

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 577.151.6:616.4

doi: 10.17308/sorpchrom.2025.25/12963

Активность глутатионредуктазы при сахарном диабете 2 типа и каталитические свойства фермента, выделенного с помощью хроматографических методов

Александр Алексеевич Агарков¹✉, Сергей Сергеевич Попов², Татьяна Николаевна Попова¹, Андрей Игоревич Лаврущев¹, Евгений Сергеевич Звягинцев¹

¹Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия, agalalek@mail.ru✉

²Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Аннотация. Целью настоящей работы явилось определение активности глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2) в сыворотке крови больных с сахарным диабетом 2 типа (СД2) и в сыворотке крови крыс с экспериментальным СД2, а также разработка схемы очистки фермента из печени экспериментальных животных с применением хроматографических методов и исследование его каталитических свойств. В эксперименте использовали сыворотку крови практически здоровых лиц с нормальными показателями общего и биохимического анализов крови (контрольная группа пациентов), людей, которым был поставлен диагноз СД2, а также сыворотку и печень крыс контрольной группы и животных с экспериментальным СД2.

Патологическое состояние у экспериментальных животных моделировали путем комбинации высокожировой диеты в течение 1 месяца и последующего двукратного внутрибрюшинного введения стрептозотоцина (СТЗ) с интервалом 7 дней в дозе 30 мг/кг веса животного в цитратном буфере pH 4,4. Забой животных производили через 14 дней после введения СТЗ. Активность ГР определяли спектрофотометрически на СФ-56 при 340 нм. Общее количество белка определяли по методу Лоури. Для исследования каталитических свойств фермента была проведена его очистка из печени крыс контрольной группы и животных с индуцированным СД2 с помощью методов разделения белков сульфатом аммония, а также гель-фильтрации через сефадекс G-25 и ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе. В результате были получены ферментные препараты ГР, очищенные в 56,4 и 46,0 раза из печени крыс контрольной группы, животных с СД2. В ходе исследования было установлено, что в процессе ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой ГР из печени крыс контрольной группы десорбировалась с максимальной ферментативной активностью при концентрации KCl 100 мМ. Для десорбции ГР печени группы крыс с СД2 с колонки наиболее эффективной оказалась концентрация KCl в среде элюции 50 мМ.

С использованием полученных ферментных препаратов выявлено, что кинетика реакции, катализируемой ГР описывается уравнением Михаэлиса-Ментен. При этом при патологии имеет место снижение сродства фермента как к окисленному глутатиону, так и к НАДФН. В результате оценки влияния pH на интенсивность функционирования ГР было установлено, что данный фермент из гепатоцитов крыс в норме имеет наибольшую активность при значениях pH, лежащих в диапазоне от 7,2 до 7,5. Оптимальное же значение pH соответствовало значению 7,4. Увеличение или снижение концентрации ионов водорода сопровождалось резким падением ферментативной активности. Показано, что для фермента, выделенного из печени крыс с СД2 pH оптимум равен 7,0. Причем изменение концентрации ионов водорода в большую сторону сопровождается менее резким падением активности ГР, по сравнению с нормой.

Ключевые слова: глутатионредуктаза, сахарный диабет 2 типа, окислительный стресс, хроматография, каталитическое действие

Для цитирования: Агарков А.А., Попов С.С., Попова Т.Н., Лаврущев А.И., Звягинцев Е.С. Активность глутатионредуктазы при сахарном диабете 2 типа и каталитические свойства фермента, выделенного с



Original article

Activity of glutathione reductase in type 2 diabetes mellitus and catalytic properties of the enzyme isolated using chromatographic methods

Alexander A. Agarkov¹✉, Sergey S. Popov²,
Tatyana N. Popova¹, Andrei I. Lavrushev¹, Evgenii S. Zvyaginets¹

