

УДК 577.121

Л.М. ПЕТРУНЬ

## Можливість корекції процесу пероксидації в організмі щурів за умов холодового стресу

UDC 577.121

L.M. PETRUN

## Possibility of Peroxidation Process Correction in Rat's Organism at Cold Stress

Вивчали інтенсивність перекисного окислення ліпідів у ферментній фракції тимуса щура за холодового стресу (4°C). Встановлено, що при використанні малих доз поліамінів можна в деякій мірі знизити інтенсивність процесів пероксидації в організмі.

**Ключові слова:** холодовий стрес, перекисне окислення ліпідів, тимус, поліаміни.

Изучали интенсивность перекисного окисления липидов в ферментной фракции тимуса крысы при холодном стрессе (4°C). Установлено, что при использовании малых доз полиаминов можно в некоторой степени снизить интенсивность процессов пероксидации в организме.

**Ключевые слова:** холодной стресс, перекисное окисление липидов, тимус, полиамины.

Intensity of lipid peroxidation in thymus rat enzymatic fraction at cold stress (4°C) was investigated. It was shown that with small doses of polyamines it was possible to decrease peroxidation processes of an organism.

**Key-words:** cold stress, lipid peroxidation, thymus, polyamines.

Вивчення процесів адаптації до умов існування – важлива медико-біологічна задача. Велика увага приділяється діагностиці стресового стану та адаптації до нього. Охолодження є типовим стресовим подразником, що викликає в організмі “реакцію напруження”.

В стані шугучної гіпотермії зменшується реактивність організму та підвищується його резистентність до впливу факторів середовища.

При стресі, що викликаний впливом низьких температур, як і при дії інших несприятливих факторів відбувається активація реакцій перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в організмі. Це, в свою чергу, є причиною зміни проникнення мембран, а також зміни активності ферментів, які вбудовані в мембрани [7].

Відомо, що поліаміни впливають на активність багатьох ферментів внаслідок значної спорідненості до негативно заряджених ділянок білкових структур та здатності модифікувати конформацію макромолекул. Так, в фізіологічних концентраціях поліаміни стабілізують мембрани, зв'язуючись з негативно зарядженими фосфоліпідами та білками. Відносно розташування атомів азоту в поліамінах

таке, що вони здатні стабілізувати дволанцюгові ділянки нуклеїнових кислот. Інший можливий шлях дії поліамінів на транскрипцію пов'язаний з впливом на ацетилювання та фосфорилювання гістонів та негативних білків хроматину.

Тимус є центральним лімфоїдним органом, який відповідає за формування та функціонування клітинної системи імунітету. Негативна селекція Т-клітин викликає активацію апоптичної програми, що призводить до загибелі клітин. З цієї точки зору цікаво було перевірити вплив поліамінів на активність процесу пероксидації, а саме ферментів ксантиноксидази (КОД) та глутатіонпероксидази (ГП) у ферментативній фракції тимуса за холодового стресу.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 130 г.

В якості стресорного агента використали охолодження тварин в холодній камері (4°C) протягом трьох годин. Контролем були інтактні тварини, яких не піддавали ніяким впливам і утримували в умовах віварію. Активність КОД та ГП визначали

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ

Palladin Institute of Biochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

\* Адреса для кореспонденції: вул. Леонтовича, 9, м. Київ, Україна 01601; тел.: +38 (044) 234-43-45, факс: +38 (044) 229-63-65 електронна пошта: lpetrun@yandex.ru

\* Address for correspondence: 9, Leontovicha str., Kyev, Ukraine 01601; tel.:+38 044 2344345, fax:+38 044 229 6365 e-mail: lpetrun@yandex.ru

за методами [4, 6]. Отримані результати статистично обробляли за допомогою комп'ютерної програми „Microsoft Excel”.

### Результати та обговорення

Показано, що в ферментній фракції з тимуса щурів за холодового стресу активність КОД тимуса підвищувалась на 32%. Додавання поліамінів в кількості 0,5–10  $\mu\text{M}$  в дослідах *in vitro* викликало зменшення КОД активності ферментативної фракції із тимуса контрольних щурів на 34–20% при використанні сперміну, на 28–24% – спермідину та на 33–26% – путресцину. Практично аналогічну картину спостерігали при дослідженні КОД фракції з тимуса щурів, що піддавались холодовому стресу. Спермін в тих самих концентраціях викликав гальмування ксантинооксидазної активності на 24–22%, тобто менше, ніж у контрольних тварин. Порівняно з контролем спермідин викликав менше гальмування (12,7–5,6%) і путресцин – більше 18–17%.

