час окиснення глутатіону [13], активність ГР – за світлопоглинанням при 340 нм [10], активність ГТП – за методом, запропонованим у праці [15]. Результати опрацьовували статистично з використанням критерію Стьюдента [1].

Короткочасна дво- та чотирихвилинна гіпобарична гіпоксія не впливала на активність ГПО, ГР і ГТТ в серці, печінці, головному мозку та нирках щурів.

Дослідженнями виявлено, що у щурів першої групи вміст відновленого глутатіону достовірно зменшується в головному мозку (на 37,2%), виявляє тенденцію до зменшення в печінці (на 23,3%) та майже не змінюється в серці та нирках (див. таблицю). Активність ГПО збільшується в печінці (на 39%) та майже не змінюється в інших органах. Активність ГР знижується в печінці (на 60,5%) та головному мозку (на 54,4%) і виявляє тенденцію до зниження в серці та нирках (на 11,8 та 15,6%, відповідно). Активність ГТТ достовірно зменшується в серці (на 40,4%), печінці (на 27,6%) та головному мозку (на 38,7%) і виявляє тенденцію до зниження в нирках (на 17%). Отже, за умов гострої гіпобаричної гіпоксії спостерігається простежується глутатіонпероксидазної та зменшення глутатіонредуктазної активності, що пояснює зниження рівня відновленого глутатіону в досліджуваних органах. Наведені дані свідчать про те, що гіпоксія найбільше впливає на тканини головного мозку та печінки.

Після тривалої адаптації до гіпобаричної гіпоксії концентрація відновленого глутатіону достовірно збільшується в серці (на 30,3%), виявляє тенденцію до збільшення в нирках (на 21%) та головному мозку (на 19,8%), але не змінюється в печінці (див. таблицю). Активність ГПО з високим ступенем вірогідності знижується в усіх досліджуваних органах: у серці – на 37,2%, у печінці – на 69,8, у головному мозку – на 52,2, у нирках – на 56,7%. Активність ГР також знижується в усіх органах – у серці (на 23,6%), печінці (на 33%), головному мозку (на 28%) та нирках (на 36,4%). Активність ГТТ підвищується в серці (на 44,6%) та нирках (на 38,3%), виявляє тенденцію до збільшення в печінці (на 20%), але в головному мозку, навпаки, простежується тенденція до зниження її активності (на 17,4%).

Зниження активності ГТТ в умовах гіпоксії може сприяти збереженню глутатіону, у тому числі для реакцій зв'язування вільних радикалів, що у великій кількості утворюються за гіпоксії. Взагалі концентрація глутатіону за гострої гіпобаричної гіпоксії виявляє більшу тенденцію до стабільності, ніж активність ферментів його метаболізму. Це може бути пов'язано як із протилежними змінами активності різних ферментів метаболізму глутатіону, так і з компенсаторними зрушеннями біосинтезу глутатіону. Збільшення ГТТ за адаптації до гіпоксії, очевидно, є відповіддю на збільшення концентрації глутатіону і засобом активізації його катаболізму.

Змін активності ферментів метаболізму глутатіону, що притаманні більшості стресових реакцій, окрім активації ГПО в печінці, зовсім нема за гіпобаричної гіпоксії, навіть на ранніх термінах (2–4 хв), коли звичайно відбувається посилений викид у кров катехоламінів і глюкокортикостероїдів і розвиваються симпатикогенні вегетативні зрушення [9]. Очевидно, відсутність ранніх змін активності ферментів метаболізму глутатіону в наших дослідках пов'язане з використанням барбітуратного наркозу, який різко зменшує реактивність ствольних вегетативних центрів та, як наслідок, мобілізацію катехоламінів.

Як відомо, у гострій фазі гіпоксії простежується стратегія толерантності, що супроводжується зниженням споживання кисню і температури тіла [2]. Зниження активнос-

Вміст відновленого глутатіону та активність ферментів метаболізму глутатіону за гіпобаричної гіпоксії та інтервальної адаптації до неї

Умови досліджу	Глутатіон, мкмоль/г тканини	ГПО, мкмоль НАДФН/хв/г тканини	ГР, мкмоль НАДФН/хв/г тканини	ГГТ, од/л
Серце				
Контроль	1,52 ± 0,13	88,9 ± 7,8	1,27 ± 0,11	31,2 ± 4,7
Гіпоксія	1,38 ± 0,08	94,8 ± 9,8	1,12 ± 0,10	18,6 ± 3,2*
Адаптація	1,98 ± 0,17*	55,8 ± 6,1**	0,97 ± 0,07*	45,1 ± 5,1*
Печінка				
Контроль	2,55 ± 0,32	94,3 ± 9,8	1,09 ± 0,12	39,5 ± 4,1
Гіпоксія	1,96 ± 0,17	131,1 ± 14,2*	0,43 ± 0,07***	28,6 ± 3,1*
Адаптація	2,68 ± 0,21	28,5 ± 5,1***	0,73 ± 0,06*	47,4 ± 5,8
Головний мозок				
Контроль	1,21 ± 0,14	59,8 ± 6,2	0,68 ± 0,08	28,7 ± 4,8
Гіпоксія	0,76 ± 0,07*	65,7 ± 7,4	0,31 ± 0,06**	17,6 ± 2,2*
Адаптація	1,45 ± 0,11	28,6 ± 4,1***	0,49 ± 0,04*	23,7 ± 2,1
Нирки				
Контроль	0,89 ± 0,09	68,2 ± 7,5	0,77 ± 0,07	25,1 ± 1,9
Гіпоксія	0,82 ± 0,07	80,1 ± 8,7	0,65 ± 0,04	20,8 ± 2,3
Адаптація	1,08 ± 0,10	29,5 ± 4,8***	0,49 ± 0,06**	34,7 ± 3,8*

* Різниця з контролем вірогідна ($p < 0,05$); ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

ті ГПО та ГР може бути пов'язане не лише з безпосередньою інактивацією ферментів за умов кисневої недостатності, а й опосередковано з дією гормонів, що реалізують стратегію толерантності.

