

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2022.04.106>

УДК 616.001.08:616.155.194.17+616-003.725

**І.І. Лановенко**

**Г.П. Гащук**

ДУ “Інститут гематології та трансфузіології НАМН України”, Київ

E-mail: vanlan@online.ua

## **Реактивність і взаємодія глутатіону еритроцитів і кисневотранспортної функції крові при гемічній гіпоксії гемолітичного генезу**

*Представлено членом-кореспондентом НАН України А.М. Гупалом*

*Глутатіон (GSH) є універсальним регулятором загального і кисневого гомеостазу. З огляду на поліпротекторні властивості GSH актуальними є дослідження його ролі в генезі гіпоксичних станів і особливо гемічної гіпоксії при анеміях. У статті висвітлені результати дослідження змін і взаємодії глутатіону еритроцитів та кисневотранспортної функції крові при гемічній гіпоксії гемолітичного генезу.*

*В експерименті на щурах відтворювали модель гемічної гіпоксії (ГГ) гемолітичного генезу. В умовах ГГ застосовували вплив на метаболізм GSH: стимуляцію за допомогою його синергіста цистеаміну і донора GSH глутаргіну; пригнічення за допомогою його антагоніста GSH діетилмалеату. Визначали показники гемограми, мієлограми, обміну заліза, в еритроцитах крові – вміст відновленого (GSH) та окисненого (GSSG) глутатіону і активність глутатіонредуктази (GR), гемічну гіпоксію за показниками кисневотранспортної функції (КТФ) крові.*

*Встановлено порушення КТФ крові (зменшення доставки і споживання O<sub>2</sub>, метаболічний ацидоз) і значне зниження вмісту (у 2,85 раза) глутатіону (GSH) і активності (у 4,89 раза) GR в еритроцитах крові. Пригнічення утворення GSH (за допомогою діетилмалеату) призводить до поглиблення недостатності GSH і порушень КТФ крові; стимуляція утворення GSH (за допомогою цистеаміну і глутаргіну) підвищує продукцію GSH, підсилює активність GR та відновлює КТФ крові. Обґрунтована можливість регуляції КТФ крові і корекції гемічної гіпоксії за допомогою регуляції метаболізму глутатіону.*

**Ключові слова:** глутатіон, кисневотранспортна функція крові, гемолітична анемія, гемічна гіпоксія.

Гіпоксія, як найпотужніший патогенетичний фактор, мобілізує всі компенсаторно-приспосувальні можливості і механізми організму. Адаптація організму людини до гіпоксії відбувається за рахунок реалізації преформованих механізмів – мобілізації функціональних резервів кисневотранспортної системи, експресії регуляторних генів, формування механізмів довготривалої біохімічної адаптації [1–3]. Молекулярні механізми негайної і довготривалої адаптації до гіпоксії реалізуються за участю фізіологічно активних речовин – кисневих сен-

Цитування: Лановенко І.І., Гащук Г.П. Реактивність і взаємодія глутатіону еритроцитів і кисневотранспортної функції крові при гемічній гіпоксії гемолітичного генезу. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2022. № 4. С. 106–114. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2022.04.106>

сорів, кисневих передавачів і активаторів: головного фактора росту для еритроїдних клітин еритропоетину (ЕРО), універсального месенджеру клітинних функцій оксиду азоту (NO), білкового фактора, індукованого гіпоксією [4–9]. В цьому відношенні значну увагу привертає глутатіон (GSH) — біологічно активна речовина, трипептид (L-гамма-глутаміл-L-цистеїнілгліцин), один з універсальних регуляторів біохімічного і фізіологічного гомеостазу в організмі людини і тварин. GSH міститься майже в усіх тканинах організму і бере участь у багатьох біохімічних і фізіологічних процесах: відновлення і ізомеризація дисульфідних зв'язків, вплив на активність ферментів і інших білків, підтримка мембранних функцій, коферментні функції, участь в обміні ейкозаноїдів, резервування цистеїну, вплив на біосинтез нуклеїнових кислот і білка, проліферацію та ін. Як активний переносник водню GSH регулює перебіг окисно-відновних реакцій, як донор SH-груп відіграє велику роль у механізмах детоксикації. Як антиоксидант GSH є найважливішою ланкою системи антиоксидантного захисту, запобігання і обмеження оксидативного стресу; виконує надзвичайну роль у підтримці структурної цілісності еритроцитів і в захисті гемоглобіну від дії різноманітних окиснювачів, забезпечуючи тим самим функціонування його кисневозв'язуючих властивостей. Стан системи GSH в еритроцитах істотно впливає на активність гемоглобіну і механізми регуляції кисневотранспортної функції (КТФ) крові в цілому [10–14].

