

S.Weiss. // Respir. Med. — 2005. — Vol.12. — P.1583—1590.

11. Potenza M.A. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets / M.A. Potenza, S. Gagliardi, C. Nacci [et al.] // Curr. Med. Chem. — 2009. — Vol.16, №1. — P. 94-112.

12. Sahebajami H. Effects of streptozotocin-induced diabetes on lung mechanics and biochemistry in rats / H.Sahebajami, D. Denholm / Journal of Applied Physiology. — 2003.- Vol. 64, № 1. — P. 147-153.

*Кишук Б.Н., Заяц Л.М.*

#### **Состояние гемомикроциркуляторного русла легких при экспериментальном сахарном диабете**

Ивано-Франковский национальный медицинский университет, г.Ивано-Франковск, Украина

e-mail: olga\_yurkiv@yahoo.com.

**Резюме.** Целью исследования было изучить в динамике ультраструктурные изменения легочных гемокапилляров при экспериментальном сахарном диабете (СД). Опыты проводили на 40 белых крысах-самцах линии Вистар. В экспериментальной группе сахарный диабет моделировали путем внутривенного введения стрептозотоцина фирмы «Sigma» (США), разведенного в 0,1 М цитратном буфере с pH 4,5, из расчета 60 мг / кг. Развитие заболевания контролировали по возрастанию в крови животных уровня глюкозы. Забор легочной ткани для электронно-микроскопического исследования проводили под кетаминным наркозом через 1, 2 и 4 недели после введения стрептозотоцина. В течение первых 2-х недель исследования в цитоплазме эндотелиоцитов многих гемокапилляров легких наблюдается увеличение количества микропиноцитозных пузырьков, отек и расширение компонентов комплекса Гольджи и гранулярной эндоплазматической сети. В отдельных гемокапиллярах оказываются эритроцитарные сладжи. Установлено, что наиболее выраженные изменения гемомикроциркуляторного русла отмечаются через 4 недели после моделирования СД. В гемокапиллярах легких наблюдается вакуолизация цитоплазмы эндотелиоцитов, отек их цитоплазматических органелл, утолщение базальной мембраны, адгезия и агрегация форменных элементов крови. Таким образом, проведенные исследования показали, что экспериментальный сахарный диабет сопровождается ультра-

структурных изменений компонентов гемомикроциркуляторного русла легких, выраженность которых зависит от продолжительности стрептозотоциндуцированного сахарного диабета.

**Ключевые слова:** гемомикроциркуляторное русло, легкие, сахарный диабет.

*B.M. Kishchuk, L.M. Zaiats*

#### **The Condition of Pulmonary Hemomicrocirculatory Channel in Experimental Diabetes Mellitus**

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

e-mail: olga\_yurkiv@yahoo.com.

**Abstract.** The aim of the study was to investigate the dynamics of ultrastructural changes in pulmonary hemocapillaries during experimental diabetes mellitus (DM). Experiments were performed on 40 white male rats Wistar. In the experimental group, diabetes was modeled by intraperitoneal streptozotocin administration, firm «Sigma» (USA), diluted in 0.1 M citrate buffer, pH 4.5, at the rate of 60 mg/kg. Development of the disease was monitored by the glucose levels growth in the animals' blood. Collecting of lung tissue for electron microscopic examination was performed under general ketamine anesthesia after 1, 2 and 4 weeks after administration of streptozotocin. During the first 2 weeks of the study in the cytoplasm of pulmonary hemocapillaries endothelial was growing the number of micropinocytose vesicles, edema and expansion components of the Golgi complex and granular endoplasmic grid. There can be found erythrocytic sludges in some hemocapillaries. It was found that the most expressed changes in the hemomicrocirculatory channels appear 4 weeks after modeling diabetes. In the endotheliocyte of the pulmonary hemocapillaries there were observed vacuolation of the cytoplasm, swelling of cytoplasmic organelles, thickening of the basement membrane, adhesion and aggregation of blood cells. Thus, studies have shown that experimental diabetes is accompanied by ultrastructural changes of pulmonary hemomicrocirculatory channels components, the severity of which depends on the streptozotocin-induced DM progress.

**Keywords:** hemomicrocirculatory channel, lungs, diabetes mellitus.

Надійшла 27.01.2014 року.

УДК : 574.2+612.68

<sup>1</sup>Козовий Р.В., <sup>2</sup>Ерстенюк Г.М.

