

Протекція мексидолом глутатіон-залежної ферментної системи крові при експериментальній емфіземі легень

Ю.І. Фещенко, В.І. Коржов, В.М. Жадан, І.В. Ліскіна, М.О. Полянська, С.Г. Опімах

ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України», м. Київ, Україна

Конфлікт інтересів: відсутній

ОБҐРУНТУВАННЯ. У роботі представлено аналіз даних літератури про глутатіон-залежну ферментну систему, результати власних досліджень авторів про порушення в ній і дію мексидолу при експериментальній емфіземі легень.

МЕТА. Вивчити характер змін у глутатіон-залежній ферментній системі крові при експериментальній емфіземі легень і можливість використання як протектора мексидолу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Експериментальні дослідження проведено на 45 статевозрілих безпородних білих щурах масою 180-200 г. Емфізему легень відтворювали шляхом одноразового інтратрахеального введення 0,5 мл розчину папаїну в дозах 50 і 100 мг/кг маси. У крові визначали активність глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази та глутатіонпероксидази. Для оцінювання можливості реактивації ферментів системи глутатіону використовували мексидол, який має широкий спектр фармакологічної дії, що ґрунтується на його антиоксидантних, антигіпоксичних, мембрано-протекторних властивостях.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що розвиток емфіземи легень супроводжується порушенням функції глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази та глутатіонпероксидази. Показано, що ці зміни не мають незворотного характеру. Мексидол сприяє реактивації глутатіон-залежної ферментної системи.

ВИСНОВКИ. При експериментальній емфіземі легень активність ферментів глутатіонового метаболізму порушується. Динаміка змін показників ферментної системи глутатіону в крові під дією мексидолу, його метаболічний ефект свідчать про можливість застосування цього препарату як протектора при емфіземі легень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: емфізема легень, глутатіонредуктаза, глутатіон-S-трансфераза та глутатіонпероксидаза, мексидол.

Mexidol protection of the glutathione-derived enzyme system of the blood in experimental pulmonary emphysema

Yu.I. Feshchenko, V.I. Korzhov, V.M. Zhadan, I.V. Liskina, M.O. Polianska, S.G. Opimakh

SI "National Scientific Center of Phthisiatry, Pulmonology and Allergology named after F.G. Yanovsky of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Conflict of interest: none

BACKGROUND. The paper presents an analysis of literature data on the glutathione-dependent enzyme system, the results of the authors' own studies on disorders in it, and the effect of mexidol in experimental pulmonary emphysema.

OBJECTIVE. To study the nature of changes in the glutathione-dependent enzyme system of blood in experimental pulmonary emphysema and the possibility of using mexidol as a protector.

MATERIALS AND METHODS. Experimental studies were conducted on 45 sexually mature, outbred white rats weighing 180-200 g. Pulmonary emphysema was reproduced by a single intratracheal injection of 0.5 ml of papain solution at doses of 50 and 100 mg/kg of weight. The activity of glutathione reductase, glutathione-S-transferase and glutathione peroxidase was determined in the blood. To assess the possibility of reactivating enzymes of the glutathione system, mexidol was used, which has a wide spectrum of pharmacological action, based on its antioxidant, antihypoxic, and membrane-protective properties.

RESULTS AND DISCUSSION. It was established that the development of pulmonary emphysema is accompanied by impaired function of glutathione reductase, glutathione-S-transferase and glutathione peroxidase. It was shown that these changes are not irreversible. Mexidol promotes reactivation of the glutathione-binding enzyme system.

CONCLUSIONS. In experimental pulmonary emphysema, the activity of enzymes of glutathione metabolism is disrupted. The dynamics of changes in the blood indicators of the glutathione enzyme system under the influence of mexidol, its metabolic effect indicate the possibility of using this drug as a protector in pulmonary emphysema.

KEY WORDS: pulmonary emphysema, glutathione reductase, glutathione-S-transferase and glutathione peroxidase, mexidol.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

У патогенезі емфіземи легень суттєве значення відіграє порушення балансу окислювальних і відновлювальних процесів, які лежать в основі оксидативного стресу, що супроводжується надлишковим утворенням активних форм кисню – супероксидного аніон-радикалу ($O_2^{\bullet-}$), гідроксильного радикалу ($\bullet OH$), синглетного кисню (1O_2), перекису водню (H_2O_2), оксиду азоту (NO), пероксирадикалів, які призводять до порушення біохімічних процесів у біологічних мембранах і субклітинних структурах клітин [1-4].

