

Glutation és radioprotektív aminosiotiol vegyületek enzimatis és nem-enzimatis oxidációjának összehasonlító vizsgálata

Schweitzer K., Karabélyos Cs., Fürész J., Wolf I.

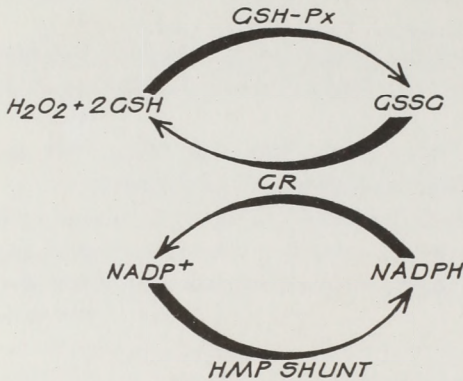
Érkezett: 1990. 07. 02.

Kulcsszavak: Glutation peroxidáz, szabad gyök eliminálás aminosiotiol vegyületek.

Szerzők megvizsgálták, hogy néhány ciszteamin származék (aminotiol radioprotektív vegyület) helyettesítheti-e a redukált glutationt (GSH) a H_2O_2 elimináló, glutation-peroxidáz katalizálta átalakulásban, tiszta kémiai rendszerben. Másrészt, hogy a reakció során tiszta enzim készítmény helyett szerv homogenátumot alkalmazva lezajlik-e a várt reakció. Megállapították, hogy in vitro a vizsgált vegyületek egyike sem helyettesítheti a GSH-t. Az ex vivo méréseknél az össztíol csökkenésből leszámolva a nem-enzimatis oxidációt, megkapták az enzimreakció eredményét azaz, hogy míg a merkaptotilamin (MEA) és a gammafosz nem, addig az AET és a defoszforiláltgammafosz részt vesznek a diszulfid képződésben.

Az endogén antioxidáns rendszer tagjaként a szerves-peroxidok eltakarítását a glutation-peroxidáz (GSH-Px) enzim katalizálja. A reakció folyamatát az 1. ábra mutatja.

Hidrogénperoxid, ill. szerves-peroxidok jelenlétében a redukált glutation GSH-Px enzim hatására oxidálódik, víz kilépése mellett. A reakció reverzibilis. A glutation-reduktáz (G-R) enzim NAD(P)H jelenlétében katalizálja az oxidált glutation redukcióját, ez a két folyamat együttesen biztosítja az egyensúlyi helyzetet (1).



1. ábra: A hidrogénperoxid és/vagy szervesperoxidok elmininálása glutation-peroxidáz katalizálta úton.

A klasszikus sugárvédő vegyületek közül:

- a ciszteamin; (merkaptotetilamin, MEA),
- az S,2-aminoetilzotiuonium (AET), (hazai forgalomban IXECUR),
- a gammafosz S-2-(3-aminopropil-amino)-etil-foszfotioat, WR 2721), és a
- defoszforilált gammafosz (2-((aminopropil)amino)-etantiol WR 1065) aktív hidroxil gyök (OH) scavenger hatását sokan, széles körben vizsgálták (2).

Szuperoxid-anion elimináló hatásukat mind in vitro, mind in vivo kezelést követően szerv homogenátumból magunk is meghatároztuk, aktivitási sorukat felállítottuk (3).

Jelen munkánk során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a GSH-t helyettesítve az amino-tiol vegyületek – köztük néhány radioprotektív szempontból fontos ciszteamin származék – hogyan befolyásolják a glutation-peroxidáz enzim, illetve szerv homogenátum GSH-Px aktivitását in vitro rendszerben.

Az enzimaktivitás meghatározását a legtöbb közlemény szerint a végtermék, a NAD(P)H csökkenés nyomonkövetésével végezték (4, 5., 6.).

Az általunk alkalmazott metodika a szubsztrát fogyás meghatározásán alapul. A módszert Szabó (7.) és Matkovics (8.) dolgozták ki.

