

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ СИНТЕЗУ ТА КОН'ЮГАЦІЇ ГЛУТАТІОНУ В ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ НИЗЬКОПРОТЕЇНОВОГО РАЦІОНУ ТА ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

Г. П. КОПИЛЬЧУК, І. М. БУЧКОВСЬКА, Н. Л. БОРЩОВЕЦЬКА,
Н. В. ЧОПИК

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58000
e-mail: ivannabuchkovska@mail.ru

У роботі досліджено активність ензимів синтезу та кон'югації глутатіону в гепатоцитах тварин за умов аліментарної депривації протеїну та гострого парацетамол-індукованого ураження печінки. З метою дослідження особливостей функціонування даних ензимів за умов аліментарної депривації протеїну дослідних тварин протягом 28 днів утримували на напівсинтетичному низькопротеїновому раціоні. Гострий токсичний гепатит моделювали шляхом введення щурам *per os* парацетамолу з розрахунку 1250 мг/кг (0,5 LD₅₀) маси тварини у вигляді суспензії 2% розчину крохмалю протягом 2 діб. Встановлено, що перебування тварин на низькопротеїновому раціоні супроводжується зниженням γ -глутаміліцистеїнсинтезної активності в гепатоцитах в 1,3 рази порівняно з показниками контролю. Аналогічна тенденція змін динаміки досліджуваної ензиматичної активності відмічалась і в групі тварин, яким моделювали гостре ураження печінки. Однак, за умов перебування тварин на низькопротеїновому раціоні з одночасним введенням токсичних доз парацетамолу в гепатоцитах зафіксовано найнижчі значення активності ензиму синтезу глутатіону – γ -глутаміліцистеїнсинтези порівняно з контролем. Щодо рівня глутатіон-S-трансферазної активності в гепатоцитах тварин, які зазнавали білкової недостатності, нами встановлено зниження даного показника порівняно з контролем в 9 разів. Водночас введення токсичних доз ацетамінофену також супроводжувалось достовірним зниженням активності GSH порівняно з показниками контролю. Слід відмітити, що визначальним фактором в даному випадку незалежно від умов раціону є саме гостре медикаментозне ураження клітин печінки, оскільки показники глутатіонтрансферазної активності в групі тварин, яким вводили парацетамол на фоні розвитку білкової недостатності та під час моделювання токсичного гепатиту за умов повноцінного харчування достовірно не відрізнялися. Зі зниженням активності глутатіон-S-трансферази в гепатоцитах усіх дослідних груп щурів відбувається достовірне зниження вмісту відновленого глутатіону. Результати досліджень засвідчують, що за умов аліментарної депривації протеїну рівень GSH виявився нижчим значень контролю в 1,4 рази. Водночас введення токсичних доз ацетамінофену супроводжувалось зниженням вмісту відновленого глутатіону в 1,6 рази порівняно з показниками контрольної групи тварин. Таким чином синергічна дія двох несприятливих факторів – білкової недостатності та медикаментозного ураження печінки – супроводжувалась зниженням в клітинах печінки активності ключового ензиму процесів кон'югації глутатіон-S-трансферази з одночасним зменшенням вмісту відновленого глутатіону.

Ключові слова: глутатіон, γ -глутаміліцистеїнсинтеза, глутатіон-S-трансфераза, низькопротеїнова дієта, гостре ураження печінки

Вступ. Аліментарні порушення обміну протеїнів, пов'язані з недостатністю, одноманітністю, дефіцитом або домінуванням окремих амінокислот, відіграють важливу роль у формуванні різних патологій та визначають особливості їх перебігу (Тимофеева и др., 2004; Громова, 2006). Відомо, що за умов тривалої білкової недостатності різко порушується біосинтез білків у різних органах, зокрема у печінці (Баскакова, 2007). Досить часто нераціональне харчування, дисбаланс вітамінів та амінокислот призводять до розвитку гострих чи хронічних поліетіологічних запальних захворювань печінки (Veteur et al., 2010). Окрім того, причиною розвитку гострих токсичних уражень печінки може бути застосування

високих доз терапевтичних лікарських засобів, зокрема парацетамолу (James et al., 2003).

