



УДК 612.82—577.15

ИЗМЕНЕНИЕ ДИСУЛЬФИДРЕДУКТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ
ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ

АЛЕКСИДЗЕ Н. Г., КОШОРИДЗЕ Н. Н.

Тбилисский государственный университет

Старение организма сопровождается снижением содержания сульфгидрильных групп в белках нервной ткани [1], особенно во фракциях мембранных белков, экстрагирующихся додецилсульфатом натрия (ДДС-Na), тритоном X-100 и водой [2]. Возможно, это явление обусловлено сдвигами в содержании дисульфидредуктазы—фермента, восстанавливающего S-S связи, или же изменением фермент-субстратных взаимодействий. В связи с этим нами исследовалась дисульфидредуктазная активность в водных экстрактах гомогенатов коры и белого вещества больших полушарий, мозжечка, гиппокампа и продолговатого мозга молодых и старых крыс.

Животных декаантировали, быстро извлекали мозг и после его гомогенизации в дистиллированной воде центрифугировали в течение 15 мин (16000 g). Активность дисульфидредуктазы определяли в надосадочной фракции по методу Tietze [3]. В кинетических исследованиях концентрация субстрата варьировала в диапазоне от 5 до 50 мМ, а кофактора—от 10 до 100 мМ. Белок определяли по методу Lowry и соавт. [4].

Предварительно было установлено, что при концентрации субстрата—5,5'-дитиобис/2-нитробензойной кислоты (ДТНБ), 50 мМ и кофактора (NADPH) 100 мМ кривая зависимости активности фермента его концентрации сохраняет линейный характер на протяжении 20 мин. В дальнейших опытах активность фермента измеряли в течение первых 10 мин. Инкубационная среда имела следующий состав: 0,5 мл трис-HCl буфер (pH (7,4), 0,5 мл ДТНБ (50 мМ), 0,5 мл NADPH (100 мМ), 0,5 мл раствора белка (1 мг/мл).

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что разные отделы головного мозга крыс отличаются по величине активности дисульфидредуктазы. Общей закономерностью можно признать снижение дисульфидредуктазной активности во всех изученных нами структурах мозга у двухлетних (старых) крыс. Для выяснения причин понижения с возрастом активности фермента в специальных опытах исследовали его кинетические параметры.

Было установлено, что кривая активности фермента, построенная по показателям $V/[s]$ и $[NADPH]$, в условиях фиксированной концентрации субстрата или кофактора принимает сигмовидную форму, проявляя способность к насыщению. При этом в мозгу старых крыс отмечалось подавление дисульфидредуктазной активности в условиях фиксированной концентрации $NADPH$. Судя по V для ДТНБ, оно составляло более чем 20%, в опытах же с $NADPH$ при фиксированной концентрации ДТНБ активность дисульфидредуктазы достоверно не изменялась (табл. 2).

Таблица 1

Дисульфидредуктазная активность головного мозга молодых и старых крыс ($n=6-8$)

Отделы головного мозга	Молодые	Старые
Кора больших полушарий	$0,125 \pm 0,008$	$0,060 \pm 0,003$ $p < 0,001$
Белое вещество	$0,104 \pm 0,013$	$0,058 \pm 0,003$ $p < 0,003$
Мозжечок	$0,121 \pm 0,009$	$0,064 \pm 0,004$ $p < 0,001$
Продолговатый мозг	$0,088 \pm 0,004$	$0,062 \pm 0,003$ $p < 0,01$
Гиппокамп	$0,104 \pm 0,005$	$0,087 \pm 0,004$ $p < 0,01$

Примечание. Активность фермента выражена в $\Delta E_{412}/\text{мг}$ белка/мин

Таблица 2
Кинетические параметры дисульфидредуктазы водных экстрактов мозга молодых и старых крыс ($n=8-10$)

Возрастные группы	$K_m \cdot 10^{-3} \text{ M}$		V (нмоль/мг белка/мин)	
	ДТНБ	$NADPH$	ДТНБ	$NADPH$
Молодые	$2,69 \pm 0,29$	$5,04 \pm 1,54$	$1,79 \pm 0,08$	$0,84 \pm 0,03$
Старые	$3,84 \pm 0,13$ $p < 0,01$	$9,70 \pm 1,50$ $p < 0,05$	$1,40 \pm 0,03$ $p < 0,01$	$0,75 \pm 0,04$ $p > 0,05$

Вероятно, что снижение V дисульфидредуктазной реакции является результатом уменьшения содержания фермента в мозгу старых крыс и сродства фермента как к субстрату, так и к кофактору. Как видно из табл. 2, K_m , рассчитанная относительно ДТНБ и $NADPH$, для фермента из мозга старых крыс возрастает на 42 и 92% соответственно.

Таким образом, уменьшение количества SH-групп в разных областях головного мозга старых крыс может быть обусловлено, с одной стороны, снижением содержания дисульфидредуктазы, а с другой — изменением свойств самого фермента.

CHANGES IN RAT BRAIN DISULPHIDREDUCTASE ACTIVITY ON AGING

ALEKSIDZE N. G., KOSHORIDZE N. I.

Chair of Biochemistry, State University, Tbilisi

The kinetic constants (K_m , V_{max}) of brain disulphidreductase have been determined in young and aging rats. It is established that the decrease in brain proteins' SH-groups in aging animals correlates with the drop in disulphidreductase content in brain.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Оэриу К. Успехи соврем. биол., 2, 54, 248—264, 1962.
2. Кошоридзе Н. Н., Алексидзе Н. Г. Сообщ. АН ГССР, 3, 102, 705—708, 1981.
3. Tietze T. Arch. Biochem. Biophys., 138, 1, 112—114, 1970.
4. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. K., Randall R. L. J. Biol. Chem., 193, 1, 265—275, 1951.

Поступила 30. IV 1982