

УДК 577.3:577.15

©Коллектив авторов

## **АКТИВНОСТЬ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ - ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ СОСТОЯНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ И МОЗГА КРЫС**

***Т.В. Сирота\*, М.В. Захарченко, М.Н. Кондрашова***

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Московская обл., 142290 Пущино, ул. Институтская, 3; тел.: +7(4967)739170; факс: 8(4967)330553; эл. почта: sirotatv@rambler.ru

Исследовано несколько параметров цитоплазматической ферментативной антиоксидантной системы печени и мозга крыс (активность супероксиддисмутазы (СОД), глутатионредуктазы (ГР), неспецифическое окисление NADPH) при действии иммобилизационного стресса и включения в рацион кормления препарата с антиоксидантными свойствами. Изменения выявлены только в активности супероксиддисмутазы как в печени, так и в мозге. В печени животных, не получавших препарат, обнаружено снижение активности фермента после 30 мин иммобилизации и восстановление активности после 360 мин воздействия. В мозге активность СОД снижалась только у прекондиционированных животных после 30 мин и 360 мин действия стресса. Кроме того, активность СОД в мозге прекондиционированных животных, как подвергавшихся стрессу так и у не стрессированных животных, была ниже, чем в соответствующих группах контрольных животных. Вероятно, что в условиях иммобилизационного стресса снижается уровень АФК и, как следствие, снижается активность СОД. Прием антиоксидантного препарата в этих условиях, по-видимому, не обоснован.

**Ключевые слова:** супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза, иммобилизационный стресс, мозг, печень.

**ВВЕДЕНИЕ.** Активные формы кислорода (АФК) постоянно образуются в клетке в процессе её метаболизма и являются вторичными сигнальными молекулами [1, 2]. Избыточное образование АФК, называемое окислительным стрессом, происходит при различных воздействиях и проявляется как неспецифическая ответная реакция организма. Продолжительное действие окислительного стресса приводит к развитию воспаления, которое в последствии может перейти в патологию и возникновению болезни [3]. Антиоксидантная система защищает клетки, органы и ткани от избытка АФК, удаляет или переводит их в менее реакционные соединения, поддерживая,

---

\* - адресат для переписки

таким образом, баланс между продукцией АФК и их утилизацией. Важнейшей составляющей этой системы являются антиоксидантные ферменты: супероксиддисмутаза (СОД), глутатионпероксидаза (ГП) и функционирующая совместно с ней глутатионредуктаза (ГР), а также каталаза. Наши исследования в этой области связаны с изучением роли антиоксидантных ферментов при действии различных факторов внешней и внутренней среды и показано, что исследуемые ферменты активно реагируют на различные воздействия. Выявлена разная чувствительность антиоксидантных ферментов крови к действию вдыхаемого ионизированного воздуха у самок и самцов крыс: обнаружено, что активность этих ферментов коррелирует с уровнем продукции АФК в цельной крови этих животных [4]. Показано, что как однократное, так и многократное вдыхание высоких доз ионизированного воздуха, вызывающего повреждение слизистой трахеи крыс, приводит к снижению активности антиоксидантных ферментов слизистой трахеи (СОД, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и показателя неспецифического окисления NADPH) [5]. Также было установлено, что при отсутствии дефицита селена прием селеносодержащих препаратов (биодобавок) приводит к снижению активности селеносодержащего фермента глутатионпероксидазы в почках и крови морских свинок [6]. В почках при этом существенно повышалась активность СОД, что предполагает развитие в этом органе окислительного стресса.

В литературе широко представлены исследования ответа системы антиоксидантной защиты на различные воздействия [1, 3]. Состояние органов и тканей при действии окислительного стресса исследуется как неспецифическая реакция организма на воздействие как в органах определяющих стресс-реакцию, так и в стресс-резистентных.

