

ринте); опытная группа, получавшая на фоне информационно-физического стресса РГПУ-154 внутрибрюшинно в дозе 62,8 мг/кг в течение 10 дней. Иммуный статус организма изучали на основании реакции пассивной гемагглютинации (РПГА), определяли общее количество лейкоцитов периферической крови, фагоцитарный индекс. Результаты обработаны статистически с применением t-критерия Стьюдента.

На фоне стресса достоверно были повышены титр антител в РПГА, общее количество лейкоцитов, фагоцитарный индекс на 26%, 56% и 18,3% соответственно ( $p_1 < 0,05$ ). Под влиянием сукцината фенотропила в опытной группе отмечалось восстановление данных показатели до фоновых значений у интактных животных.

Таким образом, новое производное фенотропила — РГПУ-154 — проявляет иммунокорригирующие свойства в условиях информационно-физического стресса.

## КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОЖОГЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ В КАЧЕСТВЕ СУБСТРАТА РАЗЛИЧНЫХ АЛЬДЕГИДОВ

Соловьева А.Г.

*Научно-исследовательский институт  
травматологии и ортопедии,  
Нижний Новгород, Россия*

Ведущим симптомом термической травмы является эндогенная интоксикация, характеризующаяся увеличением высокотоксичных соединений, в частности альдегидов. В контроле за количеством альдегидов важнейшее место занимает альдегиддегидрогеназа (АлДГ; альдегид:НАД-оксидоредуктаза; КФ 1.2.1.3.) [6]. Многие ткани млекопитающих содержат АлДГ: печень, почка, матка, надпочечники, тонкий кишечник, мозг, сердце, жировая ткань, легкие. Наибольшая активность фермента характерна для клеток печени.

Однако особенности функционирования данного фермента при термической травме остаются недостаточно исследованными. В связи с этим целью данной работы явилось изуче-

ние кинетических свойств частично очищенного препарата АлДГ из печени крыс в условиях нормы и ожога с использованием в качестве субстратов различных альдегидов.

### Материалы и методы

Исследования были проведены на белых крысах линии Vistar обоего пола массой 180-250 г. Животным опытной группы под эфирным наркозом наносили ватно-спиртовой ожог пламенем на тщательно освобожденных от шерсти 10%-ых поверхности кожи, экспозиция — 45 сек. Активность альдегиддегидрогеназы определяли по Б.М. Кершенгольц, Е.В. Серкиной [1], содержание белка — по методу Лоури в модификации [3]. Исследовали следующие кинетические характеристики фермента:  $K_t$  — время достижения  $1/2 V_{max}$  ферментативной реакции (мин);  $V_{max}$  — максимальную скорость реакции (мкмоль/мин);  $V_{max}/K_t$  ( $K_a$ ) — коэффициент каталитической эффективности ферментативной реакции (мкмоль/мин<sup>2</sup>) [4].

Для получения ферментного препарата АлДГ из печени крысы использовали метод очистки, включающий несколько стадий: фракционирование белков сульфатом аммония в пределах насыщения 40-70%, гель-фильтрацию на сефадексе G-25, ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе [5]. Опыты проводили в 3-4-кратной биологической повторности, аналитические определения для каждой пробы — в двух повторностях. Результаты исследований обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента. Обработку данных осуществляли на персональном компьютере с помощью программы BIOSTAT.

### Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований получены ферменты АлДГ со степенью очистки 11,0 (у интактных крыс) и 10,6 (у крыс с ожогом). Выход фермента составил в контрольной группе 45,3%, в опытной — 40,8%.

Удельная активность альдегиддегидрогеназы (в гомогенате) в контрольной группе была достоверно выше (на 21,9%), чем в опытной группе. Падение активности АлДГ у крыс с термической травмой, возможно, связано с уменьшением доли фермента в каталитически активном состоянии и с увеличением содержания высокотоксичных соединений, в частности моле-

кул средней молекулярной массы. Последние, видимо, связываясь с ферментом, переводят его в новое конформационное состояние, которое характеризуется снижением сродства фермента к субстратам реакции и как следствие приводит к падению активности альдегиддегидрогеназы [2].

