

УДК 577.152.18

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗЫ И ГЛУТАТИОНТРАНСФЕРАЗЫ В ТКАНЯХ КРОЛИКОВ В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СОТРЯСЕНИЯ МОЗГА

МАРЧЕНКОВ Ф. С., ВАСИЛЬЕВА И. Г., ВЕМБЕР В. В.,
НАГОРНАЯ С. Л., ВАСИЛЬЕВ А. П.

НИИ нейрохирургии
Государственный университет им. Т. Г. Шевченко, Киев

Исследована активность глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы в цитозольной и микросомной фракциях головного мозга и печени кроликов в динамике экспериментального сотрясения мозга через 15 мин, 2 ч, 1, 3, 7 и 14 суток. Установлено, что активность глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы в обеих фракциях, выделенных из тканей мозга, а также активность глутатионтрансферазы в печени выше контрольного значения в 1,5—2 раза во все исследованные сроки после травмы по сравнению с контролем. Активность глутатионредуктазы в цитозольной и микросомной фракциях печени повышается только через 3 суток после экспериментального сотрясения мозга. Соотношение активности глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы свидетельствует о том, что в посттравматическом периоде существует нарушение динамического равновесия между процессами утилизации и синтеза восстановленного глутатиона.

Черепно-мозговая травма сопровождается множественными нарушениями функционирования ЦНС [1, 2], что является следствием развития дисбаланса процессов саморегуляции метаболизма на клеточном уровне [3—8]. Изменение гомеостаза нервных клеток вызывается нарушением мозговой гемодинамики вследствие сопровождающего травму массового выброса нейромедиаторов [9]. Одной из реакций на травматическое воздействие со стороны нервной ткани является мобилизация адаптационных механизмов клетки, среди которых существенная роль принадлежит универсальной глутатионзависимой антиокислительной системе [10].

Анализ собственных и литературных данных позволяет предположить, что в развитии патогенеза черепно-мозговой травмы на метаболическом уровне возможно существование этапа токсической атаки. Предпосылкой для накопления в клетках организма токсических веществ является нарушение метаболизма кислорода, и как следствие, несбалансированное образование его активных производных. Кроме того, токсические процессы также интенсифицируются в очагах механического повреждения нервной ткани вследствие лик-

ворного толчка [2]. При токсическом поражении отношение активностей глутатионтрансферазы к глутатионредуктазе изменяется в пользу глутатионтрансферазы [10—12].

Исследование метаболизма других тканей обусловлено необходимостью поиска причин возникновения соматических нарушений в отдаленном посттравматическом периоде.

Целью настоящего исследования являлось изучение активности глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы в динамике экспериментального сотрясения мозга (ЭСМ) в ткани мозга и печени кроликов.

Эксперименты проведены на 42 кроликах-самцах породы серый великан массой 2—2,5 кг. Дозированную легкую черепно-мозговую травму наносили, как описано в работе Ромоданова и соавт. [13].

Активность ферментов определяли в цитозоле после центрифугирования при 100000g и в микросомной фракции после центрифугирования 8000 g.

Активность глутатионредуктазы оценивали по скорости утилизации ферментом субстратов NADPH и окисленного глутатиона [14], активность глутатионтрансферазы определяли по скорости утилизации 1-хлор, 2,4-динитробензола [15].

Содержание белка определяли по методу Lowry и соавт. [16]. Полученные данные обработаны статистически [17].

Результаты определения активности глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы в ткани мозга кроликов в динамике ЭСМ представлены в табл. 1, из которой видно, что уже через 15 мин после травмы активность глутатионредуктазы увеличивается в 1,5 и 1,7 раза в цитозольной и микросомной фракции головного мозга соответственно. Активность глутатионтрансферазы через 15 мин после травмы в цитозольной фракции повышается по сравнению с контролем в 1,7 раза, а в микросомной фракции активности глутатионредуктазы остается на уровне контрольной величины. Через 2 ч после травмы активность глутатионтрансферазы увеличивается в 2,2 раза в цитозольной и в 2,7 раза в микросомной фракциях, затем несколько снижается, превышая, однако, контрольную величину в 1,7 раза в последующие сроки (1,3 и 7 суток). Через 14 суток после ЭСМ активность глутатионтрансферазы превышает контрольное значение в 1,5 и в 2,7 раза в цитозольной и микросомной фракциях соответственно. Активность глутатионредуктазы через 2 ч и сутки в цитозольной фракции головного мозга превышает контрольное значение в 1,8 раза, через 3 суток активность несколько снижается, через 7 суток незначительно отличается от контроля, однако через 14 суток после травмы активность глутатионредуктазы снова возрастает и превышает контрольное значение в 1,7 раза. В микросомной фракции через 2 ч и 14 суток активность глутатионредуктазы также превышает контроль в 2,2 и 1,9 раза соответственно. Полученные результаты указывают на активацию после ЭСМ в ткани мозга глутатионзависимой антиоксидантной си-

