

УДК 577.12:612.22

**О. А. Абрамова**, асп., **О. В. Запорожченко**, канд. біол. наук, доц.Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна. Тел: (0482) 68-78-75

## ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЕРИТРОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПОКСИЧНОЇ ГІПОКСІЇ

Досліджено вплив гіпоксичної гіпоксії на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і активність супероксиддисмутази, каталази, церулоплазміну та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в крові та органах щурів. Встановлено, що при гіпоксії відбувається активація ПОЛ в плазмі крові, еритроцитах, головному мозку, серці та печінці щурів. В еритроцитах щурів спостерігається зниження активності супероксиддисмутази та посилення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

**Ключові слова:** гіпоксія, перекисне окиснення ліпідів.

Гіпоксія є патофізіологічною основою для розвитку багатьох патологічних станів і захворювань людини [1–3]. Відомо, що за умов гіпоксії спостерігається активація процесів вільнорадикального та перекисного окиснення [4]. Вільні радикали, що при цьому утворюються, можуть пошкоджувати клітинні мембрани [5]. Основними ферментами антиоксидантного захисту є супероксиддисмутаза (СОД), каталаза та церулоплазмін, які знешкоджують супероксидні радикали [6]. Крім цього, церулоплазмін сприяє окисненню іонів заліза без утворення супероксидних радикалів та зв'язує іони міді, запобігаючи ушкодженню клітини за оксидантної дії [7]. У зв'язку з цим метою даної роботи було дослідити рівень ПОЛ в крові та органах щурів, а також стан ключових ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах щурів за умов гіпоксичної гіпоксії.

### Матеріали та методи

Досліді було проведено на 15 щурах лінії Вістар, що утримувалися в стандартних умовах віварію. Для створення умов гіпоксичної гіпоксії щурів на 1 годину поміщали в камеру, звідки було викачане повітря до рівня парціального тиску 217 мм рт. ст. Контрольну групу складали 10 інтактних тварин.

Матеріалом досліджень були плазма крові, гемолізат еритроцитів та гомогенати головного мозку, серця та печінки щурів. Кров щурів, стабілізовану цитратом натрію у співвідношенні 1:9, центрифугували 15 хвилин за умов 1200 g та відбирали плазму. Осад еритроцитів тричі промивали фізіологічним розчином (рН 7,4) і кожен раз центрифугували 10 хвилин при 1200 g. Для отримання гемолізату еритроцити обробляли 0,001 М розчином гістидину (рН 7,4) протягом однієї години.

Інтенсивність процесів ПОЛ визначали за вмістом первинних та вторинних продуктів цього окиснення — дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА) [8, 9]. Активність каталази визначали за кольоровою реакцією з молібдатом, використовуючи за субстрат  $H_2O_2$  [10], активність СОД — за інгібуванням відновлення нітросинього тетразолію [11], оксидазну активність церулоплазміну — за реакцією з р-фенілендіаміном [12], активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФДГ) — за утворенням НАДФН [13]. Білок визначали за методом Лоурі [14]. Результати оброблено статистично з використанням t-критерію Стьюдента [15].

### Результати досліджень

Результати визначення вмісту продуктів ПОЛ в крові та органах щурів наведено в таблиці 1, з якої видно, що рівень первинних молекулярних продуктів ПОЛ — дієнових кон'югатів — за умов гіпоксії зростає в усіх досліджуваних тканинах: на 124,4% — в плазмі крові, на 70,7% — в еритроцитах, на 76% — в головному мозку, на 104,9% — в серцевому м'язі та на 44% — в печінці. Вміст МДА, що є вторинним молекулярним продуктом ПОЛ, зростає на 366% в плазмі крові, на 98,4% — в серцевому м'язі, на 231% — в печінці. Особливо значним (більш ніж у 8 разів) його збільшення було в тканинах головного мозку, тоді як вміст МДА в еритроцитах залишався практично незмінним. Таким чином, після знаходження щурів протягом однієї години в умовах гіпоксичної гіпоксії відбувається активація процесів ПОЛ в плазмі крові, еритроцитах, головному мозку, серцевому м'язі та печінці щурів.

Таблиця 1

#### Вміст ДК та МДА (нмоль/мг білка) в плазмі крові, еритроцитах та органах щурів за гіпоксичної гіпоксії

Тканини	Показник	Контроль	Гіпоксія
Плазма крові	ДК	8,57 ± 0,59	19,23 ± 2,83***
	МДА	1,97 ± 0,31	9,18 ± 1,57***
Гемолізат еритроцитів	ДК	16,61 ± 3,13	28,36 ± 3,52*
	МДА	2,62 ± 0,29	2,88 ± 0,42
Головний мозок	ДК	5,25 ± 0,51	9,24 ± 1,18**
	МДА	1,05 ± 0,17	8,59 ± 1,63***
Серце	ДК	5,47 ± 0,59	11,19 ± 1,94**
	МДА	1,91 ± 0,39	3,79 ± 0,74*
Печінка	ДК	10,32 ± 1,57	14,86 ± 1,81
	МДА	1,16 ± 0,28	3,84 ± 0,59**

Примітка: Різниця з контролем вірогідна: \*\*\* —  $p < 0,001$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \* —  $p < 0,05$ .

Активізація вільнорадикального окиснення в крові щурів за гіпоксії може бути обумовлена зміною активності антиоксидантних ферментів. Показано, що в еритроцитах спостерігається інактивація ферменту первинного антиоксидантного захисту — СОД — на 25,6% (табл. 2).

