

УДК: 577.57.044:577.152.1+ 57.017.6

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ NADP-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ И СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОХРОМОВ P-450 И b<sub>5</sub> В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО ХЛОРИДОМ КОБАЛЬТА

Г.В.Ганусова

*Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина (Харьков, Украина)*

Изучено влияние CoCl<sub>2</sub> на активность NADP-зависимых дегидрогеназ и содержание микросомальных цитохромов P-450 и b<sub>5</sub> в печени крыс разного возраста. Показано, что содержание цитохрома P-450 повышалось к 3 месяцам и оставалось на том же уровне у старых крыс. Содержание цитохрома b<sub>5</sub> не изменялось с возрастом. Активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и NADP-малатдегидрогеназы снижались с возрастом, а NADP-изоцитратдегидрогеназа и 6-фосфоглюконатдегидрогеназа повышались в процессе онтогенеза. 1-кратное введение CoCl<sub>2</sub> привело к снижению содержания цитохромов P-450 и b<sub>5</sub>, более выраженное при 7-кратном введении CoCl<sub>2</sub> у крыс всех возрастных групп. Установлено повышение активностей глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, NADP-изоцитратдегидрогеназы и NADP-малатдегидрогеназы при 7-кратном введении CoCl<sub>2</sub> у молодых и старых крыс.

Ключевые слова: *оксидативный стресс, хлорид кобальта, NADP-зависимые дегидрогеназы, цитохром P-450, цитохром b<sub>5</sub>, старение организма.*

### Введение

Исследование оксидативного стресса в последние годы стало одним из актуальных направлений в биологии. Известно, что поступление в организм ксенобиотиков, лекарственных средств, ионов тяжелых металлов и металлов с переменной валентностью в количествах, превышающих физиологические, вызывает сдвиг равновесия в системе прооксиданты-антиоксиданты, что приводит к развитию оксидативного стресса (Sunderman, 1986). В ответ формируется ряд защитных реакций, направленных на торможение свободно-радикального окисления и поддержание гомеостаза в организме. Одним из важных защитных механизмов является генерация NADPH в клетке, который необходим для поддержания высокого уровня восстановленного глутатиона (Кулинский, 1990), функционирования монооксигеназной системы детоксикации ксенобиотиков (Ляхович, 1981), биосинтеза жирных кислот и др. Ранее в работах (Калиман, Загайко, 1997; Калиман, Баранник, 2001) было показано, что ионы металлов с переменной валентностью, в том числе и кобальт, могут вызывать активацию процессов перекисного окисления липидов и развитие оксидативного стресса, который сопровождается повреждением различных биологических макромолекул, мембранных структур, изменением содержания восстановленного глутатиона и макроэргических соединений в клетке. При оксидативном стрессе наблюдается изменение метаболизма гема и гемопротеинов, снижение содержания микросомального цитохрома P-450, что приводит к изменению скорости детоксикации ксенобиотиков в печени (Maines, 1977; Agizono, 1991). Однако недостаточно изучена роль NADP-зависимых дегидрогеназ при развитии оксидативного стресса, а также взаимосвязь между активностью различных NADP-зависимых дегидрогеназ и содержанием микросомальных цитохромов в печени крыс разного возраста.

Целью данной работы являлось дальнейшее изучение возрастных механизмов регуляции активности NADP-зависимых дегидрогеназ, содержания микросомальных цитохромов P-450 и b<sub>5</sub> в печени крыс при введении хлорида кобальта.

### Объекты и методы исследования

Работа выполнена на белых крысах-самках линии Wistar 1-, 3- и 24-месячного возраста, которые содержались в стандартных условиях вивария. CoCl<sub>2</sub>·6(H<sub>2</sub>O) растворяли в 0,9% NaCl и вводили внутривенно в дозе 3 мг на 100 г массы тела. Контрольным животным вводили соответствующий объем 0,9% NaCl. Крыс брали в эксперимент через 24 часа после однократного (1-кр.) и семикратного (7-кр., один раз в сутки) введения CoCl<sub>2</sub>·6(H<sub>2</sub>O). Печень перфузировали холодным 0,9% NaCl *in situ* и гомогенизировали на льду. Микросомальную и цитозольную фракции получали методом дифференциального центрифугирования гомогенатов печени на центрифуге VAC-601. Активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ; КФ 1.1.1.49), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГДГ; КФ 1.1.1.44) определяли по методу Глок и Мак-Лин в модификации (Bottomley, 1963), NADP-малатдегидрогеназы (МДГ; КФ 1.1.1.40) – по методу Очоа в модификации (Усатенко, 1974), а NADP-

