

АДАПТАЦІЯ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ СЕРЦЯ ЩУРІВ ДО ДІЇ ГОСТРОГО СТРЕСУ ПІД ВПЛИВОМ РІЗНИХ РЕЖИМІВ ГІПОКСИЧНИХ ТРЕНУВАНЬ

О. О. ГОНЧАР, І. М. МАНЬКОВСЬКА

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ;
e-mail: ogonchar@yandex.ru

У тканинах серця вивчали інтенсивність процесів пероксидного окислення ліпідів, вміст відновленого (GSH) та окисненого (GSSG) глутатіону, активність ферментів глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансферази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) та NADP-ізоцитратдегідрогенази (NADP-ІЦДГ) під час гострого іммобілізаційного стресу у щурів після 3-тижневих інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГТ) в різних режимах. Було встановлено, що дія стресу після ІГТ в режимі I (5-хвилинне дихання газовою сумішшю з 7% O₂ в азоті, яке чергується з 15-хвилинними нормоксичними інтервалами) інтенсифікує пероксидні процеси в міокарді та зумовлює зміщення значення параметра GSH/GSSG у бік окисненого компонента. Дисбаланс антиоксидантної системи захисту обумовлюється зниженням вмісту GSH, активності глутатіонпероксидази і Г-6-ФДГ. Показано, що підтримання активності глутатіонредуктази в період стресу у тварин цієї групи на фоні зниженої активності ферментів пентозофосфатного шляху відбувається за участю NADP-ІЦДГ. Тренування щурів у режимі II (5-хвилинне дихання газовою сумішшю з 12% O₂ в азоті, яке чергується з 15-хвилинними нормоксичними інтервалами) має позитивний коригувальний вплив на пероксидне окислення ліпідів після дії стресу. Зростання вмісту відновленого глутатіону, збалансованість ферментів глутатіонового редокс-циклу у тканині серця цих тварин свідчить про залежність ефекту адаптації від особливостей гіпоксичної експозиції в циклах гіпоксія/оксигенація. Дійшли висновку, що активна участь глутатіонової системи у формуванні адаптаційних реакцій під час дії екстремальних факторів визначається її впливом на внутрішньоклітинний окисно-відновний потенціал, а також на ефективність системи антирадикального та антипероксидного захисту.

Ключові слова: інтервальні гіпоксичні тренування, адаптація, стрес, глутатіон, ферменти глутатіонової системи.

Поширення стресорних впливів і гіпоксичних станів та їхня участь у патогенезі багатьох захворювань обумовлює актуальність проблеми підвищення резистентності організму до дії стресорних подразників. Відомо, що гіпоксія є не тільки деструктивним, але й конструктивним фактором, дія якого на клітини за певних умов сприяє формуванню довготривалої адаптації до дефіциту кисню [1]. Останнім часом особливого значення як біостимулятора обмінних процесів набуло інтервальне гіпоксичне тренування (ІГТ), яке знайшло досить широке впровадження в медичній та спортивній практиці [2]. Однак незважаючи на різнобічне використання цього методу, механізм його впливу на адаптацію організму до гіпоксії і досі остаточно не з'ясовано. Нині вивчення вищезазначених питань проводиться на субклітинному та молекулярному рівнях, причому істотна увага приділяється процесам, пов'язаним із вільнорадикальним

окисленням та його участю у внутрішньоклітинній редокс-сигналізації [3].

Відомо, що адаптація до гіпоксичної гіпоксії є ефективним засобом підвищення стійкості організму до різних екстремальних впливів – гіпобаричної гіпоксії, стресу, фізичних навантажень тощо [4–6]. Багаторічні дослідження свідчать про значну роль у формуванні захисних ефектів адаптації стреслімітувальних систем, до яких належить і антиоксидантна система [7]. Ланка антиоксидантних реакцій в механізмі захисних процесів є провідною і найбільш потужною, оскільки вони запобігають не тільки розвитку вільнорадикальних реакцій, накопиченню супероксид-аніонів та пероксидів, але й підтримують високу активність окисно-відновних процесів, забезпечують елімінацію кінцевих кисневих метаболітів із залученням їх до енергетичного обміну і активації процесів синтезу [8].