Гепатотоксичні властивості парацетамолу реалізуються шляхом утворення активних кисневих метаболітів, надмірне утворення яких супроводжується розвитком ендогенної інтоксикації (Пентюк и др., 2001). Тому особливо важливим вважається з'ясування ролі протекторних механізмів організму, які могли б захистити його від дії стресорів. Відомо, що кооперативна робота ензимів антиоксидантної глутатіонової системи виступає важливим чинником підтримання концентрації вільних радикалів.

Глутатіон-S-трансфераза (GST, КФ 2.5.1.18) – багатofункціональний ензим, що бере участь в процесах детоксикації ксенобіотиків та ендоген-

них токсичних речовин, зв'язуванні та транспорті гідрофобних молекул, зберіганні оксиду нітрогену, модуляції внутрішньоклітинної передачі сигналу через взаємодію ензиму з кіназами та адаптерними протеїнами сигнальних шляхів (Кулинский и др., 2009). За рахунок відновленого глутатіону (GSH) ензим здійснює пряму регенерацію ліпопероксидів у мембранах, знижуючи наслідки оксидативного стресу та ендогенної інтоксикації. Кон'югація з глутатіоном токсичних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та окислювальної модифікації білків (ОМБ) сприяє їх виведенню із організму.

Експериментальними дослідженнями встановлено, що система глутатіону бере участь в механізмах регуляції проліферації та апоптозу, які залучені в патогенез хронічних захворювань печінки (Sherratt et al., 2002, Сервецький та ін., 2009).

Метою роботи було дослідити активність ензимів синтезу та кон'югації глутатіону в гепатоцитах щурів за умов низькопротеїнового раціону та гострого парацетамол-індукованого ураження печінки.

Об'єкт і методи. Дослідження проводили на білих безпородних щурах віком 2,5-3 місяці та масою 90-100 г. Утримання тварин та маніпуляції з ними проводили згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Тварин утримували у пластмасових клітках із піщаною підстилкою та вільним доступом до води. Нормування добового раціону проводили з урахуванням принципу парного харчування (Mashiko et al., 2007).

Моделювання гострого ураження печінки здійснювали шляхом введення *per os* дослідним тваринам парацетамолу з розрахунку 1250 мг/кг (0,5 LD₅₀) маси тварини у вигляді суспензії в 2% розчині крохмального гелю один раз на день протягом 2 діб (Стефанов, 2001, Покотило та ін., 2009).

Дослідні тварини були поділені на групи:

1 – тварини, які утримувалися на напівсинтетичному раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами – група контролю (К) (Reeves et al., 1993);

2 – тварини, які протягом 4 тижнів до початку експерименту отримували напівсинтетичний низькопротеїновий раціон (1/3 загальноприйнятої норми добової потреби протеїну) (НПР) (Reeves et al., 1993);

3 – тварини, яким викликали гостре ураження печінки(Г);

4 – тварини, яким після утримання на низькопротеїновому раціоні, моделювали парацетамол-індуковане ураження печінки (НПР+П).

Цервікальну дислокацію дослідних тварин під легким ефірним наркозом проводили на 28 добу експерименту.

Виділення гепатоцитів проводили неферментативним методом (Неменова, 1972, Петренко и др., 1991). Тканини печінки спочатку перфузували розчином Хенкса (37°C) без EDTA шляхом введення через *V. portae* для видалення крові із судин, а потім з додаванням 2 мМ EDTA для ослаблення міжклітинних контактів внаслідок видалення іонів Ca²⁺. Відперфузовану печінку перетирали з подальшим центрифугуванням при 100 g протягом 10 хв. Отриманий осад двічі відмивали. Гепатоцити ресуспендували до концентрації 2-3•10⁷ кл/мл та підраховували в камері Горяєва шляхом зафарбовування в 0,2% трипановому синьому. Життєздатність клітин становила 94%±2%. У подальших дослідженнях гепатоцити вносили в пробу в кількості 3•10⁶ клітин.

