

Агарков А.А.¹, Попова Т.Н.², Шульгин К.К.³

¹Аспирант, ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», ²профессор, д.б.н., ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», ³ассистент, к.б.н., ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет»

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ И ВОССТАНОВЛЕННОГО ГЛУТАТИОНА НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗЫ ИЗ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ В НОРМЕ, ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ И ДЕЙСТВИИ ВЕЩЕСТВ-ПРОТЕКТОРОВ

Глутатионредуктаза, катализирующая реакцию восстановления окисленного глутатиона в восстановленную его форму с использованием в качестве донора водорода НАДФН, относится к антиоксидантным ферментам и является компонентом глутатионредуктазной/ глутатионпероксидазной (ГР/ГП) антиоксидантной системы (АОС), которой отводится одно из ключевых мест в защите организма от чрезмерного образования свободных радикалов [1].

Согласно современным воззрениям, развитие окислительного стресса, лежит в основе механизма развития многих болезней, в том числе и токсического гепатита, классическим индуктором которого является CCl_4 [2].

Вместе с тем, существенный интерес представляет поиск средств, способных воздействовать на компоненты антиоксидантной системы(АОС) и повышать резистентность организма к повреждающему действию свободных радикалов в патологическом состоянии. Перспективными в этом отношении являются тиоктовая кислота (ТК) и восстановленный глутатион (GSH), но их влияние на регуляцию активности ферментов АОС, и в частности ГР, остаются не исследованными.

Целью нашей работы было изучение влияния ионов меди и GSH (*in vitro*) на активность ГР в норме, в условиях развития токсического гепатита и при введении ТК и GSH на фоне развития патологии.

Объектом исследования служили самцы белых крыс массой 150-200 г. Экспериментальный токсический гепатит (ЭТГ) у животных вызывали пероральным введением CCl_4 в виде раствора в вазелиновом масле в дозе 0,064 мл на 100 г веса животного после суточной пищевой депривации; ТК животным вводили в дозе 35 мг/кг [3] в течение 4-х дней внутривентрально после индуцирования ЭТГ; GSH вводили внутривентрально в дозе 150 мг/кг [4] животным на фоне развития патологии в течение 4-х дней эксперимента. На 4-е сутки печень крысы, подвергнутой токсическому гепатиту, извлекали под наркозом и использовали для дальнейших исследований. Активность ГР

определяли спектрофотометрически при 340 нм. За единицу активности (Е) принимали количество фермента, катализирующее образование 1 мкмоль продукта реакции за 1 мин при 25°C. Активность фермента выражали в виде удельной активности. Очистка ГР из печени крысы включала фракционирование белков сульфатом аммония в пределах насыщения 40-70%, гель-фильтрацию на сефадексе G-25, ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе, концентрирование с помощью ячейки «Amicon», хроматографию на колонке с Тойоперл HW – 65. С использованием очищенных препаратов была осуществлена сравнительная характеристика регуляторных свойств фермента под влиянием Cu^{2+} и GSH (*in vitro*) в норме, при токсическом гепатите и введении веществ-протекторов.

Исследование влияния ионов меди выявило их ингибирующее действие на фермент из печени крыс всех исследуемых групп животных. Установлено, что в условиях нормы проявляется наиболее выраженное подавляющее действие. Так, при концентрации Cu^{2+} 1,2 мМ активность фермента составила менее 6% от начальной. Тип ингибирования – смешанный, K_i составила 1,0 мМ. Активность фермента из пораженной токсином печени при данной концентрации Cu^{2+} уменьшается на 60% по сравнению с исходной. $K_i=0,49$ мМ, тип ингибирования - смешанный. Для ГР из печени крыс, которым вводили ТК на фоне патологии, при 1,2 мМ концентрации исследуемых ионов наблюдались подобные изменения активности, в то время как при введении GSH животным с токсическим гепатитом активность исследуемого фермента составила менее 25% от начальной. Константы ингибирования имеют значения, равные 0,4 мМ и 0,7 мМ соответственно, тип ингибирования – смешанный

Показано, что GSH *in vitro* оказывает ингибирующий эффект на фермент из печени контрольной группы животных и крыс с ЭТГ, которым вводили данный тиол. Так, при концентрации продукта ГР-реакции 1,2 мМ активность фермента составила 40% и 30% от исходной соответственно. Данный метаболит оказывает незначительный ингибирующий эффект на ГР из печени крыс с токсическим гепатитом, которым вводили ТК. Однако, при развитии токсического гепатита активность фермента практически не изменялась.

Список литературы

1. [Tekman B.](#), [Ozdemir H.](#), [Senturk M.](#), [Ciftci M.](#). Purification and characterization of glutathione reductase from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver and inhibition effects of metal ions on enzyme activity. // *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* – Vol.148, №2. – 2008. – P.117-121.

2. Sun F., Hamagawa E, Tsutsui C., Ono Y., Ogiri Y., Kojo S. Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by carbon tetrachloride in rat liver // Biochim. Biophys. Acta.–2001.–V.1535, №2.–P.186-191.
3. Бустаманте Дж., Лодж Дж., Маркоччи Л. Метаболизм α -липоевой кислоты в печени при различных формах патологии // Международный медицинский журнал.–2001.–№ 2.–С. 133-141.
4. Девяткина Т.А., Важничая Е. М., Луценко Р. В. Особенности процессов перекисного окисления липидов в различных тканях при остром стрессе и его коррекции пиррацетамом, и церебролизином // Биохимия.–2000.–Т. 4.–С. 38 - 41