Elméleti lényege: ismert mennyiségű redukált glutationhoz (GSH) és kuménhidroperoxidhoz (9.) hozzáadva a glutation-peroxidáz enzimet – vagy az enzimet tartalmazó biológiai mintát – adott inkubációs idő után blokkolva a reakciót a szabad tiol tartalom Ellman-reagenssel fotometriás eljárással meghatározható (10., 11., 12.) A kiinduló SH-mennyiség és a reakcióidő végén mért SH-tartalom különbségéből kiszámítható a glutation-peroxidáz enzim aktivitása.

Mivel az eredeti leírás GSH-szubsztrátra vonatkozik, szükséges volt annak tisztázása, hogy a reakcióközegben az enzim katalizálta reakción kívül milyen spontán oxidációs folyamatok zajlanak le, melyek megváltoztatják a szabad SH-tartalmat.

*Anyagok, metodika**Felhasznált reagensok:*

TRIS-HCl puffer	50 mmol/l	pH = 7.6
TRIS-puffer	0,4 mol/l	pH = 8.9

Glutation-peroxidáz enzim, GSH-Px (Calbiochem):

- Bovin erythrocytából 1 fioła liofilizált enzimkivonat (154 U/ml)
- 200-szoros deszt. vizes hígítás (0,77 U/ml)
- 2000-szeres deszt. vizes hígítás (0,077 U/ml)

Redukált-glutation (GSH) (REANAL) 2×10^{-3} mol/l

10%-os triklórecetsav oldat (TCA)

Kumen-hidroperoxid oldat (Kumen-HPx) 500 1/l

Ellman reagens (DTNB) 0.4% metanolos oldata

A vizsgálati minta - szerv homogenizálás - előkészítése:

5 g csirkemájat 25 ml desztillált vízben Labormim LE 402 típusú mechanikus homogenizátorral homogenizáltunk.

A szuszpenziót 1500g-vel centrifugáltuk 30 percig, és a felülusztót a lipoidréteg leszívása után használtuk.

A szabad-tiol tartalom mérése:

Az SH tartalom meghatározását Ellman reagenssel SPEKTROMOM 204-es MOM fotométeren 412 nm-en végeztük.

Vizsgált anyagok:

GSH - (Reanal)		M = 307.1 g
Alkalmazott koncentrációk:	2.0×10^{-3} mol/l 2.7×10^{-3} mol/l	
MEA - (Merck)		M = 113.6 g
Alkalmazott koncentrációk:	2.0×10^{-3} mol/l 1.3×10^{-2} mol/l	
AET - (Calbiochem)		M = 281.0 g
Alkalmazott koncentrációk:	2.0×10^{-3} mol/l 5.0×10^{-3} mol/l	
Gammafosz - (Kőbányai Gyógyszerárúgyár)		M = 232.0 g
Alkalmazott koncentrációk:	2.0×10^{-3} mol/l 1.3×10^{-2} mol/l	
Defoszforilált Gammafosz - (Kőbányai Gyógyszerárúgyár)		M = 152.0 g
Alkalmazott koncentrációk:	2.0×10^{-3} mol/l 6.9×10^{-3} mol/l	

A kísérletben használt különböző szubsztrátkoncentrációk használatát az indokolta, hogy a vizsgált anyagok a tárolás során kis mértékben bomlottak, kristályvíz tartalmuk is eltérő volt. A szabad tiol tartalom meghatározása után tiol-ekvivalencia érték szerint, az azonos abszorbanciához tartozó szubsztrát koncentrációk szerint történt a bemérés.

Kísérleti eredmények, értékelés

1. Megvizsgáltuk a fent említett öt anyag spontán oxidációját (dimerizációját) erős oxidáló közegben. Esetünkben az erős oxidáló közeg kumén-hidroperoxid volt.