изоцитратдегидрогеназы (ИЦДГ; КФ 1.1.1.42) – по методу Плаут и Санг, как описано в (Bauman, 1970). Скорость образования NADPH регистрировали на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 340 нм, и активность ферментов выражали в нмоль NADPH/мин. на 1 мг белка. Содержание микросомальных цитохромов определяли методом дифференциальной спектрофотометрии по методу (Omura, 1964), используя коэффициент молярной экстинкции для цитохрома  $b_5$  -  $164 \cdot 10^3 \text{M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ , для цитохрома P-450 –  $91 \cdot 10^3 \text{M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  и выражали в нмоль на мг белка. Концентрацию белка определяли методом Лоури в модификации (Miller, 1959) и выражали в мг/мл. Статистическую обработку данных проводили по методу Стьюдента (Малета, 1982).

### Результаты и обсуждение

Как видно из данных, представленных в таблице 1, в контроле содержание микросомального цитохрома P-450 повысилось к 3-мес. возрасту и осталось на том же уровне у 24-мес. животных. Содержание цитохрома  $b_5$  не изменялось с возрастом. Сходная динамика возрастных изменений содержания цитохромов P-450 и  $b_5$  была отмечена ранее в работах (Лемешко, 1980; Калиман, 1989).

Таблица 1.

Содержание микросомальных цитохромов P-450 и  $b_5$  в печени крыс разного возраста после однократного и повторного введения  $\text{CoCl}_2$  ( $M \pm m$ ,  $n=5-10$ )

Возраст, мес.	Контроль	$\text{CoCl}_2$	
		однократно	семикратно
Цитохром P-450			
1 мес.	$0,50 \pm 0,05$	$0,42 \pm 0,05$	$0,30 \pm 0,04^*$
3 мес.	$0,79 \pm 0,04^\circ$	$0,57 \pm 0,04^*$	$0,29 \pm 0,05^{**}$
24 мес.	$0,62 \pm 0,05^{\circ\circ}$	$0,47 \pm 0,04^*$	$0,29 \pm 0,04^{**}$
Цитохром $b_5$			
1 мес.	$0,44 \pm 0,05$	$0,38 \pm 0,04$	$0,28 \pm 0,04^*$
3 мес.	$0,57 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,05^*$	$0,29 \pm 0,03^{**}$
24 мес.	$0,48 \pm 0,05$	$0,42 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,04^*$

\* -  $p < 0,05$  по отношению к контролю; \*\* -  $p < 0,05$  по отношению к однократному введению  $\text{CoCl}_2$ ;

° -  $p < 0,05$  по отношению к 1 мес.; °° -  $p < 0,05$  по отношению к 3 мес.

