

УДК 616—003.663.4—002.2

П. А. БАКАЛЯН, О. А. АНТОНЯН

ИЗМЕНЕНИЕ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗНОЙ И ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ И СОДЕРЖАНИЯ ТИОЛОВЫХ ГРУПП ПРИ ФЛЮОРОЗЕ

В условиях эксперимента изучены глутатионпероксидазная и глутатионредуктазная активность, а также уровень сульфгидрильных групп в печени и мозге белых крыс при флюорозе.

Установлено, что при хронической фтористой интоксикации в изученных органах наблюдается некоторое повышение глутатионпероксидазной и глутатионредуктазной активности и снижение уровня восстановленных тиолов. Наблюдаемое повышение глутатионпероксидазной и глутатионредуктазной активности, являясь защитной реакцией организма в ответ на повышение интенсивности липопероксидации при флюорозе, оказывается недостаточно эффективным, на что указывает высокий уровень содержания липоперекисей в изученных органах. Выявленные изменения сопровождаются снижением уровня восстановленных тиолов, играющих важную роль в метаболизме клетки.

В настоящее время установлено, что защита клетки от избыточной липидной пероксидации осуществляется сложными ферментными системами и природными антиоксидантами, в числе которых важную роль играет сопряженное действие глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, приводящее к инактивации липоперекисей в соответствующие оксикислоты [4, 8, 9]. При этом к серьезным структурным и метаболическим изменениям клеток приводит не только усиленное образование перекисей и свободнорадикальных соединений, но и нарушение механизмов защиты клетки от избыточной пероксидации [1, 3, 7].

Поэтому для выяснения той или иной патологии и осуществления научно-обоснованного подхода в подборе лечебно-профилактических мероприятий, помимо выяснения характера возникающих нарушений, важное значение имеет изучение защитных возможностей организма.

Проведенными нами ранее в условиях хронической фтористой интоксикации исследованиями [2] было установлено значительное повышение уровня процессов перекисного окисления липидов в органах и тканях (печень, мозг и кровь), сопровождающееся снижением уровня витамина Е, важного природного антиоксиданта, и супероксиддисмутазной активности, являющихся, как известно, основными ингибиторами свободнорадикальных реакций [4—6, 10].

В связи с этим определенным интересом представляло изучение состояния сопряженной ферментной системы глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, играющей важную роль в регуляции механизма защиты клетки от избыточной пероксидации.

Материал и методика

Исследования были проведены на 25 белых крысах-самцах (из которых 10 контрольных) с начальной массой 140 г, у которых флюороз вызывался ежедневной пероральной затравкой 5 мг/кг иона фтора в виде раствора фтористого натрия на протяжении пяти месяцев.

По истечении срока затравки животных обезглавливали и для исследования брали печень и мозг. После соответствующей предварительной обработки (перфузия печени холодным 0,154 М раствором КСl, освобождение мозга от мягкой оболочки и видимых кровеносных сосудов) мозг и печень гомогенизировали в 0,154 М растворе КСl. Полученный 10% гомогенат обрабатывали тритоном X-100 с конечной концентрацией 0,1%.

Глутатионпероксидазную и глутатионредуктазную активность определяли по Pinto a. Bartley [11].

О глутатионпероксидазной активности судили по количеству окисленного в процессе инкубации (10 сек при 30°C) глутатиона. Вместо глутатиона определяли количество тиоловых групп по Sedlak a. Lindsay [12], выражая ферментативную активность количеством *мкмоль* свободного глутатиона, окисленного за 1 мин, в пересчете на 1 г сырой ткани.

Глутатионредуктазную активность определяли по количеству окисленного НАДФН в супернатанте, полученном после центрифугирования (15 мин при 10000 g) первоначального 10% гомогената. Инкубация проводилась при 30°C в течение 10 минут. Падение оптической плотности измеряли на спектрофотометре СФ-4А при 340 нм. Активность фермента выражали количеством *мкмоль* НАДФН, окисленного за 1 мин в пересчете на 1 г сырой ткани.