В антиоксидантному захисті та редоксозалежній регуляції окисно-відновного потенціалу тканин ключова роль належить глутатіоновій системі, до складу якої входять глутатіон (GSH), глутатіонредуктаза (GR), глутатіон-S-трансфераза (GST) та глутатіонпероксидаза (GPX). Вона є зручним об'єктом для вивчення механізмів порушень і компенсаторних можливостей організму на рівні окремих ферментів в умовах активації вільнорадикальних процесів за різних захворювань [5-8].

Це авторегульований, багаторівневий і багатofункціональний біохімічний комплекс, що реалізує свої антиоксидантні властивості шляхом прямої участі в нейтралізації активних форм кисню й азоту, забезпеченні ефективного функціонування ферментних антиоксидантів – глутатіон-S-трансфераз і глутатіонпероксидаз [9-12].

У цій системі глутатіон (γ -глутаміл-цистеїніл-глутамін), що має високий відновний потенціал, займає центральне місце в антирадикальному, антиперекисному захисті клітини, біотрансформації та нейтралізації ксенобіотиків, регулюванні клітинного циклу, кон'югації ендогенних сполук, збереженні балансу окислювальних і відновлювальних реакцій, експресії генів. Глутатіон сприяє збереженню функцій біологічних мембран, відіграє ключову роль у контролі активності транскрипційних факторів (NF- κ B, AP-1, Nrf2) [13-16].

Флавіновий фермент глутатіонредуктаза в цій ферментній системі відіграє важливу роль у підтриманні високої внутрішньоклітинної концентрації редукованого глутатіону без збільшення його синтезу. Фермент відновлює дисульфідний зв'язок окисленого глутатіону до його сульфгідрильної форми (GSH) [17, 18].

Глутатіон-S-трансферази – це група ферментів, близьких за своєю природою та відмінних переважно лише субстратною специфічністю, тобто являють собою ізоферменти глутатіонтрансфераз, що відіграють ключову роль у захисті клітин від ушкоджувальної дії активних форм кисню. Вони каталізують реакцію кон'югації глутатіону із широким спектром токсичних речовин як ендогенних, так і екзогенних, беруть участь у метаболізмі гормонів, регуляції клітинного циклу, апоптозу [19-21].

Найважливішим компонентом антиперексидної ферментної системи клітини є глутатіонпероксидази. Це група селеновмісних ферментів, що мають широку субстратну активність. Використовуючи відновлений глутатіон як донор водню, вони, крім H_2O_2 , також здатні каталізувати двохелектронне відновлення різних органічних гідропероксидів, у тому числі гідропероксидів вільних поліненасичених жирних кислот [22-25].

Метою роботи було вивчити характер змін у глутатіонзалежній ферментній системі крові при експериментальній

емфіземі легень і можливість використання як протектора мексидолу.

Матеріали та методи

Досліди проведено на 45 білих безпородних щурах вагою 180-200 г. Емфізему легень відтворювали шляхом одноразового інтратрахеального введення 0,5 мл розчину папаїну в дозах 50 і 100 мг/кг маси [26].

Тварин розподіляли на 4 групи:

1-ша – інтактні (здорові);

2-га – група тварин з емфіземою легень (папаїн у дозі 50 і 100 мг/кг);

3-тя – група інтактних тварин, які отримували мексидол протягом 2 і 3 тижнів;

4-та – група тварин з емфіземою легень (папаїн у дозі 50 і 100 мг/кг), які отримували мексидол протягом 2 і 3 тижнів.

Мексидол вводили тваринам внутрішньом'язово щодня протягом 2 і 3 тижнів у дозі 25,0 мг/кг маси тіла (середньотерапевтична доза).

Стан глутатіон-залежної ферментної системи в еритроцитах крові оцінювали за активністю глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази, глутатіонпероксидази [27].