Однако, имеются данные о том, что содержание цитохромов P-450 и  $b_5$  было очень низкое у новорожденных животных, быстро увеличивалось к 1 месяцу и продолжало расти до 12-мес. возраста (Калиман, Беловецкая, 1983). После 1-кр. введения  $\text{CoCl}_2$  наблюдалось снижение содержания цитохрома P-450 у 3-мес. крыс на 28% и у 24-мес. – на 25%, у 1-мес. животных уровень цитохрома P-450 не изменялся по отношению к контролю. После 7-кр. введения  $\text{CoCl}_2$  содержание цитохрома P-450 продолжало снижаться по отношению к контролю у животных всех возрастных групп, а также у 3- и 24-мес. – по отношению к 1-кр. введению  $\text{CoCl}_2$ . После 1-кр. введения  $\text{CoCl}_2$  наблюдалось снижение содержания цитохрома  $b_5$  только у 3-мес. крыс на 23%, а после 7-кр. введения  $\text{CoCl}_2$  уровень цитохрома  $b_5$  снижался у животных всех возрастных групп по отношению к контролю, у 3-мес. – и по отношению к 1-кр. введению  $\text{CoCl}_2$ . Необходимо отметить, что после 7-кр. введения  $\text{CoCl}_2$  были полностью нивелированы возрастные различия в содержании цитохрома P-450 по сравнению с контролем. Установлено, что при оксидативном стрессе наблюдается изменение активности ряда ферментов метаболизма гема и гемопротеинов, в частности, индукция гемоксигеназы – ключевого фермента деградации гема (Lleuse, 1994), снижение содержания микросомального цитохрома P-450 (Sumbayev, 2002), снижение концентрации восстановленного глутатиона (Christova, 2001). Снижение содержания цитохрома P-450 после введения  $\text{CoCl}_2$ , вероятно, вызвано усилением перекисного окисления липидов микросомальной мембраны. Известно, что цитохром P-450 является мембраносвязанным гемопротеином, молекулы которого практически полностью погружены в липидный бислой мембраны (Саприн, 1991). В условиях развития оксидативного стресса, по-видимому, происходит изменение фосфолипидного окружения цитохрома P-450, что может приводить к нарушению нативной конформации, во многих случаях – к конверсии цитохрома P-450 в неактивную форму P-420. С другой стороны в опытах *in vitro* было показано, что при инкубации цитохрома P-450 печени в среде, содержащей высокие концентрации токсических продуктов перекисного окисления липидов, происходит снижение на 50% содержания этого гемопротеина. Кроме этого установлено, что один из продуктов перекисного окисления липидов – транс-4-гидрокси-2-ноненал (HNE), вызывал инактивацию различных изоформ цитохрома P-450 путем образования Шиффовых оснований с аминогруппами остатков лизина апоцитохрома, причем гем с его сульфгидрильными лигандами

оставался интактным (Bestervelt, 1995). Дальнейшее снижение содержания цитохромов P-450 и b<sub>5</sub> при длительном введении CoCl<sub>2</sub> может быть связано с тем, что кобальт способен включаться в процессе синтеза гема в кольцо протопорфирина IX вместо ионов железа. При этом образуется Со-протопорфирин, который может соединяться с апоцитохромом P-450 вместо гема и приводить к формированию неактивного гемопротейна (Sinclair, 1982). Показано, что введение Со-протопорфирина приводит не только к снижению содержания цитохрома P-450, но и к снижению NADPH-цитохром P-450 редуктазной и NADH-цитохром b<sub>5</sub> редуктазной активностей в печени (Muhoberg, 1989). При оксидативном стрессе, наряду с накоплением активных форм кислорода, нарушением тиол-дисульфидного обмена в клетке, происходит ингибирование транскрипции гена цитохрома P-450 1A1 человека при участии фактора транскрипции NF1 (Morel, 1998).

Как видно из данных, приведенных в таблице 2, активности цитоплазматических NADP-зависимых дегидрогеназ в печени крыс изменялись разнонаправленно в процессе онтогенеза.

**Таблица 2.**  
**Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, NADP-малатдегидрогеназы и NADP-изоцитратдегидрогеназы в печени крыс разного возраста после однократного и повторного введения CoCl<sub>2</sub> (M±m, n=5-10)**

Возраст, мес.	Контроль	CoCl <sub>2</sub>	
		однократно	семикратно
Г6ФДГ			
1 мес.	41,1 ± 5,0	36,6 ± 3,5	50,9 ± 4,4**
3 мес.	25,5 ± 1,9°	24,1 ± 1,9	30,4 ± 2,3
24 мес.	26,6 ± 3,4°	25,1 ± 2,6	37,5 ± 4,7**
6ФГДГ			
1 мес.	29,6 ± 1,6	27,4 ± 1,9	28,1 ± 1,3
3 мес.	33,6 ± 2,5	34,6 ± 3,1	27,5 ± 2,3
24 мес.	46,1 ± 2,7°	41,1 ± 2,1	43,5 ± 2,8
МДГ			
1 мес.	45,3 ± 4,3	34,1 ± 3,9	52,4 ± 4,6**
3 мес.	20,4 ± 2,8°	17,3 ± 1,8	26,6 ± 2,8**
24 мес.	7,8 ± 0,9°°	7,2 ± 0,8	11,0 ± 1,1*(**)
ИЦДГ			
1 мес.	128,9 ± 8,7	110,2 ± 8,9	163,2 ± 9,7*(**)
3 мес.	193,5 ± 12,2°	201,3 ± 12,1	186,6 ± 9,0
24 мес.	207,3 ± 10,2°	156,7 ± 12,6*	273,1 ± 11,8*(**)