Таким чином, проведені дослідження (табл. 1) довели, що за холодового стресу активація КОД у ферментній фракції з тимуса призводить до надлишкової продукції вільних радикалів. Під дією поліамінів відбувається гальмування КОД активності як у інтактних щурів, так і у тварин після холодового стресу, але це гальмування значно менше. Найбільший ефект отримано при застосуванні сперміну в кількості 0,5  $\mu\text{M}$ .

Такий результат можна пояснити тим, що найбільш високий вміст поліамінів виявлено в тканині тимуса порівняно з іншими тканинами [2]. Тобто в інкубаційному середовищі, що містить ксантинооксидазну фракцію з тимуса, виникає надлишок поліамінів. Можливо вони гальмують процес синтезу білка з утворенням активних метаболітів (альдегідів), при цьому поліаміни можуть залучатись до рибосомо-мембранної взаємодії, впливати на цей процес.

Встановлено, що при охолодженні печінки протягом 8–16 год відбувається підвищене перетворення ксантиндегідрогенази (КДГ) на КОД. Гальмування КОД зменшувало рівень реактивного кисню, печінкове ушкодження, оксидативне напруження та набряк [8].

Інші автори спостерігали в умовах холоду напруження ендоцелюлярної протиокислювальної системи (гальмування СОД), каталази та глутатіонредуктази в мозку, печінці, еритроцитах. Одночасно активізувався неферментативний протиокислювальний механізм [5]. А саме, відбувалась дестабілізація мембран еритроцитів – зменшення мікро-в'язкості ліпідних контактних зон та ступеня занурення білків в ліпідній мембрані. За порушення зовнішньої мембрани мітохондрій з міжмембранного об'єму виділяється термолабільний фак-

**Таблиця 1.** Вплив поліамінів на ксантинооксидазну активність за холодового стресу ( $\mu\text{M}$ , мг/хв,  $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Поліаміни		Контрольні тварини	Дослідні тварини
Спермін	500 $\mu\text{M}$	0,0315 $\pm$ 0,002*	0,0472 $\pm$ 0,003*
	10 $\mu\text{M}$	0,0379 $\pm$ 0,002*	0,0493 $\pm$ 0,002*
Спермідин	500 $\mu\text{M}$	0,0344 $\pm$ 0,006*	0,0549 $\pm$ 0,002
	10 $\mu\text{M}$	0,0363 $\pm$ 0,004*	0,0594 $\pm$ 0,006
Путресцин	500 $\mu\text{M}$	0,0318 $\pm$ 0,005*	0,0524 $\pm$ 0,001*
	10 $\mu\text{M}$	0,0352 $\pm$ 0,002*	0,0516 $\pm$ 0,002*
Контроль		0,0476 $\pm$ 0,004	0,0629 $\pm$ 0,005

Примітка: \* –  $P < 0,05$ .

тор, що викликає необернене перетворення ксантиндегідрогенази в ксантинооксидазу [3, 12].

Вважаємо, що в ферментній фракції з тимуса інтактних щурів всі поліаміни проявляють приблизно однакову спорідненість до негативно заряджених ділянок ксантинооксидази, модифікуючи структуру ферменту. За рахунок цього перетворення порушується спочатку окислення заліза в складі залізо-сірчаного центру ферменту з утворенням супероксидного радикала, а далі відбувається зміна валентності молібдену з трьохвалентного на п'ятивалентний [1].

Для запобігання пошкоджуючої дії ПОЛ в організмі існує збалансована антиоксидантна система, що забезпечує нейтралізацію вільних радикалів та утилізацію продуктів ПОЛ [9, 11].

При дослідженні антиоксидантного ферменту ГП (табл. 2) за холодового стресу та впливу на його активність поліамінів в концентрації 0,5–10  $\mu\text{M}$  одержано цікаві результати.

**Таблиця 2.** Вплив поліамінів на глутатіонпероксидазну активність за холодового стресу ( $\mu\text{M}$ , мг/хв,  $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Поліаміни		Контрольні тварини	Дослідні тварини
Спермін	500 $\mu\text{M}$	0,938 $\pm$ 0,025*	1,153 $\pm$ 0,01*
	10 $\mu\text{M}$	0,990 $\pm$ 0,038*	1,057 $\pm$ 0,084
Спермідин	500 $\mu\text{M}$	1,115 $\pm$ 0,07	1,154 $\pm$ 0,011*
	10 $\mu\text{M}$	1,013 $\pm$ 0,031	1,031 $\pm$ 0,018
Путресцин	500 $\mu\text{M}$	0,950 $\pm$ 0,02*	1,13 $\pm$ 0,058*
	10 $\mu\text{M}$	0,913 $\pm$ 0,047*	1,088 $\pm$ 0,053
Контроль		1,224 $\pm$ 0,019	1,027 $\pm$ 0,013

Примітка: \* –  $P < 0,05$ .