γ-Глутамілцистеїнсинтетазну активність (γ-ГЦС, КФ 6.3.2.2,) визначали за утворенням неорганічного фосфору (P_i) в реакційній суміші, що містила 0,01 М L-глутамат, 0,01 М L-амінобутират, 0,02 М MgCl₂, 0,005M Na-АТФ, 0,2 М трис-НCl, рН 8,2 (Orlowski et al., 1971). Реакцію зупиняли додаванням 10% розчину ТХО. Кількість неорганічного фосфору в надосадовій рідині визначали методом Фіске-Суббароу (Fiske et al., 1925). Концентрацію P_i в пробі розраховували за калібрувальною кривою, використовуючи розчин КН₂РO₄ (500 мкг/мл).

Глутатіон-S-трансферазну активність реєстрували шляхом ензиматичного утворення глутатіон-S-2,4-динітробензолу в реакції відновлення глутатіону з 1-хлор-2,4-динітробензолом (ХДНБ) (Власова и др., 1990). Активність GST розраховували з використанням молярного коефіцієнта світлопоглинання глутатіон-S-2,4-динітробензолу 9,6 мМ⁻¹·см⁻¹ та виражали в мкмоль продукту, утвореного за 1 хв на 1 мг протеїну (Мартинчик и др., 1986).

Вміст відновленого глутатіону визначали за здатністю його тіолових груп при взаємодії з 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойною кислотою утворювати забарвлену сполуку – тіо-2-нітробензойну кислоту (Путилина, 1982).

Концентрацію протеїну визначали за методом Лоурі (Lowry et al., 1951).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми *Microsoft Excel*, використовуючи *t*-критерій Стьюдента. Вірогідною вважали різницю при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати досліджень показали, що в гепатоцитах щурів,

які перебували на напівсинтетичному низькопротеїновому раціоні, спостерігається зниження γ -глутамілцистеїнсинтезна активності в 1,3 рази порівняно з контрольною групою тварин (рис. 1). Відомо, що γ -ГЦС каталізує першу АТР-залежну стадію синтезу глутатіону з цистеїну та глутамату. За даними літератури (Shepherd et al., 2000, Scharf et al., 2003) ця стадія є лімітуючою, оскільки визначається активністю даного ензиму. Регуляція γ -ГЦС відбувається двома шляхами: конкурентним інгібуванням глутатіоном по типу зворотного зв'язку, що являється алостеричним та залучає GSH у зв'язування з глутаматним сайтом ензиму або доступністю цистеїну, фізіологічна концентрація якого в клітинах в 2 порядки нижча, ніж глутамату (Кулинский и др., 2009). Вірогідно, за умов аліментарної депривації протеїну зниження активності γ -глутамілцистеїнсинтезази пов'язане саме зі зменшення вмісту цистеїну, який надходить внаслідок розпаду екзогенного білка, а в печінці, в основному,

утворюється із метіоніну шляхом трасульфування (Stipanuk et al., 2006, Пентюк та ін., 2003).

Аналогічна тенденція зниження активності γ -ГЦС спостерігається в клітинах печінки тварин, яким вводили токсичні дози парацетамолу. Слід відмітити, що в гепатоцитах щурів за умов моделювання гострого медикаментозного ураження печінки на фоні низькопротеїнової дієти, нами зареєстровано найнижчі значення досліджуваної ензиматичної активності, які виявилися в 2 рази меншими порівняно з показниками контролю (рис. 1). За даними літератури (Shepherd et al., 2000, Пентюк и др., 2001, Покотило та ін., 2009) реалізація токсичності парацетамолу характеризується надмірним утворенням активних форм кисню та оксиду азоту, що призводить до розвитку оксидативного стресу. Окрім того, відомо, що внаслідок виникнення неспецифічних стресових реакцій відбувається фосфорилування важкої субодиниці ензиму γ -ГЦС та зниження її активності (Кулинский и др., 2009).

