

УДК: 577.112.38-042.3:577.124:599.323.4

Вплив геміну та глутатіону на деякі показники азотного та вуглеводного метаболізму в щурів

С.М. Охріменко, А.Ю. Гришкова

Накопичення гему в організмі при дії різних гемолітичних чинників може спричинювати розвиток оксидативного стресу з активацією вільнорадикальних процесів, окисним пошкодженням макромолекул і надмолекулярних комплексів клітин та тканин. За цих умов в організмі активується система антиоксидантного захисту, важливою ланкою якої є тіолові сполуки, зокрема глутатіон. Недостатньо дослідженими за таких умов є процеси азотного та вуглеводного метаболізму, які пов'язані з формуванням адаптивних реакцій у відповідь на стрес. Мета цієї роботи – дослідження деяких показників азотного та вуглеводного обміну при введенні в організм геміну та комбінованого введення геміну та глутатіону для з'ясування ролі цього антиоксиданту у можливому коригуванні метаболічних процесів. Об'єкт дослідження – статевозрілі безпородні білі щури-самці, що отримували внутрішньочеревні ін'єкції розчинів геміну (50 мг/кг) та глутатіону (500 мг/кг), який вводили за 0,5 години до введення геміну. Тварин брали у дослід через 2 години після введення геміну. У гомогенатах печінки та нирок досліджували вміст загальних та небілкових SH-груп, активність гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ), у гомогенаті печінки – вміст глікогену та активність тирозинамінотрансферази (ТАТ). Вміст відновлених SH-груп може бути індикатором про-антиоксидантного балансу, активність ГГТ – одним з показників обміну глутатіону, вміст глікогену та активність ТАТ у печінці є гормончутливими показниками. Уведення геміну спричинювало зниження вмісту загальних та небілкових SH-груп, вмісту глікогену та підвищення активності ТАТ у печінці, а також підвищення активності ГГТ у цьому органі. Уведення щурам глутатіону за 30 хвилин до введення геміну запобігало змінам цих показників у печінці, спричинених введенням одного геміну. У нирках виявлено збільшення вмісту загальних SH-груп після сукупного введення глутатіону та геміну порівняно з дією одного геміну. Результати дослідження можуть свідчити про чутливість до дії геміну показників азотного та вуглеводного метаболізму в органах щурів та про коригувальний вплив глутатіону за цих умов, ймовірно, опосередкований через підсилення тіолової ланки системи антиоксидантного захисту.

Ключові слова: гемін, глутатіон, SH-групи, тирозинамінотрансфераза, гамма-глутамілтранспептидаза, глікоген, печінка, нирки.

Про авторів:

С.М. Охріменко – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, s.okhriimenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7844-618X>

А.Ю. Гришкова – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, ansygyr0894@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-4074-8369>

Вступ

Гем є небілковою складовою гемопротейнів, що відіграють значну роль у транспортуванні кисню, мітохондріальній енергетиці, пероксидному метаболізмі, сигнальній трансдукції – гемоглобіну, цитохромів, каталази та ін. Масове вивільнення гему та його накопичення в крові та тканинах спостерігається при гемолізі та рабдоміолізі, що виникають внаслідок дії хімічних речовин, гіпо- та гіпертермії, тривалої гіпокінезії, компресії, інфекції тощо (Kumar, Bandyopadhyay, 2005; Visweswaran, Guntupalli, 1999; Wu et al., 2019; Chiabrando et al., 2018). Основним шляхом деградації гему є гемоксигеназна реакція з утворенням білівердину, СО та іонів Fe^{2+} (Duvigneau et al., 2019; Lanceta et al., 2015; Chen et al., 2019; Gozzelino et al., 2010). Іони заліза (II) можуть брати участь у реакції Фентона та спричинювати порушення редокс-балансу в клітинах та тканинах (Balla et al., 1993; Jeneu et al., 2002; Gáll et al., 2019). Накопичення активних форм кисню та нітрогену спричинює оксидативний стрес, за якого посилюються окисні процеси, пошкоджуються біомолекули та надмолекулярні комплекси, порушуються клітинні функції. Такі зміни є основою низки патологічних станів (Chiziane et al., 2018; Kumar, Bandyopadhyay, 2005; Alvarado et al., 2015; Chiabrando et al., 2018). Знешкодження молекул з вільнорадикальними властивостями відбувається за участі антиоксидантної системи організму, серед компонентів якої значну роль відіграє глутатіон (Kulinsky, Kolesnichenko, 2009; Adeoye et al., 2018; Aoyama, Nakaki, 2015). При великій кількості досліджень, присвячених обміну глутатіону (Kulinsky, Kolesnichenko, 2009; Kalinina et al., 2014), недостатньо вивченим є вплив екзогенного глутатіону на вміст цього пептиду у тканинах за оксидативного стресу. Недостатньо дослідженими є також процеси загального метаболізму та можлива роль глутатіону в їх регуляції при оксидативному стресі. У зв'язку із зазначеним вище, метою цієї роботи було дослідження впливу геміну на стан системи тіолів та активність γ -глутамілтранспептидази (ГГТ) у печінці та нирках, вміст глікогену та активність тирозинамінотрансферази (ТАТ) у печінці, а також