¹Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, agalalek@mail.ru✉

²N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russian Federation

Abstract. The aim of this work was to determine the activity of glutathione reductase (GR, EC 1.6.4.2) in the blood serum of patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) and in the blood serum of rats with experimental T2DM, as well as to develop a scheme for purifying the enzyme from the liver of experimental animals using chromatographic methods and to study its catalytic properties. The experiment used the blood serum of practically healthy individuals with normal general and biochemical blood test results (control group of patients), people diagnosed with T2DM, as well as the serum and liver of rats in the control group and animals with experimental T2DM. The pathological condition in experimental animals was modeled by a combination of a high-fat diet for 1 month and subsequent double intraperitoneal administration of streptozotocin (STZ) at an interval of 7 days at a dose of 30 mg / kg of animal weight in citrate buffer pH 4.4. The animals were slaughtered 14 days after the administration of STZ. GR activity was determined spectrophotometrically on SF-56 at 340 nm. The total amount of protein was determined by the Lowry method. To study the catalytic properties of the enzyme, it was purified from the liver of rats in the control group and animals with induced T2DM using the methods of protein separation with ammonium sulfate, as well as gel filtration through Sephadex G-25 and ion-exchange chromatography on DEAE-cellulose. As a result, GR enzyme preparations were obtained, purified 56.4 and 46.0 times from the liver of rats in the control group and animals with T2DM. The study found that during ion-exchange chromatography on a column with DEAE-cellulose, GR from the liver of rats in the control group was desorbed with maximum enzymatic activity at a KCl concentration of 100 mM. For desorption of GR from the liver of rats with type 2 diabetes from the column, the most effective concentration of KCl in the elution medium was 50 mM. Using the obtained enzyme preparations, it was found that the kinetics of the reaction catalyzed by GR is described by the Michaelis-Menten equation. In this case, in pathology, there is a decrease in the affinity of the enzyme to both oxidized glutathione and NADPH. As a result of assessing the effect of pH on the intensity of GR functioning, it was found that this enzyme from rat hepatocytes normally has the highest activity at pH values from 7.2 to 7.5. The optimal pH value corresponded to 7.4. An increase or decrease in the concentration of hydrogen ions was accompanied by a sharp drop in enzymatic activity. It was shown that for the enzyme isolated from the liver of rats with diabetes, the pH optimum is 7.0. Moreover, a change in the concentration of hydrogen ions to a greater extent is accompanied by a less sharp drop in GR activity, compared to the norm.

Keywords: glutathione reductase, type 2 diabetes mellitus, oxidative stress, chromatography, catalytic action
For citation: Agarkov A.A., Popov S.S., Popova T.N., Lavrushev A.I., Zvyaginets E.S. Activity of glutathione reductase in type 2 diabetes mellitus and catalytic properties of the enzyme isolated using chromatographic methods. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2025. 25(2): 250-259. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2025.25/12963>

Введение

Известно, что окислительный стресс (ОС) является одним из ключевых факторов как возникновения, так и прогрессирования СД2 [1-4]. ОС обычно определяется как физиологически значимое изменение окислительно-восстановительного статуса в результате перепроизводства

активных форм кислорода (АФК) и/или дефицита антиоксидантных защитных механизмов [5].

Установлено, что ряд ферментативных систем защищает клетки от повреждений, вызванных чрезмерным производством реактивных метаболитов кислорода. К числу этих систем относят глутатионо-

вую, включающую глутатион (GSH), глутатионпероксидазу (ГП) и глутатионредуктазу (ГР) [6].

GSH является основным цитозольным водорастворимым антиоксидантом, как осуществляющим эрадикацию АФК непосредственно, так и являющимся источником восстановительных эквивалентов в ГП-реакции, в ходе которой он превращается в окисленную форму. Эффективное функционирование ГП приводит к снижению концентрации гидропероксидов, которые являются оксидантами и играют важную роль в механизмах возникновения и прогрессирования СД2 [7]. Имеющиеся клинические данные свидетельствуют о том, что у пациентов с СД2 наблюдается дефицит GSH [8]. В этой связи исследования, посвященные изучению активности и каталитических свойств ГР, в ходе реакции которой происходит НАДФН-зависимое восстановление окисленного глутатиона в восстановленный, при данной патологии представляют значительный интерес.

Целью настоящей работы явилось определение активности ГР из печени и сыворотки крови крыс с экспериментальным СД2 и в сыворотке крови людей, имеющих диагноз СД2, а также исследование особенностей каталитического действия исследуемого фермента, выделенного из печени животных с патологией с применением хроматографических методов.

Экспериментальная часть

Для проведения исследования было получено письменное добровольное информированное согласие на участие в клиническом исследовании со 152 людьми, среди которых было 65 практически здоровых лиц, имеющих нормальные показатели общего и биохимического анализов крови (контрольная группа). 87 человек имели диагноз СД2. Среди них 33 мужчины (37.9%) и 54 женщины (62.1%). Возраст больных составлял от 38 до 75 лет: средний возраст –

56.5±17.5 года. Средняя продолжительность заболевания СД2 составляла 3.6±2.7 года. У всех пациентов было обнаружено повышенное содержание глюкозы в крови (более 5.5 ммоль/дм³), нарушение липидного обмена (содержание общего холестерина превышало 4.5 ммоль/дм³; липопротеидов низкой плотности – 4.5 ммоль/дм³; липопротеидов высокой плотности менее 1.55 ммоль/дм³; коэффициент атерогенности превышал 3). В исследовании не принимали участие пациенты с вирусными гепатитами, злокачественными новообразованиями, острым инфарктом миокарда, острым нарушением мозгового кровообращения, хронической почечной недостаточностью.