\* - p<0,05 по отношению контролю; \*\* - p<0,05 по отношению к однократному введению CoCl<sub>2</sub>;  
° - p<0,05 по отношению к 1 мес.; °° - p<0,05 по отношению к 3 мес.

Так, активность Г-6-ФДГ снижалась от 1- к 3-мес. возрасту на 38% и оставалась на том же уровне у 24-мес. животных, а для МДГ характерно более выраженное снижение активности с возрастом – от 1- к 3-мес. на 55%, далее снижение к 24-мес. на 83% по отношению к 1-мес. Активность ИЦДГ, напротив, возрастала от 1- к 3-мес. возрасту на 50% и оставалась на том же уровне у старых животных. Активность 6-ФГДГ повышалась от 1- к 24-мес. возрасту на 56%. Возрастные изменения скорости генерации NADPH связаны с резким снижением активности МДГ и Г-6-ФДГ, а также высоким уровнем активности ИЦДГ и 6-ФГДГ, что в основном согласуется с данными ряда авторов (Петренко, 1992; Калиман, Коновалова, 1985). Полученные результаты свидетельствуют о том, что основным поставщиком NADPH в цитозоле печени крыс при старении является изцитратдегидрогеназная реакция. После 1-кр. введения CoCl<sub>2</sub> наблюдалась тенденция к снижению активности Г-6-ФДГ у 1 мес., МДГ – у 1- и 3-мес. крыс, ИЦДГ – 1-мес., а также достоверное снижение активности ИЦДГ у 24-мес. животных. В работах (Stadtman, 1990; Szveda, 1993) показано, что в условиях *in vitro* происходит модификация остатков лизина в активном центре Г-6-ФДГ одним из продуктов перекисного окисления липидов – HNE, что приводит к инактивации фермента. В условиях развития оксидативного стресса снижение скорости генерации NADPH может стать лимитирующей в поддержании NADPH-GSH зависимой антиоксидантной системы, роль которой возрастает при старении организма. Интересно отметить, что после 7-кр. введения CoCl<sub>2</sub> активность Г-6-ФДГ повышалась у 1- и 24-мес. крыс по отношению к 1-кр. введению CoCl<sub>2</sub>, активность МДГ также повышалась у крыс всех возрастных групп по отношению к 1-кр. введению, а у 24-мес. - и по

отношению к контролю. Активность ИЦДГ после 7-кр. введения  $\text{CoCl}_2$  повышалась у 1- и 24-мес. крыс как по отношению к 1-кр. введению  $\text{CoCl}_2$ , так и по отношению к контролю. Другими авторами (Ursini, 1997; Gao, 2004) также показано повышение активности Г-6-ФДГ при нарушении окислительно-восстановительного статуса в клетке. При этом происходит увеличение содержания специфических mRNA и индукция синтеза ферментного белка Г-6-ФДГ. В работах ряда авторов (Lee, 2002) показана прямая корреляция между активностью ИЦДГ и поддержанием уровня восстановленного глутатиона, предотвращением окислительных повреждений DNA и белков. Индукция синтеза NADP-зависимых дегидрогеназ, по-видимому, является важным звеном в реализации защитных механизмов клетки при развитии окислительного стресса.