#### **Аналіз активності ферментів глутатіонової системи у довгожителів Прикарпаття**

<sup>1</sup>Кафедра медичної біології та медичної генетики (зав. каф. – проф. Ковальчук Л.С.)

<sup>2</sup>Кафедра біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка (зав. каф. – проф. Ерстенюк Г.М.)

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

**Резюме.** Актуальним в умовах сучасного антропогенного навантаження стає вивчення особливостей функціонування детоксикаційних систем. **Матеріали і методи.** Функціональний стан ферментативної системи детоксикації ксенобіотиків та антиоксидантного стресу (глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та глутатіон-S-трансферази) вивчали за показниками сироватки крові 60 довгожителів (основна група) та 30 осіб зрілого віку, у родовах яких не було довгожителів (група порівняння). **Результати.** Під час аналізу було виявлено, що активність глутатіонпероксидази у всіх довгожителів становила (0,329±0,18) мкмоль/(хв·мг), а у групі порівняння (0,353±0,17) мкмоль/(хв·мг). **Висновки.** Діагностовано, що активність ферменту глутатіонредуктази у довгожителів Прикарпаття у 3,17 раза більша, порівняно з особами зрілого віку. Нами встановлено тенденцію до зниження активності глутатіон-S-трансферази у довгожителів (0,305±0,31) мкмоль/(хв·мг) відносно показників групи порівняння (0,345±0,18) мкмоль/(хв·мг).

**Ключові слова:** довгожителі, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіон-S-трансфераза.

#### **Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.**

Революційний погляд на молекулярні механізми розвитку живих систем пропонує молода динамічна наука епігенетика

[1]. На думку проф. А.М. Вайсермана, епігенетика – напрямок генетики, порівняно недавно оформився в самостійну галузь досліджень. Одна з найбільш надихаючих епігенетичних гіпотез про те, що активність багатьох генів схильна до впливу ззовні, зараз знаходить підтвердження в експериментах на модельних тваринах. Дослідники обережно коментують їх результати, але не виключають, що і люди не повною мірою залежні від спадковості, а значить можуть на неї цілеспрямовано впливати. У перспективі, якщо вчені виявляться праві і їм вдасться підібрати ключі до механізмів управління генами, людині стануть підвладні фізико-хімічні, біохімічні, фізіологічні процеси, що відбуваються в організмі. Серед них цілком може виявитися і старіння. Відомо, що тривалість життя – це мультифакторна ознака, а отже на її прояв впливають не тільки спадкові, а й зовнішні фактори. Досить часто вони мають негативний ефект.

У умовах сучасного антропогенного навантаження стає актуальним вивчення особливостей функціонування детоксикаційних систем. Процес біотрансформації, який включає ферментативне перетворення чужорідних включень або

ксенобіотиків, поділяється на три фази [2-5]. Перша фаза активації ксенобіотиків або метаболічної трансформації полягає в приєднанні до них модифікуючих функціональних груп (-OH, -SH, -NH<sub>2</sub>). При цьому відбуваються реакції окиснення, відновлення та гідролізу, в результаті яких утворюються проміжні метаболіти. Цей процес каталізується мікросомальною ферментативною системою цитохрома P<sub>450</sub> (родина ферментів цитохромів) та деякими іншими ферментами класів оксидаз, редуктаз, гідролаз і дегідрогеназ. У процесі другої фази біотрансформації – нейтралізації, проміжні метаболіти з'єднуються з ендогенними лігандами, які посилюють гідрофільну природу цих сполук, тим самим сприяють їхньому виведенню з організму. Тобто, друга фаза полягає в кон'югації високомолекулярних гідрофільних речовин з різними субстратами, в результаті чого вони перетворюються в гідрофільні кон'югати, здатні до експресії з жовчю. Третя фаза полягає в евакуації або виведенні водорозчинних нетоксичних речовин з організму. Для цього існують специфічні переносники екзогенних сполук – Р-глікопротеїни, які сприяють екскреції ксенобіотиків у жовч або кров.

У результаті наших попередніх досліджень встановлено асоціації делеційних алелей генів GSTT1 та GSTM1 з тривалістю життя. З позиції функціональної геноміки вкрай важливим є визначення активності ферментних систем біотрансформації ксенобіотиків, адже існування функціональних відмінностей між алелями в межах одного локуса зумовлюють алельну диференціацію в експресії рівня білка, ефективності транспортної функції, активності, термостабільності фермента, імунної відповіді тощо. Особливо цікаво досліджувати ці процеси у довгожителів.

