

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ГЛЮКОКОРТИКОИДА НА АКТИВНОСТЬ ПРООКСИДАНТНЫХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И КОЛИЧЕСТВО ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК ИММУННЫХ ОРГАНОВ У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ ФЕНОТИПАМИ МИКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ

О.Б. Цейликман, М.Е. Мишарина, А.Э. Батуева, Р.В. Деев, О.С. Абрамовких, М.В. Комелькова, М.С. Лапшин, А.А. Никитина, Е.А. Мекешкин, Ю.В. Горбачева, А.П. Солодков, С.С. Лазуко

Исследованы особенности уровня активности прооксидантных и антиоксидантных ферментов крови у крыс при введении экзогенного глюкокортикоида. В ходе исследования, в зависимости от продолжительности гексеналового сна, животных разделяли на быстрых и медленных метаболизеров. В изученных образцах определены основные параметры активности прооксидантных и антиоксидантных ферментов, чувствительность лимфоидной ткани к действию экзогенных глюкокортикоидов. Показано, введение экзогенного глюкокортикоида привело к снижению активности глутатионтрансферазы в крови у быстрых метаболизеров, что отражает способность глюкокортикоидов осуществлять негативную регуляцию биотрансформации ксенобиотиков. У медленных метаболизеров после введения триамциналона ацетонида имеется дисбаланс между прооксидантными и антиоксидантными системами.

Ключевые слова: прооксидантная и антиоксидантная системы, быстрые и медленные метаболизеры, гексенал.

Введение. В настоящее время данные по глюкокортикоид-зависимой регуляции свободно-радикального окисления в условиях стресса весьма противоречивы. С одной стороны, имеются данные о глюкокортикоид-зависимом усилении свободно-радикального окисления в условиях стресса. Установлено, что введение кортикостерона как в высоких, так и в низких дозах сопровождается угнетением активностей супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы, при одновременном увеличении окисления белков в мозге, печени и сердце [8]. С другой стороны, имеются данные противоположного характера о том, что стрессорные воздействия с повышенным содержанием кортикостерона приводят к снижению в печени перекисного окисления липидов, при одновременном увеличении экспрессии СОД, каталазы, глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы, при одновременном снижении экспрессии транскрипционного фактора NF- κ B [6]. Поэтому целью нашей работы является изучение глюкокортикоид-зависимого изменения соотношения между прооксидантными и антиоксидантными системами при введении экзогенного глюкокортикоидного препарата – триамциналона ацетонида (ТА).

Методика. Состояние микросомального окисления оценивали по «времени гексеналового сна», с помощью теста «гексеналовый сон» [4]. Гексенал вводили внутрибрюшинно в виде 5 % водного раствора из расчета 60 мг на 1 кг массы. Длительность сна оценивали по времени нахождения животных в боковом положении. Окончанием сна считали

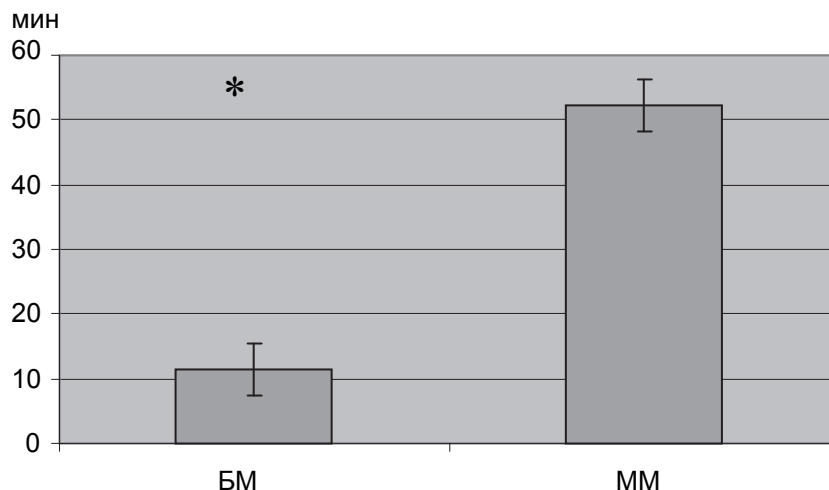
момент восстановления рефлекса переворачивания. Это позволило по скорости метаболизма гексенала разделить особей на фенотипические группы по каталитической активности изоформ цитохрома P-450 зависимых монооксигеназ. Каталазную активность определяли по методу [2]. Активность миелопероксидазы определялась по методу [3]. Определение активности ксантинооксидазы в гомогенатах почек и сыворотке крови производилось по методу [7]. Активность глутатионтрансферазы определялась по методу С.Н. Власовой и соавт. [1]. Содержание кариоцитов в тимусе и селезенки рассчитывали на весь орган, на 1 мг массы органа и на 1 г массы тела [5].