Важливу роль у реалізації антирадикального та антипероксидного захисту клітин відіграє глутатионова система [8,9]. Узгоджена дія всіх її компонентів (відновленого глутатіону, глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансферази, глутатіонредуктази) сприяє встановленню оптимального рівня пероксидних сполук і збереженню антиоксидантного гомеостазу. Згідно з даними останніх досліджень, можна припустити неспецифічний характер змін вмісту тіолових сполук у тканинах унаслідок дії на організм екстремальних факторів, а також участь їх у формуванні адаптаційних процесів [9]. Відомо, що функціонування неферментативної і ферментативної ланок антиоксидантної системи залежить від фонду донорів водню. Внутрішньоклітинні запаси NADPH забезпечують підтримання глутатіону у відновленому стані і, таким чином, впливають на стан глутатионового редокс-циклу [10]. Реакцію антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази) на інтервальний гіпоксичний вплив досліджували різні автори [2, 6]. Однак питання щодо участі глутатіону, ферментів глутатионового циклу, а також ферментів, які генерують NADP у адаптаційних перебудовах під час тривалого гіпоксичного тренування, вивчені недостатньо. Відомо, що періоди гіпоксії/оксигенації призводять до індукції активних форм кисню, які уражують клітини або запускають каскад внутрішньоклітинних перебудов. У літературі дискутуються питання стосовно оптимальної інтенсивності та тривалості циклів гіпоксія/оксигенація під час тренувань, проте однозначної відповіді на них немає і дотепер [1,2].

Тому метою дослідження було вивчення участі глутатіону, ферментів глутатионового циклу і ферментів, що генерують NADP, у формуванні адаптаційних реакцій до гострого стресу у тварин, тренуваних при різних режимах ІГТ.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар з масою тіла 200–220 г, яких утримували у віварії на стаціонарному раціоні. Перед дослідженням тварин розділили на групи (по 6 у кожній). До групи 1 (контроль) включили щурів, що перебували у звичайних умовах (за нормоксії). Тварини групи 2 впродовж 6 год зазнавали дії гострого іммобілізаційного стресу (у пластикових пеналах із жорсткою фіксацією). Щури групи 3 дихали гіпоксичною газовою сумішшю, що містила 7% O₂ в азоті протягом 5 хв з 15-хвилинними нормоксични-

ми інтервалами. Чергування чотирьох періодів гіпоксія/нормоксія тривали щодня 65 хв упродовж трьох тижнів (режим I). Тварин групи 4 на першу добу після 3-тижневих гіпоксичних тренувань у режимі I піддавали дії 6-годинного іммобілізаційного стресу. Щури групи 5 дихали гіпоксичною сумішшю, що містила 12% O₂ в азоті протягом 5 хв з 15-хвилинними нормоксичними інтервалами. Сеанси ІГТ продовжувалися 65 хв щодня 3 тижні (режим II). Тварин групи 6 на першу добу після 3-тижневих гіпоксичних тренувань у режимі II піддавали дії 6-годинного іммобілізаційного стресу. Сеанси інтервальних гіпоксичних тренувань відбувались у герметичних нормобаричних камерах, де підтримували температуру 20–22 °С. Для поглинання виділеного щурами вуглекислого газу і водяних парів в камерах використовували адсорбент. Вибір складу гіпоксичної суміші 12% O₂ в азоті, було обумовлено тим, що вона вважається “критичною”. Під час дихання нею відбуваються значні зміни обмінних процесів у тканинах, унаслідок чого формуються ефективні пристосувальні реакції. Газова суміш, що містить 7% O₂ в азоті дає можливість визначити межу адаптивної здатності організму до гіпоксії як на системному, так і тканинному рівнях [11].