Известно, что свободно-радикальное перекисное окисление липидов играет важную роль в процессе старения живых организмов. Согласно данным (Thomas, 2001; Sanz, 1997), предполагается, что при старении происходит накопление окислительных повреждений в клетках: активация перекисного окисления мембранных липидов, окислительные модификации белков, окисление сульфгидрильных групп, аккумуляция повреждений DNA. Данные (Arivazhagan, 2001; Sanz, 1997) свидетельствуют о том, что при старении активности глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, уровень восстановленного глутатиона, тиоловых групп белков снижаются, в то время как уровень активных форм кислорода увеличивается. Однако, ранее было показано (Лемешко, 1981), что скорость накопления малонового диальдагида при ферментативном и неферментативном перекисном окислении липидов в печени старых крыс ниже, чем у молодых, 1- и 3-месячных. Кроме этого, с возрастом в цитозоле печени крыс повышается активность некоторых антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы (Лемешко, Калиман, 1983). Клеточный уровень свободно-радикальных повреждений, вероятнее всего, повышается с возрастом, однако методические подходы к определению количества и активности окисленных макромолекул, метаболитов в условиях *in vivo* остаются дискуссионными (Wickens, 2001). С другой стороны, снижение интенсивности аэробного метаболизма, снижение калорийности пищи, увеличение экспрессии ряда ферментов антиоксидантной защиты могут существенно увеличить продолжительность жизни.

Таким образом, при развитии окислительного стресса, вызванного длительным введением  $\text{CoCl}_2$ , установлено значительное снижение содержания микросомальных цитохромов P-450 и  $b_5$  до уровня, практически одинакового для крыс всех возрастных групп. В этих условиях наблюдалось повышение активности некоторых NADP-зависимых дегидрогеназ, причем более выраженное для ИЦДГ старых животных.

### Список литературы

- Калиман П.А., Беловецкая И.В., Падалко В.И. и др. Регуляция содержания митохондриальных и микросомальных цитохромов в печени крыс при изменении активности ключевых ферментов синтеза и распада гема // Физиология и биохимия онтогенеза: Сб. науч. тр. – К.: Наук. думка, 1983. – С. 56-61.
- Калиман П.А., Баранник Т.В. Метаболизм гема и окислительный стресс // Укр. биохим. журнал. – 2001. – Т.23, №1. – С. 5-15.
- Калиман П.А., Загайко А.Л., Шаламов Р.В. и др. Содержание и состав липопротеинов крови и печени крыс и некоторые показатели окислительного стресса при введении хлорида кобальта // Укр. биохим. журнал. – 1997. – Т.69, № 5-6. – С. 138-148.
- Калиман П.А., Коновалова Е.О. Возрастные особенности регуляции цитоплазматических NADP<sup>+</sup>-дегидрогеназ в печени крыс при различных пищевых режимах // Укр. биохим. журнал. – 1985. – Т.57, №6. – С. 38-42.
- Калиман П.А., Никитченко И.В. Активность ключевых ферментов метаболизма гема и содержание некоторых гемопротеидов в печени крыс разного возраста // Укр. биохим. журнал. – 1989. – Т.61, №1. – С. 75-78.
- Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона // Успехи биол. химии. – 1990. – Т.31. – С. 157-179.
- Лемешко В.В. Система микросомального окисления при развитии и старении организма // Биохимия. – 1980. – Т.45, вып.11. – С. 1964-1969.
- Лемешко В.В., Калиман П.А., Никитченко Ю.В. Перекисное окисление липидов в постъядерной и микросомальной фракциях гомогенатов печени крыс при старении организма // Биохимия. – 1981. – Т.46, вып.4. – С. 620-627.
- Лемешко В.В., Никитченко Ю.В., Калиман П.А. Ферменты антиоксидантной системы печени крыс при старении // Укр. биохим. журнал. – 1983. – Т.55, №5. – С. 523-527.
- Ляхович В.В., Цырлов И.Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков. – Новосибирск: Наука, 1981. – 240с.