Az eredeti metodikai leírást *Matkovics és Szabó* (8.) állították össze. Céljuk az volt, hogy kidolgozzanak egy metodikát szöveti homegenátum glutation-peroxidáz aktivitás meghatározására. Így rendszerünkben a kontroll mintához csak a TCA-s savanyítás és

1. táblázat

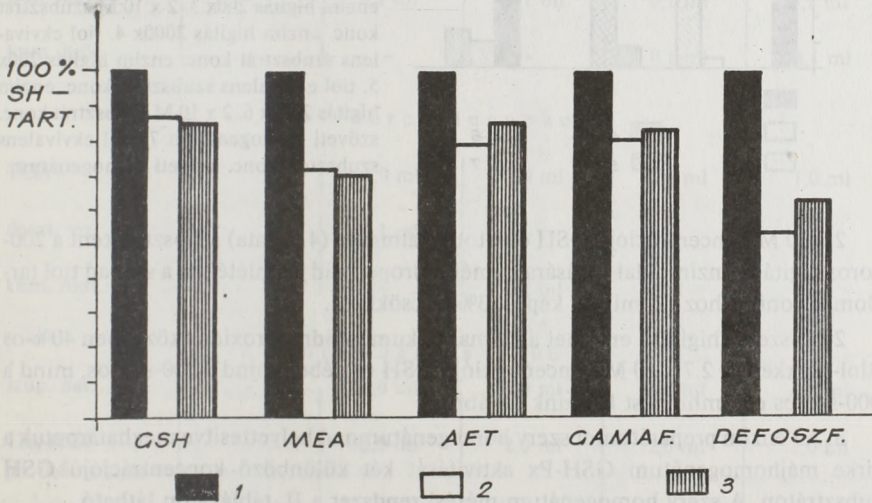
MÉRÉSI RENDSZER A GLUTATION-PEROXIDÁZ ENZIM PREPARATUM AKTIVITÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSÁRA, KÜLÖNBÖZŐ SZUBSZTRÁTOK FELHASZNÁLÁSÁVAL

	1. minta	2. minta	3. minta	4. minta	5. minta
Tris HCl ph: 7,6	-	0,15 ml	0,15 ml	0,15 ml	0,15 ml
deszt. viz	3,1 ml	0,25 ml	-	-	0,25 ml
kum. hidr.	-	-	-	0,05 ml	0,05 ml
enzim old.	-	-	0,25 ml	0,25 ml	-
tiol. vegy.	-	0,05 ml	0,05 ml	0,05 ml	0,005 ml
10 perc incubacio					
TCA	-	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,05 ml
deszt. viz	-	0,005 ml	-	-	-
kum. hidr.	-	-	0,05 ml	-	-
Tris ph: 8,9	-	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml
DTNB	-	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml

enzim fehérjék kicsapása után adtak kuménhidroperoxidot. Számunkra a spontán, nem-enzimatis oxidáció mértékének meghatározása nem volt lényeges. A mi esetünkben, amikor a glutationt más aminosav szubszttráttal kívántuk helyettesíteni, a spontán oxidáció figyelembe nem vétele hamis értékeléshez vezetett volna. Ennek kiküszöbölésére a vizsgálati rendszerünket kiegészítettük egy enzim- és kuménhidroperoxid mentes, ill. egy enzimmentes, de kuménhidroperoxidot tartalmazó mintával (1. táblázat).

Ez a kiegészített rendszer alkalmas a hidroperoxid hatására bekövetkező spontán oxidáció nyomonkövetésére és annak elkülönítésére az enzim katalizálta változástól.

A második ábrán a kuménhidroperoxid mentes kontroll oldat (I. táblázat, 2. minta) szabad SH-tartalmát tüntettük fel 100/-ként. Majd összehasonlítottuk a kuménhidroperoxidot igen, de enzimet nem tartalmazó vizsgálati mintával (I. tábl. 5. minta). Ebből megállapítható, hogy kuménhidroperoxid hatására a különböző vegyületek szabad SH-tartalma hány százalékra csökkent.



2. ábra: GSH, MEA, AET, gammafosz, defoszforilált gammafosz vegyületek szabad tiol tartalma a kontroll százalékában kuménhidroperoxid inkubációt követően (nem-enzimatis oxidáció).