вплив глутатіону, що вводився перед геміном, на ці показники. Для з'ясування ролі попередників синтезу глутатіону при дії геміну була поставлена задача дослідити вплив геміну та попередників глутатіону на вміст відновлених SH-груп у ізольованих гепатоцитах.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктом дослідження були безпородні білі самці-щури масою 170–280 г, які утримувались у стандартних умовах віварію Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Тварини були поділені на три групи: 1. Контрольна група – їм вводили фізіологічний розчин з урахуванням маси тіла; 2. Дослідна група №1 – вводили розчин геміну з розрахунку 5мг/100 г ваги; 3. Дослідна група №2 – вводили розчин глутатіону з розрахунку 50мг/100 г маси, через 30 хвилин – розчин геміну. Всі ін'єкції проводили внутрішньочеревинно. Через 2 години після введення геміну тварин брали в дослід, дотримуючись вимог Конвенції поводження з тваринами. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином, з печінки та нирок готували гомогенати на 0,02 М калій-фосфатному буфері (рН=7,6). Отримані гомогенати використовували для визначення активності тирозинамінотрансферази, γ -глутамілтранспептидази і вмісту SH-груп. Активність ТАТ визначали за накопиченням п-оксифенілпірувату та виражали в нмольх п-ОФП на 1 мг білку за одну хвилину (Schepard, 1969). Активність ГГТ визначали за допомогою стандартних тест-наборів та виражали в мкмоль утвореного глутамінового залишку, який переходить на гліцил-гліцил, на 1 мг білку за одну хвилину (Dimov, Kulhanek, 1967). Визначення кількості білку проводилось за методом Лоурі в модифікації Міллера (Miller, 1959). Вміст загальних і небілкових SH-груп у гомогенатах печінки і нирок визначали за допомогою реактиву Еллмана і виражали в мкмоль/г тканини (Ellman, 1959). Також проводилось визначення вмісту глікогену в печінці за методом Кемпа, який виражали в мг/г тканини (Охріменко та ін., 2006). Статистичний аналіз отриманих результатів у рядах з нормальним розподілом проводили за допомогою *t*-критерію Стьюдента у відповідності до загальноприйнятої методики.

Дослід *in vitro*. Гепатоцити виділяли за допомогою неферментативного диспергування печінки. Печінку перфузували, видаляли, заливали охолодженим середовищем RPMI 1640, подрібнювали і продавлювали через нейлоновий фільтр у потоці охолодженого середовища RPMI 1640. Первинну суспензію клітин центрифугували (70 г, 5 хв.) задля відділення гепатоцитів від фрагментів тканини. Потім суспензію клітин центрифугували (150 г, 5 хв.) і осад клітин ресуспендували в культуральному середовищі. Концентрацію клітин та їх життєздатність підраховували на автоматичному цитометрі Invitrogen Countess з використанням вітального барвника трипанового синього. Концентрація клітин в отриманій суспензії становила в середньому $2,4\text{--}4,2 \times 10^6$ клітин/мл. Життєздатність клітин становила 76–84 %. Виділені гепатоцити інкубували при +37°C у культуральному середовищі RPMI 1640 без додавання домішок – контроль або у присутності концентрацій геміну (60 мМ) та попередників глутатіону (5 мМ N-ацетилцистеїну, 1 мМ глутаміну та 1 мМ гліцину) – дослідні групи. При інкубації гепатоцитів в усі зразки, включаючи контрольні, додавали по 5 мМ глюкози. Інкубація контрольних і дослідних проб проводилась протягом однієї години на шейкері з перемішуванням, після чого клітини піддавались центрифугуванню при 2500 об/хв. протягом п'яти хвилин. Отриманий осад ресуспендували з додаванням 3 мл культурального середовища, після чого піддавали лізису за допомогою 1 % розчину Triton X-100. Клітини інкубували протягом 20 хвилин при температурі 4°C та центрифугували при 6000 об/хв. протягом 3 хвилин. В отриманому супернатанті досліджували вміст загальних та небілкових SH-груп, який виражали в мкмоль/10⁶ клітин.