- Малета Ю.С., Тарасов В.В. Математические методы статистического анализа в биологии и медицине. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1982. - 176с.
- Петренко В.В. Активность цитозольных НАДФН-генерирующих ферментов печени крыс при индукции микросомального окисления фенобарбиталом в связи с возрастом и полом // Биохимия и физиология возрастного развития организма: Сб. науч. тр. – Киев: Наук. думка. – 1992. – С. 164-170.
- Саприн А.Н. Ферменты метаболизма и детоксикации ксенобиотиков // Успехи биол. химии. – 1991. – Т.32. – С. 146-175.
- Усатенко М.С., Цончева А.В. Влияние инсулиновой недостаточности и гидрокортизона на активность НАДФ- и НАД-зависимых малатдегидрогеназ в печени и коре почек крыс // Вопр. мед. химии. – 1974. – Т.20, №4. – С. 401-406.
- Arivazhagan P., Ramanathan K., Panneerselvam C. Effect of DL-alpha-lipoic acid on glutathione metabolic enzymes in aged rats // Exp. Gerontol. - 2001. – Vol.37, №1. - P. 81-87.
- Arizono K. Heme oxygenase activity and cytochrome P-450 content associated with induced metallothionein in liver of rats treated with various metals // J. Environ. Sci. Health. – 1991. – Vol.A26, №6. – P. 941-951.
- Bauman D.E., Brown R.E., Davis C.L. Pathways of fatty acid synthesis in mammary gland of rat, sow and cow // Arch. Biochem. Biophys. – 1970. – Vol.140, №1. – P. 237-244.
- Bestervelt L.L., Vaz A.D.V., Coon M.J. Inactivation of ethanol-inducible cytochrome P-450 and other microsomal P-450 isozymes by trans-4-hydroxy-2-nonenal, a major product of membrane lipid peroxidation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1995. - Vol.92, №9. - P. 3764-3768.
- Bottomley R.H., Pilot H.C., Potter V.R. et al. Metabolic adaptations in rat hepatomas. Reciprocal relationship between threonine dehydrase and glucose-6-phosphate dehydrogenase // Canc. Res. – 1963.– Vol.23, №1. – P. 400-409.
- Christova T., Duridanova D., Braykova A. et al. Heme oxygenase is the main protective enzyme in rat liver upon 6-day administration of cobalt chloride // Arch. Toxicol. - 2001. - Vol.75, №8. - P. 445-451.
- Friguet B., Szweda L.I., Stadtman E.R. Susceptibility of glucose-6-phosphate dehydrogenase modified by 4-hydroxy-2-nonenal and metal-catalyzed oxidation to proteolysis by the multicatalytic protease // Arch. Biochem. Biophys. – 1994. – Vol.331, №1. – P. 168-173.
- Gao L., Mejias R., Echevarria M., Lopez-Barneo J. Induction of the glucose-6-phosphate dehydrogenase gene expression by chronic hypoxia in PC12 cells // FEBS Letters. - 2004. - Vol.569, issues 1-3. - P. 256-260.
- Lee S.M., Koh H.J., Park D.C. Cytosolic NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase status modulates oxidative damage to cells // Free Radic. Med. – 2002. – Vol.32, №11. – P. 1185-1196.
- Liesuy S.F., Tomaro M.L. Heme oxygenase and oxidative stress. Evidence of involvement of bilirubin as physiological protector against oxidative damage // Biochim. Biophys. Acta. - 1994. - Vol.1223, №1. - P. 9-14.
- Maines M.D., Kappas A. Metals as regulators of heme metabolism // Science. – 1977. – Vol.198, №4323. – P. 1215-1221.
- Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples // Anal. Chem. - 1959. - Vol.31, №5. - P. 964-966.
- Morel Y., Barouki R. Down-regulation of cytochrome P-450 1A1 gene promoter by oxidative stress // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol.273, №41. – P. 26969-26976.
- Muhoberac B.B., Hanew T., Halter S. et al. A model of cytochrome P-450-centered hepatic dysfunction in drug metabolism induced by cobalt-protoporphyrin administration // Biochem. Pharmacol. – 1989. – Vol.38, №22. – P. 4103-4113.
- Omura T., Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes // J. Biol. Chem. – 1964. – Vol.239, №7. – P. 2379-2385.
- Sanz N., Diez-Fernandez C., Alvarez A. et al. Age-dependent modifications in rat hepatocyte antioxidant defence systems // J. Hepatol. – 1997. – Vol.27, №3. – P. 525-534.
- Sinclair J.F., Sinclair P.R., Healey J.F. et al. Decrease in hepatic cytochrome P-450 by cobalt. Evidence for a role of cobalt protoporphyrin // Biochem. J. – 1982. – Vol.240. – P. 103-109.
- Stadtman E.R. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences // Free Radic. Biol. Med. – 1990. – Vol.19, №4. – P. 315-325.
- Sumbayev V.V., Yasinska I.M. The effect CoC12 on xantine oxidase, nitric oxide synthase, and protein kinase C activity as well as cytochrome P450 1A1,1A2 and 1B1 quantities in rat liver // Ukr. Biochim. Zh. – 2002. – Vol.74, №1. – P. 117-120.
- Sunderman F.W. Metals and lipid peroxidation // Acta Pharmacol. Toxicol. – 1986. – Vol.59, №7. – P. 248-255.
- Szweda L.I., Uchida K., Tsai L., Stadtman E.R. Inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase by 4-hydroxy-2-nonenal. Selective modification of active-site lysine // J. Biol. Chem. – 1993. – Vol.268, №5. – P. 3342-3347.