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи ДУ «Національний науковий центр фізичної реабілітації, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України» «Дослідити особливості ускладненого перебігу тяжких загострень бронхіальної астми у військовослужбовців і цивільних осіб, постраждалих унаслідок воєнних дій, і розробити технологію їх лікування», № держреєстрації: 0125U000465, виконана коштом державного бюджету.

Результати

Раніше ми показали, що введення тваринам папаїну в дозах 50 і 100 мг/кг через 2 та 3 тижні призводить до емфізематозних змін у легенях. У разі спостереження протягом 2 тижнів ці зміни є значнішими при дозі папаїну 100 мг/кг. Порушення структури легеневої тканини через 3 тижні також є вираженішими після введення папаїну в дозі 100 мг/кг [28, 29].

На тлі морфологічних змін у легенях при експериментальній емфіземі легень у ці самі терміни відбуваються зміни в активності глутатіон-залежних ферментів (табл.).

Порівняльна оцінка динаміки змін активності глутатіонредуктази в еритроцитах при емфіземі легень дала змогу виявити такі закономірності. При дозі папаїну 50 мг/кг через 2 тижні після введення препарату спостерігалось зниження активності ферменту на 28,7 % щодо контролю. Вірогідне зниження його активності вже на 40,6 % відзначалося через 3 тижні після введення вказаної дози папаїну.

Після введення щурам папаїну в дозі 100 мг/кг через 2 тижні після моделювання експериментальної емфіземи відбувалося зниження ферментативної активності глутатіонредуктази порівняно з контролем на 32,75 %, через 3 тижні – на 29,90 % відповідно.

Пригнічення активності глутатіонредуктази в крові може свідчити про виснаження резервів досліджуваної біохімічної системи.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця. Активність глутатіон-залежних ферментів у крові інтактних щурів і щурів з експериментальною емфіземою легень за умови застосування мексидолу ($M \pm m$, $n=8-10$)

Групи дослідження	Термін дослідження	Показники		
		GR, мкмоль НАДФН × (хв/г Hb) ⁻¹	GST, мкмоль GSH × (хв/г Hb) ⁻¹	GPX, мкмоль GSH × (хв/г Hb) ⁻¹
I група				
інтактні тварини	–	3,45±0,19	2,13±0,15	276,04±14,60
II група				
папаїн у дозі 50 мг/кг	ч/з 2 тижні	2,46±0,17*	1,78±0,06*	205,40±18,66*
папаїн у дозі 50 мг/кг	ч/з 3 тижні	2,05±0,17*	1,75±0,10*	204,83±36,64*
папаїн у дозі 100 мг/кг	ч/з 2 тижні	2,32±0,12*	1,74±0,04*	170,84±10,41*
папаїн у дозі 100 мг/кг	ч/з 3 тижні	2,42±0,26*	1,77±0,09*	215,56±15,33*
III група				
інтактні тварини + мексидол	ч/з 2 тижні	4,64±0,15*	3,29±0,23*	325,54±12,16*
інтактні тварини + мексидол	ч/з 3 тижні	4,89±0,23*	3,53±0,24*	376,48±17,10*
IV група				
папаїн у дозі 50 мг/кг + мексидол	ч/з 2 тижні	2,75±0,29	2,89±0,31*	277,09±15,70
папаїн у дозі 50 мг/кг + мексидол	ч/з 3 тижні	2,96±0,31	2,78±0,20*	278,30±15,76
папаїн у дозі 100 мг/кг + мексидол	ч/з 2 тижні	2,85±0,15	2,75±0,12*	292,35±16,40
папаїн у дозі 100 мг/кг + мексидол	ч/з 3 тижні	2,89±0,29	2,65±0,21	316,90±25,96

Примітка: * різниця показників порівняно з групою інтактних тварин вірогідна ($P < 0,05$).

У зміні активності глутатіон-S-трансферази при експериментальній емфіземі легень відзначалися такі особливості: при введенні папаїну в дозі 50 мг/кг активність ферменту була знижена на 16,4 % через 2 тижні й на 17,8 % – через 3 тижні після моделювання експериментальної емфіземи легень порівняно з контролем. При застосуванні дози папаїну 100 мг/кг через 2 та 3 тижні її активність була нижчою за контрольні величини на 18,3 та 16,9 % відповідно.

