

**ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПЕЧЕНИ
МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS*
ПРИ ЗАКИСЛЕНИИ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ**

Шахрани М., Сидоров А.В.

Белорусский государственный университет, Минск

sidorov@bsu.by

Концентрация водородных ионов играет важную роль в жизни пресноводных организмов. С учетом практически полного отсутствия буферной емкости у воды понятно, что даже незначительные сдвиги баланса H^+ и OH^- , вызываемые внешними факторами, способны оказать решающее влияние на состояние пресных вод. Для моллюсков, так же как для других беспозвоночных и ряда позвоночных (рыбы, амфибии), характерны значительные колебания рН внутренней среды [6]: гемолимфы или крови, в том числе опосредуемые сдвигом кислотно-основного равновесия во внешней среде. Очевидно, что изменение ионного состава интерстиция незамедлительно сказывается на скорости протекания ферментативных реакций, что приводит к установлению нового, относительно стабильного функционального уровня [1]. Глутатионпероксидаза (ГП) играет основную роль в инактивации внутриклеточной перекиси водорода, используя в качестве доноров водорода восстановленный глутатион (Г-SH). Сведения о взаимосвязи между состоянием системы антиокислительной защиты в тканях пресноводных легочных моллюсков и рН водной среды крайне разрознены и скудны, что и предопределило проведение данной работы.

Работа выполнена на представителе пресноводных легочных моллюсков – прудовике обыкновенном (*Lymnaea stagnalis*). В лаборатории животные содержались в аквариумах объемом 4 л (по 5 особей в каждом), при температуре воды 24-26°C и свободном доступе к пище. Для оценки влияния рН на показатели антиокислительной защиты в печени моллюсков животных на 7 суток помещали в аквариумы с рН воды 6,5 (опыт) или 7,5 (контроль). В качестве буфера использовали HEPES: N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этан-сульфоновая кислота (10 мМ), рН доводили 0,1 н HCl. По окончании инкубации выделяли печень индивидуально от каждого моллюска, пробы замораживали и хранили при -70°C, используя по мере необходимости. Гомогенаты готовили на основе холодного (4 °C) раствора Рингера для *Lymnaea* (в ммольях): NaCl – 44; KCl – 1,7; CaCl₂ – 4; MgCl₂ × 6 H₂O – 1,5; HEPES – 10, рН 7,5. Исследование выполнено с использованием спектрофотометра Cary 50 (Variant Inc., Австралия). Уровень восстановленного глутатиона определяли по реакции с 5,5'-дитиобис-нитробензойной кислотой (ДТНБ, реактив Элмана),

на основании коэффициента молярной экстинкции ($13600 \text{ M}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ при 412 нм), согласно [4]. Активность Se-зависимой глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) определяли по [3], используя в качестве инициатора реакции трет-бутил перекись. Определение количества белка проводили по методу Бредфорд.

Данные по влиянию pH воды на глутатионпероксидазную активность в печени *Lymnaea* представлены в таблице.

Таблица – Влияние pH аквариумной воды на уровень восстановленного глутатиона и активность глутатионпероксидазы в печени моллюска

Биохимический показатель	Экспериментальная группа	
	контроль, pH=7,5 (n=52)	опыт, pH=6,5 (n=9)
Восстановленный глутатион (Г-SH), нМ/мг белка	10,3±0,8	5,3±0,5*
Глутатионпероксидаза, нМ Г-SH /мг белка/мин	3,13±0,29	2,28±0,34*

* – достоверно, $P < 0,05$ (*t*-критерий) по сравнению с контрольной группой

Установлено, что длительное (7 суток) закисление аквариумной воды приводит к падению активности ГП (в 1,4 раза) по сравнению с контрольными условиями. При этом также отмечается почти 2-кратное снижение уровня восстановленного глутатиона в ткани печени.

Антиокислительная система защиты является ведущим образованием в процессе детоксикации и биотрансформации ксенобиотиков, а, следовательно, ее состояние может коррелировать с наличием загрязнителей в окружающей среде. В некоторых случаях наиболее чувствительным к действию ксенобиотиков оказываются глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза, что приводит к выраженному (до 80%) снижению уровня восстановленного глутатиона, как это отмечено для пресноводного двустворчатого моллюска *Unio tumidus* [2]. Исследование особенностей распределения ферментов антиоксидантной защиты в тканях мидии *Perna viridis* показало, что их активность зависит прежде всего от вида ткани и места обитания животного [5].

Результаты нашей работы указывают на тот факт, что нарушения кислотно-основного равновесия пресных вод можно рассматривать в качестве фактора, оказывающего существенное влияние на показатели системы антиокислительной защиты моллюсков, выражающееся в развитии окислительного стресса. При этом создаются условия для потенцирования действия различных органических и неорганических загрязнителей по отношению к водным гидробионтам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Проссер К. Л. Дыхательные функции крови // Сравнительная физиология животных. В 3 т. – М.: Мир, 1977. – Т. 2. – С. 5-83.

2. Cossu C., Doyotte A., Jacquin M.C. et al. Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 1997. – Vol. 38. – P. 122-131.

3. Flohe L., Cuzner W. A. Assays of glutathione peroxidase // *Methods Enzymol.* – 1984. – Vol. 105. – P. 114-126.

4. Habeeb A. F. Reaction of protein sulfhydryl groups with Ellman's reagent // *Methods Enzymol.* – 1972. – Vol. 25. – P. 457-464.

5. Lau P. S., Wong H. L. Effect of size, tissue parts and location on six biochemical markers in the green-lipped mussel, *Perna viridis* // *Mar. Pollut. Bull.* – 2003. – Vol. 46. – P. 1563-31572.

6. Sidorov A. V., Polyamina I. P. Acid-base balance modulates respiratory and alimentary behaviour of the mollusc *Lymnaea stagnalis* // *J. Evol. Biochem. Physiol.* – 2003. – Vol. 39, № 5. – P. 555-561.

ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНО-КАРБОНИЛЬНОГО СТРЕССА У КРЫС С ИШЕМИЕЙ МИОКАРДА

Шевцова А.И., Пароник В.А.

Днепропетровская медицинская академия, Днепропетровск
shevtsova-a@mail.ru

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) относится к числу наиболее серьезных проблем современной медицины и во всем мире занимает ведущее место в структуре заболеваний и смертности населения. Несмотря на значительные успехи в профилактике и лечении этого заболевания, частота ИБС и последующих неблагоприятных кардиоваскулярных событий остаются высокими. Одним из ведущих патогенетических механизмов развития ИБС считается оксидативный стресс (ОС), который в соответствии с современным определением обозначают как острое или хроническое повышение уровня активных форм кислорода (АФК), приводящее к нарушению метаболизма и повреждению клеточных структур. Как оказалось, повышение уровня АФК – далеко не единственная причина развития ИБС, параллельно развивается так называемый карбонильный стресс, пусковым фактором которого является накопление активных карбонильных соединений (АКС), образующихся в ходе метаболизма редуцирующих сахаров, таких как глюкоза и фруктоза. В отличие от свободнорадикальных форм кислорода, АКС могут длительно циркулировать в крови и вызывать образование перекрестных сшивок между аминокислотами в составе белков, липидов и нуклеиновых кислот, что в свою очередь приводит к нарушению структуры и функций этих биомолекул. Долгое время повышение АКС связывали только с гипергликемией при