В качестве материала для исследований выступала кровь здоровых доноров и пациентов с СД2. Кровь для исследования забиралась в пробирки типа «вакутейнер» в утреннее время, натощак, из локтевой вены.

В исследовании также были использованы половозрелые самцы белых крыс с массой тела в диапазоне 200-250 граммов, которых содержали в стандартных условиях вивария. Экспериментальные манипуляции с животными проводились с соблюдением этических норм и принципов гуманного обращения, регламентированных международными стандартами и закрепленных в действующих санитарных правилах содержания экспериментальных животных в вивариях.

В рамках эксперимента животные были случайным образом распределены на две группы: крысы контрольной группы, содержащиеся в стандартных условиях вивария, и крысы с экспериментальной моделью сахарного диабета 2 типа.

Моделирование СД2 заключалось в том, что крысам, получавшим высокожировую диету в течение 30 дней, дважды с интервалом 7 дней внутрибрюшинно вводили раствор стрептозотоцина (СТЗ) в цитратном буфере pH 4.4 в дозе 30 мг/кг веса животного [9].

Через две недели после первичного введения СТЗ у животных под наркозом проводили извлечение печени с последующей многократной перфузией ледяным физиологическим раствором. Полученный орган подвергался гомогенизации для получения тканевого гомогената. Навеску печеночной ткани измельчали с использованием гомогенизатора HG-15A-Set в четырехкратном объеме предварительно охлажденной среды для выделения.

Среда для выделения готовилась на основе 0.1 М трис-НСl буфера (рН 7,8), содержащего 1 мМ ЭДТА и 1% β-меркаптоэтанола. Полученный гомогенат подвергали центрифугированию при 3000 g в течение 15 минут. Супернатант использовали для анализа целевых показателей.

Активность ГР определяли спектрофотометрически на приборе СФ-56 при длине волны 340 нм. Инкубационная среда содержала 50 мМ калий-фосфатный буфер (рН 7.4), 1 мМ ЭДТА, 0.80 мМ окисленный глутатион и 0.16 мМ НАДФН. Иницирование реакции осуществлялось путем добавления ферментного препарата. За единицу активности фермента (Е) принимали количество фермента, обеспечивающее превращение одного микромоля субстрата за одну минуту при температуре 25°C.

Очистка ГР осуществлялась по следующей схеме: фракционирование белковой смеси с использованием сульфата аммония, обессоливание на сефадексе G-25 и ионообменная хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе.

1. Фракционирование белков с сульфатом аммония. Для осаждения ГР из смеси белков, полученной после гомогенизации и центрифугирования, концентрацию сульфата аммония в печеночном гомогенате постепенно увеличивали. Кристаллы $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ медленно добавляли в гомогенат до достижения концентрации, соответствующей нижней границе насыщения (40%). После центрифугирования при 13000 g в течение 10 минут отбирали супернатант, в который добавляли кристаллический сульфат аммония в количестве, соответствующем верхнему пределу насыщения (70%). Полученный в результате повторного центрифугирования при 15000 g в течение 15 мин осадок содержал ГР. Осадок ресуспендировали в 4 мл среды для выделения.

2. Обессоливание на сефадексе G-25. Гель-фильтрацию на колонке с сефадексом G-25 (1.5×20 см) использовали для удаления низкомолекулярных компонентов из ферментного препарата [10]. Элюцию проводили средой на основе 0.01 М трис-НСl-буфера (рН 7.6), содержащей 0.1 мМ ЭДТА и 1% β-меркаптоэтанола. Объем образца, наносимого на колонку, не превышал $\frac{1}{4}$ от ее свободного объема. Скорость элюции составляла 20-25 см³/час. Фракции элюата собирали объемом 2-3 см³. Ферментативную активность каждой фракции определяли спектрофотометрически. Фракции с максимальной активностью ГР объединяли для дальнейшей очистки, при этом для каждой фракции оценивали эффективность обессоливания. Для этого в растворе фермента проводили качественную реакцию с реактивом Несслера, который образует с ионами аммония характерный красно-коричневый осадок [11]. Было установлено, что фракции с максимальной активностью ГР не содержали $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

