

## АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОН ПЕРОКСИДАЗЕ, ГЛУТАТИОНА И ГЛУТАТИОН РЕДУКТАЗЕ КОД ЗДРАВИХ ЉУДИ И ДИЈАБЕТИЧАРА (ИНСУЛИН ЗАВИСНИХ)

Козић А.<sup>1</sup>, Поповић М.<sup>2</sup>, Иветић В.<sup>3</sup>, Пилија В.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Дом здравља др Милорад Мика Павловић, Инђија

<sup>2</sup>ПМФ, Институт за хемију, Нови Сад

<sup>3</sup>Медицински факултет, Институт за физиологију, Нови Сад

<sup>4</sup>Медицински факултет, Институт за анатомију, Нови Сад

## ACTIVATES OF GLUTATION PEROXIDASE, GLUTATHION AND GLUTATION REDUCTASE IN HEALTHY AND DIABETES (INSULINE DEPENDENT) PATIENTS

Козић А.<sup>1</sup>, Поповић М.<sup>2</sup>, Иветић В.<sup>3</sup>, Пилија В.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>The health centre dr Milorad Mika Pavlović, Indjija

<sup>2</sup>Faculty of Sciences, Institute of Chemistry, Novi Sad

<sup>3</sup>Faculty of Medicine, Institute of Physiology, Novi Sad

<sup>4</sup>Faculty of Medicine, Institute of Anathomy, Novi Sad

### SUMMARY

Reduced glutathion (GSH), glutathion-reductase (GR) and glutathion-peroxidase (GSH-Px) are significant indicators of oxidative stress. Oxidative stress is a consequence of increased production of reactive oxygen radicals and/or on the other hand, insufficient antioxidative protection. It is well-known that free radicals have key role in the large number of biological phenomena, such as differentiation, transformation, signal transduction, aging etc., and they are important factors in pathogenesis of various diseases (carcinoma, diabetes, Alzheimer, Parkinson, atherosclerosis). This paper presents results of investigation of content of GSH and activities of GR and GSH-Px in healthy patients and diabetes insulin-dependent patients between 20 and 75 years of age in the region of Indjija. Correlation between investigated parameters in healthy persons and diabetics was found, as well as with results of similar investigations in other countries. Investigated sample comprised 200 healthy patients (20-75 years) divided into 5 groups, and 80 diabetes patients divided into 4 groups. Every group consisted of equal number of males and females. Above mentioned parameters were determined in hemolysate. Parameters change depending on patient age, and changes are more intense in all patients. Some differences exist in correlation of our results with results obtained in other regions.

**Key words:** Oxidative stress, Diabetics, Gluthation reductase, Gluthation, Gluthation peroxidase.

### САЖЕТАК

Редуковани глутатион (GSH), глутатион-редуктаза (GR) и глутатион-пероксидаза (GSH-Px) су значајни показатељи оксидативног стреса. Оксидативни стрес је последица повећане продукције реактивних кисеоничних честица у ћелијама са једне стране и (или) недовољне антиоксидативне заштите са друге стране. Познато је да слободни радикали имају кључну улогу у великом броју биолошких феномена, као што су диференцијација, трансформација, трансдукција сигнала, старење и др. Значајни су фактори у патогенези многих болести, као што су карцином, дијабетес, артеросклероза, Alzheimerова болест и др. Циљ овог рада био је да се одреди активност ензимских антиоксидантних система (GSH-Px, GR) и глутатиона (GSH), код здравих људи и дијабетичара (инсулин зависни) старости између 20 и 75 година и корелацију ових параметара у односу на старост и дијабетес, у специфичним еколошким условима Инђије. Ови резултати су битни због поређења са резултатима сличних испитивања који су урађени у свету и одговарају тим еколошким условима; слични нашим и различити од наших. Наша испитивања су обухватила групу од 200 здравих људи, старости од 20 до 75 година и 80 људи оболелих од diabetes mellitus-a (tip I) старости између 20 и 60 година. Свака група је имала једнак број жена и мушкараца. Промене испитиваних параметара су у зависности од старости и интензивније су код свих пацијената.