Враховуючи поліпротекторні властивості GSH [13], актуальними є дослідження його ролі і функціонального значення в генезі гіпоксичних станів і особливо гемічної гіпоксії (ГГ) при анеміях. Гемічна гіпоксія, як типовий патологічний процес, формується при недостатності еритроциту внаслідок зниження кисневої ємності крові, пошкодження кровотворення, гемолізу еритроцитів, порушення кисневозв'язуючих властивостей гемоглобіну та інших причин – тобто має полімодальний етіопатогенез [2, 15]. На сьогодні ці аспекти ГГ є важливим об'єктом для вивчення поліфункціональних властивостей і механізмів дії ЕРО і NO в експериментальних і клініко-фізіологічних дослідженнях. Однак цілеспрямоване вивчення участі GSH в регуляції КТФ крові у разі пошкодження еритроциту, яке відбувається при анеміях, ще не здійснювалося. Комплексне фундаментальне дослідження кисневорегулюючої дії ЕРО, NO і GSH на моделі гемічної гіпоксії може бути вельми плідним підходом до вирішення проблем гіпоксії і анемії [4, 15].

Мета дослідження полягала у вивченні змін і взаємодії реактивності GSH еритроцитів і КТФ крові при гемічній гіпоксії гемолітичного генезу.

**Матеріали і методи.** Експеримент виконано на 60 лабораторних щурах лінії Вістар масою ( $230,5 \pm 6,9$ ) г на моделі ГГ гемолітичного генезу. Гемолітичну анемію (ГА) моделювали за допомогою хімічного гемолітичного агента фенолгідрозину (5 мг/100 г маси, 1 %-й водний розчин; внутрішньоочеревинно, через добу, 6 разів). В умовах ГГ застосовували цілеспрямовані впливи на метаболізм GSH.

Проведено чотири серії дослідів: I ( $n = 10$ ) — контроль (норма — інтактні тварини); II ( $n = 20$ ) — контроль утворення моделі ГА (ГГ) та індукованого відновлення; III ( $n = 20$ ) — стимуляція утворення GSH в умовах ГА за допомогою біохімічних впливів у двох варіантах: 1) введення синергіста GSH цистеаміну (ЦА; 10 мг/100 г маси, стандартний розчин; внутрішньоочеревинно, через добу, 5 разів) ( $n = 10$ ); 2) введення донора GSH препарату глутаргін (Гл 2 мг/100 г маси, 0,4 %-й фізіологічний розчин; внутрішньоочеревинно, щодобово, 5 разів) ( $n = 10$ ); IV ( $n = 10$ ) — пригнічення утворення GSH в умовах ГА за допомогою введення

ня антагоніста GSH діетилмалеату (ДЕМ; 0,05 мл/100 г маси, 20 %-й розчин у рафінованій соняшниковій олії; внутрішньоочеревино, через добу, 3 рази).

Для аналізів використовували артеріальну і змішану венозну кров, яку забирали за допомогою силіконових катетерів, і матеріал кісткового мозку тварин. Заключні визначення показників проводили через одну—п'ять діб після останнього застосування експериментальних впливів. Інвазивні маніпуляції виконували під анестезією.

Контролювали загальний стан тварин, гемограму (кількість еритроцитів — Ер,  $\times 10^{12}$ /л; лейкоцитів — Л,  $\times 10^9$ /л; тромбоцитів — Тр,  $\times 10^9$ /л і ретикулоцитів — Рет, %; гематокритну величину — Гт, %; вміст гемоглобіну — Нб, г/л і колірний показник — КП, відн. од.), підраховували лейкоцитарну формулу; визначали показники обміну заліза, клітинний склад кісткового мозку (мієлограму і еритробластограму).

Для оцінки стану системи глутатіону в еритроцитах крові спектрофотометрично визначали вміст відновленого (GSH) і окисненого (GSSG) глутатіону (мкмоль/л), а також активність ключового ферменту системи GSH — глутатіонредуктази (GR, мкмоль/(г · хв<sup>-1</sup>)) [11, 12].