Ефективність дії стресу на щурів контролювали за змінами маси надниркової залози і тимуса, а також за виразковими ушкодженнями шлунка. Тварин першої, другої, четвертої та шостої груп декапітували під легким ефірним наркозом відразу після експерименту, тварин груп 3 і 5 – на наступну добу після курсу ІГТ. Тканину серця промивали охолодженим 0,9%-м розчином NaCl. Усі маніпуляції із тканинами здійснювали при температурі 0–4 °С. Гомогенати тканини, виготовлені на 0,025 М Tris-HCl-буфері, що містив 1 мМ ЕДТА і 1% β-меркаптоетанолу (рН 7,8; співвідношення 1 : 9), центрифугували (15 000 g, 20 хв). Інтенсивність процесів ПОЛ та активність ферментів визначали спектрофотометричним методом у постмітохондріальній фракції. Вивчали вміст вторинних продуктів ПОЛ, які, реагуючи з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК), утворюють ТБК-активні продукти (λ 532 нм) [12]. Рівень їх (в нмолях/мг білка) розраховували з використанням коефіцієнта молярного поглинання (1,56 · 10⁵ М⁻¹ · см⁻¹).

Активність глутатіонредуктази (КФ 1.6.4.2) оцінювали за зменшенням вмісту NADPH/хв на 1 мг білка (довжина хвилі – 340 нм) [13]. Активність глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) тестували за вмістом відновлено-

го глутатіону на 1 мг білка (довжина хвилі – 412 нм) [13], активність глутатіон-S-трансферази (КФ1.5.1.18) – методом W. H. Nabig et al. [14], який ґрунтується на ферментативному зв'язуванні глутатіону з 1-хлор-2,4-динітробензолом і утворенні кон'югатів, з максимумом світлопоглинання при 340 нм. Активність глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази (Г-6-ФДГ; КФ 1.1.1.49) визначали в середовищі, що містило 0,05 мМ Tris-HCl-буфера (рН 7,8); 3,2 мМ глюкозо-6-фосфату та 0,25 мМ NADPH [13]. Активність NADP-ізоцитратдегідрогенази (NADP-ІЦДГ, КФ 1.1.1.42) реєстрували за швидкістю відновлення NADP у середовищі з 50 мМ Tris-HCl-буфера (рН 7,8), що містило 1,5 мМ ізоцитрату та 0,25 мМ NADP [13].

Вміст форм глутатіону вивчали в безбілкових гомогенатах міокарда в 5%-й сульфосаліциловій кислоті. Кількість загального глутатіону визначали за реакцією з 5,5-дитіобіс(2-нітробензойною) кислотою у присутності 0,3 мМ NADPH та глутатіонредуктази (2 У/мл). Кількість окисленого глутатіону (GSSG) тестували у присутності 2-вінілпіридину [15]. Одержані дані використовували для обчислення вмісту відновленого глутатіону (GSH) та величини його відношення до окисленого. Концентрацію білка визначали методом Н. Н. Lowry et al.

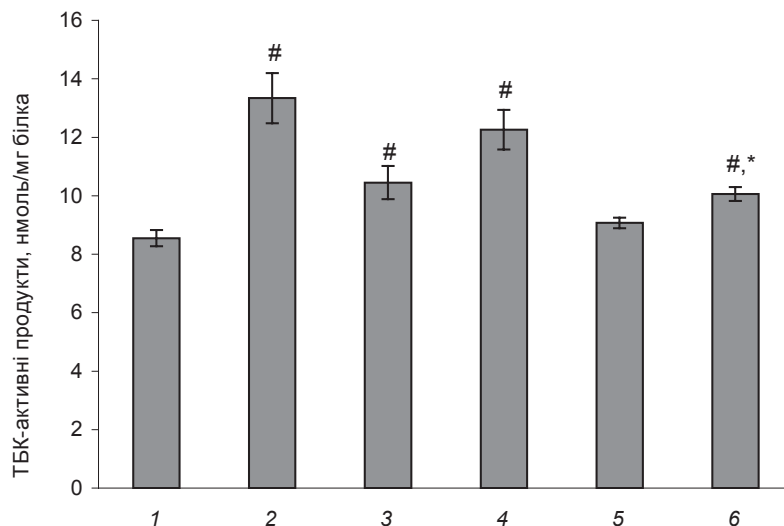
Результати досліджень обробляли статистично за допомогою програми "Origine, 7.0". Вірогідність розбіжностей показників між групами щурів встановлювали методом дис-

персійного аналізу ANOVA з використанням тесту Bonferroni (post-hoc test).

