

Труды молодых ученых: сб. науч. работ / Белорус. гос. мед. ун-т; под общ. ред. А.В. Сикорского. – Минск: БГМУ, 2011. – С. 167–171.

И. С. Тарасевич, О. Н. Ринейская

Активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и уровень глутатиона восстановленного в печени, мозге и эритроцитах крыс в возрастном аспекте.

Белорусский государственный медицинский университет,
кафедра биоорганической химии

Глутатион, глутатионпероксидаза (ГП) и глутатионредуктаза (ГР) образуют глутатионовую антиоксидантную систему, в которой глутатион не только защищает клетку от таких токсичных агентов, как свободные радикалы, но и в целом определяет редокс-статус внутриклеточной среды.

В клетке тиоловые группы глутатиона находятся в восстановленном состоянии (SH) в концентрации около 5 мМ. Фактически, такая высокая концентрация глутатиона в клетке приводит к тому, что он восстанавливает любую дисульфидную связь (S-S), образующуюся между радикалами цистеина цитозольных белков. При этом восстановленная форма глутатиона GSH под действием глутатионпероксидазы превращается в окисленную GSSG. Восстанавливается окисленный глутатион под действием фермента глутатионредуктазы, который постоянно находится в клетке в активном состоянии и индуцируется при оксидативном стрессе. Отношение восстановленный/окисленный глутатион внутри клетки является одним из важнейших параметров, который показывает уровень внутриклеточной токсичности (уровень оксидативного стресса).

Известно, что процессы старения в организме обусловлены нарушением функции системы антиоксидантной защиты, а также изменением уровня GSH восстановленного за счет накопления в клетке свободных радикалов [4]. При этом наблюдается дисбаланс показателей антиоксидантной и прооксидантной систем. Оксидативные реакции приводят к нарушению регуляции клеточного гомеостаза, что способствует процессу старения. В основе

этих нарушений лежат процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислительной модификации белков и нуклеиновых кислот. Литературные данные о возрастной динамике отдельных показателей глутатионовой антиоксидантной системы свободнорадикальных процессов в организме довольно противоречивы. Поэтому **целью исследования** явилось установление характера изменений активности ГП, ГР, уровня восстановленного глутатиона в тканях печени, мозга и эритроцитах при старении экспериментальных животных (крыс).

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на 12-ти белых нелинейных крысах-самцах массой 210-450 г, содержащихся в стандартных условиях освещения и пищевого режима вивария БГМУ. Животные были разделены на 2 группы (по 6 особей в каждой): I группа – молодые крысы (I гр.); II группа – старые крысы (II гр.). Животные снимались с эксперимента на 2 сутки после взвешивания под тиопенталовым наркозом (60 – 80 мг/кг) забором крови из сонной артерии. Забор органов (мозг, печень) производился на холоду.

Состояние антиоксидантной системы (АОС) оценивалось по уровню глутатиона восстановленного, активности ГР, ГП [2]. Активность ГР определяли по модифицированному нами методу Wendell P.Z.[6], GSH по общепринятой методике [1], ГП по методу В.М. Моина [3] в мозге, печени и эритроцитах крыс. Концентрация белка в гомогенатах мозга и печени определялась методом О. Н. Lowry [5]. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью пакетов программ «Microsoft Excel 2000» и «Statistica 6.0». Для оценки достоверности различий между группами использовали тест Манна-Уитни. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования позволили выявить некоторые изменения активности ГП, ГР, и уровня глутатиона восстановленного в тканях печени, мозга и эритроцитах при старении экспериментальных животных (крыс).

Результаты проведенных исследований показали, что активность глутатионпероксидазы в гомогенатах мозга у группы старых крыс достоверно увеличилась

на 17%, а глутатионредуктазы - понизилась на 40% (по сравнению с группой молодых крыс).

Достоверных изменений уровня глутатиона восстановленного не обнаружено (рис. 1).