3. Ионообменная хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе. Объединенный образец ферментного препарата, не содержащего низкомолекулярные компоненты, наносили на колонку с ДЭАЭ-целлюлозой (1.2×13 см). После этого колонку промывали элюирующей средой для удаления несвязавшихся белков. Для очистки ГР применяли ступенчатый градиент концентраций KCl в элюирующем буфере. Элюирующая среда имела такой же состав, как и на предыдущем этапе очистки. Фермент элюировался с колонки при ступенчатом градиенте KCl 50-100 мМ. Скорость элюции составляла

253

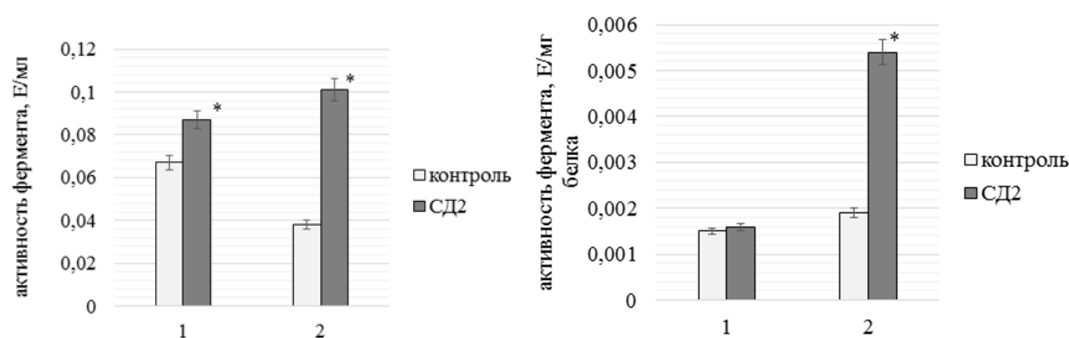


Рис. 1. Активность глутатионредуктазы в сыворотке крови пациентов (1) и в сыворотке крови крыс (2)

Fig. 1. Glutathione reductase activity in the blood serum of patients (1) and in the blood serum of rats (2)

30-40 см³/ч. Каждую фракцию элюата объемом 1.5-2.0 см³ анализировали на наличие ферментативной активности ГР. Все этапы выделения и очистки фермента проводили при температуре 0-4°C.

Общее содержание белка определяли методом Лоури [12]. Эксперименты выполняли в 3-4 кратной биологической повторяемости, аналитические измерения для каждого образца – в двух повторностях. Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных методов [13].

Обсуждение результатов

Результаты исследований продемонстрировали повышение активности ГР, выраженной в виде Е на мл сыворотки, у больных СД2 в 1.3 раза по сравнению с контрольным уровнем (рис. 1). Развитие экспериментальной гипергликемии у крыс сопровождалось возрастанием данного параметра в 2.7 раза. Удельная ферментативная активность была выше в 1.1 раза (рис. 1) в группе пациентов с СД2 и в 2.8 раза – в группе экспериментальных животных с патологией.

По-видимому, увеличение скорости реакции, в ходе которой происходит образование восстановленной формы глутатиона, напрямую и опосредованно участвующего в нейтрализации АФК, обусловлено компенсаторной активацией ГР/ГП антиоксидантной системы в ответ на интенсификацию свободнорадикального

окисления в условиях развития экспериментальной гипергликемии. Также, это может определяться тем, что возрастание активности ГР способствует увеличению ферментативной активности ГП, непосредственно участвующей в обезвреживании продуктов реакций свободнорадикального окисления при участии GSH.

Для того, чтобы выполнить сравнительный анализ особенностей каталитического действия фермента в норме и при СД2 был разработан метод очистки фермента из печени крыс соответствующих групп животных.

В результате подобранных условий для очистки ГР были получены препараты фермента из печени контрольных и подвергнутых СД2 крыс, очищенные в 56.5- и 45.6 раза соответственно. Удельная активность при этом составила 0.07 и 0.13 Е/мг белка, соответственно (таблица). Выход фермента составил 45.9% (норма) и 59.3% (СД2). Установлено, что фермент сохраняет максимальную активность при его хранении в камере с температурой от 0 до +4°C. При этом, через двое суток активность ГР составляла более 70% от исходной. Замораживание приводит к снижению активности более чем на 80%.

Анализ данных ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой показал, что ГР из печени крыс контрольной группы эффективно элюировалась при концентрации KCl 100 мМ (рис.