Оцінка ГГ охоплювала розгорнуту характеристику КТФ крові — вивчення дихальної функції, газового складу і кислотно-основного стану (КОС) крові, системного кровообігу, кисневозв'язуючих властивостей гемоглобіну, кисневого режиму крові, тканинного метаболізму. Визначали показники: концентрацію загального гемоглобіну (Нб, г/л) і його дериватів — (метгемоглобіну, сульфгемоглобіну і загальної суми дериватів (MtHb, SHb, DHb, г/л); кількість еритроцитів (Ер,  $\times 10^{12}$ /л); колірний показник (КП, відн. од.); середній вміст гемоглобіну в еритроциті (СВГ, пг); концентрацію в еритроцитах 2,3-дифосфогліцерату (2,3-ДФГ, ммоль/л); концентрацію заліза в сироватці крові (СЗ, мкмоль/л); загальну і ненасичену залізовв'язуючу здатність сироватки крові (ЗЗЗС, НЗЗС; мкмоль/л); насичення трансферину залізом (НТЗ, %); концентрацію феритину в сироватці крові (СФ, нг/мл); напругу кисню в артеріальній і змішаній венозній крові ( $P_{aO_2}$ ,  $P_{vO_2}$ , мм рт. ст.); кисневу ємність крові ( $C_{maxO_2}$ , об. %); вміст кисню в артеріальній і змішаній венозній крові ( $C_{aO_2}$ ,  $C_{vO_2}$ , об. %); артеріо-венозну різницю за киснем ( $\Delta vD_{O_2}$ , об. %); хвилинний об'єм крові (ХОК, мл/(100 г · хв<sup>-1</sup>)); об'ємну швидкість транспорту кисню артеріальною і змішаною венозною кров'ю ( $V_{aO_2}$ ,  $V_{vO_2}$ , мл/(100 г · хв<sup>-1</sup>)); споживання кисню тканинами ( $V_{O_2}$ , мл/(100 г · хв<sup>-1</sup>)); ефективність КРО в артеріальній крові ( $E_a$ ), тобто співвідношення швидкості транспорту кисню артеріальною кров'ю до його споживання (доставка/споживання O<sub>2</sub>) ( $V_{aO_2}/V_{O_2}$  (SCR), відн. од.); напругу вуглекислого газу в артеріальній і змішаній венозній крові ( $P_{aCO_2}$ ,  $P_{vCO_2}$ , мм рт. ст.); концентрацію буферних основ в артеріальній і змішаній венозній крові ( $BB_a$ ,  $BB_v$ , ммоль/л); зсув буферних основ ( $BE_a$ ,  $BE_v$ , ммоль/л); концентрацію бікарбонатів ( $AB_a$ ,  $AB_v$ , ммоль/л); актуальну реакцію крові ( $pH_a$ ,  $pH_v$ ).

Застосовували стандартні методи вимірювань. Показники газового складу, кислотно-основного стану крові, транспорту і утилізації кисню визначали за допомогою автоматизованої установки і біологічного мікроаналізатора “Radelkis” (Угорщина). Результати оброблені із використанням статистичних методів, у тому числі кореляційного і регресійного аналізів, за допомогою комп'ютерних прикладних програм.

**Результати та їх обговорення.** Отримані результати наведено в табл. 1 і 2. У інтактних тварин значення контрольних показників норми гемограми, обміну заліза, КТФ крові, мієлограми і глутатіону еритроцитів відповідали фізіологічним величинам для щурів.

Після впливу, спрямованого на гемоліз еритроцитів крові, у тварин відтворювалася модель ГА середнього ступеня тяжкості – зменшення кількості Ер і Нб в крові в 1,5 раза порівняно з нормою і збільшення в 1,5 раза вмісту заліза в сироватці крові. Як показали визначення досліджуваних параметрів, фенілгідазин спричиняє селективне ураження периферичного еритрону, тому достовірних змін інших показників гемограми не відбувалося. На цьому фоні тваринам застосовували додаткові експериментальні впливи на стан GSH з подальшою реєстрацією досліджуваних показників. Контролем слугували тварини з відтвореною моделлю ГА, які перебували в умовах спонтанного відновлення, тобто без додаткових втручань і застосування будь-яких лікувальних засобів.

На період проведення заключних вимірювань у контрольних (ГА → ГГ) тварин визначалося незначне відновлення периферичного еритрону, тобто створена модель показала необхідну адекватність. Так, кількість Ер залишалася зниженою на 34,13 % порівняно з нормою, вміст Нб – на 36,49 %, показник Гт – на 17,06 % ( $P < 0,001$ ). В еритроцитах більш ніж утричі збільшувався вміст дериватів Нб і майже в 1,5 раза – 2,3-ДФГ. У кістковому мозку виявлені ознаки пригнічення міелоїдного кровотворення та виразна компенсаторна реакція в напрямку еритропоезу (активація еритроїдного паростка) зі збільшенням кількості поліхроматофільних нормоцитів і лейкоеритроїдного співвідношення.