Содержание общих и небелковых эндогенных тиоловых групп в изученных органах определяли по методу Sedlak a. Lindsay [12] с помощью 5,5' дитиобис-2-нитробензойной кислоты. Количество SH-групп рассчитывали на основании экстинкции при 412 нм по коэффициенту молярной экстинкции, равному 13100.

Результаты и обсуждение

Из табл. 1 явствует, что у животных, подвергшихся затравке, по сравнению с контрольными, глутатионпероксидазная и глутатионредуктазная активность как в печени, так и в мозге несколько повышается. При этом повышение глутатионпероксидазной активности в печени составляло 14,5, а в мозге—11,7%. Повышение же глутатионредуктазной

активности было более выраженным и соответственно составляло 23,4 и 32,3%.

В изученных органах наблюдались также и определенные изменения в содержании тиоловых групп. Как видно из данных, представленных в табл. 2, содержание SH-групп значительно снижается, причем в печени это снижение более выраженное и составляет 31,6, а в мозге—17,5%. Наблюдаемое снижение содержания общих SH-групп происходило как за счет белковосвязанных, так и небелковых SH-групп.

Таблица 1
Изменение глутатионпероксидазной и глутатионредуктазной активности в печени и мозге белых крыс при хронической фтористой интоксикации

Ферментативная активность Группы	Глутатионпероксидаза		Глутатионредуктаза	
	(мкмоль Г-SH/г сырой тк./мин)		(мкмоль НАДФН/г сырой тк./мин)	
	печень	мозг	печень	мозг
Контроль n=8	103±4,3	16,2±0,51	8,75±0,47	3,67±0,27
Опыт n=12	118±5,1 p<0,05	18,1±0,47 p<0,02	10,8±0,6 p<0,02	4,85±0,41 p<0,05

Таблица 2
Изменение содержания SH-групп в печени и мозге белых крыс при хронической фтористой интоксикации (мкмоль/г сырой ткани)

Содержание тиолов	Печень		Мозг	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Общее содержание SH-групп	18,7±0,83 n=9	12,8±0,61 p<0,001 n=14	12,6±0,51 n=8	10,4±0,55 p<0,01 n=12
Небелковые SH-группы	2,1±0,1	1,6±0,07 p<0,001	1,7±0,06	1,4±0,04 p<0,001
Белково-связанные SH-группы	16,1	11,6	10,9	9,0

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при хронической фтористой интоксикации повышение уровня липоперекисей вызывает повышение глутатионпероксидазной активности. При этом активация ферментной системы, ответственной за детоксикацию липоперекисей, очевидно, является защитной реакцией организма, проявляющейся в индуктивном синтезе ферментов в ответ на увеличение содержания субстрата—липоперекисей.

Несмотря на это, сравнительно высокий уровень липоперекисей в органах и тканях на фоне увеличения активности ферментной системы их детоксикации указывает на несбалансированность в действии

систем генерирования и активации липоперекисей в тканях организма животных, подвергшихся затравке.

Наблюдаемое повышение глутатионпероксидазной активности, как было видно из полученных результатов, привело к повышенному расходу SH-групп и снижению содержания восстановленных тиолов.

Повышение же глутатионредуктазной активности, по-видимому, можно объяснить усилением интенсивности окисления SH-групп, так как, по данным ряда авторов [4, 11], увеличение в тканях содержания дисульфидов, в том числе окисленного глутатиона, способствует повышению глутатионредуктазной активности, которое, однако, в наших исследованиях оказалось недостаточным для поддержания нормального уровня SH-групп, играющих важную роль в реакциях детоксикации липоперекисей и обрыва цепной свободнорадикальной реакции перекисного окисления липидов [3, 4, 11].

Таким образом, можно полагать, что наблюдаемая при хронической фтористой интоксикации невысокая резистентность эндогенных полиеновых липидов органов и тканей к пероксидации в определенной мере обусловлена как недостаточной активацией ферментных систем, ингибирующих переокисление липидов и детоксицирующих липоперекиси, так и серьезными изменениями гомеостаза защитной системы клетки, проявляющейся в снижении уровня свободных SH-групп, играющих важную роль в регуляции процессов липопероксидации.

Кафедра гигиены питания и коммунальной гигиены

Ереванского медицинского института

Поступила 20/I 1980 г.

