

# БИОЛОГИЯ

УДК 577

## ВЛИЯНИЕ ОЗОНИРОВАННОГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

© 2009 г.

М.В. Ведунова<sup>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

MVedunova@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.01.2009

Проведен эксперимент *in vitro* у больных с метаболическим синдромом с целью изучения влияния различных концентраций озона на активность глутатион-S-трансферазы и окислительной модификации белка плазмы крови. Низкие терапевтические дозы озона наиболее благоприятно влияют на активность фермента, достоверно снижая ее. Возможно, это связано с уменьшением количества субстрата данного фермента за счет активации антиоксидантной и детоксицирующей систем. Также происходит снижение спонтанной и индуцированной окислительной модификации белка. Наибольшее снижение обнаружено при воздействии озонированного физиологического раствора с концентрациями озона 0.65 мг/л и 0.33 мг/л.

*Ключевые слова:* глутатион-трансфераза, окислительная модификация белков, озон.

### Введение

Метаболический синдром (МС) характеризуется серьезным нарушением гомеостатических реакций организма. Данные нарушения вызывают накопление в крови большого количества промежуточных и конечных продуктов метаболизма, что может привести к истощению детоксицирующей системы и в дальнейшем к развитию эндогенной интоксикации [1; 2, с. 233].

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, с. 14].

Целью нашего исследования явилось изучение влияния озонированного физиологического раствора различной концентрации на активность глутатион-S-трансферазы и уровень ОМБ в крови больных с метаболическим синдромом.

### Материалы и методы

Проведен эксперимент *in vitro* с кровью больных с МС по изучению влияния различных

Таблица 1

## Ход эксперимента

№ опыта	1	2	3	4
Цельная кровь	1 мл	1 мл	1 мл	1 мл
Физиологический раствор	0.5 мл неозонированного	0.5 мл озонированного раствора с концентрацией 1.3 мг/л	0.5 мл озонированного раствора с концентрацией 0.65 мг/л	0.5 мл озонированного раствора с концентрацией 0.33 мг/л
Инкубация 1 час при комнатной температуре и нормальных условиях				
Центрифугируем 15 мин при 3000 об./мин				

Таблица 2

Активность глутатион-S-трансферазы при воздействии различных концентраций озонированного физиологического раствора ( $M \pm m$ )

№ опыта	Активность GST в плазме (моль/л·мин)	Активность GST в эритроцитах (моль/л·мин)
1	25.64±2.82	278.16±13.67
2	27.27±2.55	297.62±14.05
3	24.51±2.51	279.31±12.01
4	20.13±2.09	249.12±12.41

*Примечание:* достоверные различия ( $p < 0.05$ ) обнаружены между 1 и 4, 2 и 4 опытами как в плазме, так и в эритроцитах.

- 1 – с добавлением неозонированного физиологического раствора
- 2 – с добавлением озонированного раствора с концентрацией 1.3 мг/л
- 3 – с добавлением озонированного раствора с концентрацией 0.65 мг/л
- 4 – с добавлением озонированного раствора с концентрацией 0.33 мг/л

концентраций озона на активность GST и ОМБ. Контролем служила цельная кровь с добавлением равного объема неозонированного физиологического раствора (табл. 1).

После центрифугирования в плазме и эритроцитах мы исследовали активность GST (Карпищенко, 2002), а также уровень ОМБ в плазме крови (Дубинина, 1995).

Метод определения активности GST основан на определении скорости ферментативного образования глутатион-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 [7, с. 400].

Метод определения окислительной модификации белков основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, которые регистрируют спектрофотометрически.

Статистическая обработка проводилась с помощью пакета программ Microsoft Excel, Biostat 4.3.

## Результаты и их обсуждение

Проведено исследование активности GST при различных концентрациях озонированного физиологического раствора. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Из таблицы видно, что достоверное изменение активности фермента наблюдается при минимальной концентрации озона. Добавление озонированного физиологического раствора с концентрацией 1.32 мг/л вызывает незначительное увеличение активности фермента и в 18% случаев высокий процент гемолиза, что может быть связано со снижением перекисной устойчивости мембран при развитии эндогенной интоксикации. Таким образом, именно применяемые низкие терапевтические дозы озона, которые соответствуют концентрации озона в организме больного при озонотерапии, наиболее благоприятно влияют на активность фермента, достоверно снижая ее.

Кроме активности GST, нами был исследован уровень ОМБ – одного из субстратов данного фермента (табл. 3). Изучение ОМБ важно для понимания особенностей работы фермента,

Таблица 3

**Уровень спонтанной и индуцированной окислительной модификации белков плазмы крови при воздействии различных концентраций озонированного физиологического раствора ( $M \pm m$ )**

№ опыта	Спонтанное окисление	Индуцированное окисление
1	76.36±2.256*	246.2±30.36
2	60.92±12.68*	136.6±30.65
3	57.64±6.11*	120.6±5.736
4	34.5±5.969*	62.69±7.761

\* – достоверные различия ( $p < 0.05$ ) обнаружены между 1 и 4, 2 и 4 опытами при спонтанном окислении.

поскольку модификация белкового окружения и молекул фермента влияет на работу GST.

Низкие дозы озона способны снижать спонтанную и индуцированную ОМБ за счет активации антиоксидантной системы. Несмотря на то, что озон является сильным окислителем и может выступать индуктором окисления белковых молекул, эффекты, связанные с активацией антиоксидантной системы, преобладают при всех используемых дозах озона. Наибольшее воздействие на спонтанное и индуцированное окисление оказывают концентрации, равные 0.33 и 0.65 мг/л. Существенное снижение ОМБ в эксперименте обнаружено для продуктов, регистрируемых при 430 и 530 нм. Согласно литературным данным, именно продукты, регистрируемые на этих длинах волн, увеличиваются при атеросклерозе и гипертонической болезни (заболеваниях, входящих в комплекс МС) [8]. Ранее нами были получены данные о том, что применение низких доз озона при коррекции метаболических нарушений приводит к снижению этих продуктов.

Следовательно, применяемые дозы озона способны влиять на активность GST плазмы и эритроцитов, снижая ее. Также происходит снижение окислительной модификации белков плазмы крови. Изменение активности GST, на наш взгляд, связано с уменьшением количества субстрата данного фермента за счет активации антиоксидантной и детоксицирующей систем.

*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. Ройтберг. М.: Изд-во «Медпресс», 2007.
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. Методические рекомендации. Н. Новгород, 1996.
7. Медицинские лабораторные технологии / Под ред. А.И. Карпищенко. СПб., 2002. Т. 2.
8. Коробейникова Э.Н., Кудревич Ю.В., Яшина Л.М. Окислительная модификация белков сыворотки крови у больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью сердца с дислиппротеинемией и без нее // Клиническая лабораторная диагностика. 2006. № 4. С. 22–24.
9. 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.

**IMPACT OF THE OZONIZED PHYSIOLOGICAL SOLUTION ON GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ACTIVITY IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME**

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

An in vitro experiment has been carried out for metabolic syndrome patients to study the impact of different ozone concentrations on the glutathione-S-transferase activity and oxidative modification of blood plasma proteins. Low therapeutic ozone doses most favorably influence the enzyme activity showing a reliable reduction. This is possibly related to the decrease of the enzyme substrate due to the activation of antioxidant and detoxic systems. There has also been a decrease in spontaneous and induced oxidative protein modifications. The most significant decrease was found for solutions with ozone concentrations 0.65 mg/l and 0.33 mg/l.

*Keywords:* glutathione-S-transferase, oxidative modification of proteins, ozone.