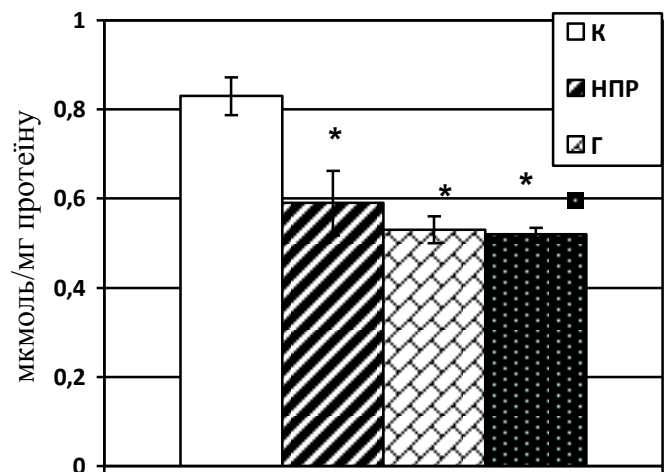
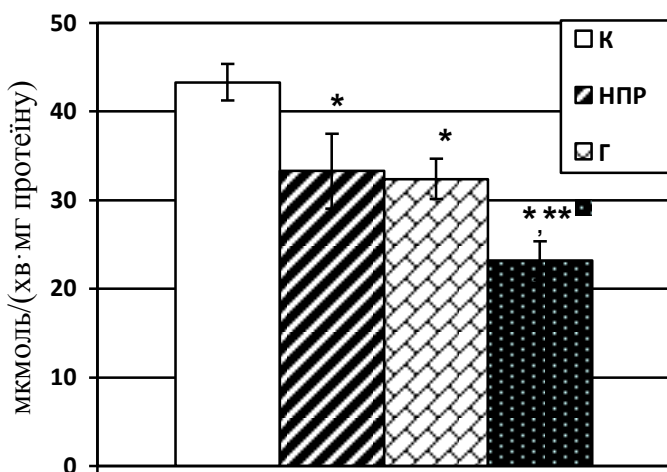


Рис. 1. γ -Глутамілцистеїнсинтезна активність в гепатоцитах щурів за умов низькопротеїнового раціону та гострого ураження печінки

Fig. 1. γ - Glutamyl cysteine synthase activity in rat hepatocytes under conditions of low-protein diet and acute liver injury

Примітка (тут і надалі): К – тварини, які утримувалися на напівсинтетичному раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами; НПР – тварини, які протягом 4 тижнів до початку експерименту отримували напівсинтетичний низькопротеїновий раціон (1/3 загальноприйнятої норми добової потреби протеїну); Г – тварини, яким викликали гостре ураження печінки; НПР+Г – тварини, яким після утримання на низькопротеїновому раціоні, моделювали парацетамол-індуковане ураження печінки; * – статистично достовірна різниця порівняно з показниками контролю, $P \leq 0,05$; ** – статистично достовірна різниця порівняно з показниками тварин, яким вводили парацетамол, $P \leq 0,05$.

Рис. 2. Вміст відновленого глутатіону в гепатоцитах щурів за умов низькопротеїнового раціону та гострого ураження печінки

Fig. 2. The level of reduced glutathione in rat hepatocytes under conditions of low-protein diet and acute liver injury

Note (hereinafter): K - animals that were kept on a semisynthetic diet balanced in all nutrients; НПР - animals that received a semisynthetic low-protein diet (1 /3 of the conventional rules of the daily requirement of protein) are within 4 weeks before the experiment; Г - animals, which caused acute liver injury; НПР+Г - animals, which modeled acetaminophen-induced liver injury after receiving low-protein diet.

* - Statistically significant difference compared to control values, $P \leq 0,05$; ** - Statistically significant difference compared to animals which were acetaminophen administered, $P \leq 0,05$.

Не виключено, що зниження γ -глутамілцистеїнсинтеазної активності в гепатоцитах щурів за умов аліментарної депривації протеїну та парацетамол-індукованого ураження печінки призводитиме до зменшення кількості відновленого глутатіону. Так, результати досліджень засвідчили достовірне зменшення вмісту GSH в усіх дослідних групах тварин порівняно з показниками контролю (рис. 2). Можна припустити, що за умов аліментарної депривації протеїну зниження рівня відновленого глутатіону в гепатоцитах щурів зумовлено не лише зниженням активності γ -глутамілцистеїнсинтеази, а й недостатністю попередників-амінокислот. Загальновідомо, що сам глутатіон може виступати резервом цистеїну, а кількість вільного цистеїну є одним з лімітуючих факторів синтезу даного трипептиду *de novo* (Dickinson et al., 2002, Townsend et al., 2003). Тому, ймовірно, за умов білкової недостатності зменшення вмісту GSH пов'язано з його частковим розпадом задля вилучення амінокислот, з подальшим їх використанням для синтезу тканинних білків. З іншого боку, зниження вмісту глутатіону в клітинах печінки тварин за умов аліментарної депривації протеїну може ініціювати розвиток оксидативного стресу та поглиблювати процеси пероксидації ліпідів та білків (Сервецький та ін., 2009).