Результати та обговорення

Введення геміну спричинювало зниження рівня як загальних, так і небілкових SH-груп у печінці, в той час як у нирках не було виявлено достовірних змін цих показників, що може відображувати різну динаміку окисних процесів у цих органах (табл. 1). Попереднє введення глутатіону запобігало зниженню вмісту загальних і небілкових SH-груп у печінці, спричиненого введенням геміну, що може свідчити про участь екзогенного глутатіону у поповненні пулу тіолів і обмеженні окисних процесів у тканинах. Про це свідчать і результати дослідження вмісту тіолів у нирках, де введення глутатіону з геміном спричинювало підвищення вмісту загальних SH-груп порівняно з введенням одного геміну (табл. 1). Отримані результати узгоджуються з літературними даними про прооксидантну дію геміну та антиоксидантну – глутатіону (Balla et al., 1993; Jeney et al., 2002; Kalinina et al., 2014; Adeoye et al., 2018). У дослідженні, що проводилось нами раніше, також було встановлено зниження вмісту

тіолів у печінці, нирках та серці щурів при експериментальному рабдоміолізі, спричиненому введенням гліцеролу (Каліман, Охріменко, 2012).

Розвиток оксидативного стресу супроводжується розвитком захисних реакцій, спрямованих на збереження гомеостазу в організмі, що потребує значної кількості енергії. У проведених нами раніше дослідженнях було показано, що при оксидативному стресі, спричиненому надходженням в організм тварин сполук важких металів (HgCl₂, CoCl₂, CdCl₂), а також при рабдоміолізі посилюються процеси вуглеводного, азотного та ліпідного метаболізму – глікогеноліз, ліполіз, процеси переамінування як постачальники субстратів для глюконеогенезу (Каліман, Охріменко, 2005; Охріменко и др., 2005; Каліман, Охріменко, 2012). Це може відображувати участь регуляторних систем організму в адаптації до оксидативного стресу, спричиненого різними чинниками. Про наявність гормональної регуляції за оксидативного стресу, спричиненого введенням геміну, можуть свідчити наші дані про вміст глікогену та активність тирозинамінотрансферази в печінці (табл. 2). Зниження вмісту глікогену за введення геміну може відображувати активацію симпато-адреналової системи регуляції з активацією глікогенфосфорилази. В той же час, підвищення активності тирозинамінотрансферази за введення геміну може свідчити про участь гормонів надниркових залоз у регуляції метаболізму за цих умов, оскільки в печінці є форма ТАТ, що індукується глюкокортикоїдами (Mertvetsov et al., 1990). Застосування глутатіону, що вводився перед геміном, запобігало змінам вмісту глікогену та активності ТАТ, що спричинялись введенням геміну. Ці результати можуть свідчити про взаємодію антиоксидантної системи, зокрема її тіолової ланки, з системою нейрогуморальної регуляції організму.

Таблиця 1.

Вміст загальних та небілкових SH-груп у печінці та нирках щурів за введення геміну та глутатіону (M±s), мкмоль/г тканини

Орган	Контроль	Гемін	Гемін + глутатіон
Печінка	загальні SH-групи		
	13,98±4,91	6,99±4,28*	15,55±5,53#
	небілкові SH-групи		
	6,72±1,98	3,88±1,96*	20,19±11,63#
Нирки	загальні SH-групи		
	10,97±3,13	6,11±0,96	15,21±8,20#
	небілкові SH-групи		
	7,14±3,93	4,48±1,75	7,70±3,63

Примітка: * p≤0,05 відносно контролю, # p≤0,05 відносно геміну.

Таблиця 2.

