

УДК 577

**ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ У БОЛЬНЫХ  
С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И ПРИ КОРРЕКЦИИ  
НИЗКИМИ ДОЗАМИ ОЗОНА**© 2008 г. *М.В. Ведунова*<sup>1,2</sup>, *Е.А. Блёткина*<sup>1,2</sup>, *К.Н. Конторщикова*<sup>2</sup><sup>1</sup> Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского<sup>2</sup> Нижегородская государственная медицинская академия

vestnik@unn.ru

*Поступила в редакцию 16.06.2008*

При исследовании глутатион-S-трансферазы в эритроцитах и плазме людей с метаболическим синдромом обнаружено увеличение активности фермента. Возможно это связано с качественными изменениями в составе пула глутатион-S-трансферазы. У большинства доноров с метаболическим синдромом обнаружено нарушение хода реакции в плазме и эритроцитах. В случае появления дополнительного плато возможно, что в системе присутствуют две изоформы фермента. После коррекции метаболических нарушений у большинства обследованных обнаружены нормализация активности плазматической и эритроцитарной фракции фермента, изменение хода реакции.

*Ключевые слова:* метаболический синдром, озон, глутатион-s-трансфераза.

**Введение**

Нарушение обмена веществ в организме человека, приводящее к формированию метаболического синдрома (МС), связано с накоплением в крови патологически высоких концентраций продуктов липидного и углеводного обмена, промежуточных метаболитов и аномальных соединений, таких как окисленные липопротеины, гликозилированные белки, продукты гипоксии тканей и многие другие. Данные соединения обладают токсическими свойствами. Накопление этих веществ может привести к истощению детоксицирующей системы и в дальнейшем к развитию эндогенной интоксикации [1, 2].

Одним из детоксицирующих ферментов является глутатион-S-трансфераза (GST), который за счет восстановленного глутатиона осуществляет прямую регенерацию липоперекисей в мембранах, без предварительного фосфолипазного гидролиза, снижая последствия окислительного стресса и эндогенной интоксикации [3]. Конъюгация с глутатионом токсичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белков (ОМБ) способствует их выведению из организма [4].

К числу биологически активных агентов, стимулирующих детоксицирующую и антиоксидантную систему организма, относится озон. При парентеральном введении озона происходит активизация целого каскада биохимических

процессов. Это проявляется в активизации системы антиоксидантной защиты. Терапевтические дозы озона, введенные парентерально, существенно усиливают микроциркуляцию и улучшают трофические процессы в органах и тканях, обладают выраженным иммуномодулирующим эффектом, способствуют резкой активизации детоксикационной системы защиты организма [5].

Биологический эффект озона реализуется посредством его влияния на клеточные мембраны и заключается в нормализации уровня продуктов ПОЛ и антиоксидантной защиты. Многообразие механизмов лечебного действия озона определило широту его лечебного применения [6].

В связи с вышесказанным целью нашего исследования – определение активности глутатион-S-трансферазы у больных с метаболическим синдромом и при коррекции низкими дозами озона.

**Материалы и методы**

Исследование крови проводилось у 42 человек с метаболическим синдромом и 14 практически здоровых доноров. В исследуемую группу вошли лица с диагнозом артериальная гипертензия, атеросклероз и СД II, которые были объединены по морфо-функциональным (объемам талии, повышенное артериальное давление) и биохимическим (уровень триглицеридов, ХС-

ЛПВП и глюкозы натощак) параметрам в группу «метаболический синдром» [1, 2, 7]. Все обследованные были разделены на две группы.

В первую вошли 30 человек с метаболическим синдромом. В этой группе коррекция метаболических нарушений осуществлялась малыми дозами озона на базе Нижегородского медицинского центра озонотерапии. Курс лечения состоял из 6–8 процедур в зависимости от тяжести заболевания, через день, и включал внутривенное введение озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 300–400 мкг/л.

Вторая группа включала 12 пациентов с метаболическим синдромом, проходивших лечение в Клинической городской больнице № 5. В лечении больных этой группы применялся комплекс препаратов, влияющих на уровень показателей липидного обмена, глюкозы и положительно воздействующих на вазодилатацию.

Третью группу (норма) составили практически здоровые люди (14 человек). Критерием для включения в эту группу служило отсутствие хронических заболеваний в стадии обострения, ОРВИ и употребления алкоголя не только на момент взятия анализа, но и в течение десяти дней до обследования.