При использовании серии субстратов (алифатические с различной длиной углеродного скелета, ароматические) показано, что как у интактных крыс, так и обожженных животных с наибольшей скоростью происходило окисление циклического альдегида — салицилового, с несколько меньшей — альдегида с относительно большим алифатическим радикалом — глутарового. Значительно медленнее шло превращение бензальдегида (ароматического альдегида), формальдегида и ацетальдегида.

Показано, что при термической травме по сравнению с контролем активность АлДГ в частично очищенном препарате фермента снижается при использовании различных альдегидов в качестве субстрата. Так, с использованием глутарового альдегида активность АлДГ при ожоге снизилась на 36,0%, с ацетальдегидом — на 50,0%, салициловым альдегидом — на 28,0%, бензальдегидом — на 28,6%, формальдегидом — на 77,0%. Уменьшение активности по отношению ко всем субстратам, очевидно, связано с падением общей активности фермента при термической травме.

Основываясь на кинетических характеристиках, рассчитанных по J. Kostir [8], можно говорить о том, что время достижения  $1/2 V_{\max}$  ферментативной реакции уменьшилось при термической травме для следующих субстратов: для глутарового альдегида — на 8,2%, ацетальдегида — на 71,5%, салицилового альдегида — на 35,9%. На основании этих данных можно предположить, что степень сродства к ним повышается при ожоговой травме.

Для крыс с термической травмой по отношению к интактным характерно возрастание времени достижения  $1/2 V_{\max}$  ферментативной реакции для бензальдегида, формальдегида в 6,0 и 12,5 раз соответственно, что свидетельствует о снижении сродства к этим альдегидам.

Наивысшей каталитической эффективностью обладает альдегиддегидрогеназа с использованием в качестве субстрата глутарового альдегида. Так, у интактных крыс  $V_{\max}/K_t$  со-

ставила  $45,38 \pm 0,03$  мкмоль/мин<sup>2</sup>, при ожоге —  $39,88 \pm 3,02$  мкмоль/мин<sup>2</sup>.

При ожоге наибольшее сродство АлДГ имеет к глутаровому альдегиду. Время полупревращения глутарового альдегида для альдегиддегидрогеназной реакции составило  $0,56 \pm 0,03$  мин. У животных опытной группы по сравнению с контрольной снижался коэффициент каталитической эффективности для преобладающего большинства субстратов: для глутарового альдегида — на 12,1%, ацетальдегида — на 31,9%, салицилового альдегида — на 83,5%, формальдегида — на 97,5%.

Таким образом, альдегиддегидрогеназа участвует в метаболизме глутарового альдегида, ацетальдегида, салицилового альдегида, бензальдегида, формальдегида. Как у интактных крыс, так и обожженных животных с наибольшей скоростью АлДГ окисляет салициловый и глутаровый альдегиды. Наивысшей каталитической эффективностью характеризуется альдегиддегидрогеназа с использованием в качестве субстрата глутарового альдегида в контрольной и опытной группах животных.

#### Список литературы

1. Кершенгольц Б.М., Серкина Е.В. Некоторые методические подходы к изучению метаболизма этанола // Лабораторное дело. — 1981. — № 2. — С. 126.
2. Кирпичева А.Г., Зимин Ю.В. Влияние молекул средней массы на альдегиддегидрогеназную систему печени и эритроцитов в эксперименте // Успехи современного естествознания. — 2004. — №4. — С. 21-24.
3. Dawson J.M., Heatlic P.L. Lowry method of protein quantification Evidence for Photosensitivity // Anal. Biochem. — 1984. — Vol. 140, №2. — P. 391-393.
4. Kostir J. Prime stanoveni michaelisovy konstanty // Chemicke Listy. — 1985. — Vol. 79, №9. — P. 989-991.
5. Lindahl R., Evces S. Rat liver aldehyde dehydrogenase // The jour. of biolog. chemistry. — 1984. — Vol.295, № 19. — P. 11896-11900.
6. Townsend A.J., Leone-Kabler S., Haynes R.L., Wu Y., Szweda L., Bunting K.D. Selective protection by stably transfected human ALDH3A1 (but not human ALDH1A1) against toxicity of aliphatic aldehydes in V79 cells // Chem Biol Interact. — 2001. Vol. 130-132, № 1-3. — P. 261-273.