Модель стресса, предложенная еще Г. Селье [7, 8], иммобилизация животных, в настоящее время продолжает активно использоваться в различных исследованиях. Показано, что при иммобилизации животных такие параметры, как перекисное окисление липидов и окислительная модификация белков, характеризующие состояние липидов и белков, однозначно указывают на наличие в тканях окислительного стресса [9-12]. В то же время в этих работах отмечено, что антиоксидантные ферменты в ответ на стрессовые воздействия могут изменяться разнонаправленно. Причем действие каждой модели стресса на разные ткани и органы как стресс-чувствительные, так и стресс-резистентные, реализуются различными путями.

Настоящая работа посвящена изучению ответа ферментативной цитоплазматической антиоксидантной системы в печени и мозге крыс при иммобилизационном стрессе и на фоне приема комплексного препарата с антиоксидантными свойствами, известного как средство народной медицины и, как установлено, имеющего широкий спектр действия [13]. Печень, как отмечалось выше, является стресс-резистентным органом, мозг – активным участником всех процессов в организме и имеет высокую степень защиты от действия различных факторов внешней и внутренней среды.

**МЕТОДИКА.** Эксперименты были поставлены на 24 половозрелых крысах-самцах: сформировано 6 групп, в каждой по 4 животных. Часть этих животных ( $n=12$ ), служивших контролем, содержалась на рационе кормления вивария; другая часть, кроме обычного корма, получала ежедневно индивидуально *per os* 100 мкл комплексного препарата “Натуральный экстракт доктора Мухина” в течение 28 дней, то есть подвергалась прекондиционированию.

Препарат “Натуральный экстракт доктора Мухина” представляет собой 35% спиртовой экстракт из личинок большой восковой моли *Calleria mellonella* и известен как средство народной медицины для лечения туберкулеза. Научный интерес к *Calleria mellonella* и к этому средству возник ещё в начале XX века. С этим объектом работал известный ученый С.И. Метальников [14, 15], ссылаясь в своих исследованиях на работы И.И. Мечникова [14]. Позднее врач-кардиолог и гомеопат С.А. Мухин применил это средство в своей медицинской практике и выявил его лечебное действие при сердечно-сосудистых заболеваниях [16]. В нашей лаборатории ведётся изучение механизма действия этого препарата, запатентован способ его получения [17, 18], выявлен широкий спектр его влияния, связанный, вероятно, с выраженными его антиоксидантными и иммунопротекторными свойствами [13]. Антиоксидантная активность препарата была выявлена в различных моделях *in vitro* и *in vivo* [19, 13]. Разработана технология его производства (совместно с ОАО “ДИОД”, г. Москва), и в настоящее время препарат находится на стадии доклинических испытаний.

Животных содержали в стандартных условиях вивария. Вес животных составлял 290–300 г. В день эксперимента контрольных и прекондиционированных крыс подвергали иммобилизационному стрессу. Стресс вызывали обездвиживанием животного на специальной дощечке в положении на животе в растяжку, фиксируя за 4 конечности и резцы; продолжительность иммобилизации – 30 мин и 360 мин (6 ч). Животных декапитировали сразу после окончания иммобилизации. Проводили визуальную оценку состояния внутренних органов, взвешивали тимус.

Для получения гомогенатов тканей извлекали печень и головной мозг, исключая продолговатый мозг и мозжечок, переносили их в охлаждённый раствор, содержащий 125 мМ KCl, 10 мМ HEPES-KOH буфер, pH 7,5. Дважды промывали этим же буфером, взвешивали, продавливали через пресс и гомогенизировали в буфере в соотношении 1 : 1 (для печени) и 1 : 2,5 (для мозга). Гомогенат фильтровали через 2 слоя капроновой ткани и центрифугировали на холоду 15 мин при 6000 g, аликвоты полученного супернатанта хранили при -20°C. Измерение активности ферментов проводили не позднее 2-3 суток.