1. Kontroll 2. 2×10^{-3} M szubszttrát konc. 3. tiol ekvivalens szubszttrát konc.

2×10^{-3} M-os GSH esetén a szabad SH-tartalom 14%-al csökkent az az a spontán oxidációt 14%-osnak találtuk. A 2.7×10^{-3} M koncentrációjú GSH alkalmazásakor hasonló értéket kaptunk.

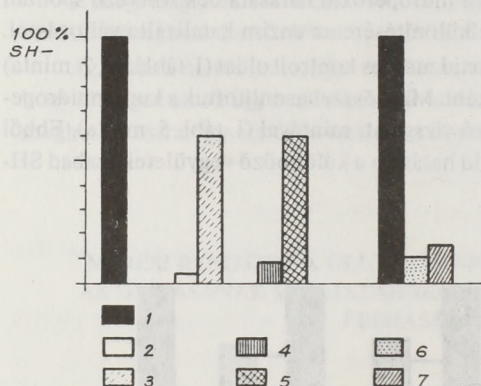
MEA esetén 2×10^{-3} M-os oldatnál a csökkenés 28%-os, míg 3×10^{-2} M-os oldatnál a szabad SH-tartalom fogyása 30%-os volt.

AET-nél a glutation (GSH) referencia oldattal azonos koncentrációban 21%, míg 5×10^{-3} M-os tiol-ekvivalens anyag koncentráció esetén 15%-os a csökkenés.

Gammafosznál a spontán oxidáció 2×10^{-3} M esetén 20%, míg $1,3 \times 10^{-2}$ M szubsztrátkoncentrációnál 18%.

Defoszforilált gammafosz esetén 2×10^{-3} M-os koncentrációban 48%-ot tesz ki a spontán oxidáció, míg $6,9 \times 10^{-3}$ M-os koncentrációban 38%-ot (2. ábra).

2. Meghatároztuk különböző hígítású glutation-peroxidáz (GSH-Px), enzim készítmény aktivitását GSH szubsztráton. Az aktivitás az SH-tartalom %-ban ábrázoltuk (3. ábra). A reakció végén mért szabad tiol (SH-) tartalom és az enzim aktivitás között fordított összefüggés van.



3. ábra: Különböző koncentrációjú GSH szabad tiol tartalmának változása a kontroll százalékában GSH Px enzim készítmény ill. szöveti homogenátum hatására. 1. Kontroll 2. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 3. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 4. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 5. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 6. 2×10 M szubsztrát konc. szöveti homogenátum 7. tiol ekvivalens szubsztrát konc. szöveti homogenátum.

2×10 M koncentrációjú GSH oldatot alkalmazva (4. minta) szubsztrátként a 200-szoros hígítású enzimoldat hatására kuménhidroperoxid jelenlétében a szabad tiol tartalom a kontrollhoz (2. minta) képest 3%-ra csökkent.

2000-szeres hígítású enzimet alkalmazva kuménhidroperoxid közegben 40%-os a tiol-csökkenés. $2,7 \times 10$ M koncentrációjú GSH esetében mind a 200-szoros, mind a 2000-szeres enzimhígítást kaptunk (3. ábra).

3. Az enzim preparátumot szerv homogenátummal helyettesítve meghatároztuk a csirke májhomogenátum GSH-Px aktivitását két különböző koncentrációjú GSH szubsztráton. A szerv homogenátum mérési rendszer a II. táblázaton látható.

Az eredményt szintén a 3. ábrán tüntettük fel.

A kontroll minta (II. tábl. 2. minta) SH-tartalmát 100%-nak véve, látható, hogy 2×10 M koncentrációjú GSH szubsztráton a szervhomogenátum 90%-os SH-csökkentést okoz. $2,7 \times 10$ M koncentrációjú GSH-t alkalmazva 85%-os az SH-tartalom csökkenés.

A 200-szoros hígítású tiszta enzim preparátum aktivitásával hasonló aktivitást mutat a csirkemáj GSH-Px aktivitása.