Вміст глікогену та активність ТАТ у печінці щурів за введення геміну та глутатіону (M±s)

Контроль	Гемін	Гемін + глутатіон
Глікоген, мг/г тканини		
23,21±5,03	14,08±5,45*	17,29±6,85
Активність ТАТ, нмоль п-ОФП/хв на мг білку		
1,92±0,48	6,25±3,26*	2,22±1,0#

Примітка: * p≤0,05 відносно контролю, # p≤0,05 відносно геміну.

Роботу γ-глутамільного циклу при оксидативному стресі, спричиненому введенням геміну, вивчали за активністю γ-глутамілтрансферази (табл. 3). Було виявлено значну різницю активності ферменту в органах, що досліджувались: так, активність ГГТ у нирках значно вища, ніж у печінці, що узгоджується з даними літератури (Kulinsky, Kolesnichenko, 2009) і може відображувати важливу роль нирок у перетворенні кон'югатів глутатіону. Введення геміну не впливало на активність ГГТ у нирках і підвищувало її активність у печінці, де базальна активність ферменту, вочевидь, не може забезпечити потреби у достатній кількості γ-глутамінової кислоти для синтезу глутатіону в цьому

органі за оксидативного стресу, і тому, ймовірно, відбувається індукція синтезу ГГТ. Вплив активних форм кисню на експресію гену ГГТ був показаний у роботі (Pandur et al., 2007). Також слід зазначити, що у досліджуваній нами термін дії геміну (2 години) окислювальні пошкодження та формування захисних реакцій у різних органах можуть мати різну динаміку внаслідок різної швидкості надходження геміну з кровотоку. Печінка є першою мішенню, де дія геміну проявляється раніше, ніж у нирках, і свідченням цього може бути як активація ГГТ, так і зміни вмісту тіолів у цьому органі (табл. 1), на відміну від нирок. Застосування глутатіону запобігало підвищенню активності ГГТ у печінці, спричиненому введенням геміну, що може свідчити про обмеження дії геміну в крові екзогенним глутатіоном.

Таблиця 3.

Активність ГГТ у печінці та нирках щурів за введення геміну та глутатіону ($M \pm s$), мкмоль/хв на мг білку

Контроль	Гемін	Гемін + глутатіон
Печінка		
0,13±0,02	0,41±0,12*	0,14±0,10#
Нирки		
25,8±7,5	30,3±12,6	27,4±14,5

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно контролю, # $p \leq 0,05$ відносно геміну.

У дослідженні з ізольованими гепатоцитами було показано, що при їх інкубації з геміном вміст загальних і небілкових SH-груп знижувався вдвічі, що може відображувати посилення окисних процесів у клітинах і виснаження пулу тіолів (табл. 4). Додавання в інкубаційне середовище попередників глутатіону запобігало зниженню рівня тіолів у гепатоцитах, що спричинювалось геміном. Ймовірно, за цих умов відбувався транспорт амінокислот у клітини та їх залучання у синтез глутатіону, оскільки за оксидативного стресу в печінці активно відбувається його утворення (Chen et al., 2007). Підвищення вмісту глутатіону в гепатоцитах насичувало тіолову ланку антиоксидантної системи та нівелювало прооксидантну дію геміну. Таким чином, наочно показана роль амінокислот – попередників глутатіону у обмеженні окисних процесів за оксидативного стресу, спричиненого введенням геміну.

Таблиця 4.

Вміст загальних та небілкових SH-груп у гепатоцитах при інкубації з геміном та попередниками глутатіону ($M \pm s$), мкмоль/10⁶ клітин

Контроль	Гемін	Гемін + попередники глутатіону
Загальні SH-групи		
1,22±0,19	0,64±0,22*	1,29±0,37
Небілкові SH-групи		
0,51±0,08	0,25±0,09*	0,41±0,19

Примітка: * $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Результати проведеного дослідження дозволяють зробити наступні висновки:

1. Введення в організм геміну спричинює зниження вмісту відновлених тіолів в органах щурів, що може свідчити про посилення окисних процесів і розвиток оксидативного стресу.
2. Введення геміну впливає на показники азотного та вуглеводного метаболізму, що, ймовірно, відбувається через посилення окисних процесів та їх вплив на регуляторні системи організму.
3. Насичення екзогенним глутатіоном тіолової ланки системи антиоксидантного захисту може запобігати розвитку окислювальних процесів, спричинених введенням геміну, або знижувати їх інтенсивність.