**Кључне речи:** Оксидативни стрес, Дијабетичари, Глутатион редуктаза, Глутатион, Глутатион пероксидаза.

### УВОД

О старењу, као биолошком феномену још увек се мало зна, те је и дефинисати овај процес врло тешко. У суштини овог феномена леже различити процеси те је то проблем којим се баве геронтологи, биолози и други.

Проучавање старења са аспекта слободних радикала и оксидативног стреса заокупља пажњу научне јавности јошод 1956. године, када је Hartman формулисао теорију која повезује старење са штетним делова-

њем слободних радикала.(1)

Слободни радикали су молекули, атоми или јони који имају један или више неспарених електрона у својој структури.(2)

Слободни радикали имају кључну улогу у великом броју биолошких феномена, као што су диференцијација, трансформација, трансдукција сигнала, старење и др. Значајни су фактори у патогенези многих болести, као што су карцином, дијабетес, артеросклероза, Alzheimerova болест и др.

Оксидативни стрес је последица повећане продукције реактивних кисеоничних честица у ћелијама са једне стране и (или) недовољне антиоксидативне заштите са друге стране.(3)

Све је јаснија универзалност присуства и патогенетске улоге слободних радикала у различитим патолошким стањима. Под одређеним условима слободни радикали могу да имају физиолошки и терапијски значај. Поред осталог, процес фагоцитозе се заснива на способности ћелија (неутрофили, еозинофили, мононуклеари, макрофаги) да формирају слободне радикале. Смањена способност да стварају слободне радикале, битно слаби њихову бактерицидну функцију.(4) Већина слободних радикала врло је реактивна и живи врло кратко (мање од  $10^{-10}$  s)

Нормална количина слободних радикала у организму врло је мала (30-300 фемтограма супероксид анјон радикала по граму ткива). Међутим, ефекти су им веома разорни, пошто ланчана реакција омогућава да један слободан радикал изазове промене на хиљадама молекула и оштети DNA, RNA, ензиме у ћелијским мембранама и доведе до настанка продуката липоксигенације пре него што буде инактивисан.

Ћелијски еквилибријум између оксиданаса и антиоксиданаса је у много динамичнијем односу него што се то у почетку мислило, што чини овај проблем веома сложеним за истраживање.

Код дијабетичара присуство хипергликемије доводи до повећане продукције реактивних кисеоничних честица, кроз аутооксидацију глукозе и неензимску гликацију. Смањење активности антиоксидативног одбрамбеног механизма, повећава осетљивост дијабетичара на оксидативна оштећења. Компликације карактеристичне за дијабетичаре, које се односе на оштећења васкуларног система, бубрега, мрежњаче, очног сочива, периферног нервног система и коже, сматра се да су такође везане за повећани оксидативни стрес.(5)

Глутатион (GSH) је трипептид (L-γ-glutamyl-L-cisteinil-glicin). Глутатион редокс циклус (GSH peroxidaza-GSSG reduktaza) омогућује ћелијама значајну заштиту од оксидативних оштећења.

Глутатион има вишеструку улогу као антиоксиданс. Он лако реагује са различитим радикалима, укључујући и хидроксил радикал, где делује као дозор водоника, друга и најважнија улога глутатиона је уклањање водоник-пероксида и других пероксида кроз реакције које катализује глутатион пероксидаза.