Результаты обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики и выражались в виде среднеарифметической (M) и ее стандартной ошибки (m).

Статистические взаимосвязи изучали при помощи непараметрического корреляционного анализа, выполняя расчет коэффициентов корреляции рангов по Спирмену (r_s). Для обработки результатов исследования использован пакет прикладных программ Statistica 6.0 for Windows.

Результаты исследования и их обсуждение. В зависимости от продолжительности гексеналового сна (см. рисунок) животные в ходе исследования были разделены на быстрых метаболизеров (БМ) и медленных метаболизеров (ММ).

Причем эти группы существенно отличаются друг от друга по массе печени. Это проявлялось в более высоком массовом индексе печени у быстрых



Продолжительность гексеналового сна у быстрых и медленных метаболизаторов (обработка произведена с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни)

метаболизаторов ($3,1 \pm 0,14$) по сравнению с медленными метаболизаторами ($2,21 \pm 0,25$; $P = 0,042U$). Важно отметить, что у быстрых метаболизаторов обнаружена отрицательная корреляция между продолжительностью гексеналового сна и значением массового индекса печени ($R_s = -0,767$; $P = 0,018$). Вероятно, более высокое значение массового индекса печени у быстрых метаболизаторов отражает более высокую мощность микросомального окисления. В пользу этого предположения косвенно свидетельствует то, что между медленными и быстрыми метаболизаторами обнаружены различия по уровню активности печёночной глутатионтрансферазы, играющей существенную роль в метаболизме ксенобиотиков. Так быстрые метаболизаторы характеризовались более высоким уровнем ферментативной активности по сравнению с медленными.

Важно отметить, что у быстрых метаболизаторов обнаружена отрицательная корреляция между продолжительностью гексеналового сна и уровнем активности глутатионтрансферазы печени ($R_s = -0,825$; $P = 0,012$). Помимо этого, высокий уровень глутатионтрансферазной активности у быстрых метаболизаторов по сравнению с медленными обнаружен в крови. Возможно, у быстрых метаболизаторов более высокие аэробные возможности в целом, что ассоциируется с более высоким уровнем активности прооксидантных ферментов и вследствие этого и более высоким уровнем антиоксидантной защиты. Это предположение подтверждается полученными нами результатами. Так в крови быстрых метаболизаторов обнаружен более высокий уровень активности антиоксидантных ферментов: глутатионпероксидазы и каталазы, а также прооксидантных ферментов ксантиноксидазы и миелопероксидазы (табл. 1).

При введении экзогенного глюкокортикоида триамцинолон ацетонида (ТА) нивелировались различия между быстрыми и медленными метабо-

лизаторами по активности прооксидантных и антиоксидантных ферментов. Это означает, что ТА у быстрых метаболизаторов вызывал более резкое падение ферментативной активности, чем у медленных. Это особенно наглядно проявляется в случае ксантиноксидазы, где введение ТА привело к снижению активности в 4 раза у медленных метаболизаторов и в 15 раз – у быстрых. В 3 раза снижена активность глутатионтрансферазы у медленных метаболизаторов и в 7 раз – у быстрых. Кроме того, у быстрых метаболизаторов наблюдалось двукратное снижение активности каталазы в крови, в то время как у медленных метаболизаторов после введения ТА активность этого антиоксидантного фермента снизилась в 15 раз. Активность каталазы у быстрых метаболизаторов снижалась также более отчетливо по сравнению с медленными метаболизаторами. Основным атрибутивным признаком ТА считается вызываемая им гипоплазия иммунных органов (табл. 2).