Для оценки детоксицирующих возможностей организма определяли активность глутатион-S-трансферазы [8]. Метод основан на определении скорости ферментативного образования GS-2,4-динитробензола в катализируемой ферментом реакции восстановленного глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом, поскольку водный раствор образующегося продукта имеет максимум светопоглощения при длине волны 340 нм. Статистическая обработка проводилась с помощью пакета программ Microsoft Excel, Biostat 4.3.

### Результаты и их обсуждение

При исследовании GST в эритроцитах и плазме больных метаболическим синдромом обнаружено достоверное ( $p < 0.05$ ) увеличение активности фермента. В плазме активность увеличена в среднем на 20%, а в эритроцитарной фракции фермента – на 46% (табл. 1).

На наш взгляд, данное повышение активности GST может быть связано не только с дополнительным синтезом фермента в ответ на повышенное содержание эндотоксинов при MC, но и с качественными изменениями в составе пула GST.

Нами были исследованы графики зависимости оптической плотности реакционной смеси от времени реакции (рис. 1).

Таблица 1

#### Активность GST в плазме и эритроцитах больных метаболическим синдромом ( $M \pm m$ )

Биоматериал	До лечения	Норма
Плазма (моль/л · мин)	15.09 ± 1.106*	12.75 ± 2.26
Эритроциты (моль/л · мин)	222.4 ± 21.16*	145.9 ± 18.16

\* Достоверность различий результатов в группе больных MC в сравнении с нормой ( $p < 0.05$ ).

При изучении хода ферментативной реакции нами были обнаружены особенности, характерные для MC. Ход реакции у практически здорового человека (рис. 1а) соответствует стандартным представлениям о ходе одноферментной реакции с выходом на плато на 60–90 секундах после запуска реакции.

У 85% доноров с MC обнаружено нарушение хода реакции в плазме и у 79% в эритроцитах. Характерно появление дополнительного плато между 30 и 60 секундами (рис. 1б), либо долгий лаг-период (рис. 1в).

Это может быть следствием того, что патологический процесс при MC приводит к нарушению конформационной структуры молекулы фермента и, возможно, к уменьшению сродства фермента к субстрату.

В случае появления дополнительного плато возможно, что в системе присутствуют две изоформы фермента. Появление таких изоформ, на наш взгляд, может быть связано с окислительной модификацией аминокислот, входящих в состав фермента, что приводит к изменению его конформации, либо изменению белкового окружения молекулы фермента.

Теоретический ход реакции при наличии двух изоформ представлен на рис. 2.

После коррекции MC у большинства больных 1 и 2 группы наблюдаются изменения хода реакции (рис. 3). Дополнительного плато, характерного при MC, не обнаруживается, график напоминает ход реакции у практически здорового человека (рис. 1а). Отличается лишь время выхода на плато (на 120-й секунде).

При исследовании активности GST после коррекции метаболических нарушений у 77% обследованных обнаружена нормализация активности плазматической фракции фермента и достоверное снижение активности эритроцитарной фракции фермента более чем на 20% (табл. 2). У 13% наблюдается увеличение активности плазматической фракции с появлением дополнительного плато, у 10% имеется лаг-период.