О состоянии антиоксидантной системы в цитоплазматической фракции печени и мозга крыс судили по изменению активности СОД (КФ 1.15.1.1), нейтрализующей супероксидные радикалы; ГР (КФ 1.6.4.2), контролирующей в клетке общий пул важнейшего внутриклеточного антиоксиданта восстановленного глутатиона и использующей восстановленный NADPH, поддерживая, таким образом, баланс NADP / NADPH; и введённом нами ранее [5] показателе неспецифического окисления NADPH. Параметр “неспецифическое окисление NADPH” был предложен нами как самостоятельный показатель оценки редокс-состояния ткани [5]. Он обязательно учитывается при расчете скорости окисления NADPH ферментом ГР: ставится проба в отсутствии субстрата окисленного глутатиона и вносится соответствующая поправка на неспецифическое окисление NADPH согласно методу, описанному для измерения ГР [20]. Активность ГР, и, соответственно, неспецифическое окисление NADPH определяли по регистрации убыли NADPH при 340 нм в отсутствии (таким образом определяется неспецифическое окисление NADPH) и в присутствии окисленного глутатиона, являющегося субстратом ГР. Фермент ГР переводит глутатион из окисленного состояния в восстановленное. Измерения проводили

в 0,05 М фосфатном буфере, pH 7,5, содержащим 1 мМ EDTA, 0,16 мМ NADPH, 10 мкл супернатанта гомогената печени или 100 мкл супернатанта гомогената мозга в течение 5 мин при 30°C. Затем в эту же пробу вносили субстрат ГР – 1 мМ окисленный глутатион и вновь в тех же условиях регистрировали изменение оптической плотности при 340 нм.

Активность СОД определяли с использованием супероксидгенирирующей реакции автоокисления адреналина, регистрируя образование адrenoхрома при длине волны 347 нм, как описано ранее [4, 5, 21, 22]. Реакцию проводили в 0,2 М карбонатном буфере, pH 10,5 с внесением 0,26 мМ адреналина гидрохлорида при температуре 21°C. Активность фермента оценивали по способности супернатанта гомогената печени и мозга ингибировать генерацию супероксидных радикалов. В пробу вносили 10 мкл разведенного исследуемого супернатанта: исходный супернатант печени разводили физиологическим раствором в соотношении 1: 100, исходный супернатант мозга – 1:10. Активность фермента ГР и неспецифическое окисление NADPH выражали в микромолях NADPH/(мин·мг белка), учитывая коэффициент молярной экстинкции для NADPH равный 6220 М<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup>. Активность СОД выражали в усл. ед./(мин·мг белка). За одну условную единицу принимали величину % ингибирования скорости реакции автоокисления адреналина в присутствии супернатанта цитозольной фракции печени или мозга в пересчёте на мг белка. Концентрацию белка в супернатантах определяли по методу Лоури [23]: в супернатанте печени она составляла 55,6±5,4 мг/мл, мозга 10,5±2,8 мг/мл.

В работе использовали спектрофотометр Uvikon 923 (Италия) в режиме “time Driver”.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента (программы Microsoft Excel): определяли среднее значение, ошибку средней и достоверность результатов (p) по функции t тест.

В работе использовались реактивы: окисленный глутатион, NADPH, NEPES, трис, ЭДТА и Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (“Sigma”, США); NaHCO<sub>3</sub> (“J.T.Baker”, Нидерланды); 0,1% раствор адреналина гидрохлорида (фармакопейная форма). Все растворы готовили на бидистиллированной воде.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Визуальный осмотр животных показал, что иммобилизационный стресс не приводит к необратимым морфологическим изменениям органов и тканей крыс, не наблюдается изъязвление отделов кишечника после проведенного воздействия. Изменения веса тимуса исследуемых животных были недостоверными. Всё это связано, по-видимому, с однократным относительно непродолжительным действием иммобилизации. В литературе описаны продолжительные, даже суточные и многократные процедуры иммобилизации, иногда и совмещаемые с другими воздействиями, например, иммобилизация и холод. При таких условиях у животных наблюдается даже атрофия мышечной ткани [24, 25]. Используемые в настоящей работе условия иммобилизации животных относительно щадящие.