4. Meghatároztuk az enzim készítmény aktivitását különböző aminosav vegyületek használva szubsztrátként (I. táblázat).

II. táblázat

MÉRÉSI RENDSZER CSIRKE MÁJ SZÖVETI HOMOGENÁTUM
 GLUTATION-PEROXIDÁZ AKTIVITÁS MÉRÉSÉHEZ,
 KÜLÖNBÖZŐ SZUBSZTRÁTOK
 FELHASZNÁLÁSÁVAL

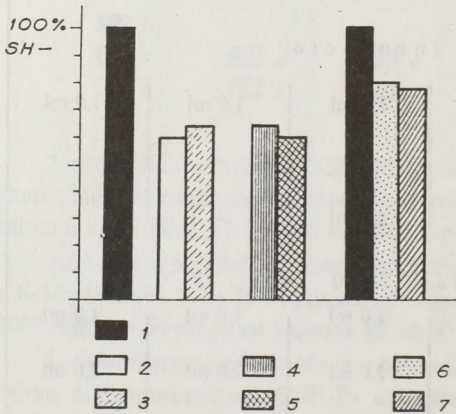
	1. minta	2. minta	3. minta	4. minta	5. minta
Tris-HCl ph: 7,6	-	0,7 ml	0,7 ml	0,7 ml	0,7 ml
deszt. víz	3,1 ml	0,1 ml	-	-	0,1 ml
szov. hom. (enzim)	-	-	0,1 ml	0,1 ml	-
tiol. vegy.	-	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
kum. hidr.	-	-	-	0,1 ml	0,1 ml
10 perc incubacio					
TCA		1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
deszt. víz		0,1 ml	-	-	-
kum. hidr.		-	0,1 ml	-	-
centrifugálás 300 g					
szup. nat.	-	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Tris-HCl ph: 7,6	-	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml
DTNB	-	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml

A GSH-t 2×10^{-6} M-os MEA-val helyettesítve azt tapasztaltuk, hogy a csak kumenhidroperoxidot tartalmazó mintákban 28%-os a szabad-tiol fogyás, az enzimet is tartalmazó mintákban 28%-os a szabad-tiol fogyás, az enzimet is tartalmazó mintában 40%-os a csökkenés (a 200-szoros hígítású enzimmél), a 2000-szeres hígítású enzim oldatnál pedig a tiol tartalom csökkenés 35% volt. 1.3×10^{-6} M-os MEA esetében az előzővel hasonló eredményt kaptunk (4. ábra).

A GSH-t AET-vel helyettesítve mind a 2×10^{-3} M-os, mind a 5×10^{-3} M-os AET oldat esetén kuménhidroperoxid jelenlétében az enzimet tartalmazó mintákban 18% körüli tiol-tartalom csökkenést tapasztaltunk (5. ábra), ez a csökkenés megegyezik a 2. ábrán feltüntetett nem-enzimatis oxidáció értékével.

Gammafosz esetén mindkét alkalmazott szubsztrát- és enzimm koncentrációt alkalmazva egymással megegyező változásokat kaptunk (6. ábra), ez a csökkenés megegyezik a 2. ábrán feltüntetett nem-enzimatis oxidáció értékével.

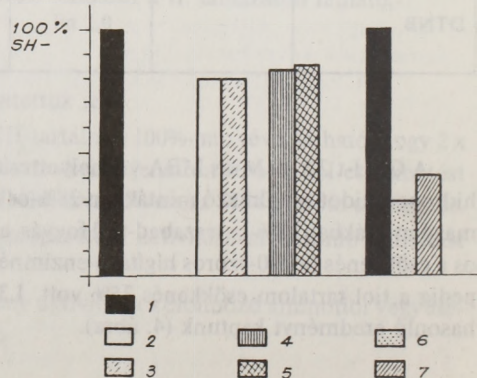
2×10^{-3} M defoszforilált gammafosz esetén a 200-szoros hígítású enzim oldat 40%-os csökkenést okozott. Figyelembe véve az első ábrán feltüntetett spontán átalakulást, látható, hogy enzim-aktivitás az adott mérési rendszerben nincs. Tioekvivalens anyag koncentrációjánál 200-szoros hígítású enzim jelenlétében az SH-tartalom csökkenés 62%-os (7. ábra), hasonlóan az enzimmentes, kuménhidroperoxidot tartalmazó mintához.

