

**В. И. Коржов, В. Н. Жадан, М. В. Коржов**  
**ДЕЙСТВИЕ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА**  
**ГЛУТАТИНОЗАВИСИМУЮ ФЕРМЕНТНУЮ СИСТЕМУ В ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ**  
**И ЦИТОЗОЛЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПНЕВМОСКЛЕРОЗЕ**

*Институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского АМН Украины*

Несмотря на относительно большое число работ, касающихся терапевтического действия омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) при различных патологических состояниях, многие биохимические механизмы, обуславливающие их эффективность, остаются неясными [2, 9, 10, 11]. Не изучено и влияние омега-3 ПНЖК на метаболические процессы при пневмосклерозе. Являясь компонентом или исходом ряда бронхолегочных заболеваний, пневмосклероз приводит к серьёзным нарушениям функций лёгких и других органов. Поэтому изучение биохимических процессов при данной патологии представляет интерес не только с точки зрения углубления знаний патогенетических механизмов, но и для целенаправленной их регуляции в терапевтических целях.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния омега-3 ПНЖК на активность глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ) в цитозоле печени и эритроцитах крови, а также содержание восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона в эритроцитах крови при экспериментальном пневмосклерозе.

**Объект и методы исследования.** Исследования проведены на 44 белых беспородных крысах обоего пола массой 180–200 г, содержащихся на стандартном рационе вивария.

Животные были разделены на 6 групп: 1-я — интактные (контроль); 2-я — здоровые, получавшие омега-3 ПНЖК; 3-я — с экспериментальным пневмосклерозом; 4-я — получавшие омега-3 ПНЖК до заболевания; 5-я — получавшие омега-3 ПНЖК во время заболевания; 6-я — получавшие омега-3 ПНЖК до и во время заболевания.

Омега-3 ПНЖК (препарат "Эпадол") животные получали *per os* ежедневно в течение 1 месяца в дозе 0,1 г на 1 кг массы тела. За весь период опыта при профилактическом и лечебном применении "Текома" животные получили 600 мг препарата, а при лечебно-профилактическом — 1200 мг.

Экспериментальный пневмосклероз вызывали путём ингаляционного введения животным аэрозоля солянокислого гистамина. Трижды, с пятидневным интервалом, животных помещали в специальную воздушную камеру, через которую пропускали аэрозоль солянокислого гистамина (100 граммов в 0,3 мл 0,9 % раствора хлористого натрия). Через 2 месяца у животных развивался пневмосклероз, который характеризовался фиброзной деструкцией бронхов и лёгких, склерозом бронхиальных стенок, эмфиземой лёгких, спазмом легочных артерий и вен, облитерацией бронхов и бронхиол [12].

Животных декапитировали под эфирным наркозом.

Объектами исследования служили цитозоль (постмикросомальная надосадочная жидкость) гомогената печени [15] и эритроциты крови.

Эритроциты получали из стабилизированной раствором гепарина крови.

Общую активность глутатионредуктазы (ГР) (КФ 1.6.4.2) изучали методом J. Carlberg в модификации В. П. Верболович и Л. М. Подгорной [1, 5]. Принцип метода заключается в регистрировании скорости окисления NADPH при 340 нм.

Общую активность глутатион-S-трансферазы (ГТ) (КФ 2.5.1.18) определяли по методу W. H. Nabisig [8,5]. Принцип метода основан на ферментативном связывании глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом с образованием — S-(2,4-динитрофенил)-глутатиона, имеющего максимум светопоглощения при длине волны 340 нм.

Об активности глутатионпероксидазы (ГП) (КФ 1.11.1.9) судили по скорости окисления глутатиона в присутствии гидроперекиси третичного бутила [7, 5]. Пробы фотометрировали при длине волны 412 нм

Количество восстановленного и окисленного глутатиона определяли с использованием палладий-хлорпромазинового комплекса по методике Lee Kum-Tatt в модификации В. Г. Чернышова [13].