4. Введення глутатіону має коригувальний вплив на досліджені нами показники азотного та вуглеводного метаболізму, що змінюються за дії геміну. Це може свідчити про наявність редокс-регуляції нейроендокринної системи організму
5. Попередники синтезу глутатіону можуть брати участь в обмеженні окисних процесів, спричинених дією геміну, ймовірно, шляхом синтезу ендogenous глутатіону.

Список літератури / References

- Калиман П.А., Охріменко С.М. (2012). Стан вуглеводного та азотистого метаболізму в тканинах щурів за експериментального рабдоміолізу. *Укр. біохім. журн.*, 84(1), 79–85. [Kaliman P.A., Okhrimenko S.M. (2012). Carbohydrate and nitrogenous metabolism condition in the rat tissue under experimental rhabdomyolysis. *Ukr. Biochem. J.*, 84(1), 79–85.]
- Калиман П.А., Охріменко С.М. (2005). Цикл глюкоза–жирные кислоты при оксидативном стрессе у крыс, вызванном хлоридом кобальта. *Укр. біохім. журн.*, 77(2), 154–158. [Kaliman P.A., Okhrimenko S.M. (2005). The glucose–fatty acid cycle under oxidative stress caused by cobalt chloride, in rats. *Ukr. Biochem. J.*, 77(2), 154–158.]
- Охріменко С.М., Буланкіна Н.І., Ганусова Г.В. (2006). Методи дослідження вуглеводного та ліпідного обміну. Методичні вказівки. Харків: ХНУ ім. В.Н.Каразіна. 32 с. [Okhrimenko S.M., Bulankina N.I., Hanusova H.V. (2006). *Experimental techniques for studying carbohydrate and lipid metabolism. Methodology guidelines*. Kharkiv: V.N.Karazin Kharkiv National University. 32 p.]
- Охріменко С.М., Гур'єва Н.Ю., Калиман П.А. (2005). Адаптація ферментов липидного и азотистого обмена у крыс при оксидативном стрессе, вызванном солями кобальта и ртути. *Вісник Харківського університету. Серія: Біологія*, 1–2, 56–60. [Okhrimenko S.M., Gur'eva N.Y., Kaliman P.A. (2005). The adaptation of enzymes of lipid and nitrogenous metabolisms in rat under oxidative stress caused by cobalt and mercury salts. *The Journal of V.N.Karazin Kharkiv National University. Series: Biology*, 1–2, 56–60.]
- Adeoye O., Olawumi J., Opeyemi A. et al. (2018) Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. *JBRA Assist. Reprod.*, 22(1), 61–66. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180003>
- Alvarado G., Jeney V., Tóth A. et al. (2015). Heme-induced contractile dysfunction in human cardiomyocytes caused by oxidant damage to thick filament proteins. *J. Free Radic. Biol. Med.*, 89, 248–262. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.07.158>
- Aoyama K., Nakaki T. (2015). Glutathione in cellular redox homeostasis: association with the Excitatory Amino Acid Carrier 1 (EAAC1). *Molecules*, 20(5), 8742–8758. <https://doi.org/10.3390/molecules20058742>
- Balla J., Jacob H., Balla G. et al. (1993). Endothelial-cell heme uptake from heme proteins: induction of sensitization and desensitization to oxidant damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90 (20), 9285–9289. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.20.9285>
- Chen Y., Yang Y., Miller M.L. (2007). Hepatocyte-specific Gclc deletion leads to rapid onset of steatosis with mitochondrial injury and liver failure. *Hepatology*, 45(5), 1118–1128. <https://doi.org/10.1002/hep.21635>
- Chen S., Wang X., Nisar M. et al. (2019). Heme oxygenases: cellular multifunctional and protective molecules against UV-induced oxidative stress. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 5416728. <https://doi.org/10.1155/2019/5416728>
- Chiabrando D., Fiorito V., Petrillo S. et al. (2018). Unraveling the role of heme in neurodegeneration. *Front. Neurosci.*, 12, 7–12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00712>
- Chiziane E., Telemann H., Krueger M. et al. (2018). Free heme and amyloid- β : a fatal liaison in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, 61(3), 963–984. <https://doi.org/10.3233/JAD-170711>
- Dimov D.M., Kulhanek V. (1967). Comparison of four methods for the estimation of gamma-glutamyl transpeptidase activity in biological fluids. *Clin. Chim. Acta*, 16(2), 271–277. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90192-1](https://doi.org/10.1016/0009-8981(67)90192-1)
- Duvigneau J., Esterbauer H., Kozlov A. (2019). Role of heme oxygenase as a modulator of heme-mediated pathways. *Antioxidants (Basel)*, 8(10), 4–75. <https://doi.org/10.3390/antiox8100475>
- Ellman G. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Gáll T., Balla G., Balla J. (2019). Heme, heme oxygenase, and endoplasmic reticulum stress – a new insight into the pathophysiology of vascular diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(15), 36–75. <https://doi.org/10.3390/ijms20153675>