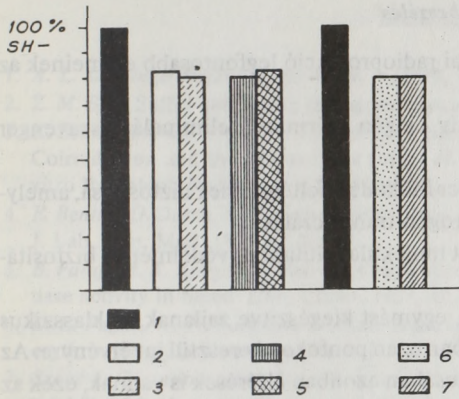


5. ábra: Különböző koncentrációjú AET oldat szabad tiol tartalmának változása a kontroll százalékában GSH Px enzim készítmény ill. szöveti homogenátum hatására.

1. Kontroll 2. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 3. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 4. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 5. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 6. 2×10 M szubsztrát konc. szöveti homogenátum 7. tiol ekvivalens konc szöveti homogenátum.

4. ábra: Különböző koncentrációjú MEA szabad tiol tartalmának változása a kontroll százalékában GSH Px enzim készítmény ill. szöveti homogenátum hatására. 1. Kontroll 2. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 3. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 4. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 5. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 6. 2×10 M szubsztrát konc. szöveti homogenátum 7. tiol ekvivalens konc szöveti homogenátum.



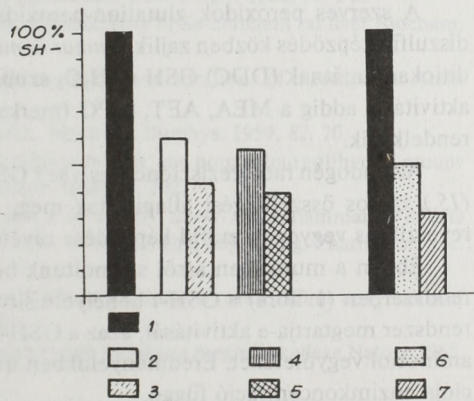


6. ábra: Különböző koncentrációjú gammafosz oldat szabad tiol tartalmának változása a kontroll százalékában GSH Px enzim készítmény ill. szöveti homogenátum hatására.

1. Kontroll 2. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 3. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 4. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 5. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 6. 2×10 M szubsztrát konc. szöveti homogenátum 7. tiol ekvivalens konc szöveti homogenátum.

7. ábra: Különböző koncentrációjú Defoszforilált gammafosz oldat szabad tiol tartalmának változása a kontroll százalékában GSH Px enzim készítmény ill. szöveti homogenátum hatására.

1. Kontroll 2. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 3. 2×10 M szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 4. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 200x 5. tiol ekvivalens szubsztrát konc. enzim hígítás 2000x 6. 2×10 M szubsztrát konc. szöveti homogenátum 7. tiol ekvivalens konc szöveti homogenátum.



5. Meghatároztuk a szervhomogenátum glutation-peroxidáz aktivitását különböző aminosav vegyületeket használva szubsztrátként (II. táblázat).

MEA esetén a szöveti homogenátumot tartalmazó közegben az abszorbanciacsökkenés 20%-os volt (4. ábra).

2×10^{-3} M AET esetében a tiol-tartalom csökkenés 70%-os, 5×10^{-3} M AET esetében pedig 60% volt (5. ábra).

Gammafosz esetében mindkét koncentrációban 20% volt az SH-tartalom csökkenés (6. ábra) ez a változás azonos mértékű a kémiai, nem-enzimatikus oxidáció mértékével (2. ábra).

A defoszforilált gammafosz 2×10^{-3} M koncentrációjában a szabad tiol tartalom csökkenés 52%, míg a 6.9×10^{-3} M-os oldat esetén az abszorbanciacsökkenés 70%-os volt (7. ábra), szemben a 35%-os nem-enzimatikus oxidáció során bekövetkezett csökkenéssel (2. ábra).