Thomas J.A., Mallis R.J. Aging and oxidation of reactive protein sulfhydryls // Exp. Gerontol. – 2001. – Vol.36, №9. – P. 1519-1526.

Ursini M.V., Parrella A., Rosa G. et al. Enhanced expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human cells sustaining oxidative stress // Biochem. J. - 1997. - Vol.323. - P. 801-806.

Wickens A.P. Ageing and the free radical theory // Respir. Physiol. – 2001. – Vol.128, №3. – P. 379-391.

#### **ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ NADP-ЗАЛЕЖНИХ ДЕГІДРОГЕНАЗ І ВМІСТУ ЦИТОХРОМІВ P-450 ТА $b_5$ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ РОЗВИТКУ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ, ЩО ВИКЛИКАНИЙ ХЛОРИДОМ КОБАЛЬТУ**

**Г.В.Ганусова**

Вивчено вплив  $CoCl_2$  на активність NADP-залежних дегідрогеназ та вміст мікросомальних цитохромів P-450 і  $b_5$  в печінці щурів різного віку. Показано, що вміст цитохрому P-450 підвищувався до 3 місяців і залишався на тому ж рівні у старих щурів. Вміст цитохрому  $b_5$  не змінювався з віком. Активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та NADP-малатдегідрогенази знижувались з віком, а NADP-ізоцитратдегідрогеназа та 6-фосфоглюконатдегідрогеназа підвищувались в процесі онтогенезу. 1-кратне введення  $CoCl_2$  призвело до зниження вмісту цитохромів P-450 і  $b_5$ , більш виражене при 7-кратному введенні  $CoCl_2$  у щурів всіх вікових груп. Встановлено підвищення активностей глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, NADP-ізоцитратдегідрогенази та NADP-малатдегідрогенази при 7-кратному введенні  $CoCl_2$  у молодих і старих щурів.

Ключові слова: *оксидативний стрес, хлорид кобальту, NADP-залежні дегідрогенази, цитохром P-450, цитохром  $b_5$ , старіння організму.*

#### **THE AGE PARTICULARITY OF ACTIVITIES NADP-DEPENDENT DEHYDROGENASE AND CYTOCHROME P-450 AND $b_5$ CONTENTS IN RAT LIVER DURING OXIDATIVE STRESS INDUCED BY COBALT CHLORIDE**

**G.V.Ganusova**

Activities of NADP-dependent dehydrogenase and microsomal cytochrome P-450 and  $b_5$  contents were studied in liver of rats of the different age after action of  $CoCl_2$ . It was shown that cytochrome P-450 contents increased in 3 month old and remained on this level in old rats. The cytochrome  $b_5$  contents did not change with ageing. The activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase and NADP-malate dehydrogenase decreased with ageing, but NADP-isocitrate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase increased during ontogenesis. Cytochrome P-450 and  $b_5$  contents decreased after single injection  $CoCl_2$ , more expressed after 7-fold  $CoCl_2$  in rats of all ages. Activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADP-isocitrate dehydrogenase and NADP-malate dehydrogenase increased after 7-fold injection  $CoCl_2$  of young and old rats.

Key words: *oxidative stress, cobalt chloride, NADP-dependent dehydrogenase, cytochrome P-450, cytochrome  $b_5$ , aging of the organism.*

---

Представлено В.І.Падалко

Рекомендовано до друку Є.Е.Перським