Содержание белка в цитозоле определяли по методу Лоури [3].

Содержание гемоглобина в эритроцитах определяли гемиглобинцианидным унифицированным методом по стандартным наборам.

Статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Стьюдента [14].

**Результаты и их обсуждение.** Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что у интактных животных, получавших в течение месяца омега-3 ПНЖК, произошла активация ГР в цитозоле печени (табл. 1), ГП и ГТ в эритроцитах крови (табл.2). Количество GSH и GSSG в эритроцитах крови осталось без изменений (табл. 3).

При пневмосклерозе в цитозоле печени более чем в 2,5 раза возросла активность ГП и в 1,75 раза активность ГР. В эритроцитах крови активность ГП возросла в 3 раза, а содержание GSH снизилось в 1,6 раза.

Введение животным омега-3 ПНЖК до заболевания (с профилактической целью) и во время заболевания (с лечебной целью) не привело к особым изменениям активности ГП и ГР по сравнению с животными, не получавшими препарат.

В эритроцитах крови при профилактическом применении омега-3 ПНЖК в 1,7 и 1,2 раза возросли активности ГР и ГТ соответственно. Уменьшилось в 1,7 раза количество GSH и в 1,6 раза общего глутатиона. При введении омега-3 ПНЖК во время заболевания содержание GSH также было значительно ниже контрольной величины. Кроме того, уменьшилось более чем в 2 раза содержание GSSG.

У животных, получавших омега-3 ПНЖК до и во время заболевания (лечебно-профилактическое применение), в цитозоле печени существенных изменений в активности ГП не было выявлено, а активность ГР была выше контрольной величины.

Таблиця 1

**Активність глутатионредуктази, глутатионтрансферази, глутатионпероксидази в цитозолі печені при експериментальному пневмосклерозі і введенні омега-3 ПНЖК ( $M \pm m$ )**

Умовля опыта	Исследуемые показатели		
	Глутатионпероксидаза, ммоль/мин на 1 г белка	Глутатионредуктаза, мкмоль/мин на 1 г белка	Глутатионтрансфераза, мкмоль/мин на 1 г белка
Контроль n = 10	12,80±1,37	50,98 ± 3,81	259,15±19,08
Омега-3 ПНЖК, n = 6	14,08±0,56	63,62±1,80*	221,01±2,24
Пневмосклероз n = 6	32,79±2,85*	89,21±7,84*	307,50±18,85
Омега-3 ПНЖК+ пневмосклероз (профилактическое введение) n = 7	17,71±0,87*	66,58±3,73*	270,72±12,06
Пневмосклероз + омега-3 ПНЖК (введение с лечебной целью) n = 7	27,92±2,34*	78,13±3,72*	257,61±16,60
Омега-3 ПНЖК + пневмосклероз + омега-3 ПНЖК (введение с целью профилактики и лечения) n = 7	16,26±1,10	81,911±6,17*	288,91±6,17

Примечание: \* — различия по сравнению с контролем достоверны ( $P < 0,05$ )

Таблиця 2

**Активність глутатионредуктази, глутатионтрансферази, глутатионпероксидази в еритроцитах крові при експериментальному пневмосклерозі і введенні омега-3 ПНЖК ( $M \pm m$ )**

Умовля опыта	Исследуемые показатели		
	Глутатионпероксидаза, ммоль/мин на 1 г белка	Глутатионредуктаза, мкмоль/мин на 1 г белка	Глутатионтрансфераза, мкмоль/мин на 1 г белка
Контроль n = 10	172,68 ± 19,50	1,88 ± 0,14	2,25 ± 0,10
Омега-3 ПНЖК, n = 6	280,40 ± 17,05 *	1,96 ± 0,17	2,76 ± 0,17*
Пневмосклероз n = 6	525,40±23,04*	2,25±0,22	2,57±0,14
Омега-3 ПНЖК+ пневмосклероз (профилактическое введение) n = 7	482,46±20,77*	3,23±0,31*	2,61±0,13*
Пневмосклероз + омега-3 ПНЖК (введение с лечебной целью) n = 7	407,66±38,66*	1,97±0,19	2,53±0,10
Омега-3 ПНЖК + пневмосклероз + омега-3 ПНЖК (введение с целью профилактики и лечения) n = 7	358,54±34,70*	2,03±0,20	2,87 ± 0,18*