Исследование нескольких параметров ферментативной антиоксидантной системы показали следующие результаты. Обнаружено, что иммобилизационный стресс и преколонизирование животных оказало влияние только на активность СОД как печени (табл. 1) так и мозга крыс (табл. 2). Активность ГР и неспецифическое окисление NADPH в исследованных тканях животных, находившихся на обычном рационе и получавших препарат, при воздействии стресса не изменились (табл. 1 и 2).

Таблица 1. Параметры антиоксидантной системы печени крыс при действии иммобилизационного стресса.

Показатель		Время иммобилизации, мин		
		0	30	360
А	СОД, усл. ед./ (мин·мг белка)	8794 ± 637	6104 ± 1128*	8846 ± 866**
	ГР, мкмоль NADPH/ (мин·мг белка)	36,2 ± 4,6	39,0 ± 3,6	37,5 ± 3,9
	Неспецифическое окисление NADPH, мкмоль NADPH / (мин·мг белка)	7,9 ± 0,51	7,9 ± 2,5	8,8 ± 3,0
Б	СОД, усл. ед./ (мин·мг белка)	7713 ± 1566	6266 ± 1967	8998 ± 2296
	ГР, мкмоль NADPH/ (мин·мг белка)	32,4 ± 6,2	36,8 ± 2,8	35,8 ± 4,5
	Неспецифическое окисление NADPH, мкмоль NADPH/ (мин·мг белка)	8,2 ± 1,9	7,3 ± 0,9	8,1 ± 0,9

Примечание: Здесь и в таблице 2: А - контрольные животные; Б - прекондиционированные животные. В каждой группе (А, Б) было по 4 животных. \* -  $p < 0,05$  по сравнению с 0 мин; \*\* -  $p < 0,05$  по сравнению с 30 мин.

Таблица 2. Параметры антиоксидантной системы мозга крыс при действии иммобилизационного стресса.

Показатель		Время иммобилизации, мин		
		0	30	360
А	СОД, усл. ед./ (мин·мг белка)	4051 ± 972	3781 ± 891 #	3469 ± 713 #
	ГР, мкмоль NADPH/ (мин·мг белка)	14,6 ± 3,6	10,9 ± 1,9	12,1 ± 2,4
	Неспецифическое окисление NADPH, мкмоль NADPH/ (мин·мг белка)	2,2 ± 0,6	4,4 ± 2,5	3,0 ± 0,9
Б	СОД, усл. ед./ (мин·мг белка)	3561 ± 1566	2000 ± 913 * #	1779 ± 578 * #
	ГР, мкмоль NADPH/ (мин·мг белка)	11,1 ± 1,9	12,5 ± 54	15,0 ± 3,5
	Неспецифическое окисление NADPH, мкмоль NADPH/ (мин·мг белка)	3,2 ± 1,1	2,9 ± 1,0	2,2 ± 0,5

Примечание: # -  $p < 0,05$ : 30 мин и 360 мин из А по сравнению с Б.

Активность СОД в печени контрольных (не прекондиционированных) животных, подвергавшихся стрессу, менялась следующим образом: наблюдалось достоверное снижение активности фермента после 30 мин иммобилизации (30,6%) и последующее её восстановление до исходного значения после 360 мин воздействия (табл. 1). Такая динамика изменения активности фермента согласуется с учением Г. Селье об адаптационном синдроме и соответствует двум из трех описанным им стадиям стресса. В нашем эксперименте, очевидно, имеют место стадия “тревоги”, наступающая к 30 мин иммобилизации, и стадия “резистенции”, развивающаяся в течение 360 мин действия стресса. Адаптационных ресурсов антиоксидантной системы в ткани печени в этот период, вероятно, достаточно, на что указывает отсутствие изменений в активности фермента ГР и величины неспецифического окисления NADPH, которые отражают редокс-состояние ткани, и, так называемая третья стадия, стадия “истощения” по Г. Селье [7, 8], не наступает. Вероятно, именно потому и восстановилась активность СОД до уровня контрольных значений при 360 мин иммобилизации.