Результати та обговорення

Інтервальне гіпоксичне тренування щурів у режимі I упродовж трьох тижнів зумовлює збільшення у тканині серця вмісту ТБК-активних продуктів на 18% ($P < 0,001$, рис. 1) порівняно з контрольними. При цьому спостерігається підвищення рівня GSSG на 20% ($P < 0,001$) та зниження GSH на 13% ($P < 0,01$). Порушення балансу між кількістю GSH та GSSG у бік накопичення окисленого глутатіону свідчить про збереження в міокарді окислювальних процесів та зниження відновлювального потенціалу [9].

Зменшення на 26% глутатіонпероксидазної активності ($P < 0,001$) у тварин групи 3, на відміну від контролю, зумовлюється, імовірно, поступовим вичерпанням пулу GSH в антирадикальних реакціях, а також підвищеною чутливістю до O_2^- , який здатен інгібувати глутатіонпероксидазу [10]. Стимуляція активності глутатіонтрансферази на 17% ($P < 0,05$) відносно контролю на фоні пригнічення активності глутатіонпероксидази можна розглядати як компенсаторну реакцію, оскільки обидва ферменти в метаболізмі гідропероксидів комплементарні [17]. Тренування тварин у режимі I знижує активність як глутатіонредуктази, так і NADPH-генерувальних ферментів – Г-6-ФДГ та NADP-ІЦДГ на 24 ($P < 0,001$), 22 ($P < 0,05$)



*Вплив різних режимів інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГТ) та іммобілізаційного гострого стресу (ІГС) на вміст ТБК-активних продуктів у серці щурів: 1 – контроль, 2 – ІГС, 3 – інтервальне гіпоксичне тренування (ІГТ) в режимі I, 4 – ІГТ в режимі I + ІГС, 5 – ІГТ в режимі II, 6 – ІГТ в режимі II + ІГС. # $P < 0,05$ порівняно з контролем, * $P < 0,05$ порівняно з ІГС у щурів.*

і 35% ($P < 0,001$) відповідно порівняно зі щурами у нормоксичних умовах (табл. 2). Накопичення GSSG через порушення активності глутатіонредуктази може призвести до дисбалансу антиоксидантної системи, оскільки токсичний GSSG утворює змішані дисульфідні з тиолвмісними ферментами, що порушує їхню активність [16].

Використання в методі ІГТ гіпоксичної складової помірної інтенсивності (дихання газовою сумішшю з 12% O_2 в азоті) спричинює дещо іншу реакцію прооксидантно-антиоксидантної системи. Так, на відміну від тварин групи 3, у щурів, яких тренували в режимі ІІ, виявлено лише тенденцію до підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації. Активність глутатіон-S-трансферази і NADP-ЩДГ підвищується на 27% та на 43% відповідно ($P < 0,001$), у той час як глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та Г-6-ФДГ залишається в межах контролю. Однак вміст GSSG перевищує контроль на 16% ($P < 0,001$), що, ймовірно, обумовлено активним функціонуванням глутатіонпероксидази. При цьому рівень GSH у міокарді має тенденцію до підвищення. Збереження глутатіонового пулу за таких умов тренування зумовлено взаємопов'язаним функціонуванням у глутатіоновому редокс-циклі глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази (табл. 1 та 2). Відомо, що метаболічна відповідь клітини на дію екстремального подразника залежить від її окисно-відновного стану, який через варіабельність рівня відновленості низькомолекулярних сполук і білків (тиоредоксин, глутатіону і ін.) та ефективності системи антиоксидантного захисту здатен впливати на формування адаптаційних реакцій [16].

Результати досліджень стану глутатіонової системи тканини серця щурів в умовах помірного кисневого дефіциту, на відміну від жорсткого гіпоксичного режиму, свідчать про її підвищену збалансованість та потужність. Це узгоджується з даними інших авторів, згідно з якими збільшення ступеня та тривалості гіпоксії призводить до інтенсивнішої продукції активних форм кисню, виникнення побічних негативних ефектів та порушення адаптаційних процесів [6, 18].