Megbeszélés

Jelenlegi ismereteink szerint a kémiai radioprotekció legfontosabb elemeinek az alábbiakat tartják:

- a víz radiolízisekor képződött aktív oxigén származék eliminálása scavenger reakciók révén
- a glutation oxidáz-reduktáz rendszer működési feltételeinek biztosítása, amelyben megkülönböztetett fontosságú a hidrogén transzferálás
- vegyes diszulfid képződés - a target molekula (glutation) védelmének biztosítása.

Ezek a folyamatok egymásra épülve, egymást kiegészítve zajlanak. A klasszikus sugárvédő vegyületek hatása általánosságban ezen pontokon keresztül jut érvényre. Az egyes protektív anyagok hatásmechanizmusában azonban eltérések is vannak, ezek az eltérések, kémiai reakciók csak részben tisztázottak. A MEA aktív OH-gyök scavenger képessége, az AET O₂ elimináló hatása (SOD-like hatása) mind in vitro, mind in vivo bizonyított. H₂O₂ scavenger hatásuk vizsgálatával *Budavári és mtsai* (13.) foglalkoztak.

A szerves peroxidok glutation-peroxidáz általi eliminálása GSH szubsztráton diszulfid képződés közben zajlik. *Kumar és munkatársai* (14.) leírták, hogy míg a dietil-ditiokarbamátnak (DDC) GSH és H₂O₂ szubsztráton nagyon magas a GSH-Px-szerű aktivitása, addig a MEA, AET, MPG (merkaptó-propionil-glicin) ilyen hatással nem rendelkezik.

Az endogén radiorezisztencia és a sejt GSH/GSSG tartalma között *Révész és mtsai* (15.) szoros összefüggést állapítottak meg. A GSH molekula védelme feltehetően reverzibilis vegyes-diszulfid képződése révén biztosított.

Ebben a munkában arról számoltunk be, hogy a szerves-peroxidokat elimináló rendszerben (1. ábra) a GSH-t behelyettesítve különböző aminotiol vegyületekkel, a rendszer megtartja-e aktivitását, azaz a GSH-Px elfogadja-e szubsztrátként a felkínált aminotiol vegyületeket. Eredményeinkben megerősítést nyert, hogy a GSH dimerizációja enzimm koncentráció függő.

Megállapítottuk, hogy kémiai rendszerben kuménhidroperoxid hatására lezajlik egy nem enzimatis, spontán oxidációs folyamat. GSH-Px preparátumot tartalmazó mintákban az SH-tartalom csökkenése nem tér el az enzim-mentes mintákban mért csökkenéshez képest. A fentiek alapján a vizsgált vegyületek in vitro nem szubsztrátjai a GSH-Px-nak.

GSH szubsztráton meghatározva májhomogenátum GSH-Px aktivitását, megállapítottuk, hogy az közel azonos aktivitású a 200-szoros hígítású tiszta enzimp preparátum aktivitásával. A GSH-t a MEA-val, AET-vel, Gammafoszszal, Defoszforilált gammafoszszal helyettesítve megállapítottuk, hogy a nem-enzimatis változás (SH-tartalom csökkenés) mértékét levonva az összcsökkenés értékéből, a MEA és a Gammafosz nem lép be a rendszerbe, nem szubsztrátja a glutation peroxidáz enzimnek. Az AET és a Defoszforilált gammafosz helyettesítheti a szerves-peroxid elimináló rendszerben a GSH-t, és azzal vegyes diszulfid képzésre képes, ilyen módon is részt vesz a molekuláris sugárvédelemben.