Изменения активности СОД в печени прекондиционированных стрессированных животных имели такую же направленность, как и у контрольных крыс, но эти различия были статистически не достоверными.

Таким образом, показано, что непродолжительный стресс (30 мин) в печени снизил активность СОД контрольных животных, а после продолжительного стресса (360 ч) активность фермента восстановилась до исходного значения. Такая же тенденция изменения активности фермента отмечена и у прекондиционированных животных (табл. 1).

Полученный результат изменения активности СОД в печени интересен тем, что на молекулярном уровне, на уровне функционирования фермента, демонстрируется действие закономерностей стресса, описанных Г. Селье.

В мозге крыс, так же как и в печени, действие иммобилизационного стресса оказало влияние только на активности СОД; активность ГР и неспецифическое окисление NADPH также не изменялись (табл. 2).

В мозге контрольных животных, не получавших препарат, в отличие от печени, иммобилизационный стресс не вызвал существенных изменений активности СОД (табл. 2, А), что связано, вероятно, с большей защищённостью этого органа от внешних воздействий. Однако прием препарата существенно повлиял на активность фермента: у прекондиционированных стрессированных животных наблюдалось достоверное снижение активности СОД не только после 30 мин иммобилизации, но и после 360 мин воздействия стресса, снижение на 47% и 49%, соответственно (табл. 2, Б). Два фактора, стресс и приём препарата, в мозге, в отличие от печени, вызвали снижение активности СОД как при кратковременной иммобилизации животных, так и при продолжительном воздействии стресса. Именно прием препарата, а не только иммобилизация животных оказали влияние на активность СОД. Так, у не подвергавшихся стрессу крыс (0 мин), отмечена тенденция к снижению активности СОД в сравнении с контрольными животными. А у стрессированных прекондиционированных животных, в сравнении с соответствующими контрольными, не получавшими препарат, после 30 мин и 360 мин иммобилизации снижение активности фермента были статистически значимыми: соответственно,  $p=0,04$  и  $p=0,03$  (в таблице 2 эти сравниваемые достоверно различающиеся показатели отмечены знаком #) (табл. 2, А и Б).

Можно предположить, что снижение активности фермента в мозге прекондиционированных животных при стрессе связано со снижением активности эндогенной СОД в результате продолжительного (28 дней) приёма

антиоксидантного препарата. Подобный результат ранее был получен нами при использовании препарата направленного действия: прием селеносодержащего соединения, обладающего глутатионпероксидазной активностью, приводил к снижению активности эндогенной глутатионпероксидазы в почках и крови морских свинок на фоне отсутствия селенодефицита [6]. С другой стороны, нельзя и исключить, что какие-то компоненты используемого комплексного препарата могут оказывать угнетающее действие на активность СОД мозга при продолжительном приеме препарата. В печени это свойство препарата могло не проявиться, поскольку печень, выполняя функцию детоксикации, удаляет из организма поступающие чужеродные вещества. Возможно и такое предположение: обнаруженное в настоящем исследовании снижения активности фермента при наших условиях эксперимента может быть следствием снижения в исследуемых органах уровня генерации АФК. На это указывают и литературные данные: так в работах Zaidi и соавт. [26, 27] показано, что при 6 ч иммобилизационном стрессе в печени и мозге снижаются активность не только СОД, но других антиоксидантных ферментов, таких как каталаза, глутатионтрансфераза и уменьшается уровень восстановленного глутатиона. О снижении активности антиоксидантных ферментов при иммобилизационном стрессе идет речь и в исследовании Shaheen и соавт. [28], где показано, что иммобилизация животных снижает активность СОД и уровень восстановленного глутатиона, в то время как стресс-гипоксия вызывает повышение активности СОД [28]. Снижение активности СОД и других антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидазы, ГР и неспецифического окисления NADPH) слизистой трахеи было обнаружено нами при вдыхании крысами высоких, повреждающих слизистую, доз ионизированного воздуха [5].