Для оцінки загальної резистентності тварин, які пристосувалися до гіпоксії при різних режимах ІГТ, вивчали реакцію глутатіонової системи на гострий стресорний подразник. Сам по собі іммобілізаційний стрес значно активує процеси ліпопероксидації. Так, концентрація ТБК-активних продуктів у серці порівняно з контролем підвищується на 56% ($P < 0,001$, рисунок), а вміст GSH знижується на 16% ($P < 0,001$) на тлі підвищення кількості GSSG на 59% ($P < 0,001$). Аналогічну закономірність описано також у роботах авторів, які вивчали дію на організм болювого подразнення, травматичного шоку та інших стресорних факторів [9]. Значне зниження внаслідок стресу величини GSH/GSSG порівняно з контролем свідчить про наявність оксидативного стресу в міокарді щурів (табл. 1).

Як показали результати експериментів, гострий стрес впливає на стан як неферментативної, так і ферментативної ланки антиоксидантного захисту: знижується активність глутатіонредуктази та Г-6-ФДГ, в той час як активність глутатіон-S-трансферази і NADP-ЩДГ знаходиться у межах контролю. Висока спорідненість глутатіонпероксидази до H_2O_2

Таблиця 1. Вплив різних режимів інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГТ) та іммобілізаційного гострого стресу (ІГС) у щурів на стан глутатіонового пулу в серці ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Показник	GSH, мкмоль/г тканини	GSSG, мкмоль/г тканини	GSH/GSSG
1	Контроль (нормоксія)	1,14 ± 0,064	0,056 ± 0,002	20,31 ± 0,59
2	ІГС	0,95 ± 0,065 ^a	0,089 ± 0,002 ^a	10,70 ± 0,43 ^a
3	ІГТ, режим І	0,99 ± 0,057 ^b	0,067 ± 0,002 ^a	14,72 ± 0,71 ^a
4	ІГТ, режим І + ІГС	0,95 ± 0,051 ^a	0,081 ± 0,003 ^{a,*}	11,71 ± 0,70 ^a
5	ІГТ, режим ІІ	1,17 ± 0,063 [#]	0,065 ± 0,002 ^a	18,00 ± 0,81 ^{a,#}
6	ІГТ, режим ІІ + ІГС	1,15 ± 0,048 ^{*,+}	0,071 ± 0,002 ^{a,*,+}	16,17 ± 0,67 ^{a,*,+}

Примітка: ^a $P < 0,001$, ^b $P < 0,01$ і ^c $P < 0,05$ відносно контролю; * $P < 0,001$ та ** $P < 0,01$ порівняно зі щурами, які зазнали ІГС (група 2); # $P < 0,001$ порівняно із тваринами груп 3 та 5; + $P < 0,001$ порівняно зі щурами груп 4 та 6.

Таблиця 2. Вплив різних режимів інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГТ) та іммобілізаційного гострого стресу (ІГС) у щурів на активність ферментів глутатіонової системи та NADP-генерувальних ферментів у серці щурів ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Показник	Глутатіон-редуктаза, нмоль/хв на 1 мг білка	Глутатіон-пероксидаза, мкмоль/хв на 1 мг білка	Глутатіон-S-трансфераза, нмоль/хв на 1 мг білка	Г-6-ФДГ, нмоль/хв на 1 мг білка	NADP-ІЦДГ, нмоль/хв на 1 мг білка
1	Контроль (нормоксія)	11,39 ± 0,87	5,26 ± 0,08	6,25 ± 0,61	4,48 ± 0,52	150,59 ± 5,48
2	ІГС	8,51 ± 0,67 ^a	6,44 ± 0,12 ^a	6,23 ± 0,26	4,06 ± 0,56	159,34 ± 11,69
3	ІГТ, режим I	8,66 ± 0,74 ^a	3,90 ± 0,11 ^a	7,27 ± 0,30 ^c	3,47 ± 0,53 ^c	98,47 ± 7,20 ^a
4	ІГТ, режим I + ІГС	9,81 ± 0,56	4,72 ± 0,39 ^{b,*}	8,51 ± 0,31 ^{a,*}	3,16 ± 0,61 ^b	160,22 ± 8,75
5	ІГТ, режим II	12,62 ± 0,75 [#]	5,68 ± 0,31 [#]	7,95 ± 0,82 ^a	4,88 ± 0,30 [#]	215,60 ± 6,72 ^{a,#}
6	ІГТ, режим II + ІГС	10,85 ± 1,16 ^{**}	5,03 ± 0,05 [*]	5,25 ± 0,13 ^{*,+}	4,21 ± 0,46 ⁺⁺	156,21 ± 5,40