Зумовлена гемолізом еритроцитів анемія супроводжувалася значними порушеннями газового складу і КОС крові, а також системної гемодинаміки. Встановлено зменшення показників  $P_{aO_2}$  на 18,67 %,  $P_{vO_2}$  на 17,92 %,  $C_{maxO_2}$  на 36,53 %,  $C_{aO_2}$  на 38,01 %,  $C_{vO_2}$  на 56,09 %, ХОК на 27,59 % порівняно з нормою ( $P < 0,001$ ). Особливо демонстративним є виявлений

Таблиця 1. Показники гемограми, обміну заліза і глутатіону за експериментальних впливів в умовах моделі гемічної гіпоксії гемолітичного генезу,  $M \pm m$

Показник	Контроль норми (I)	Експериментальні впливи (серія дослідів)		
		ГГ (II)	ЦА (III)	ДЕМ (IV)
Ер, $\times 10^{12}/л$	5,94 $\pm$ 0,27	3,92 $\pm$ 0,17*	4,21 $\pm$ 0,19*	3,66 $\pm$ 0,12*
Нб, г/л	140,60 $\pm$ 4,28	89,29 $\pm$ 3,14*	96,25 $\pm$ 5,24*	85,12 $\pm$ 6,04*
КП, відн. од.	0,72 $\pm$ 0,028	0,70 $\pm$ 0,017	0,69 $\pm$ 0,040	0,69 $\pm$ 0,34
СВГ, пг	24,0 $\pm$ 0,92	23,1 $\pm$ 0,81	23,2 $\pm$ 1,33	23,1 $\pm$ 1,14
Л, $\times 10^9/л$	7,95 $\pm$ 0,93	7,62 $\pm$ 0,59	6,87 $\pm$ 0,92	7,36 $\pm$ 0,96
Тр, $\times 10^9/л$	486,9 $\pm$ 41,2	455,4 $\pm$ 33,1	471,2 $\pm$ 45,0	453,5 $\pm$ 33,2
Гт, %	43,2 $\pm$ 1,38	35,5 $\pm$ 1,67*	36,5 $\pm$ 1,32*	31,5 $\pm$ 1,86*
СЗ, мкмоль/л	17,60 $\pm$ 2,30	26,87 $\pm$ 0,98*	22,19 $\pm$ 1,05* <sup>#</sup>	29,14 $\pm$ 1,61*
ЗЗЗС, мкмоль/л	54,70 $\pm$ 3,32	81,60 $\pm$ 3,78*	64,98 $\pm$ 3,61* <sup>#</sup>	77,25 $\pm$ 3,94*
НЗЗС, мкмоль/л	37,10 $\pm$ 2,49	54,73 $\pm$ 3,55*	42,79 $\pm$ 2,88* <sup>#</sup>	48,09 $\pm$ 2,47*
НТЗ, %	32,18 $\pm$ 1,63	32,93 $\pm$ 2,49	34,15 $\pm$ 1,70	37,73 $\pm$ 1,95* <sup>#</sup>
СФ, нг/мл	3,61 $\pm$ 0,39	2,24 $\pm$ 0,40*	2,87 $\pm$ 0,36	1,79 $\pm$ 0,24*
GSH ер., мкмоль/л	5,168 $\pm$ 0,619	1,814 $\pm$ 0,198*	3,719 $\pm$ 0,569 <sup>#</sup>	1,938 $\pm$ 0,337*
GSSG ер., мкмоль/л	3,412 $\pm$ 0,304	1,975 $\pm$ 0,200*	3,241 $\pm$ 0,663 <sup>#</sup>	4,271 $\pm$ 1,151 <sup>#</sup>
GR ер., мкмоль/(г · хв <sup>-1</sup> )	7,139 $\pm$ 0,912	1,460 $\pm$ 0,186*	4,305 $\pm$ 0,700* <sup>#</sup>	1,349 $\pm$ 0,205*

\* $P < 0,05$  відносно контролю норми (серія I).

<sup>#</sup> $P < 0,05$  відносно контролю ГГ (серія II).

факт зменшення більш, ніж удвічі швидкості транспорту кисню артеріальною ( $V_{aO_2}$ ) і більш ніж утричі — венозною ( $V_{vO_2}$ ) кров'ю. В даній ситуації спрацьовував механізм підвищеної утилізації кисню з крові (збільшення  $avD_{O_2}$  на 14,13 %), однак через значний дефіцит доставки кисню тканинам (за рахунок гемічного і гемодинамічного компонентів) споживання кисню достовірно зменшувалося — з  $(1,625 \pm 0,132)$  до  $(1,341 \pm 0,066)$  мл/(100 г · хв<sup>-1</sup>) — на 17,48 %. Для параметра, що жорстко регулюється, яким є  $V_{O_2}$ , це ознака значного дефіциту. Внаслідок недостатності термінального (мітохондріального) окиснення розвивалася недостатність енергетичного метаболізму, про що, зокрема, свідчать декомпенсовані зсуви респіраторного і метаболічного компонентів КОС крові зі зниженням  $pH_v$  до  $(7,220 \pm 0,016)$  —  $P < 0,001$ . У цілому виявлені зміни свідчать про пошкодження всіх ланок КТФ крові.