**Мета роботи** – вивчення взаємозв'язку між ферментативною активністю глутатіонової системи та тривалістю життя у популяції довгожителів Прикарпаття.

### Матеріал і методи дослідження

Функціональний стан ферментативної системи детоксикації ксенобіотиків та антиоксидатного захисту вивчали за показниками сироватки крові 60 довгожителів (основна група) та 30 осіб зрілого віку, у родовах яких не було довгожителів (група порівняння).

Активність глутатіон-S-трансферази (GST) оцінювали за швидкістю утворення глутатіон-S-кон'югатів між відновленим глутатіоном і 1-хлор-2,4-динітробензолом [6]. Активність глутатіонредуктази (GRD) визначали за швидкістю зміни оптичної щільності при 340 нм, обумовленого окисленням НАДФ-Н [7], глутатіонпероксидази (GPO) – з реакції взаємодії відновленого глутатіону з гідроперекисом трет-бутилу [8].

Для статистичного аналізу отриманих даних використовували методи програмного забезпечення Microsoft Excel.

### Результати дослідження та їх обговорення

У результаті метаболічних перетворень речовин в організмі людини утворюються вільні радикали, які мають високу хімічну активність, спричиняють процеси пероксидації ліпідів, білків, нуклеїнових кислот. Утворившись в організмі, вони вступають у взаємодію зі структурами клітини, приводячи, зрештою, до пошкодження клітини, найчастіше мембрани, зумовлюючи, таким чином, розвиток патологічного процесу. Зменшують пошкоджуючий вплив вільних радикалів ферменти, що забезпечують антиоксидативний захист. До погужених антиоксидантів належить система глутатіону.

Під час дослідження ферментів глутатіонової системи встановлено, що активність GPO у групі довгожителів становила 0,329±0,18 мкмоль/(хв·мг), а у групі порівняння 0,353±0,17 мкмоль/(хв·мг) (табл. 1).

Глутатіонпероксидаза – фермент, який бере участь в інактивації перекису водню та органічних пероксидів у клітинах вищих тварин та людей. GPO-глікопротеїн, що має в активному центрі чотири атома селену. Він є гідрофільним з'єднанням, що ускладнює його проникнення в ліпідний шар мембран, основна частина ферменту локалізована в цито-

**Таблиця 1. Активність ферментів глутатіонової системи у довгожителів Прикарпаття, М±m**

Досліджувані групи	Активність фермента, мкмоль/(хв·мг)		
	GPO	GRD	GST
Основна, n=60	0,329±0,18	0,219±0,12*	0,305±0,31
Порівняльна, n=30	0,353±0,17	0,069±0,05	0,345±0,18

Примітка. \* – вірогідність відмінностей з показниками групи порівняння (p<0,05)

золі, а інша – в мітохондріях. GPO має селенові ізоферменти: позаклітинний GPO, виявлений в плазмі і молоці, GPO-G1, виділений з цитозолу клітин печінки і кишечника, а також неселеновий ізофермент, ідентичний GST. Результати дослідження функціональної активності генів GPO у мишей показали, що при нокаутному варіанті по одному алельному гену глутатіонпероксидази мають нормальний фенотип, нормальну тривалість життя [9]. Ці дані вказують на те, що даний фермент не є критичним для життєдіяльності. Однак, у мишей, нокаутних за двома копіями гена, рано розвивається катаракта і спостерігаються дефекти в проліферації допоміжних м'язових клітин. Однак, миші нокаутні за геном GPO-G4 (глутатіонпероксидази - 4), гинуть протягом раннього ембріонального розвитку. Існують дані про те, що знижений рівень глутатіонпероксидази - 4 може підвищувати тривалість життя у мишей [10]. Активність GPO в живих клітинах зростає при дії іонізуючої радіації, інтоксикації етанолом, акрилонітрилом, при Е-авітамінізмі. Особливо важлива роль GPO в умовах окиснювального стресу, оскільки попереджає виникнення і розвиток процесів пероксидації. GPO є одним з найважливіших компонентів ферментативної антиоксидантної системи.