- Gozzelino R., Jeney V., Soares M. (2010). Mechanisms of cell protection by heme oxygenase-1. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 50, 323–354. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.010909.105600>
- Jeney V., Balla J., Yachie A. et al. (2002). Pro-oxidant and cytotoxic effects of circulating heme. *Blood*, 100(3), 879–887. <https://doi.org/10.1182/blood.v100.3.879>
- Kalinina E.V., Chernov N.N., Novichkova M.D. (2014). Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry (Moscow)*, 79(13), 1562–1583. <https://doi.org/10.1134/S0006297914130082>
- Kulinsky V.I., Kolesnichenko L.S. (2009). The glutathione system. II. Other enzymes, thiol-disulfide metabolism, inflammation and immunity, functions. *Biochemistry (Moscow). Supplement Series Biomedical Chemistry*, 3(3), 211–220. <https://doi.org/10.1134/S1990750809030019>
- Kumar S., Bandyopadhyay U. (2005). Free heme toxicity and its detoxification systems in human. *Toxicol. Lett.*, 157(3), 175–188. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.03.004>
- Lanceta L., Mattingly J., Li C. et al. (2015). How heme oxygenase-1 prevents heme-induced cell death. *PLoS One*, 10(8), 134–144. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134144>
- Mertvetsov N.P., Zelenin S.M., Morozov I.V. et al. (1990). The structure and hormonal regulation of the expression of tyrosine aminotransferase genes in mammals. *Probl. Endokrinol. (Mosk)*, 36(4), 42–51.
- Miller G.L. (1959). Protein determination for large numbers of samples. *Anal. Chem.*, 31(5), 964–966. <https://doi.org/10.1021/ac60149a611>
- Pandur S., Pankiv S., Johannessen M. et al. (2007). Gamma-glutamyltransferase is up-regulated after oxidative stress through the Ras signal transduction pathway in rat colon carcinoma cells. *Free Radical Research*, 41, 1376–1384. <https://doi.org/10.1080/10715760701739488>
- Schepard B. (1969). New method for assay of tyrosine transaminase. *Anal. Biochem.*, 30, 443–448. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(69\)90139-0](https://doi.org/10.1016/0003-2697(69)90139-0)
- Visweswaran P., Guntupalli J. (1999). Rhabdomyolysis. *Crit. Care. Clin.*, 15(2), 415–428. [https://doi.org/10.1016/s0749-0704\(05\)70061-0](https://doi.org/10.1016/s0749-0704(05)70061-0)
- Wu B., Wu Y., Tang W. (2019). Heme catabolic pathway in inflammation and immune disorders. *Front. Pharmacol.*, 10(1), 8–25. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00825>

Effect of hemin and glutathione on some indicators of nitrogen and carbohydrate metabolism in rats