Через зниження активності глутатіон-S-трансферази в крові зростає кількість токсичних для легеневої тканини ліпопероксидних і фенольних сполук, які за нормальних умов інактивуються цим ферментом й у формі нетоксичних кон'югатів із глутатіоном виводяться з організму [30].

Розвиток емфіземи супроводжувався і зниженням ферментативної активності глутатіонпероксидази в крові. Після введення папаїну в дозі 50 мг/кг через 2 тижні активність ферменту вірогідно знижувалася на 25,6 %, через 3 тижні – на 25,8 % порівняно з контролем. Після введення щурів папаїну в дозі 100 мг/кг активність глутатіонпероксидази через 2 тижні знижувалася на 38,15 %, а через 3 тижні – на 21,90 %.

Така метаболічна особливість може свідчити про високу інтенсивність системного оксидативного стресу.

Як у нормальних умовах, так і при активації процесів вільнорадикального окиснення основне антиоксидантне навантаження в більшості тканин організму, в тому числі в крові, припадає на глутатіонпероксидазу. В умовах оксидативного стресу особливо важливою є її роль, тому що вона запобігає виникненню й розвитку пероксидації, усуває її джерела та продукти, є одним з найважливіших компонентів ферментативної антиоксидантної системи.

Для профілактики та лікування патологічних станів наразі широко використовуються препарати різних фармакологічних груп, у тому числі антиоксиданти [31]. Проте залишається маловивченою комплексна оцінка впливу

антиоксидантів метаболічного типу на показники системи глутатіону в крові при емфіземі легень.

Із цього погляду заслуговує на увагу мексидол, що належить до гетероароматичних антиоксидантів і являє собою модифіковану молекулу вітаміну В₆, який складається з двох пов'язаних сполук: 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину та сукцинату. Препарат має широкий спектр фармакологічної дії, заснованої на його антиоксидантних, антигіпоксичних, мембранопротекторних властивостях, здатності модулювати активність мембранозв'язаних ферментів [32-34].

Обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що мексидол, який вводили інтактним тваринам протягом 2 тижнів, достовірно сприяє активації глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази та глутатіонпероксидази на 34,49; 54,46 та 17,93 % відповідно. У тварин, які отримували препарат протягом 3 тижнів, активація ферментів іще вираженіша. Активність глутатіонредуктази збільшилася на 41,73 %, глутатіонтрансферази – на 65,72 %, глутатіонпероксидази – на 36,38 %.

Стимульовальну дію мексидолу виявлено на активність глутатіонозалежних ферментів і в крові щурів з експериментальною емфіземою легень.

У тварин з емфіземою легень (дози папаїну – 50 і 100 мг/кг) після введення мексидолу з лікувальною метою протягом 2 і 3 тижнів активність глутатіонредуктази мала тенденцію до підвищення порівняно з показниками у тварин, які не отримували мексидол.

Активність глутатіон-S-трансферази у тварин з експериментальною емфіземою легень (дози папаїну – 50 і 100 мг/кг) після введення мексидолу протягом 2 тижнів достовірно зросла на 35,68 та 30,51 %, через 3 тижні –

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

на 29,10 та 24,4 % відповідно, як порівняти з контрольними величинами.

Активність глутатіонпероксидази під дією мексидолу, що вводиться тваринам з емфіземою легень (доза папаїну – 50 і 100 мг/кг) протягом 2 і 3 тижнів відновлювалася до рівня контрольних величин.

Отримані дані дають підстави вважати, що порушення у ферментній системі глутатіону при емфіземі легень є тригером, який призводить до системних метаболічних порушень і, як наслідок, до зниження процесів антиоксидантного захисту. Вони мають односпрямований характер – знижується активність глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази та глутатіонпероксидази в крові.

Однак ці зміни не мають незворотного характеру. Дослідження показало, що для реактивації ферментної системи глутатіону, яка належить до однієї з важливих контрольних систем гомеостазу в організмі, як протектор може бути використаний мексидол, здатний підтримувати її функціонування.