Примітка: ^a $P < 0,001$, ^b $P < 0,01$, ^c $P < 0,05$ відносно контролю; ^{*} $P < 0,001$ та ^{**} $P < 0,01$ порівняно зі щурами, які зазнали дії ІГС (група 2); [#] $P < 0,001$ порівняно із тваринами груп 3 та 5; ⁺ $P < 0,001$ і ⁺⁺ $P < 0,01$ порівняно зі щурами груп 4 і 6.

і значна доступність цього субстрату в умовах оксидативного стресу зумовлює, імовірно, підвищення на 23% активності глутатіонпероксидази ($P < 0,001$; табл. 1 та 2).

Після іммобілізаційного стресу у тварин, яких тренували в режимі I, вміст ТБК-активних продуктів та GSSG в серці має лише тенденцію до зниження порівняно із тваринами групи 2. Низька концентрація GSH у міокарді за цих умов вірогідно обумовлюється активним залученням глутатіону до антирадикальних та антипероксидних реакцій захисту. При цьому активність глутатіонредуктази зростає на 15% на тлі зниження активності Г-6-ФДГ та збереженні активності NADP-ІЦДГ на рівні контролю. Це свідчить, що за оксидативного стресу підтримання глутатіонового редокс-циклу у тварин групи 4 відбувається, переважно, за участю ІЦДГ. Взаємодію NADP-ІЦДГ і глутатіонредуктази висвітлено також у роботах інших авторів, зокрема при ішемічному ушкодженні міокарда щурів [19]. Таким чином, ми маємо підставу припустити, що синтез NADPH в NADP-ІЦДГ реакціях під час дії екстремальних факторів може бути істотним альтернативним джерелом відновних еквівалентів у разі низької активності ферментів пентозофосфатного шляху. Відомо, що глутатіон-S-трансфераза і глутатіонпероксидаза конкурують за GSH як субстрат за умов зниження його вмісту у клітинах. При цьому глутатіон-S-трансфераза здатна виявляти антипероксидну активність, перебираючи на себе функції глутатіон-

пероксидази [17]. Тому виявлену у тварин групи 4 активацію глутатіон-S-трансферази на тлі зниження активності глутатіонпероксидази можна розглядати як компенсаторну реакцію, спрямовану на нейтралізацію вторинних метаболітів кисню.

Унаслідок дії надзвичайного подразника на тварин, адаптованих до гіпоксії в режимі II, вміст вторинних продуктів ПОЛ та GSSG знижується на 24 і 20% відповідно ($P < 0,001$), а кількість GSH підвищується на 21% ($P < 0,001$) порівняно з показниками у щурів групи 2. Відомо, що збільшення внутрішньоклітинного пулу GSH залежить від швидкості відновлення утвореного GSSG у глутатіонредуктазних реакціях [10]. Ріст активності глутатіонредуктази у тварин групи 6 порівняно з групою 2 обумовлено, ймовірно, достатньою кількістю внутрішньоклітинних запасів NADPH, про що свідчить збереження за стресових умов активності NADPH-генерувальних ферментів на рівні контролю. Деяке зниження при цьому активності глутатіонпероксидази і глутатіон-S-трансферази у міокарді тварин групи 6 можна пояснити, імовірно, активним функціонуванням ферментів та уповільненням інтенсивності пероксидних процесів (табл. 1 та 2).