Пре кондиционирование животных препаратом с антиоксидантными свойствами, в наших условиях иммобилизационного стресса, не восстановило активность СОД до контрольных значений, как можно было ожидать.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Таким образом, в настоящей работе показано, что активность СОД является чувствительным показателем состояния системы антиоксидантной защиты. Именно СОД, как первичное звено антиоксидантной системы, реагирует на интенсивность образования АФК. Полученные результаты, демонстрирующие снижение активности СОД как при иммобилизационном стрессе, так и у пре кондиционированных животных, получавших комплексный препарат с антиоксидантными свойствами, позволяют сделать следующие выводы:

1. Действие стресса в печени контрольных животных на активность СОД проявилось согласно учению Г. Селье.

2. Прием антиоксидантного препарата снижает активность СОД в мозге. Возможно, что, какие-либо компоненты примененного малоизученного с химической точки зрения препарата, приводят к снижению активности СОД в мозге пре кондиционированных животных. В печени, как органе детоксикации, эти компоненты препарата, по-видимому, не проявили своего действия, и активность фермента пре кондиционированных животных не изменилась.

3. Можно полагать, что при иммобилизационном стрессе в исследуемых органах снижается уровень генерации АФК и как следствие – снижается активность СОД. Это заключение подтверждается и литературными данными, где также показано снижение активности фермента при подобной модели иммобилизационного стресса.

4. Прием антиоксидантного препарата в условиях иммобилизационного стресса не приводил к восстановлению активности СОД. Вероятно, прием

антиоксидантных препаратов при ограничении физических движений при иммобилизационном стрессе не обоснован, поскольку, как показано в работе, это приводит к снижению активности эндогенной СОД, что обнаружено в мозге у прекондиционированных животных, где активность фермента, в отличие от СОД печени контрольных животных, не восстановилась при продолжительной иммобилизации.

Работа выполнена при поддержке Федеральной программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” (02.740.11.0312).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дубинина Е.Е. (2006) Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. СПб.: Мед. пресса, с. 33-84.
2. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006) Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово.
3. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. (2008) Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: Арта.
4. Сирота Т.В., Сафронова В.Г., Амелина С.Е., Мальцева В.Н., Авхачева Н.В., Софин А.Д., Янин В.А., Мубаракишина Э.К., Романова Л.К., Новоселов В.И. (2008) Биофизика, **53**(5), 886–893.
5. Sirota T.V., Novoselov V.I., Safronova V.G., Yanin V.A., Tsvetkov V.D., Amelina S.E., Lushnikova A.L., Maltseva V.N., Tikhonov V.P., Kondrashova M.N. (2006) IEEE Transaction on Plasma Science, **34**(4), 1351–1358.
6. Сирота Т.В. (2010) Бюл. эксперим. биологии и медицины, **149**, 396–399.
7. Селье Г. (1960) Очерки об адаптационном синдроме. М.: Медгиз.
8. Селье Г. (1987) От мечты к открытию. М.: Прогресс.
9. Erdem M., Günes T., Sen C., Bostan B., Aslan H., Ozyurt H., Köseoglu R.D. (2009) Acta Orthop. Traumatol. Turc., **43**(5), 436–443.
10. Popovic M., Janicijevic-Hudomal S., Kaurinovic B., Rasic J., Trivic S., Vojnovic M. (2009) Molecules, **14**(11), 4505–4516.
11. Sahin E., Gümüşlü S. (2007) Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., **34**, 425–431.
12. Sahin E., Gümüşlü S. (2007) Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol., **144**, 342–347.
13. Овсепян А.А., Венедиктова Н.И., Захарченко М.В., Казаков Р.Е., Кондрашова М.Н., Литвинова Е.Г., Саакян И.Р., Сирота Т.В., Ставровская И.Г., Шварцбург П.М. (2009) Вестн. новых мед. технологий, **XVI**(1), 170–173.
14. Метальников С.И. (1906) Архив биол. Наук, **XI**, 299–315.
15. Метальников С.И. (1908) Архив биол. Наук, **XIII**, 163–198.
16. Кондрашова М.Н. (2005) В кн. Величко Е.М. В поисках истины. Москва, с. 215–220.
17. Спиридонов Н.А., Рачков А.К., Мухин С.А., Кондрашова М.Н. (1995). Патент № 2038086 РФ. Бюл. 18, 27.06.1995.
18. Литвинова Е.Г. (2010) Инновации Подмосковья, №2, 8–14.
19. Сирота Т.В., Литвинова Е.Г., Овсепян А.А., Кондрашова М.Н. (2002) Тез. докл. VI Междунар. конф. Биоантиоксидант, Москва 16–19 апреля 2002, с. 528–530.
20. Hosoda S., Nakamura W. (1970) Biochim. Biophys. Acta, **222**(1), 53–64.