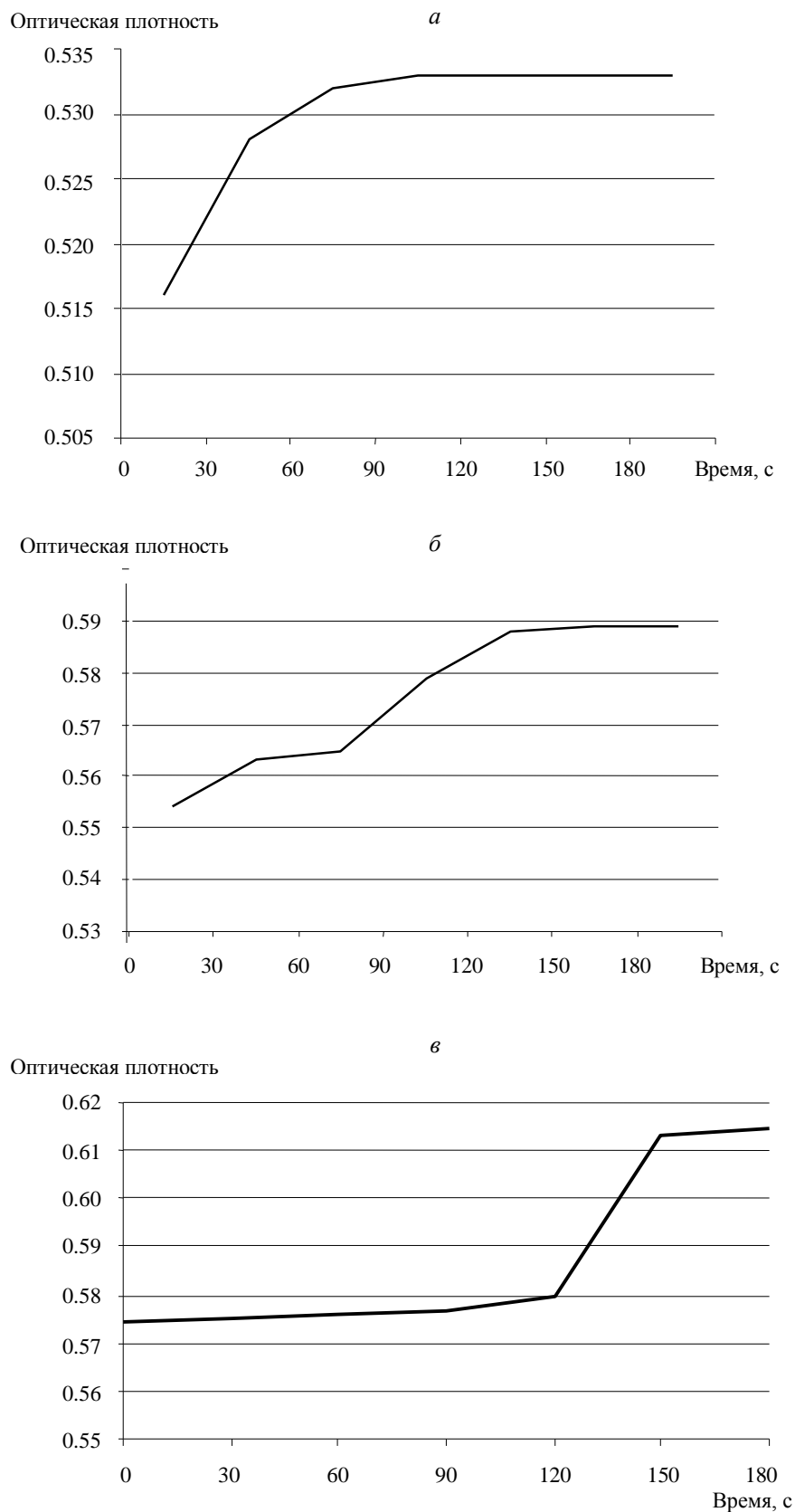


Рис. 1. Зависимость оптической плотности реакционной смеси от времени реакции: а – практически здоровый человек; б, в – больной с метаболическим синдромом

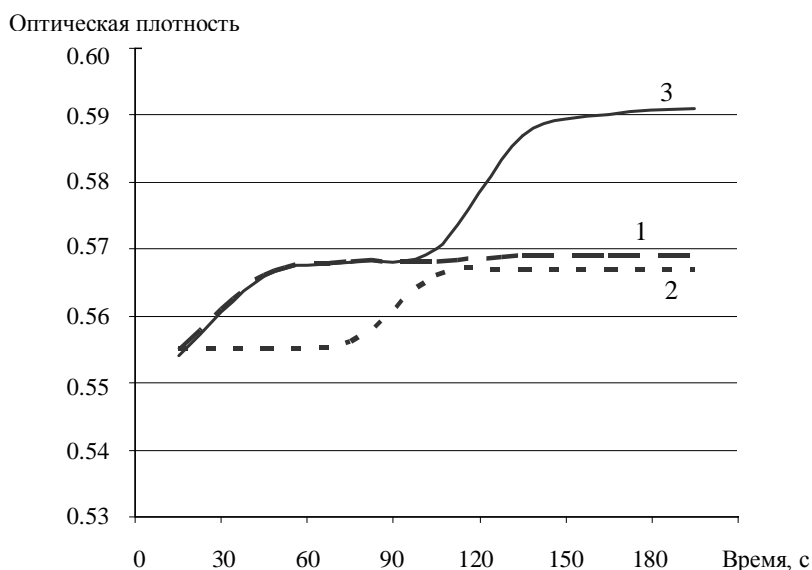


Рис. 2. Теоретический ход реакции при наличии двух изоформ фермента GST: 1 – изоформа 1, 2 – изоформа 2, 3 – ход ферментативной реакции