У патофізіологічному визначенні сукупність порушень еритроциту і кисневотранспортної системи в умовах створеної моделі ГА в цілому відповідає спочатку гемічній гіпоксії, а в разі розвитку метаболічних ускладнень і енергодефіциту — гіпоксії змішаного типу [15].

Для визначення ролі системи GSH в генезі ГГ особливе значення має виявлення реакцій цієї системи на розвиток гемолізу. Встановлено, що на період закінчення експерименту значно зменшувався головний показник системи глутатіону — вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах — з  $(5,168 \pm 0,619)$  до  $(1,814 \pm 0,198)$  мкмоль/л, тобто в 2,85 рази ( $P < 0,001$ ). Одночасно спостерігалось зменшення утворення окисненого глутатіону (у 1,73 рази) і знижувалася активність глутатіонредуктази (у 4,89 рази). На основі цих даних можна стверджувати, що значний гемоліз призводить до зменшення продукції та активності системи глутатіону.

Таблиця 2. Показники КТФ крові за експериментальних впливів в умовах моделі гемічної гіпоксії гемолітичного генезу,  $M \pm m$

Показник	Контроль норми (I)	Експериментальні впливи (серія дослідів)		
		ГГ (II)	ЦА (III)	ДМ (IV)
Hb, г/л	140,60 ± 4,28	89,29 ± 3,14*	96,25 ± 5,24*	85,12 ± 6,04*
MtHb, г/л	1,32 ± 0,16	3,87 ± 0,28*	1,80 ± 0,32*#	2,49 ± 0,21*#
2,3-ДФГ, ммоль/л	5,49 ± 0,34	8,37 ± 0,45*	5,62 ± 0,23#	8,44 ± 0,39*
$P_{aO_2}$ , мм рт. ст.	95,38 ± 2,26	77,57 ± 2,77*	84,72 ± 3,54*	77,56 ± 2,63*
$P_{vO_2}$ , мм рт. ст.	43,18 ± 1,56	35,44 ± 1,96*	38,90 ± 2,10	35,87 ± 1,80*
$C_{maxO_2}$ , об. %	19,134 ± 0,584	12,144 ± 0,426*	13,090 ± 0,713*	11,576 ± 0,821*
$C_{aO_2}$ , об. %	18,361 ± 0,504	11,382 ± 0,406 *	12,401 ± 0,708*	11,193 ± 0,826*
$C_{vO_2}$ , об. %	13,633 ± 0,608	5,986 ± 0,569*	7,295 ± 0,822*	6,331 ± 0,953*
$avD_{O_2}$ , об. %	4,728 ± 0,199	5,396 ± 0,184*	5,106 ± 0,164	4,862 ± 0,180#
МОК, мл/(100 г · хв <sup>-1</sup> )	34,641 ± 2,667	25,083 ± 1,197*	28,739 ± 2,192	26,490 ± 2,127*
$V_{aO_2}$ , мл/(100 г · хв <sup>-1</sup> )	6,403 ± 0,573	2,905 ± 0,218*	3,605 ± 0,373*	3,122 ± 0,342*
$V_{vO_2}$ , мл/(100 г · хв <sup>-1</sup> )	4,778 ± 0,484	1,564 ± 0,197*	2,157 ± 0,321*#	1,792 ± 0,327*
$V_{O_2}$ , мл/(100 г · хв <sup>-1</sup> )	1,625 ± 0,132	1,341 ± 0,066*	1,448 ± 0,098	1,330 ± 0,085*
SCR, відн. од.	3,956 ± 0,223	2,192 ± 0,149*	2,478 ± 0,214*	2,371 ± 0,248*
$pH_a$	7,376 ± 0,009	7,240 ± 0,021*	7,335 ± 0,020#	7,217 ± 0,031*
$pH_v$	7,347 ± 0,008	7,220 ± 0,019*	7,311 ± 0,020#	7,195 ± 0,029*

\* $P < 0,05$  відносно контролю норми (серія I).

# $P < 0,05$  відносно контролю ГГ (серія II).

Факт зменшення утворення GSH має важливе значення, оскільки є дані, що гостра ГГ зумовлює підвищення активності системи глутатіону [7].

Під час дослідження впливу на метаболізм GSH в умовах ГГ ми застосовували незначні дози біохімічних речовин, маючи на увазі вивчення змін стану і взаємодії GSH і КТФ крові, які відбуваються за допомогою мобілізації механізмів фізіологічної регуляції. Як стимулятори використовували біохімічний синергіст GSH цистеамін (ЦА) і донор GSH глутаргін (Гл), як інгібітор — антагоніст GSH діетилмалеат (ДЕМ). Контрольні досліді показали, що ЦА, Гл і ДЕМ у використаних дозах не спричиняють стимуляцію або пригнічення кровотворення, КТФ крові і системи GSH у разі відсутності гіпоксичного стимулу.