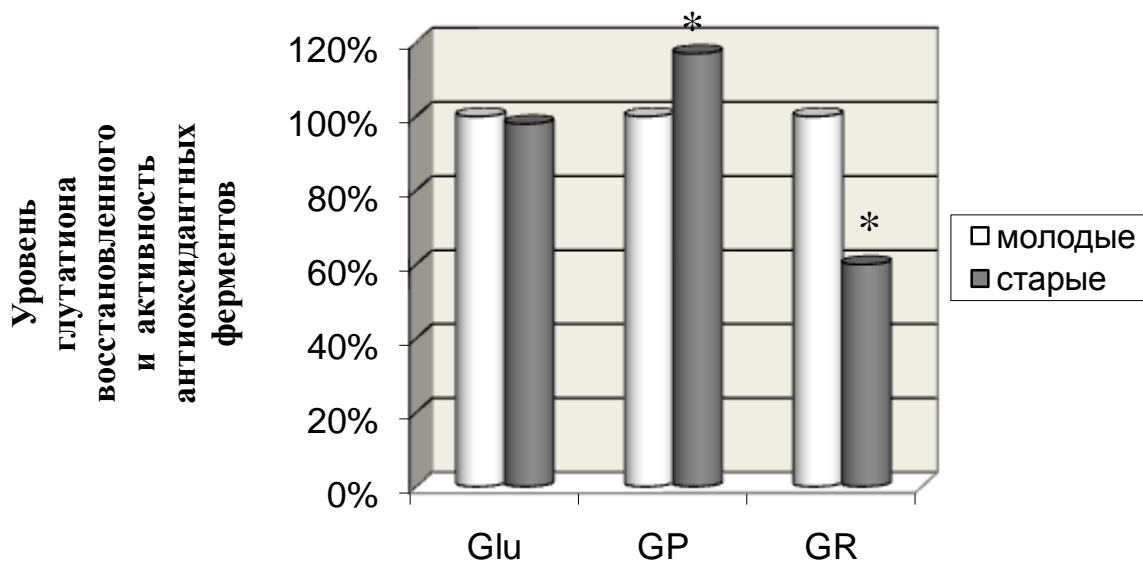


Рис. 1. Уровень глутатиона восстановленного и активность ферментов антиоксидантной защиты в мозге крыс (*- $p < 0,05$ по сравнению с группой «I»).

В гомогенатах печени наблюдается достоверное повышение активности на 100% ГР и на 106% ГП, а также уровня глутатиона восстановленного на 42% по сравнению с I группой (рис.2).

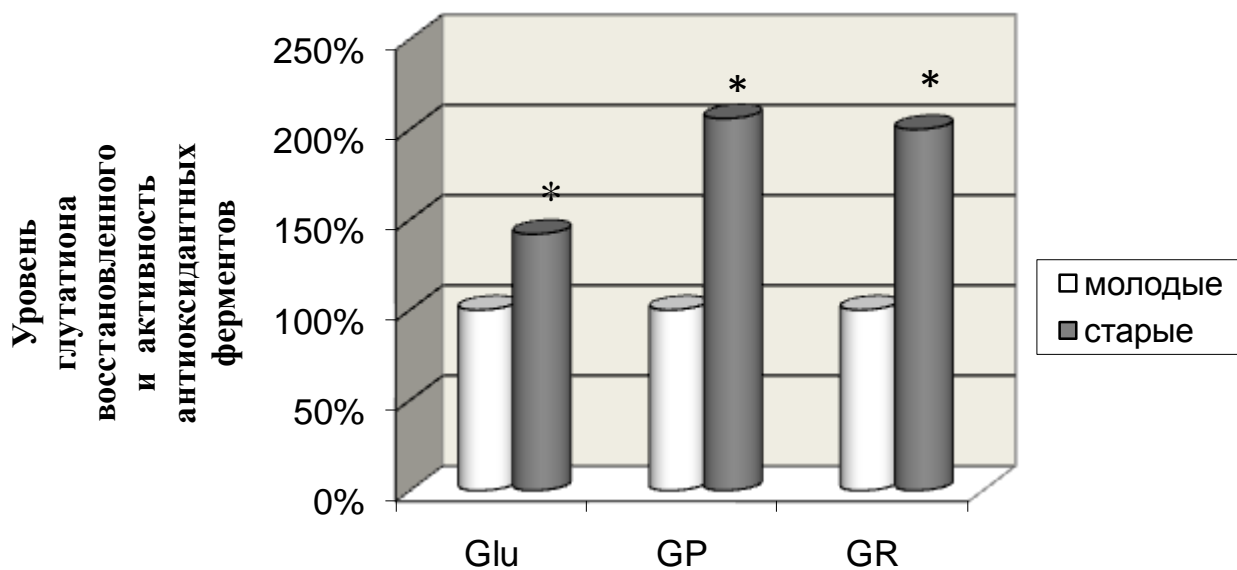


Рис. 2. Уровень глутатиона восстановленного и активность ферментов антиоксидантной защиты в печени крыс (*- $p < 0,05$ по сравнению с группой «I»).