Наши исследования показали, что этот феномен одинаково эффективно воспроизводился как у быстрых, так и у медленных метаболизаторов. При этом между ними не были обнаружены исходные фоновые различия. Их отсутствие может означать, что уровень микросомального окисления не оказывает непосредственное влияние на процессы, определяющие численность клеток в иммунных органах, то есть на соотношение между уровнем пролиферации и апоптоза, а также клеточной миграцией.

Выводы

1. Введение экзогенного глюкокортикоида нивелирует различия между быстрыми и медленными метаболизаторами по активности прооксидантных и антиоксидантных ферментов крови.

2. Фенотип микросомального окисления не оказывает влияния на чувствительность лимфоидной ткани к гипоплазирующему действию экзогенных глюкокортикоидов.

Уровень активности прооксидантных и антиоксидантных ферментов крови у быстрых и медленных метаболизеров

Показатель	Медленные метаболизеры (n = 18)	Быстрые метаболизеры (n = 18)	Медленные метаболизеры +ТА (n = 6)	Быстрые метаболизеры + ТА (n = 6)
Каталаза, кат/мл/мин	5,97 ± 0,86	18,64 ± 0,45*	0,35 ± 0,045**	9,36 ± 0,89**
Глутатионпероксидаза, мкМ/г Нв/мин	7,71 ± 0,46	9,28 ± 1,56	1,47 ± 0,45*	1,58 ± 0,67*
Глутатион-трансфераза, мкМ/г Нв/мин	10,11 ± 1,91	22,95 ± 2,62*	3,6 ± 0,45*	3,09 ± 0,8*
Ксантинооксидаза, мкМ/мл/мин	6,67 ± 0,66	19,3 ± 1,78*	1,17 ± 0,14*	1,14 ± 0,69*
Миелопероксидаза, мкМ/л/мин	37,65 ± 2,16	47,63 ± 3,19 *	33,15 ± 3,23	30,17 ± 1,41 *

Примечание. Здесь и в табл. 2 статистическая обработка проведена с использованием критериев Манна–Уитни, Вольда–Вольфовица, различия считали статистически значимыми при $p > 0,05$; статистически значимые различия между группами: * – «медленные метаболизеры» и «быстрые метаболизеры», ** – «триамциналон ацетонид» и «медленные метаболизеры», «триамциналон ацетонид» и «быстрые метаболизеры».

Таблица 2

Влияние триамцинолона ацетонида на содержание ядродержащих клеток в иммунных органах

Показатель	Медленные метаболизеры	Быстрые метаболизеры	Медленные метаболизеры +ТА (n = 6)	Быстрые метаболизеры + ТА (n = 6)
ЯСК тимуса ($\times 10^6$ клеток)	232,5 ± 28,4	235,34 ± 19,25*	122,65 ± 24,43**	125,7 ± 47,5
ЯСК селезенки ($\times 10^6$ клеток)	395,62 ± 44,65	383,49 ± 25,13*	213,28 ± 36,88**	233,7 ± 30,81
ЯСК костного мозга	81,7 ± 3,82	87,75 ± 5,34	65,0 ± 2,73**	67,5 ± 1,73**

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.V37.21.0578 от 10.08.2012.

Литература

1. Власова, С.Н. Активность глутатионзависимых ферментов в эритроцитах при хронических заболеваниях печени у детей / С.Н. Власова, Е.И. Шабунина, И.А. Переслегина // *Лаборатор. дело.* – 1990. – № 8. – С. 19–22.
2. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванов, М.Г. Майорова, В.Е. Токарева // *Лаборатор. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
3. Симаков, П.В. Миелопероксидаза модификация метода / П.В. Симаков // *Санитария и гигиена.* – 1971. – № 10. – С. 89–91.
4. Сперанский, С.В. Оценка избирательности токсических поражений с помощью гексеналовой

пробы / С.В. Сперанский, Г.Г. Кравшева // *Гигиена окружающей среды.* – 1980. – № 28. – С. 80–85.

5. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адапционных реакций организма / И.А. Волчегорский, И.И. Долгушин, О.Л. Колесников, В.Э. Цейликман. – Челябинск, 2000. – 167 с.

6. Chronic stress differentially affects antioxidant enzymes and modifies the acute stress response in liver of Wistar rats / J. Djordjevic, A. Djordjevic, M. Adzic et al. // *Physiol Res.* – 2010. – Vol. 59 (5). – P. 729–736.

