

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗЫ ИЗ ПЕЧЕНИ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ.

Агарков А.А., Попова Т.Н., Семенихина А.В., Шульгин К.К.

Кафедра медицинской биохимии и микробиологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, e-mail: tporova@bio.vsu.ru.

В настоящее время не вызывает сомнения, что неотъемлемым неспецифическим звеном в развитии состояния стресса, дезадаптации и возникновения патологии, в том числе патологии печени, является активация процессов свободнорадикального окисления (СРО) и нарушение функционального состояния стресс-лимитирующей системы антиоксидантной защиты (АОЗ) организма.

Функция антиоксидантных ферментов в организме включает в себя поддержание стационарной концентрации перекисей и кислородных радикалов. Глутатионредуктаза (ГР; К.Ф. 1.6.4.2), являясь частью глутатионовой антиоксидантной системы, обеспечивает синтез восстановленного глутатиона (GSH) – компонента неферментативного звена АОЗ.

Известно, что основным механизмом образования одной из самых агрессивных первичных АФК –  $\text{OH}^\bullet$ -радикала, участвующего в инициации СРО, служит процесс, описываемый реакциями Фентона и Хабера-Вайса. В этой связи было исследовано влияние ионов  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ , принимающих участие в данных реакциях, на активность ГР из печени крыс в норме и в условиях токсического поражения печени.

Объектом исследования служили самцы белых крыс (*Rattus rattus L.*). Токсическое повреждение печени моделировали пероральным введением 33% раствора  $\text{CCl}_4$  в вазелиновом масле (64мкл  $\text{CCl}_4/100$  г веса животного). Забой животных производили на 4 сутки после введения гепатотоксина. Печень крысы извлекали под наркозом после многократного перфузирования ледяным физиологическим раствором.

Активность фермента определяли спектрофотометрически на СФ-56 при 340 нм. О скорости реакции судили по падению оптической плотности в результате окисления НАДФН. Измерение активности проводили в 50мМ калий-фосфатном буфере (pH=7,4), содержащем 1мМ ЭДТА, 0,8мМ глутатион окисленный, 0,16мМ NADPH. За единицу активности принимали количество фермента, катализирующее образование 1мкМ продукта реакции за 1мин при 25<sup>0</sup>С. Содержание белка определяли по методу Lowry.

Получение высокоочищенного ферментного препарата ГР включало несколько стадий очистки: высаливание сульфатом аммония в границах насыщения 40-75%, гель-фильтрацию на сефадексе G-25, ионнообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе, ультрафильтрацию фракций фермента с помощью ячейки Millipore, гель-хроматографию

на Тойоперл HW–65. Все этапы очистки фермента осуществляли при температуре 0-4<sup>0</sup>С. Опыты проводили в 3-4 кратной биологической повторности, аналитические определения в каждой пробе–в 2-х повторностях. Для определения достоверности результатов применяли метод вариационной статистики.

Исследование влияния ионов Fe<sup>2+</sup> на активность ГР показало ингибирующее действие во всем диапазоне исследуемых концентраций. Наиболее выраженное подавление активности фермента выявлено в условиях нормы. Так, при 0,1мМ концентрации ионов Fe<sup>2+</sup> активность ГР составила около 25% от начальной. При увеличении концентрации до 1,2мМ активность фермента составила около 3% от исходной, в то время как при токсическом гепатите при той же концентрации – 35% от начальной активности.

Зависимость активности ГР от концентрации ионов Fe<sup>3+</sup> имеет сходный характер с влиянием Fe<sup>2+</sup>. В условиях нормы показан более значительный ингибирующий эффект ионами Fe<sup>3+</sup>, чем Fe<sup>2+</sup>. Так, при концентрации Fe<sup>3+</sup> 0,04 мМ активность фермента составила~20%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможных путях координации функционирования ГР с интенсивностью протекания реакции Фентона и Хабера-Вайса. Известно, что возрастание уровня ионов железа при окислительном стрессе способствует усилению генерации активных форм кислорода. Таким образом, можно предположить, что благодаря функционированию компенсаторных механизмов в патологическом состоянии ГР более устойчива к воздействию ионов железа.

*Работа поддержана финансированием Министерства образования и науки РФ по программе “Развитие научного потенциала высшей школы”РНП.2.1.1.4429 и РФФИ р\_офи 08-04-99018.*