У реакціях, що каталізуються GPO, утворюється окиснений глутатіон (GSSG), для його відновлення в клітинах існує спеціальний фермент – глутатіонредуктаза [4]. Не менш важливими в системі детоксикації ксенобіотиків і зниження активності прооксидантних чинників є глутатіон-S-трансфераза. Основна функція GST – захист клітин від ксенобіотиків та продуктів перекисного окиснення за допомогою їх відновлення, приєднання до субстрату молекули глутатіону або нуклеофільного заміщення гідрофобних груп. Проведені нами дослідження показали, що активність GRD та GST у довгожителів становили (0,219±0,12) і (0,305±0,31) мкмоль/(хв·мг) (див. табл. 1); у групі порівняння відповідно – (0,069±0,05) та (0,345±0,18) мкмоль/(хв·мг). Таким чином, отримані результати вказують, що при майже однаковій активності GST як у досліджуваній, так і у групі порівняння, активність ферменту GRD у довгожителів у 3,17 разів більша, порівняно з особами зрілого віку.

### Висновки

1. Виявлено, що активність GPO у всіх довгожителів становила (0,329±0,18) мкмоль/(хв·мг), а у групі порівняння (0,353±0,17) мкмоль/(хв·мг).

2. Доведено, що активність ферменту GRD у довгожителів Прикарпаття у 3,17 разів більша, порівняно з особами зрілого віку.

3. Встановлено тенденцію до зниження активності GST у довгожителів (0,305±0,31) мкмоль/(хв·мг) відносно показників групи порівняння (0,345±0,18) мкмоль/(хв·мг).

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні взаємозв'язку між особливостями поліморфних варіантів делецій генів GSTT1, GSTM1 та активності ферментів глутатіонової системи.

### Література

1. <http://moikompas.ru/compas/avaiserman>
2. Спицын В. А. Наследственные болезни: национальное руководство / Спицын В. А. // М.: ГЭОТАР Медиа. – 2012. – С.244-283.
3. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes in healthy nona-

genarians and centenarians: difference at GSTT1 locus / E. Taioli, D. Mari, C. Franceschi, [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. – 2001. – Vol. 280. – P.1389-1392.

4. Hayes J.D. Glutathione Transferases / J.D. Hayes, J.U. Flanagan, I.R. Jowsey // Ann Rev Pharm Toxicol. – 2005. – Vol. 45. – P. 51-88.

5. Bolt H. M.Relevance of the Deletion Polymorphisms of the Glutathione S-Transferases GSTT1 and GSTM1 in Pharmacology and Toxicology / H. M. Bolt, R. Thier // Current Drug Metabolism. – 2006. – Vol. 7. – P. 613-628.

6. Habig W.H. Glutathione-S-transferases. The first step in mercapturic acid formation / W.H. Habig, M.J. Pabst, W.B. Jacoby // J. Biol. Chem. – 1974. – Vol. 249(22). – P. 7130–7139.

7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. проф. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.

8. Власова С.Н. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей / С.Н. Власова, Е.И. Шабунина, И.А. Переслягина // Лаб. дело. – 1990. – №8. – С. 19–21

9. Trends in oxidative aging theories / F.L. Muller, M.S. Lustgarten, Y. Jang, [et al.] // Biol. Med. – 2007. – Vol.43 (4) — P. 477–503.

10. Ran Q. Reduction in glutathione peroxidase 4 increases life span through increased sensitivity to apoptosis / Q. Ran, H. Liang, Y. Ikeno, [et al.] // J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. – 2007. – Vol. 62 (9) – P. 932–942.

## References

1. <http://moikompas.ru/compas/avaiserman>
2. Spitsin V.A. Ecological genetics of human, Hereditary disease: national leadership, Moscow: GEOTAR Media, 2012, 244-283.
3. E. Taioli, D. Mari, C. Franceschi. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes in healthy nonagenarians and centenarians: difference at GSTT1 locus, Biochem Biophys Res Commun, 2001, 280, 1389-1392.
4. Hayes J.D. Glutathione Transferases, Ann Rev Pharm Toxicol, 2005, 45, 51-88.
5. Bolt H. M.Relevance of the Deletion Polymorphisms of the Glutathione S-Transferases GSTT1 and GSTM1 in Pharmacology and Toxicology, Current Drug Metabolism, 2006, 7, 613-628.
6. Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. Glutathione-S-transferases. The first step in mercapturic acid formation, J. Biol. Chem, 1974, 249(22), 7130–7139.
7. Prokhorov M.I. Methods of biochemical studies (lipid and energy metabolism), Publishing House of Leningrad. University, 1982, 272
8. Vlasova S.N., Shabunina E.I., Pereslyagina I.A. Activity of glutathione dependent enzymes in red blood cells liver Chronic Disease in children, Lab.delo, 1990, 8, 19–21.
9. Muller F.L., Lustgarten M.S., Jang Y., Richardson A. et al. Trends in oxidative aging theories, Biol. Med, 2007 -, 43 (4) –, p. 477–503.
10. Ran Q., Liang H., Ikeno Y. et al. Reduction in glutathione peroxidase 4 increases life span through increased sensitivity to apoptosis J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci., 2007, 62 (9), p. 932–42.