Так, активність ГП в ферментному препараті тимуса інтактних щурів зменшувалась в тій чи іншій мірі в присутності всіх поліамінів: найбільше – в присутності 0,5  $\mu$ M сперміну та 10  $\mu$ M путресцину порівняно з контролем.

Вплив поліамінів на ГП із ферментної фракції тимуса дослідних тварин має протилежний напрямок, тобто поліаміни в концентрації 0,5  $\mu$ M підвищували активність глутатіонпероксидази: спермін – на 12,3%, спермідин – 12,3% і путресцин – 10%. Результати відносно активності КОД співпадають з даними дослідження тканини печінки [10], а результати відносно ГП активності інші – якщо в тканині печінки інтактних щурів присутність поліамінів викликала підвищення ферментативної активності, то в ферментній фракції тимуса тих самих щурів – зниження на 20–25%.

З одного боку, цей факт можна пояснити, як вплив тканинної специфічності ферменту. З іншого боку, відомо, що глутатіонпероксидаза є антиоксидантним ферментом за рахунок Se, який розташований в активному центрі ферменту і керує його активністю.

Дефіцит Se викликає зниження активності глутатіонпероксидази-I. Існує ще і активність глутатіонпероксидази-II, яка не містить Se, вона підвищується при селеновій недостатності, можливо компенсуючи зниження активності глутатіонпероксидази-I. Однак в роботі ми визначали саме Se-залежну глутатіон-пероксидазу. Тому можна вважати, що поліаміни проявляють спорідненість до від'ємно заряджених ланок ферменту з тимуса інтактних щурів, тим самим гальмуючи його активність.

За холодового стресу, можливо, змінюється конформація молекули глутатіонпероксидази так, що її активність підвищується поліамінами відносно контролю.

## Висновки

Отримані результати вказують на те, що за холодового стресу в організмі щурів, використовуючи поліаміни в малих дозах, можна деякою мірою

загальмувати процеси пероксидації з метою запобігання глибоких біохімічних та гістофізіологічних змін.

## Література

1. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы в биологических системах // Соровский образовательный журн.– 2000.– Т. 6, №12.– С. 13–14.
2. *Залеток С.П., Яковенко О.Я. та інші.* Дослідження взаємодії поліамінів з ядерним фактором транскрипції NF- $\kappa$ B методами комп'ютерного моделювання // Укр. біохім. журн.– 2002.– Т. 74, №5.– С.133–138.
3. *Зинчук В.В.* Проблема формирования прооксидантно-антиоксидантного состояния организма // Медицинские новости.– 2002.– №4.– С.9–14.
4. *Козаченко А.И., Рабша Ю.Э., Вартамян Л.С.* Новые ингибиторы ксантиноксидазы из класса пиразоло (3, 4-d)-пиримидинов и пиразоло (3, 4-b)-пиридинов-пиримидинов: Механизм действия аллопуринола и его аналогов // Хим. фарм. журн.– 1982.– №6.– С. 10–15.
5. *Кондратова М.Н.* Свойства макромолекул и макромолекулярных систем / Под ред. Г.М. Франка.– М., 1969.– 131 с.
6. *Мони В.М.* Простой и специфический метод определения активности глутатіонпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело.– 1986.– №12.– С. 724–728.
7. *Шахман Е.В., Даценко Г.Н., Шумейко В.М.* Антиоксидантное действие фосфолипидного комплекса, выделенного с морских организмов// Укр. биохим. журн.– 1994.– Т. 66, №4.– С. 87–100.
8. *Biemond P., Swaak V.* Superoxide-dependent and independent mechanisms of iron mobilization from ferritin by xanthine oxidase // Biochem. J.– 1986.– Vol. 239, N1.– P. 169.
9. *Fernandez L.* Reconditioning protects liver and lung damage in rat liver transplantation role of xanthine oxidase // Hepatology.– 2002.– Vol. 36, N3.– P. 562–572.
10. *Petrun L., Krysiuk I., Mykhailovsky V.* A possibility of peroxidation process correction in rat organism in experimental hypobiosis. Materials of the international conference // Annales Universitatis Marie Curie Sklodowska.– 2006.– Vol. 19, N1.– P. 171–173.
11. *Yasinska I.M., Kozhukhar A.V., Sumbayev V.V.* S-nitrosation of thioredoxin in the nitrogen monoxide/superoxide system activates apoptosis signal-regulating kinase 1 // Arch. Biochem. Biophys.– 2004.– Vol. 428, N2.– P. 198–203.
12. *Zinchuk V.V., Khodosovsky M.N., Maslakov D.A.* Influence of different oxygen modes on the blood oxygen transport and prooxidant-antioxidant status during hepatic ischemia/reperfusion // Physiol. Res.– 2003.– Vol. 52, N5.– P. 533–544.

Надійшла 02.06.2008