Одержані результати узгоджуються з даними інших авторів відносно позитивних ефектів адаптації до гіпоксичної гіпоксії в разі дії стресорних факторів [2, 5, 7], однак механізми такого ефекту ще дотепер не з'ясовані. Вважається, що під час циклічних переходів

гіпоксія—нормоксія біостимулювальний вплив на обмінні процеси відбувається переважно внаслідок активації вільнорадикальних процесів [4]. Активні форми кисню відіграють роль вторинних месенджерів і активують фактори транскрипції — гіпоксія індукцйбельний фактор (hypoxia-inducible factor — HIF-1), ядерний транскрипційний фактор κВ (nuclear factor — NF-κB) і активатор протеїну (activator protein — AP-1) — та відповідні гени, що, у свою чергу, стимулюють синтез протекторних білків, передусім ферментів антирадикального захисту [3, 20]. Багаторазова низькоінтенсивна індукція активних форм кисню у процесі ІГТ спричинює підвищення резистентності клітин до дії стресорного чинника і формує довгострокову адаптацію [18].

Одержані результати свідчать, що неферментативні та ферментативні ланки глутатионової системи беруть безпосередню участь у формуванні адаптивної відповіді на періодичний гіпоксичний вплив. При цьому ефект адаптації до дефіциту кисню, поряд з іншими чинниками, залежить від інтенсивності гіпоксичної складової в циклах гіпоксія/реоксигенація. Тренування щурів у режимі з використанням короткотривалих гіпоксичних експозицій помірної інтенсивності (режим ІІ), на відміну від режиму І, є ефективнішим і приводить до зростання потужності антиоксидантної глутатионової системи серця, що підтримує захисні можливості організму під час дії іммобілізаційного стресу.

АДАПТАЦІЯ ГЛУТАТИОНОВОЇ СИСТЕМИ СЕРЦЯ КРЫС К ДЕЙСТВИЮ ОСТРОГО СТРЕССА ПОД ВЛИЯНИЕМ ГИПОКСИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК РАЗНЫХ РЕЖИМОВ

О. А. Гончар, И. Н. Маньковская

Институт физиологии им. А. А. Богомольца
НАН Украины, Киев;
e-mail: ogonchar@yandex.ru

В ткани сердца изучали интенсивность процессов перексидного окисления липидов, содержание восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона, активность ферментов глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и NADP-изоцитратдегидрогеназы (NADP-ИЦДГ) при действии острого иммобилизационного стресса у крыс, прошедших 3-недельную интервальную гипоксическую тренировку (ИГТ) в раз-

личных режимах. Было показано, что действие стресса после ИГТ в режиме І (5-минутное дыхание газовой смесью с 7% O₂ в азоте, которое чередовали с 15-минутными нормоксическими интервалами) способствует усилению перексидных процессов в миокарде и сдвигом отношения GSH/GSSG в сторону окисленного глутатиона. Дисбаланс в антиоксидантной системе защиты обуславливается снижением содержания GSH, активности глутатионпероксидазы и Г-6-ФДГ. Было показано, что поддержание активности глутатионредуктазы в условиях стресса у животных этой группы на фоне сниженной активности ферментов пентозофосфатного пути осуществляется с участием NADP-ИЦДГ. Тренировка животных в режиме ІІ (5-минутное дыхание газовой смесью с 12% O₂ в азоте, которое чередовали с 15-минутными нормоксическими интервалами) оказывает положительное корригирующее действие на процессы перексидного окисления липидов после стресса. Рост восстановительного потенциала глутатиона, сбалансированность ферментов глутатионового редокс-цикла в сердце у этой группы животных свидетельствует о зависимости эффекта адаптации от силы гипоксической экспозиции в циклах гипоксия/оксигенация.

Сделан вывод об активном участии глутатионової системи в формировании адаптивных реакций у крыс при действии экстремальных факторов посредством влияния на внутриклеточный окислительно-восстановительный потенциал, а также эффективность антирадикальной и антиперексидной защиты.

Ключевые слова: интервальные гипоксические тренировки, адаптация, стресс, глутатион, ферменты глутатионової системи.