Після впливу на метаболізм GSH за допомогою ЦА показники активності системи глутатіону достовірно збільшувалися. Вміст GSH в еритроцитах підвищувався на 105,02 % порівняно з величиною при ГГ, вміст GSSG — на 64,10 %, активність GR зростала на 194,86 %. Проте при цьому вони залишалися достовірно нижчими за норму: GSH — на 28,04 %; GSSG — на 5,01 %; GR — на 39,70 %.

Виявлені спряжені позитивні ефекти на еритроцити: збільшення кількості Ер на 7,40 % порівняно з величиною при ГГ та вмісту Hb і показника  $C_{\max O_2}$  на 7,79 %. Відносно істотнішими були власне реакції КТФ крові: збільшення  $P_{vO_2}$  на 9,76 %,  $C_{aO_2}$  — на 8,95 %,  $C_{vO_2}$  — на 21,88 %, ХОК — на 14,58 %,  $V_{aO_2}$  — на 24,10 %,  $V_{vO_2}$  — на 37,92 %, SCR — на 13,05 %. Однак на рівні тканинного метаболізму істотних змін не відбувалося, про що свідчить відносне зменшення  $avD_{O_2}$  (на 5,37 %) і наявність порушень КОС крові у вигляді метаболічного ацидозу.

Застосування препарату глутаргін, який є донором глутатіону, проявлялося якісно однотипними і приблизно такими ж у кількісному відношенні реакціями досліджуваних функцій і показників, як і за умов дії цистеаміну. Однак виявлено більш значне збільшення показників Hb (на 17,03 %) і GSH (на 136,60 %). З огляду на замісні властивості екзогенного глутатіону можна стверджувати, що у разі більш тяжкого ступеня гіпоксії він є ефективнішим засобом відновлення метаболізму і функцій ендogenous глутатіону, ніж стимулятори. Відповідно, отримані результати, а саме — реакції відновлення КТФ крові, свідчать про можливість корекції гемічної гіпоксії за допомогою засобів, що є донорами глутатіону.

Після впливу на метаболізм GSH за допомогою його антагоніста ДЕМ виявлена негативна реакція еритроцитів і КТФ крові, зокрема, артеріальної і венозної гіпоксемії, утворення дериватів гемоглобіну. Так, показник Hb зменшувався на 4,67 %, а  $avD_{O_2}$  — на 9,90 % відносно значень при ГГ; показник ХОК збільшувався на 5,61 %, але спостерігалася тенденція зменшення споживання кисню та поглиблення метаболічного ацидозу.

Відносно більш сильними були негативні ефекти ДЕМ на систему глутатіону: показник GSH збільшувався щодо значення при ГГ на 6,84 %, але показник GR зменшувався на 7,60 %, а показник GSSG збільшувався на 116,25 % (у 2,16 рази). Слід зазначити, що всі показники GSH достовірно відрізнялися від значень норми. Така структура змін свідчить про глибоке системне ураження глутатіону еритроцитів при ГГ та формування оксидативного стресу за участю глутатіону [13].

Таким чином, встановлено, що гемоліз еритроцитів призводить до розвитку анемії, гемічної гіпоксії та недостатності системи глутатіону еритроцитів. Визначені ефекти регуляції метаболізму GSH в умовах ГГ за допомогою активації (цистеамін, глутаргін) і пригнічення (діетилмалеат) його утворення на КТФ крові, у тому числі кисневозв'язуючі властивості

гемоглобіну і кістковомозкове кровотворення. Встановлено, що стимуляція утворення GSH сприяла відновленню GSH, КТФ і кисневого режиму крові; пригнічення утворення GSH негативно впливало на всі системи. Застосування донора глутатіону мало найбільш сприятливий ефект щодо нормалізації GSH еритроцитів, а також зумовлювало значне обмеження порушень КТФ крові – відносно усунення ГГ.

Закономірності функціональних взаємозв'язків і взаємодії систем GSH і КТФ крові в умовах гемічної гіпоксії при ГА підтверджені за допомогою кореляційного і регресійного аналізів. Виявлено існування сильних прямих кореляційних зв'язків між показниками GSH і КТФ крові (Hb,  $V_{aO_2}$ ,  $V_{O_2}$ ), а також метаболізму заліза.