Պ. Հ. ԲԱԿԱՅԱՆ, Օ. Ա. ԱՆՏՈՆՅԱՆ

ԳԼՈՒՏԱՏԻՆՈՆՊԵՐՕՔՍԻԴԱԶՆԱԿԱՆ ԵՎ ԳԼՈՒՏԱՏԻՆՈՆՌԵԴՈՒԿԱՏԱԶՆԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՒ ԹԻՈՒԼԱՅԻՆ ԽՄԲԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՖԼՈՒՐՈՒՄԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Փորձարարական պայմաններում ուսումնասիրվել է ֆլուորոզի ժամանակ սպիրտակ առնետների լյարդում և ուղեղում գլուտատիոնպերօքսիդազային և գլուտատիոնռեդուկտազային ակտիվությունը, ինչպես նաև սուլֆհիդրիլ խմբերի քանակը:

Պարզվել է, որ ֆտորային խրոնիկական թունավորման ժամանակ հետազոտված օրգաններում նկատվում է գլուտատիոնպերօքսիդազային և գլուտատիոնռեդուկտազային ակտիվության որոշ բարձրացում և սուլֆհիդրիլ խմբերի քանակի նվազում:

Գլուտատիոնպերօքսիդազային և գլուտատիոնռեդուկտազային ակտիվության նկատվող բարձրացումը, լինելով օրգանիզմի պաշտպանողական ռեակցիա ի պատասխան ֆլուորոզի ժամանակ լիպոպերօքսիդացման ինտենսիվության մեծացման, այնուամենայնիվ անբավարար է, որի մասին է վկայում հետազոտված օրգաններում լիպոպերօքսիդների բարձր մակարդակը: Նկատ-

ված փոփոխութիւնները ուղեկցւում են սուլֆհիդրիլ խմբերի պարունակու-
թյան զգալի իջեցմամբ, որոնք կարևոր դեր ունեն ինչպես բջիջի նորմալ կեն-
սազործունեութիւն, այնպես էլ պերօքսիդացման պրոցեսների կարգավորման
գործում:

P. H. BAKALIAN, O. A. ANTONIAN

EFFECT OF FLUOROSIS ON GLUTATHIONE PEROXIDASE AND GLUTATHIONE REDUCTASE ACTIVITIES AND SULFHYDRYL GROUPS

Glutathione peroxidase and glutathione reductase activities and the concentration of sulfhydryl groups in the liver and brain of albino rats in fluorosis have been studied in experiments.

It is shown that chronic fluorine intoxication causes increase of glutathione peroxidase and glutathione reductase activities, and decrease of the concentration of reduced thiois. The observed increase of glutathione peroxidase and glutathione reductase activities, being a protective reaction of the organism in response to the increasing rate of lipid peroxidation in fluorosis, seem to be insufficient in preventing the rise of lipoperoxides concentration in investigated organs

Besides, these changes are accompanied by decrease of the concentration of reduced thiois, which play an important role in the cell metabolism.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агаджанов М. И. Автореферат докт. дисс. Ереван, 1979.
2. Антосян О. А. Ж. экспер. и клин. мед. АН Армянской ССР, 1980, 20, 4, стр. 381.
3. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
4. Владимиров Ю. А., Оленов В. И., Сулова Т. Б., Потапенко А. Я. В кн.: Итоги науки и техники (сер. биофизика). М., 1975, стр. 56.
5. Мерзляк М. Н., Соболев А. С. В кн.: Итоги науки и техники (серия биофизика). М., 1975, стр. 118.
6. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаян Е. А. Ж. экспер. и клин. мед. АН Армянской ССР, 1975, 15, 1, 3.
7. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаян Е. А. III Всесоюзный биохимический съезд. Рига, 1974, стр. 242.
8. Flohe L., Klin. Wschr., 1971, 49, 669.
9. Little G., O'Brien P. Y. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1968, 31, 145.
10. Morimitsu Nichikimi Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 46, 2, 8.
11. Pinto R. E., Bartley W. The Biochem. J., 1969, 112, 1, 109.
12. Sedlak Y., Lindsay K. H. Analyt. Biochem., 1968, 25, 192.