Тривала адаптація до гіпоксії також відбувається за толерантним типом, однак біохімічні механізми змін активності ферментів метаболізму глутатіону, очевидно, відрізняються між собою. Можна було б припустити, що внаслідок адаптації до гіпобаричної гіпоксії настає пригнічення ключових ферментів глутатіонової антиоксидантної системи – ГПО і ГР та індукція ГГТ в серці та нирках. Комплексне зниження ферментної активності може бути несприятливим, оскільки призводить до зниження захисних систем організму. А проте зазначимо, що тенденція до збільшення концентрації відновленого глутатіону в трьох з чотирьох досліджуваних органів – у серці, нирках та головному мозку – є сприятливою ознакою, яка свідчить про відсутність активації процесів пероксидації. Ознакою інтенсифікації процесів обміну глутатіону за умов адаптації до гіпоксії є також тенденція до збільшення активності ГГТ в трьох з чотирьох досліджуваних органів. Тому найвірогіднішим поясненням змін активності ферментів метаболізму глутатіону, виявлених під час інтервальної адаптації до гіпобаричної гіпоксії, є те, що в разі адаптації до гіпоксії відбувається зниження концентрації активних форм кисню і, як наслідок, немає потреби у високій концентрації ГПО, а отже, і ГР для відновлення окисненого глутатіону.

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М.: Практика, 1998. 459 с.
2. Колесниченко Л. С., Кулинский В. И., Ясько М. В., Манторова Н. С. Гормональная и мессенджерная регуляция ферментов метаболизма глутатиона. // Тез. II конф. биохимиков Узбекистана. Ташкент, 1993. С. 47.
3. Горячковский А. М. Клиническая биохимия. Одесса: Астропринт, 1998. 608 с.

4. *Иванов Л. А.* О перспективах использования интервальной гипоксической тренировки в пожилом и старческом возрасте // *Нур. Мед. Ж.* 1994. Vol. 2. № 1. С. 25–29.
5. *Лапшин А. В., Манухина Е. Б., Меерсон Ф. З.* и др. Снижение содержания оксида азота в органах крысы при адаптации к периодической гипоксии // *Нур. Мед. Ж.* 1995. Vol. 3. № 1. С. 3–5.
6. *Лосев Н. И.* Патолофизиология гипоксических состояний и адаптация организма к гипоксии. М.: ММИ, 1982. 81 с.
7. *Манухина Е. Б., Лапшин А. В., Меерсон Ф. З.* Адаптация к периодической гипоксии предупреждает нарушения эндотелийзависимого расслабления и падение артериального давления при экспериментальном инфаркте миокарда // *Нур. Мед. Ж.* 1994. Vol. 2. № 1. С. 16–19.
8. *Медведев Ю. В., Толстой А. Д.* Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма. М.: Терра-Календер и Промоушн, 2000. 232 с.
9. *Меерсон Ф. З., Пиенникова М. Г.* Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам. М.: Медицина, 1988. 253 с.
10. *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен)* Учеб. пособие / Под ред. М. И. Прохоровой. Л.: Изд-во Ленинград ун-та, 1982. 272 с.
11. *Смолягин А. И., Фролов Б. А.* Защитный ответ адаптации к прерывистой гипоксии на стрессорные нарушения гуморального и клеточного иммунного ответа // *Нур. Мед. Ж.* 1995. Vol. 3. № 1. С. 9–11.
12. *Gromadzinska J., Sklodowska M., Wasowicz W.* Glutathione peroxidase activity, lipid peroxides and selenium concentration in various rat organs // *Biomed. Biochim. Acta.* 1988. Vol. 47. N 1. P. 19–24.
13. *Howard S. A., Hawkes W. C.* The relative effectiveness of human plasma glutathione peroxidase as a catalyst for the reduction of hydroperoxides by glutathione // *Biol. Trace Element Res.* 1998. Vol. 61. P. 127–136.
14. *Meister A.* Glutamate, glutamine, glutathione, and related compounds. New York: Acad. Press, 1985. 723 p.
15. *Persijn J., Van der Slike W.* A new method for the determination of g-glutamyltransferase in serum // *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1976. Vol. 14. P. 421–427.

THE INFLUENCE OF HYPOXIA AND ADAPTATION ON GLUTATHIONE METABOLISM ENZYMES ACTIVITY IN RATS

O. Abramova

*Mechnikov Odessa National University, Department of Biochemistry
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine
e-mail: abbie@inbox.ru*

The reduced glutathione content and the glutathione metabolism enzymes activity in organs of rats under conditions of hypoxia and broken adaptation to it were investigated. During hypoxia glutathione peroxidase activity rises and glutathione reductase activity decreases, glutathione concentration reduces. Under long interval hypoxia adaptation repression of the most glutathione metabolism enzymes against the background of reduced glutathione content increase takes place. The changes of g-glutamyltransferase are caused by the changes of glutathione concentration.

Key words: hypoxia, adaptation, glutathione, glutathione metabolism enzymes.

Стаття надійшла до редколегії 27.06.05

Прийнята до друку 27.04.06