Відомо, що в печінці парацетамол метаболізується з утворенням активного метаболіту *N*-ацетил-*p*-бензохіноніміну. Кон'югація його з глутатіоном сприяє перетворенню даного метаболіта в меркаптурову кислоту, що екскретується нирками. Однак введення дослідним тваринам токсичних доз парацетамолу супроводжується зниженням рівня GSH в печінці, що, вірогідно, обумовлено формуванням ковалентних зв'язків між цистеїном глутатіону та *N*-ацетил-*p*-бензохінонаміном. Коли запаси глутатіону виснажуються, метаболіти парацетамолу арилюють нуклеофільні макромолекули, необхідні для життєдіяльності гепатоцитів, викликаючи таким чином некроз клітин печінки (James et al., 2003). Водночас зменшення рівня відновленого глутатіону в гепатоцитах щурів за умов гострого медикаментозного гепатозу може бути зумовлено його інактивацією внаслідок парацетамолової гепатотоксичності (Пентюк и др., 2001).

В організмі глутатіон може використовуватись як косубстрат глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази (Коржов и др., 2007, Кулинский и др., 2009). Нами встановлено, що в групі тварин, які утримувались на низькопротеїновому раціоні, спостерігається зниження активності глутатіон-*S*-трансферази в 9 разів порівняно з показниками контрольної групи тварин (рис. 3).

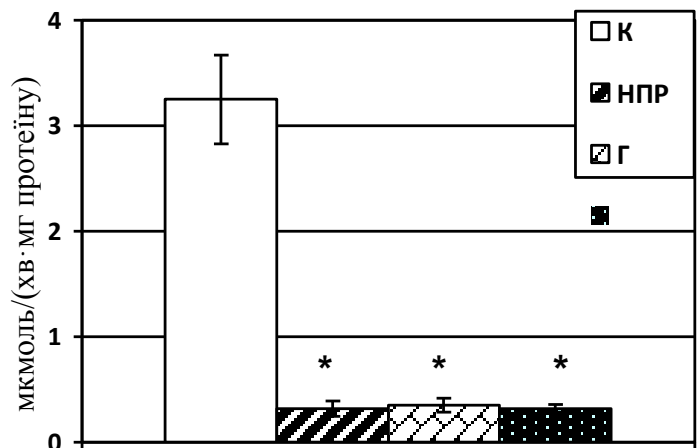


Рис.3. Глутатіон-*S*-трансферазна активність в гепатоцитах щурів за умов низькопротеїнового раціону та гострого ураження печінки

Рис. 3. Glutathione-*s*-transferase activity in rat hepatocytes under conditions of low-protein diet and acute liver injury

Ймовірно, причиною зниження глутатіонтрансферазної активності за умов аліментарної депривації протеїну може бути недостатність амінокислот, в тому числі й незамінних, для синтезу поліпептидних ланцюгів ензиму (Sherratt et al., 2002, Нікітченко та ін., 2008). З іншого боку, пригнічення активності глутатіонтрансферази може відбуватися внаслідок порушення структурно-функціональної цілісності ензиму, викликаного підвищеним вмістом ендотоксинів за умов метаболічних порушень білкового обміну.

Аналогічна тенденція змін досліджуваної ензиматичної активності відмічається й за умов введення токсичних доз парацетамолу (рис. 3). Вірогідно, зниження GST-активності при передозуванні парацетамолом буде призводити до порушення процесів кон'югації, внаслідок чого *N*-ацетил-*p*-бензохінонімін виявлятиме пошкоджуючий ефект (James et al., 2003, Пентюк и др., 2001).