Примечание: \* — различия по сравнению с контролем достоверны ( $P < 0,05$ )

Таблиця 3

**Количество глутатиона в эритроцитах крови при экспериментальном пневмосклерозе и введении омега-3 ПНЖК ( $M \pm m$ )**

Умовля опыта	Исследуемые показатели		
	Восстановленный глутатион, ммоль/л эритроцитов	Оксисленный глутатион, ммоль/л эритроцитов	Общий глутатион, ммоль/л эритроцитов
Контроль n = 10	2,46±0,12	0,30±0,05	2,76±0,13
Омега-3 ПНЖК, n = 6	2,11±0,12	0,39±0,06	2,44±0,11
Пневмосклероз n = 7	1,51±0,09*	0,38±0,03	1,71±0,12*
Омега-3 ПНЖК+ пневмосклероз (профилактическое введение) n = 6	1,44±0,12*	0,37±0,05	1,71±0,15*
Пневмосклероз + омега-3 ПНЖК (введение с лечебной целью) n = 8	1,65±0,06*	0,14±0,03*	1,77±0,06*
Омега-3 ПНЖК + пневмосклероз + омега-3 ПНЖК (введение с целью профилактики и лечения) n = 7	1,91±0,10*	0,49±0,05*	2,37±0,09

Примечание: \* — различия по сравнению с контролем достоверны ( $P < 0,05$ )

В эритроцитах крови при профилактическом применении омега-3 ПНЖК активность ГП и ГТ была значительно выше нормы (в 2,1 и 1,3 раза соответственно). Одновременно с этим наблюдалось снижение содержа-

ния GSH в 1,3 раза и увеличение содержания GSSG в 1,6 раза.

Таким образом, полученные данные указывают прежде всего на то, что при экспериментальном пневмо-

склерозе в глутатинозависимій системі печини і еритроцитів походять визначені зміни, в частині, що стосується ГП, ГР і ГТ.

ГП є суттєвим компонентом антипероксидної системи клітки. Тому активація її в печині і еритроцитах при пневмосклерозі, по-видимому, є відповідною реакцією на посилення ПОЛ [4].

Посилення глутатионредуктазної активності в цитозолі печини при пневмосклерозі більш ніж є також компенсаторним механізмом при підвищеному використанні GSH, рівень якого ГР підтримує шляхом відновлення його дисульфідної форми з використанням НАДФН.