Таблиця 2

**Активність каталази, СОД, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФДГ) і церулоплазміну в еритроцитах за гіпоксичної гіпоксії**

Показник	Контроль	Гіпоксія
Каталаза, од/мг білка	49,10 ± 5,91	50,92 ± 4,80
СОД, од/мг білка	44,6 ± 3,7	33,2 ± 2,8*
Г6ФДГ, нмоль НАДФН/хв/мг білка	11,25 ± 1,71	17,97 ± 1,30*
Церулоплазмін, мкм/г білка	3,23 ± 0,41	3,59 ± 0,38

Примітка: \* — різниця з контролем вірогідна ( $p < 0,05$ ).

При цьому активність каталази залишається в межах норми, а активність ключового ферменту пентозофосфатного шунту — Г6ФДГ — зростає на 59,7%, в той час як активність одного з основних антиоксидантних білків плазми, якому також притаманна СОД-подібна дія, — церулоплазміну — істотно не змінюється.

Зростання активності Г6ФДГ в еритроцитах за умов гіпоксичної гіпоксії свідчить про посилення синтезу НАДФН в цих клітинах, що є необхідним для інтенсивного функціонування еритроцитарних антиоксидантних систем. Водночас, посилення процесів ПОЛ в крові та дискоординація функціонування антиоксидантних ферментів в еритроцитах свідчать про розвиток патологічних реакцій за умов гіпоксичної гіпоксії і можуть призвести до структурної дестабілізації еритроцитів.

**Висновки:**

1. В умовах гіпоксичної гіпоксії відбувається активація процесів ПОЛ в плазмі крові, еритроцитах, головному мозку, серцевому м'язі та печінці щурів у порівнянні з контролем.

2. В еритроцитах щурів при гіпоксичній гіпоксії відбувається інактивація СОД, тоді як активність каталази та прооксидазна активність церулоплазміну істотно не змінюються.

3. За умов гіпоксії відбувається посилення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах, що є ознакою інтенсивного синтезу НАДФН як компенсаторної реакції метаболізму клітин на високий рівень ПОЛ за гіпоксії.

### Література

1. Лосев Н. И. Патологическая физиология гипоксических состояний и адаптация организма к гипоксии. — М.: ММИ, 1982. — 81 с.
2. Мезен Н. И. Биохимические аспекты гипоксического повреждения нервной ткани и его коррекция производными многоатомных фенолов. Автореф. дис. ...канд. биол. наук: 03.00.04 / Минский гос. мед. ин-т. — Минск, 1998. — 18 с.
3. Рыженков В. Е., Ремезова О. В. Роль гипоксии и эффективность антигипоксантов при атеросклерозе // Гипоксия и окислительные процессы. — Н. Новгород: Изд-во Нижегород. мед. ин-та, 1993. — С. 98–110.
4. Медведев Ю. В., Толстой А. Д. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма. — М.: Терра-Календер и Промоушн, 2000. — 232 с.
5. Effect of antioxidant supplementation on ozone-induced lung injury in human subjects / Samet J. M., Hatch G. E., Horstman D. et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2001. — V. 164. — P. 819–825.
6. Коррелятивные связи между активностью супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы печени мышей / Мурадян Х. К., Утко Н. А., Мозжухина Т. Г. и др. // Укр. біохім. журн. — 2003. — Т. 75, № 1. — С. 33–37.
7. Якименко І. Л., Сидорик Є. П. Регуляторна дія низькоінтенсивного лазерного випромінювання на стан антиоксидантної системи організму // Укр. біохім. журн. — 2001. — Т. 73, № 1. — С. 16–23.
8. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 63–64.
9. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 66–68.
10. Определение активности каталазы / Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
11. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. — 1985. — № 11. — С. 78–81.
12. Колб В. Г., Камышников В. С. Справочник по клинической химии. — Минск: Беларусь, 1982. — 366 с.
13. Vannoorden C., Dolbeare F., Aten J. Detection of glucose-6-phosphate-dehydrogenase in human erythrocytes // J. Histochem. Cytochem. — 1989. — V. 37, № 9. — P. 1313–1318.
14. Protein measurement with the Folin phenol reagent / Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. Z., Randal L. J. // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193. — P. 265–275.
15. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. — М.: Практика, 1998. — 459 с.

**Е. А. Абрамова, А. В. Запорожченко**

Одесский национальный университет, кафедра биохимии,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина. Тел: (0482) 68-78-75

**ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И СИСТЕМА  
АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЭРИТРОЦИТАХ КРЫС  
В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ**

**Резюме**

Исследовано влияние гипоксической гипоксии на содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность супероксиддисмутазы, каталазы, церулоплазмينا и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в крови и органах крыс. Установлено, что при гипоксии происходит активация ПОЛ в плазме крови, эритроцитах, головном мозге, сердце и печени крыс. В эритроцитах крыс наблюдается снижение активности супероксиддисмутазы и повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

**Ключевые слова:** гипоксия, перекисное окисление липидов.

**E. A. Abramova, A. V. Zaporozhenko**

Odessa National University, Department of Biochemistry,  
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine. Tel: (0482) 68-78-75

**LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT DEFENCE SYSTEM  
IN RATS ERYTHROCYTES UNDER CONDITIONS OF HYPOXIC  
HYPOXIA**

**Summary**

The influence of hypoxic hypoxia on lipid peroxidation products content and superoxide dismutase, catalase, ceruloplasmin and glucose-6-phosphate-dehydrogenase activity in blood and organs of rats has been investigated. It was shown that during hypoxia activation of lipid peroxidation in plasma, erythrocytes, brain, heart and liver of rats takes place. In rats erythrocytes superoxide dismutase activity decreasing and glucose-6-phosphate-dehydrogenase activity rising are observed.

**Keywords:** hypoxia, lipid peroxidation.