Таблица. Результаты очистки глутатионредуктазы из печени крыс контрольной группы и подвергнутых сахарному диабету 2 типа*

Table. Results of purification of glutathione reductase from the liver of rats in the control group and those with type 2 diabetes mellitus

Стадия очистки	Условия опыта	Общая активность $E_{\text{общ}}$	Количество белка, мг	Удельная активность, Е/мг белка	Выход, %	Степень очистки
Гомогенат	норма	16.5±0.53	243.2±10.11	0.068±0.0026	100	1
	СД2	31.3±1.32*	239.0±10.22	0.131±0.0043*	100	1
Фракционирование (NH ₄) ₂ SO ₄	норма	15.9±0.63	198.2±7.94	0.080±0.0031	96	1.2
	СД2	26.1±1.24*	151.7±6.81*	0.171±0.0065*	83	1.4
Хроматография на сефадексе G-25	норма	14.9±0.41	115.1±3.82	0.130±0.0041	90	1.9
	СД2	19.6±0.55*	106.9±3.53*	0.184±0.007*	62	1.4
Хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе	норма	7.6±0.26	1.98±0.067	3.839±0.094	46	56.4
	СД2	18.6±0.65*	3.11±0.088*	5.969±0.156*	59	45

*Примечание: в таблице обсуждаются статистически достоверные различия при $P \leq 0.05$.

2А). В то же время, для успешной десорбции ГР из печени крыс второй экспериментальной группы (рис. 2Б), была оптимальна концентрация KCl в элюирующем буфере 50 мМ.

Согласно данным литературы, развитие окислительного стресса сопровождается увеличением концентрации окисленной формы глутатиона (GSSG) [14]. Параллельно с этим, в клетке происходит аккумуляция соединений, способных окислять SH-группы белков и ферментов, что может приводить к изменению их функциональных характеристик. Так, было продемонстрировано, что инкубация альдозоредуктазы из эритроцитов человека в присутствии GSSG вызывает увеличение ее удельной активности и модификацию хроматографических свойств при ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе: наблюдается более ранний пик активности фермента при элюции [14].

Известно, что в процессе катализа молекула ГР в окисленной форме связывается с НАДФН и протоном, переходя в восстановленное состояние (EH). Этот процесс сопровождается разрывом дисульфидной связи между Cys-58 и Cys-63, а имидазольное кольцо His-467' приобретает положительный заряд [15]. В

связи с этим, при повышенном уровне GSSG в условиях окислительного стресса, характерного для СД2, может увеличиваться количество молекул ГР с положительно заряженным имидазольным кольцом His-467'. Вероятно, это объясняет наблюдаемую десорбцию большей части исследуемого фермента с анионообменника (ДЭАЭ-целлюлозы) при концентрации KCl 50 мМ (рис. 2Б).

Очищенные препараты ГР были использованы для изучения кинетических параметров каталитической активности фермента в норме и при СД2.

Экспериментальные данные показали, что кинетика реакции, катализируемой ГР, соответствует уравнению Михаэлиса-Ментен (рис. 3-6). Значения константы Михаэлиса-Ментен для субстрата и кофермента энзима из печени крыс экспериментальных групп были определены с помощью метода двойных обратных величин Лайнуивера-Берка (рис. 3Б, 4Б, 5Б, 6Б).

Установлено, что концентрация GSSG, обеспечивающая половину максимальной скорости реакции исследуемого фермента, составила 0.23 мМ в контроле и 0.44 мМ при СД2. Значения K_m для НАДФН составили 0.06 мМ в контроле и 3.33 мМ при СД2. Таким образом, при патологии наблюдается снижение сродства

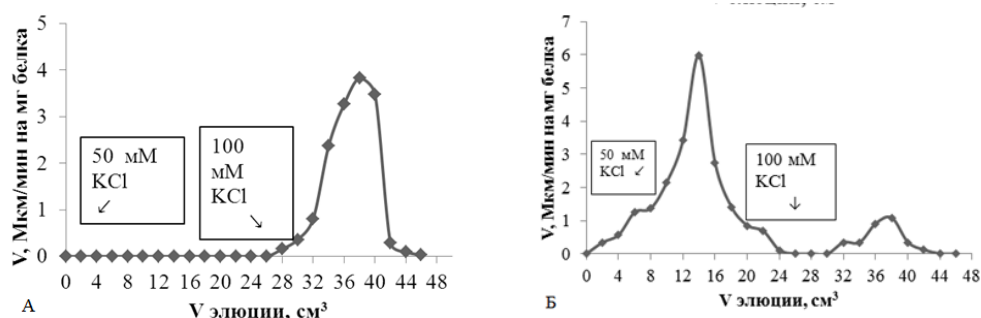


Рис. 2. Элюция глутатионредуктазы из печени крыс контрольной группы (А) и со стрептозотоциновым СД2 (Б) при проведении ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе

Fig. 2. Elution of glutathione reductase from the liver of rats in the control group (A) and with streptozotocin DM2 (B) during ion exchange chromatography on DEAE cellulose

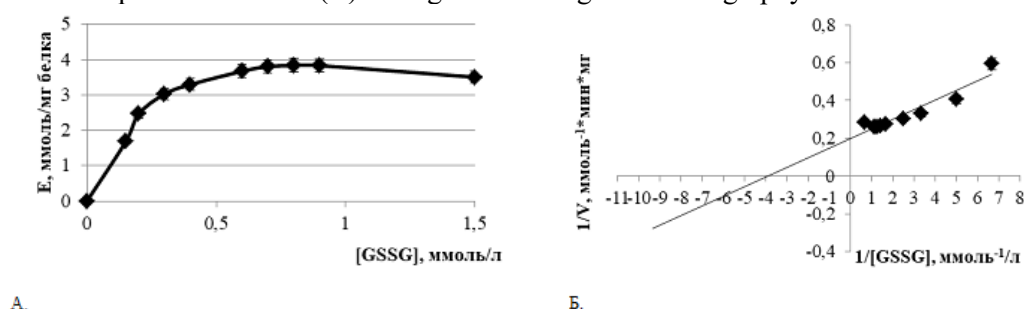


Рис. 3. Зависимость скорости реакции, катализируемой глутатионредуктазой, от концентрации субстрата – окисленного глутатиона в норме: А – в прямых координатах; Б – в двойных обратных координатах Лайнуивера-Берка.

Fig.3. Dependence of the reaction rate catalyzed by glutathione reductase on the concentration of the substrate, oxidized glutathione, in normal: A – in direct coordinates; B – in double inverse Lineweaver-Burke coordinates.

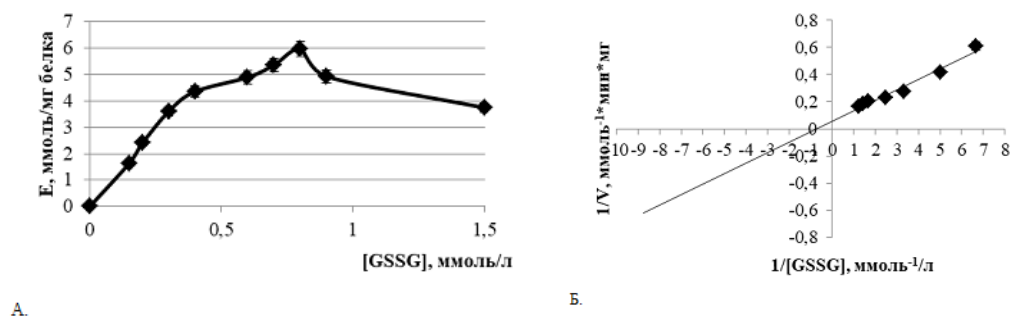


Рис. 4. Зависимость скорости реакции, катализируемой глутатионредуктазой, от концентрации субстрата – окисленного глутатиона при СД2: А – в прямых координатах; Б – в двойных обратных координатах Лайнуивера-Берка.

Fig. 4. Dependence of the reaction rate catalyzed by glutathione reductase on the concentration of the substrate, oxidized glutathione, at DM2: A – in direct coordinates; B – in double inverse Linuiver-Burke coordinates.

фермента к субстрату, что, вероятно, обусловлено накоплением окисленного глутатиона, вызывающего субстратное ингибирование фермента.

В результате оценки влияния рН на интенсивность функционирования ГР было

установлено, что данный фермент из гепатоцитов крыс в норме имеет наибольшую активность при значениях рН, лежащих в диапазоне от 7.2 до 7.5. Оптимальное же значение рН соответствовало значению 7.4 (рис. 5). Увеличение или снижение

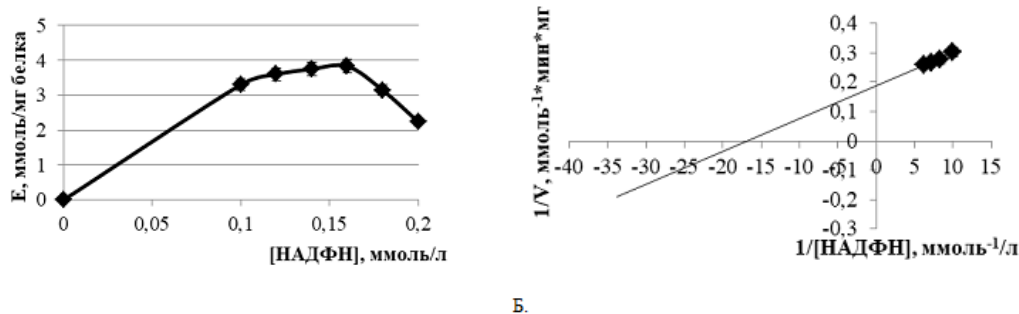


Рис. 5. Зависимость скорости реакции, катализируемой глутатионредуктазой, от концентрации кофермента (НАДФН) в норме: А – в прямых координатах; Б – в двойных обратных координатах Лайнуивера-Берка.