Висновки. Таким чином за умов аліментарної депривації протеїну та гострого ураження печінки відбувається зниження γ -глутамілцистеїнсинтеазної та глутатіон-*S*-трансферазної активностей з одночасним зменшенням вмісту відновленого глутатіону.

Список літератури:

1. Баскакова Д.В. Белковая недостаточность // Consilium provisorum Ukraina. – 2007. – № 3. – С. 24-32.
2. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов

- эритроцитов при хронических заболеваниях у детей // Лаб. дело. – 1990. – № 8. – С. 19-21.
3. Громова Л.В. Влияние белкового голодания на гидrolитические и транспортные характеристики тонкой кишки крыс в условиях хронического опыта // Росс. физиол. журн. – 2006. – Т. 92, № 10. – С. 1239-1249.
 4. Коржов В. И., Жадан В. Н., Коржов М. В. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и защиты // Журн. АМН Украины. – 2007. – Т. 13, №1. – С. 3-19.
 5. Кулинский В.И., Колесниченко Л. С. Система глутатиона I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 255-277.
 6. Мартинчик А.Н., Бондарев Г.И. Активность глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в печени крыс в зависимости от восстановленного глутатиона // Вопр. мед. химии. – 1986. – Т. 32, № 2. – С. 39-43.
 7. Неменова Ю.М. Методы лабораторных клинических исследований. – М.: Медицина, 1972. – 424 с.
 8. Нікітченко Ю.В., Падалко В. І., Ткаченко В. М. та ін. Активність глутатіонзалежної антиоксидантної системи печінки і крові щурів залежно від γ -опромінення та раціону харчування // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 3-9.
 9. Пентюк А.А., Мороз Л.В., Паламарчук О.В. Поражения печени ксенобиотиками // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 2. – С. 8-14.
 10. Пентюк О. О., Луцук М. Б., Андрушко І. І. та ін. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75. - № 1. – С. 5-17.
 11. Петренко А.Ю., Сукач А.Н., Росляков А. Д. Выделение гепатоцитов крыс неферментативным методом: детоксикационная и дыхательная активность // Биохимия. – 1991. – Т.56, вып. 9. – С. 1647-1650.
 12. Покотило О.С., Коваль М.І. Ліпідний статус плазми крові щурів різного віку при експериментальному парацетамоловому гепатиті та його корекція // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2009. – Т. 2, № 46. – С. 10-15.
 13. Путилина Ф. Е. Опеределение содержания восстановленного глутатиона в тканях // Мет. биохим. исслед. – Л.: Изд-во Ленинград. у-та. – 1982. – С. 183-185.
 14. Сервецький К.Л., Чабан Т. В., Солтик С. М. Оцінка інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів і активності ферментів глутатіонової редокс-системи при токсичному гепатиті у щурів // Український медичний альманах. – 2009. – Т. 12, № 3. – С. 146-149.
 15. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. – Київ: Авіцен, 2001. – 527 с.
 16. Vemeur C., Desjardins P., Roger F. Role of Nutrition in the Management of Hepatic Encephalopathy in End-Stage Liver Failure // Journal of Nutrition and Metabolism. – 2010. – Vol. 2010. – P. 1-12
 17. Dickinson D.A., Forman H.J. Cellular glutathione and thiols metabolism // Biochemical Pharmacology. – 2002. – Vol.64. – P. 1019-1026.
 18. Fiske C.H., Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus // J. Biol. Chem. – 1925. – Vol. 66. – P. 375-400.
 19. James L.P., Mayeux P.R., Hinson J.A. Acetaminophen-induced hepatotoxicity // Drug metabolism and disposition. – 2003. – Vol. 31, № 12. – P. 1499-1506.
 20. Lowry O.H., Rosenbrougn N.I., Farr A.L. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent, // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol.193. – P. 265-275.
 21. Mashiko S., Ishihara A., Iwaasa H. et al. Pair-Feeding Study Reveals That a Y5 Antagonist Causes Weight Loss in Diet-Induced Obese Mice by Modulating Food Intake and Energy Expenditure // Molecular pharmacology. – 2007. – Vol. 71, № 2. – P. 602-608.
 22. Orłowski M., Meister A. Partial Reactions Catalyzed by γ -Glutamylcysteine Synthetase and Evidence for an Activated Glutamate Intermediate // The Journal of Biological Chemistry – 1971. – Vol. 246, № 23. – P. 7095-7105.
 23. Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahey G.C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet // The journal of nutrition. – 1993. – № 5. – P. 1939-1951.
 24. Scharf G., Prustomersky S., Knasmüller S. et al. Enhancement of Glutathione and γ -Glutamylcysteine Synthetase, the Rate Limiting Enzyme of Glutathione Synthesis, by Chemoprotective Plant-Derived Food and Beverage Components in the Human Hepatoma Cell Line HepG2 // Nutrition and Cancer. – 2003. – Vol. 45, № 1. – P. 74-83.
 25. Shepherd G.A., Manson M.M., Ball W.L. et al. Regulation of rat glutamate-cysteine ligase (γ -glutamylcysteine synthetase) subunits by chemopreventive agents and in aflatoxin B1-induced preneoplasia // Carcinogenesis. – 2000. – Vol. 21, № 10. – P. 1827-1834.
 26. Sherratt P., Hayes J. Glutathione-S-transferases // Enzyme Systems that Metabolise Drugs and other Xenobiotics. – 2002. – 566 p.
 27. Stipanuk M. H., Dominy J. E., Lee J. I., Coloso R. M. Mammalian cysteine metabolism: new insight into regulation of cysteine metabolism // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136, № 6. – P. 1652-1659.
 28. Townsend D. M., Tew K. D., Tapiero H. The importance of glutathione in human disease // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2003. – Vol.57/ - P. 145-155.