Результати досліджень свідчать про те, що в умовах гемічної гіпоксії можлива цілеспрямована регуляція метаболізму глутатіону за допомогою стимуляції або пригнічення його утворення. Однак принципово важливим є факт щодо можливості регуляції також КТФ крові шляхом впливу на систему GSH, тим самим позначаючи їхній функціональний взаємозв'язок. Загальна закономірність взаємодії систем GSH і КТФ крові при ГГ гемолітичного генезу полягає в тому, що індуковане стимуляцією утворення збільшення активності GSH еритроцитів спричиняє активацію КТФ і оптимізацію кисневого режиму крові, після пригнічення утворення GSH відбувається прогресування порушень і формування недостатності КТФ крові.

**Висновки.** Встановлено високу чутливість і ефективність регуляції кисневотранспортної функції крові при анеміях за допомогою цілеспрямованого впливу на метаболізм глутатіону. Обґрунтовано можливість корекції гемічної гіпоксії гемолітичного генезу за допомогою застосування глутатіону та препаратів і засобів, що є його донорами.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Білошицький П.В., Лановенко І.І., Онопчук Ю.М., Ключко О.М. Внесок школи М.М. Сиротиніна в дослідження конструктивних та деструктивних механізмів розвитку гіпоксичних станів організму. *Тр. Кримського гос. мед. ун-та ім. С.И. Георгієвського*. 2006. **142**, ч. 3. С. 23–26.
2. Лановенко І.І. Современные представления о транспорте и утилизации кислорода в организме и кислородных режимах организма. *Новое в гематологии и трансфузиологии*. 2007. Вып. 6. С. 26–38.
3. Stockmann C., Fandrey J. Hypoxia-induced erythropoietin production: a paradigm for oxygen-regulated gene expression. *Clin. Exp. Physiol. Pharmacol.* 2006. **33**, № 10. P. 968-979. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2006.04474.x>
4. Лановенко І.І. Оксид азоту, еритропоетин і гемічна гіпоксія. *Гематологія і переливання крові*. 2015. Вип. 38. С. 214–222.
5. Fisher J.W. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp. Biol. Med.* 2003. **228**, № 1. P. 1–14. <https://doi.org/10.1177/153537020322800101>
6. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980. **288**, № 5789. P. 373–376. <https://doi.org/10.1038/288373a0>
7. Kumar P. Sensing hypoxia in the carotid body: from stimulus to response. *Essays Biochem.* 2007. **43**. P. 43–60. <https://doi.org/10.1042/BSE0430043>
8. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 1991. **43**, № 2. P. 109–142.
9. Semenza G.L. Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Physiology*. 2009. **24**, № 2. P. 97–106. <https://doi.org/10.1152/physiol.00045.2008>
10. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатіона. *Успехи совр. биологии*. 1990. **110**, № 1. С. 20–33.

11. Мальцев Г.Ю., Тышко Н.В. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. *Гигиена и санитария*. 2002. № 2. С. 69–72.
12. Forman H.J., Zhang H., Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol. Aspects Med.* 2009. **30**, № 1-2. P. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.006>
13. Лановенко І.І., Тимченко А.С., Цугорка Т.М. Глутатіон і оксидативний стрес. *Гематологія і переливання крові*. 2012. Вип. 36. С. 138–148.
14. Pallardó F.V., Markovic J., García J.L., Viña J. Role of nuclear glutathione as a key regulator of cell proliferation. *Mol. Aspects Med.* 2009. **30**. P. 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2009.01.001>
15. Лановенко И.И. Кислородный гомеостаз и генез гипоксии при анемиях. *Вестник гематологии*. 2012. **8**, № 4. С. 42–43.