*Козовый Р.В., Ерстенюк Г.М.*

**Анализ активности ферментов глутатионовой системы у долгожителей Прикарпатья**

**Резюме. Вступ.** Актуальным в условиях современной антропогенной нагрузки становится изучение особенностей функционирования детоксикационных систем человека.

**Целью работы** было изучение взаимосвязи между фермента-

тивной активностью глутатионовой системы и продолжительностью жизни в популяции долгожителей Прикарпатья.

**Материалы и методы.** Функциональное состояние ферментативной системы детоксикации ксенобиотиков и антиоксидантного стресса (глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы) изучали по показателям сыворотки крови 60 долгожителей (основная группа) и 30 человек зрелого возраста, в родословных которых не было долгожителей (группа сравнения).

**Результаты и обсуждение.** К мощных антиоксидантам относится система глутатиона. Глутатионпероксидаза (GPO) - фермент, который принимает участие в инактивации перекиси водорода и органических пероксидов в клетках высших животных и людей. При анализе было обнаружено, что активность глутатионпероксидазы у всех долгожителей составила  $(0,329 \pm 0,18)$  мкмоль / (мин · мг), а в группе сравнения  $(0,353 \pm 0,17)$  мкмоль / (мин · мг). В реакциях, катализируемых GPO образуется окисленный глутатион (GSSG), для его восстановления в клетках существует специальный фермент - глутатионредуктаза. Диагностировано, что активность фермента глутатионредуктазы у долгожителей Прикарпатья в 3,17 раза была больше по сравнению с лицами зрелого возраста. Нами установлена тенденция к снижению активности глутатион-S-трансферазы у долгожителей  $(0,305 \pm 0,31)$  мкмоль / (мин · мг) относительно показателей группы сравнения  $(0,345 \pm 0,18)$  мкмоль / (мин · мг).

**Выводы.** Установлено популяционные особенности активности ферментов глутатионовой системы у долгожителей Прикарпатья.

**Ключевые слова:** долгожители, глутатионпероксидаза, глутатион-редуктаза, глутатион-S-трансфераза.

*R.V. Kozovyi<sup>1</sup>, H.M. Ersteniuk<sup>2</sup>*

**Functional Status of Glutathione System of Long Livers (PreCarpathian Region)**

<sup>1</sup>Department of Medical Biology and Medical Genetics

<sup>2</sup>Academician H.O. Babenko Department of Biological and Medical Chemistry

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

**Abstract.** At present studying of the functioning of detoxification systems is very relevant taking into account today's anthropogenic load. The functional state of the enzyme xenobiotic detoxification system and antioxidant stress (glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione-S-transferase) was studied on indicators of blood serum of 60 long livers (study group) and 30 mature individuals having no long livers in their family trees (control group). Having investigated enzymes of glutathione it was found that glutathione peroxidase activity in the group of long livers was  $0.329 \pm 0.18$  mmol/(min·mg), (study group), and  $0.353 \pm 0.17$  mmol/(min·mg), (control group). Thus, the received results show that almost the same activity of glutathione-S-transferase was found in both groups, the activity of glutathione reductase enzyme in long livers was 3.17 times higher as compared to those of mature age. Our studies showed that the activity of glutathione reductase and glutathione-S-transferase in the long livers was  $(0.219 \pm 0.12)$  and  $(0.305 \pm 0.31)$  mmol/(min·mg) (see table); in the control group -  $(0.069 \pm 0.05)$  and  $(0.345 \pm 0.18)$  mmol/(min·mg) respectively.

**Keywords:** long livers, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase.

Надійшла 201.01.2014 року.