21. *Sirota T.B.* (1999) *Вопр. мед. химии*, **45**(3), 263–272.
22. *Sirota T.V., Lange N.V., Kosjakova N.I., Vanichkin A.V., Kondrashova M.N.* (2000) *Curr. Top. Biophys.*, **24**, 185–189.
23. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* (1951) *J. Biol. Chem.*, **193**, 265–275.
24. *Min K., Smuder A.J., Kwon O.S., Kavazis A.N., Szeto H.H., Powers S.K.* (2011) *J Appl. Physiol.*, **111**, 1459–1466.
25. *Zlatković J., Filipović D.* (2011) *Mol. Cell Biochem.*, **357**, 143–150.
26. *Zaidi S.M., Banu N.* (2004) *Clin. Chim. Acta.*, **340**, 229–233.
27. *Zaidi S.M., Al-Qirim T.M., Banu N.* (2005) *Drugs R. D.*, **6**, 157–165.
28. *Shaheen A.A. Abd El-Fattah A., Gad M.Z.* (1996) *Experientia*, **52**, 336–339.

Поступила: 20. 02. 2012.

#### CYTOPLASMIC SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY IS A SENSITIVE INDICATOR OF THE ANTIOXIDANT STATUS OF THE RAT LIVER AND BRAIN

*T.V. Sirota, M.V. Zakharchenko, M.N. Kondrashova*

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,  
Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow region, 142290 Russia; tel.: (7)(4967)739170;  
fax: 8(4967)330553; e-mail: sirotatv@rambler.ru

Several parameters of the cytoplasmic enzymatic antioxidant system of the liver and brain of the rat have been investigated under conditions of immobilization stress and of an antioxidant preparation in the diet of animals. These included superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase (GR) activities and nonspecific NADPH oxidation. Only changes in the activity of SOD both in the liver and brain were revealed. In the liver of animals that receive no preparation, a decrease in the activity of SOD after 30-min immobilization and its restoration after a 360-min immobilization were observed. In the brain, the activity of SOD decreased only in preconditioned animals after 30 and 360 min of exposure to stress. In addition, the activity of SOD in the brain of preconditioned animals, both stressed and unstressed, was lower than in the corresponding groups of control animals. It is probable that, under the conditions of immobilization stress, the level of reactive oxygen species (ROS) and as a consequence the activity of SOD decrease. The intake of an antioxidant preparation under these conditions seems to be not correct.

**Key words:** superoxide dismutase, glutathione reductase, immobilization stress, liver, brain.