Таблица 1

Активность глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы в мозгу кроликов
в динамике экспериментального сотрясения мозга

| Цитозоль | | Контроль | 15 мин | 2 ч | 1 сутки | 3 сутки | 7 сутки | 14 суток |
|---|---|----------|--------|-------|---------|---------|---------|----------|
| Активность глутатионредуктазы (нМ NADPH/мг белка/мин) | М | 22,1 | *34,3 | *41,4 | *43,0 | *29,1 | 26,1 | *39,6 |
| | м | 3,1 | 4,5 | 5,0 | 6,6 | 3,5 | 1,5 | 4,3 |
| Активность глутатионтрансферазы (нМ 1-хлор-2, 4-динитробензола/мг белка/мин) | М | 0,4 | *0,7 | *1,1 | *0,7 | *0,7 | *0,7 | *0,6 |
| | м | 0,0 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 2,0 | 0,2 | 0,1 |
| Активность глутатионтрансферазы активность глутатионредуктазы | | 0,018 | 0,020 | 0,026 | 0,016 | 0,024 | 0,027 | 0,015 |
| Микросомная фракция | | | | | | | | |
| Активность глутатионредуктазы (нМ NADPH/мг белка/мин) | М | 0,61 | *1,04 | *1,40 | | | | *1,19 |
| | м | 0,08 | 0,17 | 0,16 | | | | 0,13 |
| Активность глутатионтрансферазы (нМ 1-хлор-2, 4-динитробензола/мг белка/мин) | М | 0,19 | 0,15 | *0,53 | | | | *0,53 |
| | м | 0,06 | 0,03 | 0,14 | | | | 0,11 |
| Активность глутатионтрансферазы активность глутатионредуктазы | | 0,31 | 0,14 | 0,38 | | | | 0,45 |

Примечание. *p<0,05.

стемы в тканях и подтверждают предположение об активации в ткани мозга свободнорадикальных процессов. В случае сохранения динамического равновесия в системе антиокисления пропорционально росту активности глутатионтрансферазы должна возрастать и активность глутатионредуктазы. Такое динамическое равновесие подерживается до 3 суток после ЭСМ. К первым суткам после травмы, несмотря на значительное увеличение активности обоих ферментов по сравнению с контролем, соотношение их практически не отличается от такового в контроле. На третьи сутки, как можно судить из полученных данных, величина соотношения активности глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы возрастает. Такая же закономерность установлена нами и через 7 суток после ЭСМ, что указывает на снижение антиокислительного потенциала в нервной ткани. К 14 суткам после ЭСМ активность глутатионредуктазы снова возрастает, что приводит к восстановлению динамического равновесия. Соотношение активностей исследуемых ферментов при этом возвращается к контрольному значению.

В табл. 2 представлены данные по определению активности глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы в печени кроликов в динамике ЭСМ. Необходимо отметить, что в ткани печени также активируются антиокислительные процессы, однако динамика этих изменений несколько отличается от таковой в тканях мозга. Так, активность глутатионредуктазы в цитозольной и микросомной фракциях в печени в посттравматическом периоде практически не отличается от контрольных значений. В цитозольной фракции увеличение активности глутатионредуктазы в 1,7 раза установлено через 7 суток, активность же глутатионтрансферазы, по нашим данным, выше контрольного значения в 1,5—2 раза практически во все исследованные сроки после нанесения травмы (через 2 ч, 3, 7, 14 суток). Повышенной оказалась активность глутатионтрансферазы и в микросомной фракции печени. Величина отношения активности глутатионтрансферазы к активности глутатионредуктазы превышает контрольное значение через 2 ч, 7 и 14 суток после ЭСМ. Полученные данные свидетельствуют о существовании неоднородности в активации свободнорадикальных процессов в печени в динамике ЭСМ. На основании анализа данных об изменении активности глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы, а также их соотношения в динамике ЭСМ, можно утверждать, что в посттравматическом периоде существуют периоды резкой активации антиокислительных процессов и нарушения динамического равновесия между процессами утилизации и синтеза восстановленного глутатиона и ферментом, его синтезирующим. Возникновение и развитие такой диспропорции может приводить к недостаточной утилизации свободных радикалов, высокая реакционная способность которых оказывает деструктивное влияние на организацию мембранных комплексов [13].

Активация антиокислительных процессов в ткани печени, наблюдаемая в динамике ЭСМ, может быть объяснена развитием адап-