Fig. 5. The dependence of the reaction rate catalyzed by glutathione reductase on the concentration of the coenzyme (NADPH) in normal conditions: A – in direct coordinates; B – in double inverse Lineweaver-Burke coordinates.

концентрации ионов водорода сопровождалось резким падением ферментативной активности.

Показано, что для фермента, выделенного из печени крыс с СД2 рН оптимум равен 7.0 (рис. 5). При этом изменение концентрации ионов водорода в большую сторону сопровождается менее резким падением активности ГР, по сравнению с нормой.

Вероятно, это может быть связано с изменением структурно-функциональных особенностей исследуемого фермента в условиях ацидоза, который может формироваться в условиях хронической гипергликемии [16]. При СД в условиях недостатка инсулина ацетил-КоА не может с необходимой эффективностью превращаться в цикле трикарбоновых кислот. В этой связи происходит активация синтеза из данного интермедиата кетоновых тел, количество которых становится таким, что периферические ткани не успевают их метаболизировать. В результате формируется состояние кетацеидоза.

Заключение

Таким образом, результаты исследования показали увеличение активности ГР, выраженной в E на миллилитр сыворотки и удельной активности фермента, как у пациентов с СД2, так и у животных с индуцированной экспериментальной гипергликемией. Предположительно, это

может быть следствием реализации адаптивного механизма в ответ на развитие окислительного стресса, который играет ключевую роль в патогенезе СД2.

Комбинированное использование различных методов очистки позволило получить ферментные препараты ГР из печени крыс контрольной группы и животных с экспериментальной гипергликемией со степенью очистки 56.45 и 45.57 раза, соответственно. Обнаружено, что при использовании ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе основной объем фермента, выделенного из печени контрольных животных, элюировался при концентрации KCl 100 мМ, в то время как фермент из печени животных с экспериментальной гипергликемией – при 50 мМ. Вероятно, это обусловлено изменением общего заряда молекулы исследуемого фермента в условиях окислительного стресса, сопутствующего гипергликемии.

Кинетика реакции, катализируемой ГР, соответствует уравнению Михаэлиса-Ментен. При патологии наблюдается снижение сродства фермента к субстрату, что, вероятно, связано с аккумуляцией окисленного глутатиона, вызывающего субстратное ингибирование.

Для фермента, выделенного из печени крыс с СД2, оптимум рН смещается в сторону более кислых значений. Предпола-

жительно, это может быть связано с изменением структурных и функциональных свойств исследуемого фермента в условиях ацидоза, который может развиваться при хронической гипергликемии.

Список литературы/References

1. Caturano A., D'Angelo M., Mormone A., Russo V., Mollica M.P., Salvatore T., Galiero R., Rinaldi L., Vetrano E., Marfella R., Monda M., Giordano A., Sasso F.C., Oxidative Stress in Type 2 Diabetes: Impacts from Pathogenesis to Lifestyle Modifications, *Current Issues in Molecular Biology*, 2023; 45(8): 6651-6666. <https://doi.org/10.3390/cimb45080420>
2. Fatima M.T., Bhat A.A., Nisar S., Fakhro K.A., Ammira S., The role of dietary antioxidants in type 2 diabetes and neurodegenerative disorders: An assessment of the benefit profile, *Heliyon*, 2023; 9(1): e12698.
3. Alu S.N., Los E.A., Ford G.A., Stone W.L., Oxidative Stress in Type 2 Diabetes: The Case for Future Pediatric Redoxomics Studies, *Antioxidants*, 2022; 11(7): 1336. <https://doi.org/10.3390/antiox11071336>
4. Wright E., Scism-Bacon J.L., Glass L.C., Oxidative stress in type 2 diabetes: The role of fasting and postprandial glycaemia, *International journal of clinical practice*, 2006; 60(3): 308-314. <https://doi.org/10.1111/j.1368-5031.2006.00825.x>
5. Samoilova Yu.G., Khoroshunova E.A., Matveeva M.V., Kudlay D.A., Spirina L.V., Akbasheva O.E., Yakimova Ya.L., Modulation of oxidative stress as an early symptom of sarcopenia in type 2 diabetes mellitus, *Russian Journal of Preventive Medicine*, 2024; 27(10): 108-116. <https://doi.org/10.17116/med202427101108>
6. Tuell D., Ford G., Los E., Stone W., The Role of Glutathione and Its Precursors in Type 2 Diabetes, *Antioxidants*, 2024; 13(2): 184. <https://doi.org/10.3390/antiox13020184>