THE ACTIVITY OF GLUTATHIONE SYNTHESIS AND CONJUGATION ENZYMES IN RAT HEPATOCYTES UNDER CONDITIONS OF LOW-PROTEIN DIET AND ACUTE LIVER INJURY

G. P. Kopylchuk, I. M. Buchkovska, N. L. Borschovetska, N. V. Chopyk

The activity of enzymes of glutathione synthesis and conjugation were studied in rat hepatocytes under conditions of protein nutritional deprivation and acute acetaminophen -induced liver injury. Experimental animals were kept at a semisynthetic low-protein diet for 28 days to study the features of functioning of enzymes under conditions of protein nutritional deprivation. Acute toxic hepatitis modeled by acetaminophen administration per os at the rate of 1250 mg / kg (0,5 LD₅₀) of the rats in the form of a suspension of 2% starch solution for 2 days. A significant decrease in to glutathione synthesis enzyme activity – γ -glutamyl cysteine synthase by 1.3 times compared to control group values was determined in hepatocytes under conditions of low-protein diet. A similar trend changes the dynamics of the studied enzymatic activity was observed in the rat group which modeled acute liver injury. However, the least values of the glutathione synthesis enzyme activity compared to control group values were fixed in rat hepatocytes hepatocytes under conditions of low-protein diet while and acetaminophen administration in toxic doses. We found decrease in to glutathione-S-transferase activity by 9 times compared to control group values in rat hepatocytes under conditions of protein deficiency. However, the acetaminophen administration in toxic doses is also accompanied by a significant decrease in the GST activity compared to control group values. As indicators glutathione-S- transferase activity was not significantly different in the rat group wich were acetaminophen administered on the background of protein deficiency and during the modeling of toxic hepatitis in conditions of nutrition, it should be noted that the acute liver cells injury is a determining factor in this case, regardless of the diet. A significant decrease in to level of reduced glutathione was determined in all experimental groups of rat hepatocytes takes place with a decrease in the glutathione-S-transferase activity. The research results indicate that level GSH was lower in 1.4 times than the control value under conditions of protein nutritional deprivation. At the same time the acetaminophen administration in toxic doses was associated with a decreased level of reduced glutathione in 1.6 times compared to control group values. However, synergistic effect of two negative factors - protein deficiency and drug - induced liver iniury were accompanied with a decrease in glutathione-S- transferase activity as well as with the decreased level of reduced glutathione in liver cells.

Keywords: glutathione, γ -glutamylcysteine synthetase, glutathione S-transferase, low-protein diet, acute liver injury

Одержано редколегією 15.02.2014