Надійшло до редакції 30.05.2022

## REFERENCES

1. Biloshyts'kyu, P. V., Lanovenko, I. I., Onopchuk, Yu. M. & Klyuchko, O. M. (2006). The contribution of the school MM Sirotnin in the study of constructive and destructive mechanisms of hypoxic conditions of the body. Tr. Krymskogo gos. med. un-ta im. S.Y. Georgievskogo, 142, pt. 3, pp. 23-26 (in Ukrainian).
2. Lanovenko, Y. Y. (2007). Modern ideas about the transport and utilization of oxygen in the body and the oxygen regimes of the body. *Novoe v hematologii i transfuziologii*, Iss. 6, pp. 26-38 (in Russian).
3. Stockmann, C. & Fandrey, J. (2006). Hypoxia-induced erythropoietin production: a paradigm for oxygen-regulated gene expression. *Clin. Exp. Physiol. Pharmacol.*, 33, No. 10, pp. 968-979. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2006.04474.x>
4. Lanovenko, I. I. (2015). Nitric oxide, erythropoietin and haemic hypoxia. *Hematologiya i perelyvannia krovi*, Iss. 38, pp. 214-222 (in Russian).
5. Fisher, J. W. (2003). Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp. Biol. Med.*, 228, No. 1, pp. 1-14. <https://doi.org/10.1177/153537020322800101>
6. Furchgott, R. F. & Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288, No. 5789, pp. 373-376. <https://doi.org/10.1038/288373a0>
7. Kumar, P. (2007). Sensing hypoxia in the carotid body: from stimulus to response. *Essays Biochem.*, 43, pp. 43-60. <https://doi.org/10.1042/BSE0430043>
8. Moncada, S., Palmer, R. M. J. & Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 43, No. 2, pp. 109-142.
9. Semenza, G. L. (2009). Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor. *Physiology*, 24, No. 2, pp. 97-106. <https://doi.org/10.1152/physiol.00045.2008>
10. Kulynsky, V. Y. & Kolesnychenko, L. S. (1990). The biological role of glutathione. *Uspekhi Sovr. Biologii*, 110, No. 1, pp. 20-33 (in Russian).
11. Mal'tsev, H. Yu. & Tyshko, N. V. (2002). Methods for determining the content of glutathione and the activity of glutathione peroxidase in erythrocytes. *Gigiena i sanitariya*, No. 2, pp. 69-72 (in Russian).
12. Forman, H. J., Zhang, H. & Rinna, A. (2009). Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol. Aspects Med.*, 30, No. 1–2, pp. 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.006>
13. Lanovenko, I. I., Tymchenko, A. S. & Tshorka, T. M. (2012). Glutathione and oxidative stress. *Hematologiya i perelyvannia krovi*, Iss. 36, pp. 138-148 (in Russian).
14. Pallardó, F. V., Markovic, J., García, J. L. & Viña, J. (2009). Role of nuclear glutathione as a key regulator of cell proliferation. *Mol. Aspects Med.*, 30, pp. 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2009.01.001>
15. Lanovenko, Y. Y. (2012). Oxygen homeostasis and the genesis of hypoxia in anemia. *Vestnik hematologii*, 8, No. 4, pp. 42-43 (in Russian).

Received 30.05.2022



I.I. Lanovenko

A.P. Gaschuk

Institute of Haematology and Transfusiology of the NAMS of Ukraine, Kyiv

E-mail: vanlan@online.ua

REACTIVITY AND INTERACTION OF GLUTATHIONE  
OF ERYTHROCYTES AND OXYGEN BLOOD TRANSPORT FUNCTION  
IN HAEMIC HYPOXIA OF HEMOLYTIC GENESIS

Glutathione (GSH) is an universal regulator of biochemical, physiological and oxygen homeostasis in humans and animals. The state of the erythrocyte glutathione system significantly affects hemoglobin activity and the mechanisms of regulation of the oxygen blood transport function (OBTF) of the blood in general. The studies of the functional significance and role of GSH in the genesis of hypoxic conditions and, particularly, hemic hypoxia in anemia are relevant given the polyprotective properties of GSH. The purpose of the work is to investigate changes and the interaction of erythrocyte glutathione and the the oxygen blood transport function during hemic hypoxia of hemolytic genesis.

In a laboratory rats experiment, a model of hemic hypoxia (HH) of hemolytic (use of phenylhydrazine) genesis was reproduced. Under the conditions of HH, effects on the metabolism of GSH were used: stimulation of the formation of cysteamine (CA) synergist and GSH donor glutargin using GSH synergist; inhibition of a GSH diethylmaleate antagonist. Arterial and mixed venous blood was used for analysis. The definitions of the investigated parameters were carried out in the initial state and after exercising of experimental effects. The following indices were determined: hemogram indicators, bone marrow cell composition and iron metabolism parameters; the quantity of reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione and the activity of the GSH enzyme glutathione reductase (GR) in blood red blood cells; indicators of oxygen blood transport function (OBTF) – parameters for hemic hypoxia.

In experiments on rats with modeling haemic hypoxia of hemolytic genesis, the damage of OBTF (delivery and use O<sub>2</sub> decrease, metabolic acidosis) and a significant decrease in the content (by 2,85 times) of the glutathione (GSH) and activity (by 4,89 times) of the GR in erythrocytes of blood are determined. Inhibition of the generation of GSH (by means of diethylmaleate) increases the GSH deficiency and OBTF damages; and the activation of the generation of GSH (by means of cysteamine and glutarine) increases production GSH, it strengthens activity GR and restores OBTF. The high sensitivity and efficiency of regulation of the oxygen blood transport function under anemia has been established using targeted effects on glutathione metabolism. The possibility of haemic hypoxia correctoin by means of the use of glutathione and its donors is grounded.

**Keywords:** *glutathione, oxygen blood transport function, hemolytic anemia, haemic hypoxia.*