Таблица 2

Активность глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы в печени кроликов
в динамике экспериментального сотрясения мозга

| Цитозоль | Контроль | 15 мин | 2 ч | 1 сутки | 3 суток | 7 суток | 14 суток |
|---|---------------|---------------|---------------|-------------|---------------|-------------|--------------|
| Активность глутатионредуктазы (нМ NADPH/мг белка/мин) | 75,0 13,2 | 82,3 17,4 | 74,0 7,8 | 69,6 6,2 | 134,4 23,4 | 52,4 6,5 | 68,6 9,9 |
| Активность глутатионтрансферазы (нМ 1-хлор-2, 4-динитробензола/мг белка/мин) | 3,3 0,4 | 4,1 1,4 | 7,0 1,5 | 3,5 0,4 | *5,8 0,9 | *5,1 0,7 | *5,9 1,1 |
| Активность глутатионтрансферазы; активность глутатионредуктазы | 0,044 | 0,049 | 0,094 | 0,050 | 0,043 | 0,097 | 0,085 |
| Митохондриальная фракция | | | | | | | |
| Активность глутатионредуктазы (нМ NADPH/мг белка/мин) | 10,67 1,81 | 16,50 2,19 | 15,20 2,37 | | | | 10,00 1,0 |
| Активность глутатионтрансферазы (нМ 1-хлор-2, 4-динитробензола/мг белка/мин) | 1,97 0,23 | 2,63 0,60 | 4,48 0,75 | | | | 4,66 0,87 |
| Активность глутатионтрансферазы; активность глутатионредуктазы | 0,18 | 0,16 | 0,29 | | | | 0,45 |

Примечание. *p<0,05.

тационных изменений. Адаптационные реакции зависят от особенностей гормональной регуляции и, вероятно, повышенного содержания циклических нуклеотидов в ткани печени и других тканях, что, как известно, влияет на активность глутатионтрансферазы [18].

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что в динамике ЭСМ происходит активация универсальной антиокислительной системы. Разнонаправленное повышение активности глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы указывает на возможные нарушения равновесия в системе глутатионзависимой детоксикации, что может быть одной из причин морфологических изменений, обнаруживаемых в посттравматическом периоде.

■

GLUTATHIONE TRANSFERASE AND GLUTATHIONE REDUCTASE ACTIVITY IN RABBITS' BRAIN AND LIVER IN DYNAMICS OF EXPERIMENTAL EASY BRAIN INJURY

MARCHENKOV F. S., VASILJEVA I. G., VEMBER V. V., NAGORNAYA S. L.,
VASILJEV A. N.

Institute of Neurosurgery, T. G. Shevchenko State University, Kiev

The activities of glutathione transferase and glutathione reductase in cytosolic and microsomal fractions of brain and liver of rabbits at experimental easy brain injury (EEBI) were studied. It has been defined that the activity of glutathione reductase and glutathione transferase, both fractions from brain, increased the control 1,5–2-fold during 14 days after injury. The activity of glutathione reductase in cytosolic and microsomal fractions of liver becomes higher than that of control only after 3 days of EEBI. The activity of glutathione transferase, a fraction from liver, is higher than that of control 1,5–2-fold during the whole period of EEBI.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гельфанд В. Б., Маламуд Н. Д., Истратов В. Г. Закрытая черепно-мозговая травма, Киевский, Штетница, 1986.
2. Клумбис Л. А. Нейрофизиология острой черепно-мозговой травмы, Вильнюс, Моклас, 1976.
3. Прохоров М. Ш., Тигранян С. А. Бюл. эксперим. биол. и мед., № 2, с. 46–48, 1969.
4. Прохоров М. Ш., Смирнов А. В., Аюбян А. С. Нейрохимия, т. 1, с. 3–6, 1982.
5. Прохоров М. Ш. Обмен веществ в мозге и его регуляция при черепно-мозговой травме, М., Медицина, 1984.
6. Васильев И. Г., Чопик И. Г., Копьев О. В., Васильев А. Н. Докл. АН УССР, № 7, с. 9–11, 1990.
7. Васильев И. Г., Копьев О. В., Минченко А. Г. Бюл. эксперим. биол. и мед., № 1, с. 25–27, 1991.
8. Зинчук В. С. Врачеб. дело, № 3, с. 18–21, 1989.
9. Rossner M. S., Mewsome M. M., Becker D. P. J. Neurosurg., v. 61, № 1, p. 76–86, 1981.

10. *Morgenstern R., De Rierre J. W.* *Gen. Physiol. Toxicology*, v. 1, p. 67-103 1985.
11. *Васильева И. Г., Марченко Ф. С.* *Нейрохирургия*, Киев, Здоровье, т. 23, с. 240—245, 1990.
12. *Васильева И. Г., Марченко Ф. С.* *Всесоюзный симпозиум по черепно-мозговой травме*, Кабулетти, с. 102, 1988.
13. *Ромоданов А. П., Тушевский В. Ф., Копьев О. В.* *Вопр. нейрохирургии*, № 1, с. 16—24, 1987.
14. *Lana K., Augustin R. C.* *Exp. Funct. Res.*, v. 39, № 8, p. 343—354, 1974.
15. *Habig W., Rabs! M. I., Jacoby B. W. G.* *J. Biol. Chem.*, v. 249, p. 7130—7139, 1974.
16. *Lowry O. H., Rosebrough N. I., Farr A. H., Randall R. I. J.* *Biol. Chem.*, v. 193, № 1, p. 265—268, 1951.
17. *Виноградова Р. П., Кучеренко Н. Е., Литвиненко А. П.* *Зоологічна хімія*, Київ, Вища школа, 1977.
18. *Калесниченко Л. С., Ланкий В. З.* *Біохімія*, т. 287, с. 735—737, 1986.

Поступила 11. X. 1991