IRODALOM

1. *A. L. Lehninger* Biochemistry II. N. Y. 1979. Worth Press
2. *Z. M. Bacq* Sulfur-containing radioprotective agents Pergamon Papers Oxford, N. Y. T. 1978.
3. *K. Schweitzer, Gy. Benkő, P. Takács* Changes in the activity of SOD under the influence of Coirradiation and the O scavenger ability of SH-containing radioprotectors in vivo and in vitro Radiobiol. Radiother. 1983, 24./6 753.
4. *E. Bentler, O. Duron, B. M. Kelly* Improved method for the determination of blood glutathione J. Lab. Clin. Med. 1963, 61./5 882.
5. *B. Faraji, H. K. Kang, J. L. Valentine* Methods compared for determining glutathione peroxidase activity in blood. Clin. Chem. 1987, 33./4 539.
6. *D. E. Paglia, W. N. Valentine* Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase J. Lab. Clin. Med. 1967, 70. 158.
7. *Szabó L.* Glutathion-peroxidáz aktivitás meghatározása. Adatok az emberi vér és vörösvértestek külső körülmény hatására bekövetkező oxidatív enzimváltozásaihoz. Doktori értekezés JATE, Szeged 1983.
8. *Matkovics B., Szabó L., Szöllősiné Varga I.* Lipid peroxidáns és redukált glutathion anyagcsere enzimek aktivitás meghatározása biológiai mintákban. Lab. Diagn. 1988, 15. 248.
9. *R. A. Lawrence, R. F. Burk* Glutathione-peroxidase activity in Se-deficient rat liver Biochem. Biophys. Res. Com. 1976. 71. 952.
10. *G. L. Ellman* A colorimetric method for determining concentrations of mercaptans. Arch. Biochem. Biophys. 1958, 74. 443.
11. *G. L. Ellman* Tissue Sulfhydryl Groups Arch. Biochem. Biophys. 1959, 82. 70.
12. *J. Sedlak, R. H. Lindsay* Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmans reagent Anal. Biochem. 1968, 25. 192.
13. *I. Budavári, K. Schweitzer, K. Gyires, A. Nánási, J. Fűrész, Gy. Benkő* Antiinflammatory effects of several exogenous and endogenous antioxidants Proc. 4-th Cong. Hung. Pharmacol. Soc. 1985 Budapest.
14. *K. Sree Kumar, Y. N. Vaishnav, J. F. Weiss* Radioprotectionn by antioxidant enzymes and enzyme mimetics Pharmac. Ther. 1988, 39.
15. *K. Révész, H. Modig,* A sejt glutathion-szint ciszteamin indukálta megnövekedése Nature 1965, 207. 430.

Katalin Schweitzer, Cs. Karabélyos, Maj. J. Fűrész M. D. M. C., I. Wolf:

A COMPARATIVE STUDY OF ENZYMIC AND
NON-ENZYMIC OXIDATION OF GLUTATHIONE
AND RADIOPROTECTIVE COMPOUNDS

The authors investigated whether some cysteamine derivatives - aminothiols radioprotective compounds - may substitute GSH in H₂O₂ eliminating and glutathione-peroxidase catalized transformation in pure chemical system. The other question to be answered was whether the expected reaction takes place using organ homogenizate instead of enzyme preparation.

It has been found that none of the investigated compound can substitute GSH in vitro. In ex vivo experiments, taking off the spontaneous oxidation from the total thiol decrease, the result of enzyme reaction indicates that AET and dephosphorylated gammaphos take part in the mixed disulfide formation.

Каталин Швейцер, Ч. Карабейош, майор м/с Й. Фюрес:

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНЗИМАТИЧЕСКОГО И НЕЭНЗИМАТИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ ГЛЮТАТИОНА И АМИНОТИОЛОВЫХ РАДИОЗАЩИТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Авторы исследовали, могут ли некоторые производные цистеамина — аминотиоловые радиозащитные соединения — замещать редуцированный глутатион в ускоренной глутатион-пероксидазой трансформации, элиминирующей перекись водорода в чистой химической системе. Другой задачей исследования было выяснить, происходит ли ожидаемая реакция и с применением органичного гомогенизата вместо энзимного препарата.

На основании полученных результатов было установлено, что ни одно из исследованных соединений не замещает глутатион в опытах *in vitro*. В опытах *ex vivo* — вычитывая спонтанное окисление из снижения общего тиола — результат энзиматической реакции показывает, что АЕТ и дефосфорилированный гаммафос принимают участие в образовании смешанного дисульфида.