На основі даних наших експериментів не представляється можливим судити про всю сукупність глибоких і, по-видимому, достатньо складних механізмів змін в глутатинозависимій ферментній системі при пневмосклерозі. Однак, з урахуванням отриманих нами раніше даних [6], ми приходимо до висновку про універсальний характер порушень в цій системі при пневмосклерозі, хронічному і гострому бронхіті. Різниця складає лише в ступені змін при цих захворюваннях. Найбільш виражені при пневмосклерозі. Вероятно, з останнім пов'язаний і менший ефект дії омега-3 ПНЖК на глутатинозависиму ферментну систему при пневмосклерозі.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Верболович В. П., Подгорная Л. М.* Определение активности глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы на биохимическом анализаторе // Лаб. дело — 1987. — № 2. — С. 17–20.
2. *Влияние полиненасыщенных жирных кислот ω-3 класса на системы свёртывания крови и фибринолиза больных сахарным диабетом типа 2 / Панченко В. М., Карабасова М. А., Лютова Л. В. и др.* // Клиническая медицина — 2002. — № 2 — С. 23–27.
3. *Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К.* Справочник биохимика. — Москва: Медицина, 1991. — С. 464–467.
4. *Зборовская И. А., Банникова М. В.* Антиоксидантная система организма, её значение в метаболизме. Клинические аспекты // Вестник РАМН. — 1995. — № 6 — С. 53–60.
5. *Карпищенко А. И., Глушков С. И., Смирнов В. В.* Глутатинозависимая антиоксидантная система в некоторых тканях крыс в условиях острого отравления дихлорэтаном // Токсикологический вестник. — 1997. — № 3. — С. 17–23.
6. *Коржов В. И., Жадан В. Н.* Влияние омега-3 полиненасыщенных жирных кислот на активность глутатинозависимых ферментов в цитозоле печени и эритроцитах крови крыс в норме и при экспериментальном хроническом бронхите // Український біохімічний журнал. — 2003. — № 4. — С. 115–119.
7. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. — 1986. — № 12. — С. 724–727.
8. *Переслягина И. А.* Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело. — 1989. — № 11. — С. 20–22.
9. *Погляд на роль жирнокислотного гомеостатичного дисбалансу в патології бронхообструктивних захворювань / Дудка П. Ф., Сахарчук І. І., Афоніна Г. Б. та ін.* // Укр. пульмонолог. журн. — 2002. — № 2. — С. 63–64.
10. *Путинцева Н. В.* Клиническая эффективность омега-3 полиненасыщенных жирных кислот в лечении больных хроническим обструктивным бронхитом, сочетанным с ишемической болезнью сердца // Укр. пульмонолог. журнал. — 2003. — № 3. — С. 40–44.
11. *Титов В. Н.* Биологическое обоснование применения полиненасыщенных жирных кислот семейства ω-3 в профилактике атеросклероза // Вопросы питания. — 1999. — № 3. — С. 34–41.
12. *Успенский В. И.* Экспериментальный гистаминовый пневмосклероз // Архив патологии. — 1962. — № 4. — С. 46–55.
13. *Чернышов В. Г.* Определение восстановленного и окисленного глутатиона в эритроцитах беременных женщин // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 31–33.
14. *Юнкеров В. И., Григорьев С. Г.* Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований — Санкт-Петербург.: Военно-медицинская Академия, 2002. — 266 с.
15. *Silman N., Artman N., Engelderg H.* Effect of magnesium and spermine on the aggregation of Bacterial and mammalian ribosomes // Biochimica et biophysica acta. — 1965. — Vol. 103. — P. 231–240.

### ДЕЙСТВИЕ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ГЛУТАТИНОЗАВИСИМУЮ ФЕРМЕНТНУЮ СИСТЕМУ В ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ И ЦИТОЗОЛЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПНЕВМОСКЛЕРОЗЕ

*В. И. Коржов, В. Н. Жадан, М. В. Коржов*

*Резюме*

Изучено влияние омега-3 полиненасыщенных жирных кислот на активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы и содержание окисленного и восстановленного глутатиона в эритроцитах крови и цитозоле печени белых крыс с моделированным пневмосклерозом. Полученные данные свидетельствуют об определенных изменениях в глутатинозависимой системе печени и эритроцитах крови при пневмосклерозе. Эффект действия омега-3 полиненасыщенных жирных кислот при пневмосклерозе выражен меньше, чем при остром и хроническом бронхите.

### THE EFFECT OF OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS ON GLUTATION-DEPENDENT SYSTEM IN ERYTHROCYTES OF BLOOD AND LIVE CYTOSOLE IN EXPERIMENTAL PNEUMOSCLEROSIS

*V. I. Korzhov, V. N. Zhadan, M. V. Korzhov*

*Summary*

There was studied the influence of omega-3 polyunsaturated fatty acids on the activity of glutathionperoxidase, glutathionreductase, glutathiontransferase and the content of both oxidated and reduced glutation in erythrocytes of blood and live cytosole in experimental pneumosclerosis. The obtained data demonstrate certain changes in glutation-dependent system in erythrocytes of blood and live cytosole in pneumosclerosis. The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids in pneumosclerosis is less pronounced than in acute or chronic bronchitis.