S.M. Okhrimenko, A.Yu. Grishkova

The accumulation of heme in the organism under the influence of various hemolytic factors can cause the development of oxidative stress with the activation of free radical processes, oxidative damage to macromolecules and supramolecular complexes of cells and tissues. Under these conditions, the antioxidant defense system is activated in the organism, an important link of which is thiol compounds, particularly glutathione. Under such conditions, the processes of nitrogen and carbohydrate metabolism associated with the formation of adaptive reactions in response to stress have been investigated insufficiently. The aim of this work is to study some indicators of nitrogen and carbohydrate metabolism during the administration of hemin and the combined administration of hemin and glutathione to clarify the role of this antioxidant in the possible correction of metabolic processes. The subjects of the study were mature outbred albino male rats that received intraperitoneal injections of hemin (50 mg/kg) and glutathione (500 mg/kg) solutions, which was administered 0.5 hours before the introduction of hemin. The animals were tested 2 hours after hemin administration. The content of total and non-protein -SH groups, and the activity of gamma-glutamyltranspeptidase (GGT) in liver and kidney homogenates, glycogen content and tyrosinaminotransferase (TAT) activity in liver homogenate were studied. The content of reduced -SH groups can be an indicator of pro-antioxidant balance, GGT activity is one of the indicators of glutathione metabolism, and glycogen content and TAT activity in liver are hormone-sensitive indicators. The introduction of hemin caused a decrease in the content of total and non-protein -SH groups, glycogen content and an increase in TAT activity in liver, as well as an increase in the activity of GGT in this organ. Administration of glutathione to rats 30 minutes before the administration of hemin prevented shifts in these parameters in liver caused by the administration of hemin alone. In kidneys, an increase in the content of total -SH groups was found after the combined administration of glutathione and hemin compared with the effect of hemin alone. The results of this study may indicate a sensitivity of nitrogen and carbohydrate metabolism in rat organs to the effect of hemin and the corrective effect of glutathione under these conditions, probably mediated through an increase in the thiol component of the antioxidant defense system.

Key words: hemin, glutathione, -SH groups, tyrosine aminotransferase, gamma glutamyltransferase, glycogen, liver, kidney.

About the authors:

S.M. Okhrimenko – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, s.okhrimenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7844-618X>

A.Yu. Grishkova – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, ansygyr0894@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-4074-8369>

Влияние гемина и глутатиона на некоторые показатели азотистого и углеводного метаболизма у крыс
С.М. Охрименко, А.Ю. Гришкова

Накопление гема в организме при действии различных гемолитических факторов может вызывать развитие оксидативного стресса с активацией свободнорадикальных процессов, окислительным повреждением макромолекул и надмолекулярных комплексов клеток и тканей. В этих условиях в организме активируется система антиоксидантной защиты, важным звеном которой являются тиоловые соединения, в частности глутатион. Недостаточно исследованными в этих условиях являются процессы азотистого и углеводного метаболизма, которые связаны с формированием адаптивных реакций в ответ на стресс. Цель работы – исследование некоторых показателей азотистого и углеводного обмена при введении в организм гемина и комбинированного введения гемина и глутатиона для выяснения роли этого антиоксиданта в возможной коррекции метаболических процессов. Объект исследования – половозрелые беспородные белые крысы-самцы, получавшие внутривентриально инъекции растворов гемина (50 мг/кг) и глутатиона (500 мг/кг), который вводили за 0,5 часа до введения гемина. Животных брали в опыт через 2 часа после введения гемина. В гомогенатах печени и почек определяли содержание общих и небелковых SH-групп, активность гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ), в гомогенате печени – содержание гликогена и активность тирозинаминотрансферазы (ТАТ). Содержание восстановленных SH-групп может служить индикатором про-антиоксидантного баланса, активность ГГТ – одним из показателей обмена глутатиона, содержание гликогена и активность ТАТ в печени являются гормончувствительными показателями. Введение гемина вызывало снижение содержания общих и небелковых SH-групп, содержания гликогена и повышение активности ТАТ в печени, а также повышение активности ГГТ в этом органе. Введение крысам глутатиона за 30 минут до введения гемина предотвращало изменения этих показателей в печени, вызванные введением одного гемина. В почках выявлено увеличение содержания общих SH-групп после совместного введения глутатиона и гемина по сравнению с действием одного гемина. Результаты исследования могут свидетельствовать о чувствительности к действию гемина показателей азотистого и углеводного метаболизма в органах крыс и о корректирующем действии глутатиона в этих условиях, возможно, опосредованном через усиление тиолового звена системы антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: гемин, глутатион, SH-группы, тирозинаминотрансфераза, гамма-глутамилтранспептидаза, гликоген, печень, почки.

Об авторах:

С.М. Охрименко – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, s.okhrimenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7844-618X>

А.Ю. Гришкова – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, ansygyr0894@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-4074-8369>

Представлено: О.П.Білозоров / Presented by: O.P.Bilozorov

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 10.04.2020