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

7. Shabalala S.C., Johnson, R., Basson A.K., Ziqubu K., Hlengwa N., Mthembu S.X.H., Mabhida S.E., Mazibuko-Mbeje S.E., Hanser S., Cirilli I., Tiano L., Dlodla P.V., Detrimental Effects of Lipid Peroxidation in Type 2 Diabetes: Exploring the Neutralizing Influence of Antioxidants, *Antioxidants*, 2022; 11(10): 2071. <https://doi.org/10.3390/antiox11102071>
8. Lutchmarsingh F.K., Hsu J.W., Bennett F.I., Badaloo A.V., McFarlane-Anderson N., Gordon-Strachan G.M., Wright-Pascoe R.A., Jahoor F., Boyne M.S., Glutathione metabolism in type 2 diabetes and its relationship with microvascular complications and glycemia, *PLoS ONE*, 2018; 13(16): e0198626. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198626>
9. Zhang M., Lv X.Y., Li J., Xu Z.G., Chen L., The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model, *Experimental diabetes research*, 2008; 2008: 1-9. <https://doi.org/10.1155/2008/704045>
10. Selemenev V.F., Rudakov O.B., Slavinskaya G.V., Drozdova N.V. Pigmenty pishchevykh proizvodstv (melanoidy). Moskva, DeLi print, 2008, 246 p. (In Russ.)
11. Kramarenko V.F. Toksikologicheskaya khimiya. Moskva, Ripol Klassik, 1989, 445 p. (In Russ.)
12. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J., Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 1951; 193(1): 265-275.
13. Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika. Moskva, Praktika, 1998, 459 p. (In Russ.)
14. Kurilova L.S., Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Antonov V.G., Vliyanie okislenogo glutationa i ego farmakologicheskogo



analoga preparata glutoksim na vnutrikletochnyu kontsentratsiyu Sa^{2+} v makrofagakh, *Tsitologiya*, 2008; 50(5): 452-461. (In Russ.)

15. Pai E.F., Schulz G.E., The catalytic mechanism of glutathione reductase as derived from x-ray diffraction analyses of reaction intermediates, *J Biol Chem*, 1983;

258(3): 1752-1757. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)33050-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)33050-3)

16. Danilova L.I., Romanovskii A.A., Lushchik M.L., Korolenko G.G., Burko I.I., Radyuk D.V., Valuevich V.V., Ekspertnaya otsenka klinicheskikh sluchaev diabeticheskogo ketoatsidoza, *Retsept*, 2023; 26(5): 632-640. <https://doi.org/10.34883/PI.2023.26.5.017> (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

А.А. Агарков – доцент кафедры медицинской биохимии, молекулярной и клеточной биологии, к.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

С.С. Попов – Заведующий кафедрой организации фармацевтического дела, клинической фармации и фармакогнозии – д.м.н., Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Т.Н. Попова – декан медико-биологического факультета, д.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

А.И. Лаврушев – студент медико-биологического факультета, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Е.С. Звягинцев – студент медико-биологического факультета, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

A.A. Agarkov – docent, department of medical biochemistry, molecular and cell biology, Ph.D (biology), Voronezh State University, Voronezh, Russia, orcid.org/0000-0001-5774-7971, e-mail: agalalek@mail.ru

S.S. Popov – grand Ph.D (medicine, MD), Head of the Department of Organization of Pharmaceutical Business, Clinical Pharmacy and Pharmacognosy, N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, orcid.org/0000-0002-4438-9201, e-mail: popovendo@mail.ru

T.N. Popova – Dean of the Faculty of Biomedical Sciences, grand Ph. D (biology), Voronezh State University, Voronezh, Russia, orcid.org/0000-0002-9660-3054, e-mail: popova@bio.vsu.ru

A.I. Lavrushev – student of the Faculty of Biomedical Sciences, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: klai07@mail.ru

E.S. Zvyagincev – student of the Faculty of Biomedical Sciences, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: stride.red@mail.ru

Статья поступила в редакцию 11.02.2025; одобрена после рецензирования 15.04.2025; принята к публикации 16.04.2025.

The article was submitted 11.02.2025; approved after reviewing 15.04.2025; accepted for publication 16.04.2025.