GLUTATHIONE SYSTEM ADAPTATION TO ACUTE STRESS IN THE RAT HEART UNDER DIFFERENT REGIMES OF HYPOXIE TRAININGS

O. O. Gonchar, I. N. Mankovskaya

Bogomolets Institute of Physiology of National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: ogonchar@yandex.ru

S u m m a r y

The intensity of lipid peroxidation (LPO), reduced and oxidized glutathione (GSH and GSSG) contents, glutathione reductase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH), and NADP-

isocitrate dehydrogenase (NADP-IDH) activities were studied in the heart of male rats exposed to two modes of intermittent hypoxic training (ИТ): I-breathing in normobaric chamber with 7% O₂ gas mixture for 5 min with 15 min normoxic intervals 4 times daily during 3 weeks; II-breathing by 12% O₂ gas mixture in the same manner). After adaptation to hypoxia, the rats were subjected to 6h-immobilization stress. It has been shown that stress action after ИТ (regime I) caused the increase in LPO and the shift of GSH/GSSG to disulfides. A disbalance in antioxidative defense system was determined by the decrease in glutathione peroxidase, G-6-PDH activities, and GSH content. The support of glutathione reductase activity under stress in this group with simultaneous decrease of enzyme activity in the pentose phosphate pathway was realized through the participation of NADP-IDH. Hypoxic training in regime II induced LPO decrease in the heart tissue after stress. The increase in the heart GSH content, optimal balance of glutathione-related enzymes in this group evidences for the dependence of adaptation effects on the vigor of hypoxic exposition. Our results suggest the active participation of glutathione system in the formation of adaptation reactions under the extreme factor influences through the action on intracellular red/ox potential as well as effectiveness of antioxidant defense.

Key words: intermittent hypoxic training, adaptation, stress, glutathione, glutathione-related enzymes.

1. Колчинская А. З., Хацуков Б. Х., Закусило М. П. Кислородная недостаточность, деструктивное и конструктивное действие. — Нальчик: изд-во КБНЦ РАН. — 1999. — 208 с.
2. Колчинская А. З., Цыганова Т. Н., Остапенко Л. А. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте. — М.: Наука, 2003. — 408 с.
3. Wenger R. H. // *FASEB J.* — 2002. — **16**. — P. 1151–1162.
4. Пшенникова М. Г. // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / Под ред. Л. Д. Лукьяновой, И. Б. Ушакова. — М.: Наука, 2004. — С. 245–267.
5. Gonchar O. // *J. Sports Sci. and Med.* — 2005. — N 4. — P. 160–169.
6. Зарубина И. В., Нурманбетова Ф. Н., Шабанов П. Д. // *Бюл. эксперим. биол. и медицины.* — 2005. — № 8. — С. 156–160.
7. Меерсон Ф. З., Пшенникова М. Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. — М.: Медицина, 1988. — 256 с.
8. Кобилянська Л. І., Тимочко М. Ф. // *Експерим. та клін. фізіол. та біохімія.* 2000. — **12**, № 4. — С. 52–57.
9. Соколовский В. В. // *Вопр. мед. химии.* — 1988. — № 6. — С. 2–11.
10. Saez G. T., Bannister W. H., Bannister J. V. *Glutathione: Metabolism and Physiological Functions* / Ed. J. Vina CRC Press: Boca Raton, FL. USA. 1990. — P. 237–254.
11. Малкин В. Б., Гиппенрейтер Е. Б. Проблемы космической биологии. — М.: Наука, 1977. — 315 с.
12. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 66–68.
13. *Методы биохимических исследований* / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 272 с.
14. Habig W. H., Pabst M. J., Jacoby W. B. // *J. Biol. Chem.* — 1974. — **249**. — P. 7130–7139.
15. Griffith O. W. *Methods of Enzymatic analysis* / Ed. H. U. Bergmeyer. — 1983. — **III**. — P. 521–529.
16. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. // *Успехи соврем. биол.* — 1993. — **113**, № 1. — С. 107–122.
17. Кения М. В., Лукаш А. И., Гуськов Е. П. // Там же. — № 4. — С. 456–470.
18. Arkhipenko Yu. V., Sazontova T. G., Tkachouk E. N., Meerson F. Z. *Adaptation biology and medicine. 1* / Eds. B. K. Sharma et al. New Delhi: Narosa Publishing House. — 1997. — P. 251–259.
19. Gromek A., Pastuzko A. // *J. Neurochem.* — 1977. — **28**. — P. 429–433.
20. Semenza G. L. // *J. Appl. Physiol.* — 2000. — **88**. — P. 1474–1480.

Отримано 12.12.2006