



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 1 (73), 2021

ԵՐԿԱՐԱՏԵՎ ՀԻՊՈԿԻՆԵԶԻԱՅԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՑՄԱՆ ԳՈՐԾԸՆԹԱՑՆԵՐԻ ԵՎ ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԱՆՏԱՅԻՆ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԿՐԱ ԿԱԹՆԱՍՈՒՆՆԵՐԻ ՄՈՏ

Հ.Մ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Է.Խ. ԲԱՐՍԵՂՅԱՆ

ԵՊՀ, կենսաբնական, մանրէաբանության և կենսատեխնոլոգիայի ամբիոն
hkarapetyan@ysu.am

Ճագարի արյան մեջ և որոշ օրգաններում ուսումնասիրվել են լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացների և կատալազ ու ՍՕԴ ֆերմենտների ակտիվությունների փոփոխությունների օրինաչափությունները 30-օրյա հիպոկինեզիայի պայմաններում: Ցույց է տրվել, որ ճագարի արյան մեջ լիպիդների գերօքսիդացման առավելագույն մակարդակ դիտվում է սթրեսի ազդեցության 20-րդ օրը:

Ճագարի լյարդում և ուղեղում հիպոկինեզիայի ազդեցության պայմաններում արձանագրվել է կատալազ/ՍՕԴ հարաբերության բարձրացում, ինչը հավանաբար նպաստում է օրգանիզմի հարմարվողականության բարձրացմանը:

Հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվության փոփոխությունների օրինաչափությունների բացահայտումը կարող է հիմք հանդիսանալ հիպոկինեզիայով պայմանավորված ախտաբանական գործընթացների կանխարգելմանը նպաստող տարբեր միջոցների ստեղծման համար:

Սակավաշարժություն – լիպիդների գերօքսիդացում – կատալազ – ՍՕԴ

Изучены закономерности изменения процесса перекисного окисления липидов и активности каталазы и СОД в крови и некоторых органов кроликов при 30-дневной гипокинезии.

Показано, что максимальный уровень перекисного окисления липидов наблюдается в крови кроликов на 20-й день стресса.

В печени и в мозге кролика под влиянием гипокинезии наблюдается повышение соотношения ферментов каталаза/СОД, что, возможно, способствует адаптации организма. Выяснение характера изменения активности антиоксидантных ферментов может стать основой для создания в дальнейшем различных средств, предотвращающих развитие патологических процессов, вызванных гипокинезией.

Гипокинезия – перекисное окисление липидов – каталаза – СОД

The regularities of changes in the process of lipid peroxidation and the activity of catalase and SOD in the blood and some organs of rabbits under 30-day hypokinesia were studied.

It was shown that the maximum level of lipid peroxidation is observed in the blood of rabbits on the 20th day of stress.

In the liver and brain of the rabbit, under the influence of hypokinesia, an increase in the ratio of the enzymes catalase / SOD is observed, which possibly contributes to the adaptation of the organism. Elucidation of the nature of the change in the activity of antioxidant enzymes can become the basis for the creation of various means in the future that prevent the development of pathological processes caused by hypokinesia.

Hypokinesia – process of lipid peroxidation – catalase – SOD

Մարդու կենսակերպի կտրուկ փոփոխությունը հանգեցնում է շարժողական ակտիվության սահմանափակման, ինչը պայմանավորված է գիտատեխնիկական առաջընթացով, իսկ երկարատև անշարժությունն ու մտավոր լարվածությունն առաջ են բերում սթրեսային ռեակցիա, ինչի արդյունքում զարգանում են կարգավորիչ մեխանիզմների լարվածություն, կյանքափոխանակության խանգարումներ, իջնում են օրգանիզմի պահուստային հնարավորությունները, ճնշվում են էներգիական գործընթացները՝ պատճառ հանդիսանալով ախտաբանական գործընթացների զարգացման համար [4, 11, 13]: Այս տեսակետից արդիական է այնպիսի սթրեսների հետազոտումը, ինչպիսիք են խմորիլիզացումն ու հիպոկինեզիան:

Սթրեսային գործոնների ազդեցության դեպքում օրգանիզմի հարմարվողական պաշտպանական ռեակցիաների ձևավորման գործում կարևոր դերը պատկանում է հակաօքսիդանտային ֆերմենտային համակարգերին, որոնք թթվածնի ակտիվ միացություններից ներթափանցող պաշտպանության առաջին օղակն են, որոնց թվին են պատկանում սուպերօքսիդիսմուտազը, կատալազը, գլուտատիոնպերօքսիդազը և նրանց իզոմերները [2, 3, 8, 9]: Նորմայում լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման գործընթացների ուժգնության և հակաօքսիդանտային համակարգի միջև գոյություն ունի որոշակի հավասարակշռություն, որը խախտվում է տարբեր սթրեսային գործոնների ազդեցության հետևանքով և հյուսվածքներում առաջացնում կառուցվածքային և գործառնության խանգարումներ [3,12]: Ուստի կարևորվում է սթրես ռեակցիաների շտկման և կանխարգելման միջոցների ուսումնասիրությունը, որոնք կբարձրացնեն օրգանիզմի կայունությունը սթրես գործոնների հանդեպ և կնպաստեն սթրես սահմանափակող համակարգերի ակտիվացմանը:

Հետազոտությունների նպատակն է եղել ճագարի արյան մեջ և որոշ օրգաններում ուսումնասիրել լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացների ուժգնությունը և առաջին գծի հակաօքսիդանտային ֆերմենտների՝ սուպերօքսիդիսմուտազի և կատալազի ակտիվությունների փոփոխությունների օրինաչափությունները 30-օրյա սակավաշարժության պայմաններում:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտությունները կատարվել են միևնույն սեռի, կշռի, սնման և խնամքի նույն պայմաններում գտնվող *Oryctolagus cuniculus domesticus* ճագարների վրա:

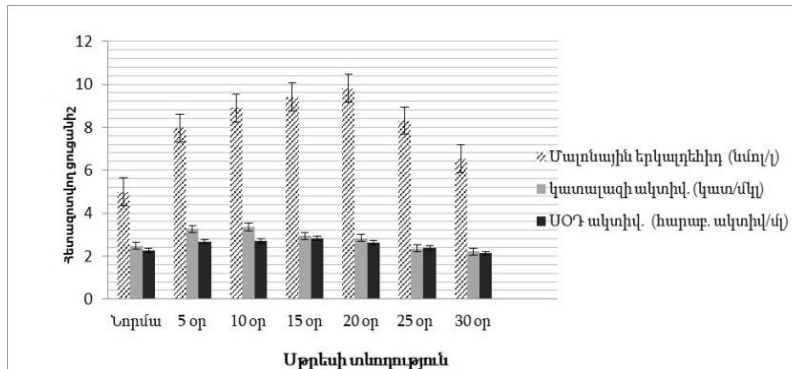
Կենդանիների շարժողական ակտիվությունը սահմանափակելու նպատակով նրանք 30 օր օրական 20 Ժ տևողությամբ պահվել են իրենց չափերին համապատասխանող փորձարարական արկղում: Ստուգիչ խմբում և սթրեսի ազդեցությանը ենթարկված կենդանիների արյան մեջ յուրաքանչյուր 5 օրը մեկ որոշվել են մալոնային երկալդեհիդի քանակությունը և սուպերօքսիդիսմուտազ և կատալազ ֆերմենտների ակտիվությունը:

Կենդանիները ենթարկվել են դեկապիտացիայի, որն իրականացվել է եթեր-բլոքֆորմ խառնուրդով անզգայացնելուց հետո: Պահպանվել են կենսաբանական էթիկայի սկզբունքները՝ համաձայն Եվրոպական միության ցուցումների (86/609 EEC) և Հելսինկյան դեկլարացիայի: Լյարդում, երիկամներում և ուղեղում մալոնային երկալդեհիդի քանակությունը և ֆերմենտների ակտիվությունը որոշվել են 10, 20 և 30 օր սթրեսի ենթարկված կենդանիներին զխատելուց հետո: Մալոնային երկալդեհիդի քանակությունը որոշվել է գունաչափական [7], իսկ կատալազի և ՍՕՂ-ի ակտիվությունը՝ համապատասխանաբար մանգանաչափական և սպեկտրաչափական եղանակներով [5]:

Ստացված տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման “BIOSTAT” համակարգչային ծրագրով: Հավաստիությունը որոշվել է ըստ Ստյուդենտի *t* չափանիշի [15]:

Արդյունքներ և քննարկում: Հետազոտությունների առաջին փուլում ուսումնասիրվել են 30-օրյա սակավաշարժության ազդեցության պայմաններում կենդանիների արյան մեջ մալոնային երկալդեհիդի քանակության, ինչպես նաև սուպերօքսիդիսմուտազի և կատալազի ակտիվությունների փոփոխությունների օրինաչափությունները: Ստացված արդյունքներն ամփոփված են նկ. 1-ում: Արդյունքների վերլուծությունից հետևում է, որ հիպոկինեզիայի ենթարկված կենդանիների մոտ, սթրեսի ազդեցության 5-րդ օրվանից սկսած, դիտվել է լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման վերջնական արգասիք հանդիսացող մալոնային երկալդեհիդի քանակության ավելացում: Այսպես, սթրեսի ազդեցությունից 5 օր անց վերջինիս քանակն արյան մեջ ավելացել է

60 %-ով, 15-րդ օրը՝ 89 %-ով, 20-րդ օրը՝ 97 %-ով, ապա սկսել է նվազել, 30-րդ օրը մալոնային երկալդեհիդի քանակը նորմայի համեմատ բարձր է եղել 28 %-ով: Մալոնային երկալդեհիդի քանակության այսպիսի փոփոխությունը վկայում է այն մասին, որ շարժողական ակտիվության սահմանափակումը կենդանիների մոտ առաջ է բերում լիպիդների գերօքսիդացման ակտիվացում, որից հետո հավանաբար սկսվում են հարմարվողական գործընթացներ և մալոնային երկալդեհիդի քանակության աստիճանական նվազում:



Նկ. 1. Սակավաշարժության ազդեցությունը մալոնային երկալդեհիդի քանակության, ՍՕՂ-ի և կատալազի ակտիվության վրա ճագարի արյան մեջ (n=3, p<0,05)

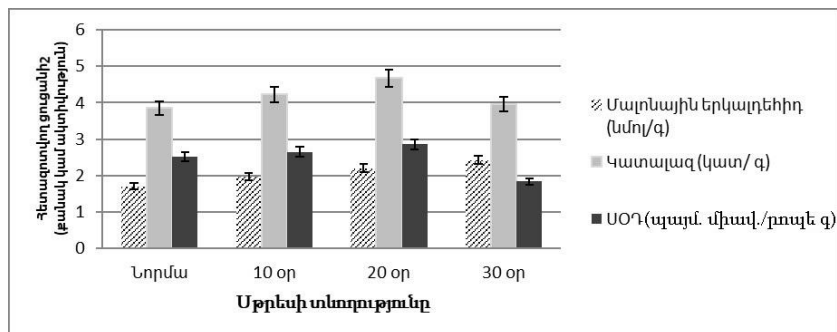
Ինչ վերաբերում է հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվությանը (Նկ. 1), ապա սթրեսի 5-օրյա ազդեցությունից հետո կատալազի ակտիվությունը նորմայի համեմատությամբ ավելացել է 32 %-ով, որը պահպանվել է մինչև սթրեսի ազդեցության 10-րդ օրը, որից հետո սկսել է նվազել, և 25 օր շարժողական ակտիվության սահմանափակման պայմաններում գրանցվել է ակտիվության նվազում 8,8 %-ով:

ՍՕՂ-ը առավելագույն չափով խթանվում է սթրեսի ազդեցության 15-րդ օրը՝ 17 %-ով, 20-րդ օրը գրեթե վերականգնում է նորմայի ցուցանիշը, իսկ 30-րդ օրը նորմայի համեմատ իջնում 23 %-ով:

Որոշ հեղինակների կողմից ցույց է տրվել ՍՕՂ-ի ակտիվության բարձրացում, ինչպես նաև Fe-SO-ի և Mn-SO-ի ի-ՌՆԹերի կուտակում այլ սթրեսային գործոնների ազդեցության պայմաններում, որն ապացուցում է այս ֆերմենտի և նրանց կոդավորող գենների դերը օրգանիզմի հարմարվողականության բարձրացման գործում [1]:

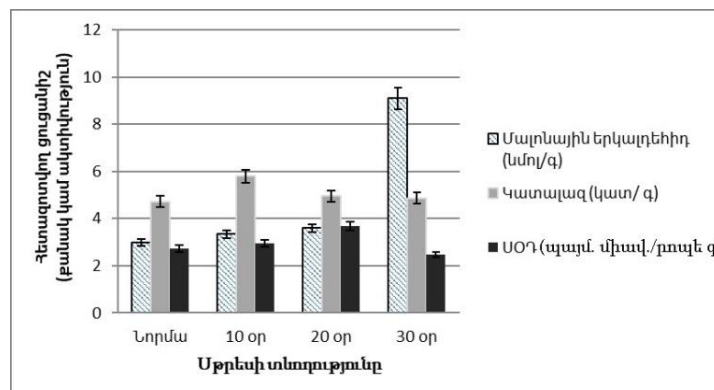
Ամփոփելով հետազոտությունների այս փուլի արդյունքները՝ կարելի է նշել, որ սթրեսի տևողության մեծացմանը զուգընթաց լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման ուժգնությունը մնում է նորմայից բարձր նույնիսկ սթրեսի ազդեցության 30-րդ օրը, իսկ հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվությունը սթրեսի վաղ փուլերում բարձրանում է, ապա երկարատև ազդեցության դեպքում՝ իջնում նորմա- յից: Համաձայն որոշ հետազոտողների՝ սթրեսի երկարատև ազդեցության դեպքում ճարպերի գերօքսիդային օքսիդացման արգասիքների խտության բարձրացումը ճնշող ազդեցություն է թողնում հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվության վրա [2, 10]:

Հետազոտությունների հաջորդ փուլում մեր կողմից ուսումնասիրվել է շարժողական ակտիվության սահմանափակման ազդեցությունը լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման ուժգնության, ինչպես նաև հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվությունների փոփոխությունների վրա ճագարի երիկամում, ուղեղում և լյարդում: Ստացված արդյունքները ներկայացված են Նկ. 2-ում, 3-ում և 4-ում:



Նկ. 2. Սակավաշարժության ազդեցությունը մալոնային երկալդեհիդի քանակության, կատալազի և ՍՕԴ-ի ակտիվության վրա ճազարի լյարդում (n=3, p<0,05)

Ինչպես երևում է Նկ. 2-ից, լյարդում սակավաշարժության ազդեցության 10-րդ օրը լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացումը Նորմայի համեմատ բարձրանում է 15.8 %-ով, 30-րդ օրը՝ 43 %-ով: Լյարդում հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվությունը սթրեսի սկզբնական փուլում սկսում է բարձրանալ, որն իր առավելագույն արժեքին հասնում է սթրեսի ազդեցության 20-րդ օրը: Կատալազի ակտիվությունն այդ ընթացքում գերազանցում է Նորման 21,6 %-ով, իսկ ՍՕԴ-ի ակտիվությունը համապատասխանաբար՝ 14%-ով: Սթրեսի ազդեցության տևողության երկարացման դեպքում դիտվում է ֆերմենտների ակտիվության անկում այնպես, որ կատալազի ակտիվությունը գրեթե վերադառնում է Նորմայի սահմաններին, իսկ ՍՕԴ-ի ակտիվությունը ընկճվում է 27 %-ով:



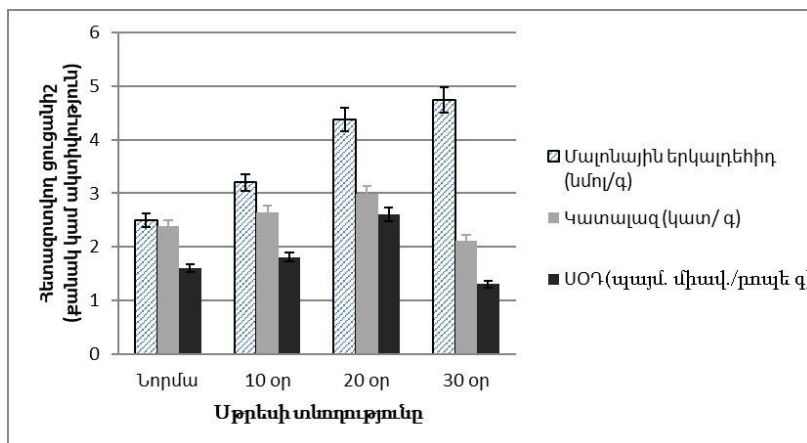
Նկ. 3. Սակավաշարժության ազդեցությունը մալոնային երկալդեհիդի քանակության, ՍՕԴ-ի և կատալազի ակտիվության վրա ճազարի երիկամում (n=3, p<0,05)

Երիկամում սթրեսի տևողության երկարացմանը զուգընթաց լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման գործընթացներն ավելի ուժգին են ընթանում, քան լյարդում (Նկ. 3-ում):

Կատալազի ակտիվությունը ճազարի երիկամում ամենաբարձր ցուցանիշին հասնում է սթրեսի ազդեցության 10-րդ օրը՝ Նորման գերազանցելով 22.7 %-ով, ապա սկսում է նվազել՝ 30-րդ օրը վերադառնալով Նորմայի սահմաններին:

Նկ. 4-ում ներկայացված հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տալիս, որ ուղեղում սթրեսի ազդեցության պայմաններում լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման գործընթացների և հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվության փոփոխու-

թյունների օրինաչափությունները նման են ճագարի լյարդում ստացված արդյունքներին: Սթրեսի ազդեցության պայմաններում կատալազի ակտիվությունը ՍՕԴ-ի համեմատությամբ ավելի ուժգին է խթանվում, իսկ կատալազ/ՍՕԴ հարաբերության բարձրացումն ավելի ակնառու է դարձնում ՍՕԴ-ի համեմատությամբ կատալազի պաշտպանական գործառույթը, քանի որ ՍՕԴ-ի ելանյութը՝ սուպերօքսիդ անիոն-ռադիկալը, այդքան տոքսիկ չէ, որքան սուպերօքսիդի սմուտացման արդյունքում առաջացող ջրածնի պերօքսիդը, որի բարձր կոնցենտրացիաների ազդեցությամբ կարող է դիտվել կատալազի ապաակտիվացում:



Նկ. 4. Սակավաշարժության ազդեցությունը մալոնային երկալդեհիդի քանակության, կատալազի և ՍՕԴ-ի ակտիվության վրա ճագարի ուղեղում ($n=3$, $p<0,05$)

Բացի այդ, ջրածնի պերօքսիդը կարող է սկիզբ տալ առավել վտանգավոր հիդրօքսիլ ռադիկալի առաջացման, ուստի ՍՕԴ-ի համեմատությամբ կատալազի առավել բարձր ակտիվությունը բնիջները պաշտպանում է օքսիդային սթրեսի վնասակար ազդեցությունից, հնարավորություն է տալիս հաղթահարելու սթրեսի հետևանքները [6, 8]: Բացի այդ ջրածնի պերօքսիդի վերականգնման գործընթացը մոլեկուլային թթվածնի լրացուցիչ աղբյուր է, և կատալազը, իրականացնելով հակաօքսիդանտային գործառույթ, նաև բարձրացնում է էներգիական նպատակներով եկող գեներ թթվածնի յուրացման օգտակար գործակիցը, քանի որ օքսիդային ֆոսֆորիլացման շղթա է վերադարձնում միաէլեկտրոնային վերականգնման ենթարկված թթվածինը [3, 9]:

Այսպիսով, օքսիդային գործընթացների և հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվության փոփոխությունների բնույթի պարզաբանումը սթրեսային գործոնների ազդեցության պայմաններում հիմք կարող է հանդիսանալ թթվածնի ակտիվ ձևերի ազդեցությամբ պայմանավորված հիվանդությունների կանխարգելումն ապահովող նոր միջոցների ստեղծման համար:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Репкина Н., Игнатенко А., Панфилова К., Титов А., Таланова В. Динамика активности супероксиддисмутазы и экспресии кодирующих ее генов в листьях пшеницы при холодной адаптации. Труды Карельского научного центра РАН № 5, с. 89-98, 2017.

2. Gelpi, R.J., Boveris, A., Poderoso, J.J. *Biochemistry of Oxidative Stress*. Springer International Pu., Argentina, p. 9-45, 2017.
3. Ighodaro O.M., Akinloye O.A. First line defence antioxidants superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid, *Alexandria Journal of Medicine*, 54, 4, 287-293, 2018.
4. Juravlyova, O. A., Markin, A. A., Kuzichkin, D. S., Loginov, V. I., Zabolotskaya, I. V., & Vostrikova, L.V. Dynamics of oxidation stress markers during long-term antiorthostatic hypokinesia: A retrospective study. *Human Physiology*, 42, 1, p.79-83, 2016.
5. Kukulyanskaya T.A. *Enzymology*. Minsk: Belorussian State Univ. Press, 49 p., 2008.
6. Lei G., Zhu H., Cheng H., Bao Y., Ho S., Reddi A., Holmgren A., Arneer E. Paradoxical roles of antioxidant enzymes: basic mechanisms and health implications. *Physiol. Rev.*, 96, pp. 307-364, 2016.
7. Ljubuncic, P., Z. Tanne, A. Bomzon Evidence of a systemic phenomenon for oxidative stress in cholestatic liver disease. *Gut*, 47, 5, 710-716, 2000.
8. Nishimoto T., Furuta M., Kataoka M., Kishida M. Important role of catalase in the cellular response of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* exposed to ionizing radiation. *Current microbiology*, 70, 3, pp. 404-407, 2015.
9. Quijano C., Trujillo M., Castro L., Trostchansky A. Interplay between oxidant species and energy metabolism. *Redox Biology*, 8, 28-42, 2016.
10. Ryazantseva L.T. Enzymes-antioxidants: structurally functional properties and a role in regulation of metabolic processes. *Proceedings of Voronezh state university*, 7, 2, pp. 126-129, 2011.
11. Sies H., Berndt C., Jones P. Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*, 86, pp. 715-748, 2017.
12. Sirota T.V, Zakharchenko M.V, Kondrashova M.N. Cytoplasmic superoxide dismutase activity is a sensitive indicator of the antioxidant status of the rat liver and brain. *J. Biomed Khim*, 60, 1, p. 63-71, 2014.
13. Ulugbekova G., Ubaydullaev R., Zulfizar U., Rokhatoy K., Diloram R. Secretion of enzymes by the salivary glands and homeostasis of enzymes in various ambient temperature. *Journal of Critical Reviews*, 13, 7, 494-497, 2020.
14. Vasilaki A., Millan D. Lipid Peroxidation. *Encyclopedia of Cancer*, L-3373, p. 1968-1991, 2017.
15. Welham S .J., Gezan S. A., Clark S. J., A Mead Statistical Methods in Biology: Design and Analysis of Experiments and Regression. CRC press, 564 p., 2014.

Ստացվել է 25.01.2021