Нами обнаружено достоверное повышение уровня глутатиона восстановленного на 19%, глутатионпероксидазы на 22% и снижение активности глутатионредуктазы на 27% в эритроцитах у крыс II группы относительно группы I (рис. 3).

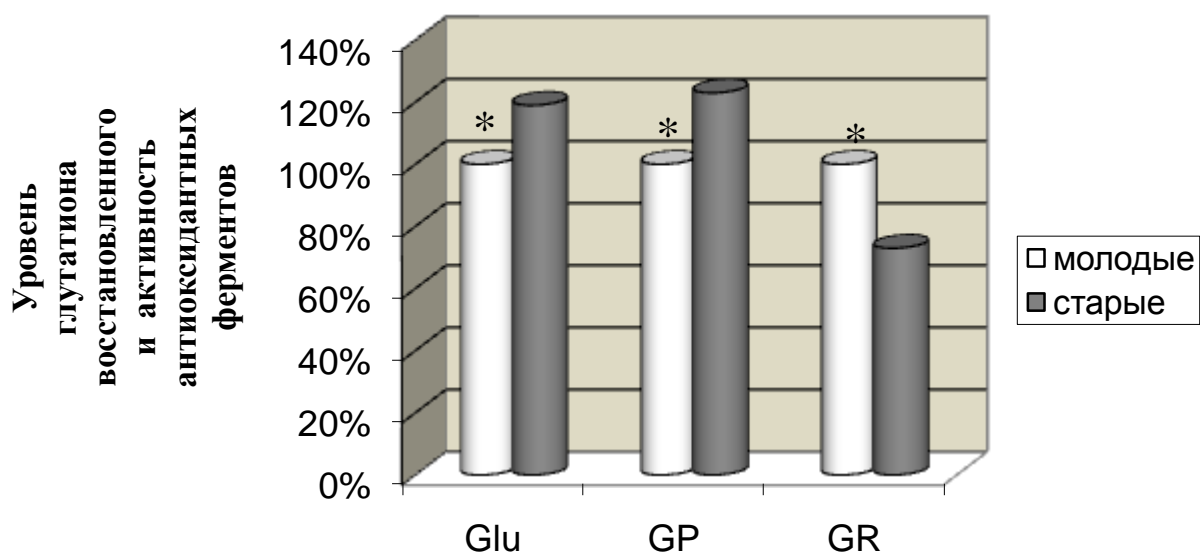


Рис. 3. Уровень глутатиона восстановленного и активность ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах крыс (*- $p < 0,05$ по сравнению с группой «I»).

Выводы

Возрастная динамика отдельных показателей глутатионовой антиоксидантной системы характеризовалась активацией глутатионпероксидазы в гомогенатах печени, мозга и эритроцитах, однако снижением активности глутатионредуктазы в гомогенатах печени и эритроцитах крыс. Достоверное повышение уровня глутатиона восстановленного было установлено только в гомогенатах печени экспериментальных животных.

Литература

1. Мальцев Г.Ю., Тышко Н.В. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Гигиена и санитария. 2002. № 2. С. 69–72.
2. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.
3. Моин.В.И. Простой и чувствительный метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. Дело.-1986.-№12-С. 724-727.
4. Хавинсон В.Х., Баринов В.А., Арутюнян А.В., Малинин В.В. Свободнорадикальное окисление и старение. СПб: Наука, 2003. 327 с.
5. Lowry O.H. Protein measurement with the folin phenol reagent / O.H. Lowry // Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.
6. Wendell P.Z. Distribution of glutathione reductase and detection of glutathione-cystine transhydrogenase in rat tissues / P.Z. Wendell // Biochim. Biophys. Acta. – 1968. – Vol. 159, № 1. – P. 179–181.

Summary.

I. S. Tarasevich, O. N. Rynetskaya

Activity of glutathioneperoxidase, glutathionereductase and reduced glutathione level in the liver, brain and erythrocyte rats in age aspect.

Belarusian State Medical University, bioorganic chemistry department

The paper presents data on the effect of age aspect of the activity of antioxidant enzymes such systems as: glutathioneperoxidase and glutathione level glutathionereductase recovered in the liver, brain and erythrocytes of experimental animals (rats). Results characterized the activation of glutathioneperoxidase in the liver, brain homogenates and red blood cells, increasing level of reduced glutathione in liver homogenates, but reduced activity of glutathionereductase in liver homogenates and red blood cells.