Висновки

1. При експериментальній емфіземі легень активність ферментів глутатіонового метаболізму порушується.
2. Динаміка змін показників ферментної системи глутатіону в крові під дією мексидолу, його метаболічний ефект свідчать про можливість застосування цього препарату як протектора при емфіземі легень.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ / INFORMATION ABOUT AUTHORS

Фещенко Юрій Іванович

Генеральний директор ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України». Академік НАМН України, д-р мед. наук, професор.
10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.
ORCID iD: orcid.org/0000-0002-4505-8287

Коржов Віталій Іванович

Провідний науковий співробітник лабораторії мікробіології і біохімії ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України». Д-р мед. наук, професор.
10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.
ORCID iD: orcid.org/0000-0002-6340-8199

Жадан Вікторія Миколаївна

Імунолог лабораторії клінічної імунології ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України». Канд. біол. наук, с. н. с.
10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.
ORCID iD: orcid.org/0000-0001-9790-9103

Ліскіна Ірина Валентинівна

Завідувачка лабораторії патоморфології ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України». Д-р мед. наук, с. н. с.
10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.
ORCID iD: orcid.org/0000-0001-8879-2345

Полянська Марина Олександрівна

Завідувачка відділення діагностики, терапії і клінічної фармакології захворювань легень ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України». Канд. мед. наук.
10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.
ORCID iD: orcid.org/0000-0003-0305-7988

Опімах Світлана Генріхівна

Старша наукова співробітниця відділення діагностики, терапії і клінічної фармакології захворювань легень ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України». Канд. мед. наук.
10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.
ORCID iD: orcid.org/0000-0002-4631-2048

Feshchenko Yurii Ivanovych

General Director of the SI "National Scientific Center of Phthysiatry, Pulmonology and Allergology named after F.G. Yanovsky of the NAMS of Ukraine". Academician of the NAMS of Ukraine, MD, Professor.
10, M. Amosova st., Kyiv, 03038, Ukraine.
ORCID iD: orcid.org/0000-0002-4505-8287

Korzhev Vitalii Ivanovych

Leading Researcher of the Microbiology and Biochemistry Laboratory, SI "National Scientific Center of Phthysiatry, Pulmonology and Allergology named after F.G. Yanovsky of the NAMS of Ukraine". MD, Professor.
10, M. Amosova st., Kyiv, 03038, Ukraine.
ORCID iD: orcid.org/0000-0002-6340-8199

Zhadan Viktoriya Mykolayivna

Immunologist at the Laboratory of Clinical Immunology, SI "National Scientific Center of Phthysiatry, Pulmonology and Allergology named after F.G. Yanovsky of the NAMS of Ukraine". Cand. Biol. Sci., Senior Researcher.
10, M. Amosova st., Kyiv, 03038, Ukraine.
ORCID iD: orcid.org/0000-0001-9790-9103

Liskina Iryna Valentynivna

Head of Pathomorphology Department, SI "National Scientific Center of Phthysiatry, Pulmonology and Allergology named after F.G. Yanovsky of the NAMS of Ukraine". MD, Senior Researcher.
10, M. Amosova st., Kyiv, 03038, Ukraine.
ORCID iD: orcid.org/0000-0001-8879-2345

Polianska Maryna Oleksandrivna

Head of the Department of Diagnostics, Therapy and Clinical Pharmacology of Lung Diseases, SI "National Scientific Center of Phthysiatry, Pulmonology and Allergology named after F.G. Yanovsky of the NAMS of Ukraine". PhD in Medicine.
10, M. Amosova st., Kyiv, 03038, Ukraine.
ORCID iD: orcid.org/0000-0003-0305-7988

Opimakh Svitlana Genrikhivna

Senior Researcher, Department of Diagnostics, Therapy and Clinical Pharmacology of Lung Diseases, SI "National Scientific Center of Phthysiatry, Pulmonology and Allergology named after F.G. Yanovsky of the NAMS of Ukraine". PhD in Medicine.
10, M. Amosova st., Kyiv, 03038, Ukraine.
ORCID iD: orcid.org/0000-0002-4631-2048

КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ / CORRESPONDENCE TO

Опімах Світлана Генріхівна

10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.
E-mail: opimakh@ifp.kiev.ua