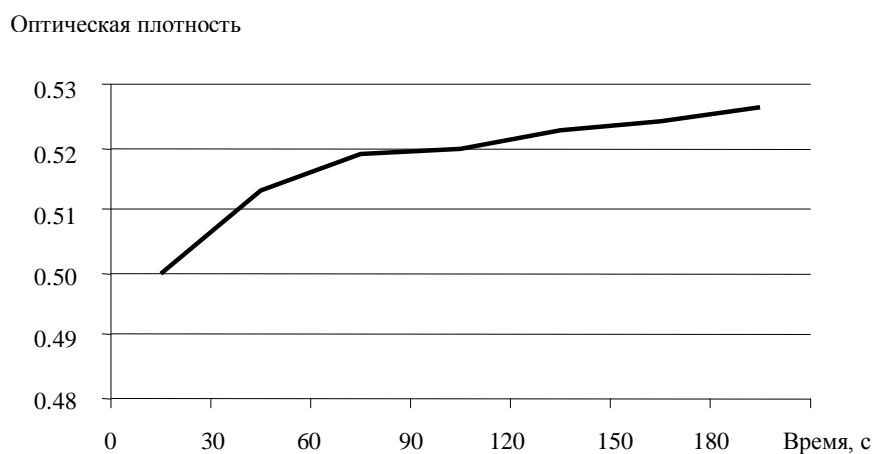


Рис. 3. Зависимость оптической плотности реакционной смеси от времени после лечения МС

Таблица 2

**Изменение активности GST при различных способах коррекции метаболических нарушений (M ± m)**

Биоматериал	1 группа		2 группа	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Плазма (моль/л · мин)	15.09 ± 1.106	12.6 ± 0.986*	15.51 ± 1.202	11.72 ± 1.801*
Эритроциты (моль/л · мин)	222.4 ± 21.16	166.3 ± 13.86*	203.2 ± 23.55	143.2 ± 16.14*

\* Различия между показателями активности фермента в плазме и эритроцитах до и после лечения достоверны ( $p < 0.05$ ).

### Заключение

Наряду с изменением активности GST обнаружено появление в пуле фермента действующих изоформ, не характерных для плазмы и эритроцитов здоровых людей. Можно предположить, что изменение хода ферментативной реакции напрямую связано с развитием эндотоксикации и окислительного стресса.

### Список литературы

1. Строев Ю.И., Цой Л.П., Чурилов Л.П., Шишкин А.Н. Классические и современные представления о метаболическом синдроме // Вестник Санкт-Петербургского университета. 2007. Сер. 11. Вып 1. С. 3–15.
2. Метаболический синдром / Под ред. Г.Е. Ройтберга. М.: Изд-во Медпресс-информ, 2007. С. 233.

3. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. Глутатионтрансферазы // Успехи современной биологии. 2000. Т. 107. Вып. 2. С. 179–194.

4. Tateishi N., Wang W. Glutathione: metabolism and physiological functions // Pharmacol. Reviews. 2001. V. 50. № 3. P. 335–355.

5. Конторщикова К.Н. Озонотерапия: биологические механизмы эффективности // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. 2004. № 3. С. 13–21.

6. Перетягин С.П. Озонотерапия. Н. Новгород: Изд-во НГМА. 1996. С. 14.

7. Kahn R., Buse J., Ferrannini E., Stern M. The metabolic syndrome: time for critical appraisal: Joint statement of ADA and EASD // Diabetologia. 2005. V. 48. P. 1684–1699.

8. Медицинские лабораторные технологии / Под ред. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 2002. Т. 2. С. 400.

### THE STUDY OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ACTIVITY IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME AND AFTER CORRECTION BY LOW DOSES OF OZONE

*M.V. Vedunova, E.A. Blyostkina, K.N. Kontorshchikova*

An increase of glutathione S-transferase (GSH) activity in erythrocytes and plasma of patients with metabolic syndrome has been detected. It is possibly connected with qualitative changes in the content of the GSH pool. Most donors with metabolic syndrome have shown a failure in reaction progress in erythrocytes and plasma. In cases of additional plateau appearance, there possibly exist two GSH isoforms in the system. After the correction of metabolic disorders, most donors studied have shown normalization in the activity of the plasma and erythrocytic fractions of the enzyme, and some changes in the reaction progress.