7. Hashimoto, S. A new spectrophotometric Assay Method of Xantineoxidase in Grude Tissue Homogenate / S. Hashimoto // *Analytical biochemistry.* – 1974. – Vol. 62. – P. 426–435.

8. Zafir, A. Modulation of in vivo oxidative status by exogenous corticosterone and restraint stress in rats / A. Zafir, N. Banu // *Stress.* – 2009. – Vol. 12 (2). – P. 167–177.

Цейликман Ольга Борисовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры адаптивной физической культуры и медико-биологической подготовки, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), diol2008@yandex.ru.

Мишарина Мария Евгеньевна, аспирант кафедры биохимии, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), mari.misharina@mail.ru.

Батуева Альбина Эмильевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой адаптивной физической культуры и медико-биологической подготовки, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), batueva_ae@mail.ru.

Деев Роман Владимирович, аспирант кафедры биохимии, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), ghostmee@mail.ru.

Абрамовских Ольга Сергеевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), abramoschel@mail.ru.

Комелькова Мария Владимировна, аспирант кафедры биохимии, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), kaprizka1982@mail.ru.

Лапшин Максим Сергеевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры адаптивной физической культуры и медико-биологической подготовки, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), lapshin1982@yandex.ru.

Никитина Анна Александровна, студент кафедры биохимии, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), annanika@mail.ru.

Мекешкин Евгений Анатольевич, старший преподаватель кафедры адаптивной физической культуры и медико-биологической подготовки, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), diol2008@yandex.ru.

Горбачева Юлия Владимировна, аспирант кафедры адаптивной физической культуры и медико-биологической подготовки, Южно-Уральский государственный университет (Челябинск), diol2008@yandex.ru.

Солодков Александр Петрович, доктор медицинских наук, профессор, ректор, Витебский государственный университет им. П.М. Машерова (Витебск, Беларусь), vsu@vsu.by.

Лазуко Светлана Степановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, Витебский ордена Дружбы народов медицинский университет (Витебск, Беларусь), vsu@vsu.by.

Bulletin of the South Ural State University
Series "Education, Healthcare Service, Physical Education"
2013, vol. 13, no. 4, pp. 82–85

IMPACT OF THE EXOGENOUS GLUCOCORTICOID ON THE PROOXIDANT ENZYMES AS WELL AS ON THE ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITIES AND THE CARIOCYTES NUMBER IN IMMUNE ORGANS OF RATS WITH DIFFERENT PHENOTYPE OF MICROSOMAL OXIDATION

*O.B. Tseylikman, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, diol2008@yandex.ru,
M.E. Misharina, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, mari.misharina@mail.ru,
A.E. Batueva, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, batueva_ae@mail.ru,
R.V. Deev, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, ghostmee@mail.ru,
O.S. Abramovskih, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, abramoschel@mail.ru,
M.V. Komelkova, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, kaprizka1982@mail.ru,
M.S. Lapshin, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, lapshin1982@yandex.ru,
A.A. Nikitina, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, annanika@mail.ru,
E.A. Mekeshkin, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, diol2008@yandex.ru,
Yu.V. Gorbacheva, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation, diol2008@yandex.ru,
A.P. Solodkov, Vitebsk State University P.M. Masherova, Vitebsk, Belarus, vsu@vsu.by,
S.S. Lazuko, Vitebsk State Ordena of Peoples Friendship Medical University, Vitebsk, Belarus, vsu@vsu.by*

The features of the activity level of prooxidant and antioxidant enzyme levels in rats after administration of exogenous glucocorticoid. In the study, depending on the duration of hexenal sleep, animals were divided into fast and slow metabolizers. In the studied samples of the main parameters of prooxidant and antioxidant activity of enzymes associated lymphoid tissue sensitivity to exogenous glucocorticoids are examined. It has been shown, that the introduction of exogenous glucocorticoid led to reduced activity of glutathione levels in fast metabolizers that reflects the ability of glucocorticoids to carry negative regulation of biotransformation of xenobiotics. There is an imbalance between pro-oxidant and antioxidant systems slow metabolizers after the introduction triamtsinalone acetone.

Keywords: prooxidant and antioxidant systems, fast metabolizers, slow metabolizers, hexenal, glucocorticoids.

Поступила в редакцию 1 октября 2013 г.