Реакцијом GSH са пероксидима спречава се оксидација липида ћелијске мембране. GSH је такође укључен у метаболизму и детоксикацији канцерогена. (6)

Он такође игра важну улогу у одржавању протеина у редукованом облику (хемоглобин у еритроцитима).(6)

Највећа концентрација GSH је у очном сочиву 10 mmol и јетри 5-7 mmol. У плућима, срцу, бубрезима, садржај GSH је апроксимативно 2-3 mmol.(7)

Однос GSH/GSSG у ћелијама је један од индикатора оксидативног стреса. Овај однос у крви може бити погодан индекс за патолошке процесе изазване штетним деловањем реактивних кисеоничних честица (код акутних метаболичких поремећаја).(8)

**Глутатион пероксидаза (GSH-Px, EC 1.11.1.9.)** Присутна је у готово свим ћелијама кичмењака и има функцију да редукује  $H_2O_2$ , хидропероксида масних киселина и друге пероксида у присуству GSH при чему се GSH оксидише до GSSG.

Глутатион пероксидаза је селен-зависан ензим и заступљен је у многим ткивима, па и у цитосолу кардиоцита.

На активност GSH-Px утиче садржај GSH, активност глутатион редуктазе и ниво NADPH.

**Глутатион редуктаза (GR, EC 1.6.4.2.)** Каталише редукцију оксидованог глутатиона (GSSG) уз учешће NADPH, као коензима:

GSHR је флавопротеин, састављен од две подјединице. Овај ензим каталише и редукцију других дисулфида, који настају реакцијом глутатиона (GSH) и једињења која садрже -SH групе (koenzim H, cistein, SH-proteini и др.). Глутатион редуктаза, слично другим редуктазама (нитрат, нитрит и NADP<sup>+</sup> редуктази) се индентификује редукцијом сопственог електрон донора (NADPH). Ова аутоинактивација (од стране NADPH) и реактивација са GSSG имају важну регулаторну улогу. Активност GSHR одражава физиолошке потребе ћелије.

Значај GSHR се огледа у одржавању високог односа GSH/GSSG, чиме се обезбеђује неопходна количина GSH за деловање GSH-Px и glutathion S-transferaze.

## ЦИЉ РАДА

Циљ рада је да се одреди активност ензимских антиоксидантних система (GSH-Px, GR) и глутатиона (GSH), код здравих људи и дијабетичара (инсулин зависни) старости између 20 и 75 година и корелацију ових параметара у односу на старост и дијабетес, у специфичним еколошким условима Инђије.

Ови резултати су битни због поређења са резултатима сличних испитивања који су урађени у свету у одговарајућим еколошким условима; слични нашим и различити од наших. Циљ нашег рада био је да:

- одредимо вредности најзначајнијих компонента антиоксидантног система: GSH-Px, GR, GSH у популацији (групи) здравих људи старости од 20-75 година,
- утврдимо каква је старосна зависност ових параметара,
- утврдимо да ли постоји разлика у вредностима према полу,
- утврдимо да ли постоји нека специфичност у вредности ових параметара везаних за еколошке услове Инђије у поређењу са резултатима добијеним за друге средине,

- одредимо вредности наведених параметара у групи дијабетичара (инсулин зависних) старости 20-60 година.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Наша испитивања су обухватила групу од 200 здравих људи, старости од 20 до 75 година и 80 људи оболелих од diabetes mellitus-a (тип I) старости између 20 и 60 година.

Здравствено стање испитаника проверавано је одређивањем рутинских лабораторијских параметара: седиментације, крвне слике, глукозе, урее и трансминаза.

Да бисмо пратили старосну зависност испитиваних параметара (GSH, GSH-Px, GSHR) формирали смо 5 група:

1. група обухвата старосну доб 20-30 година
2. група обухвата старосну доб 30-40 година
3. група обухвата старосну доб 40-50 година
4. група обухвата старосну доб 50-60 година
5. група обухвата старосну доб 60-75 година

Сваку групу чини двадесет испитаника. У свакој групи је заступљен једнак број мушкараца и жена.

Код дијабетичара смо формирали 4 старосне групе са по десет испитаника:

1. група обухвата старосну доб 20-30 година
2. група обухвата старосну доб 30-40 година
3. група обухвата старосну доб 40-50 година
4. група обухвата старосну доб 50-60 година

### Редуковани глутатион (GSH)

Садржај GSH одређен је на основу количине не-протеин сулфхидрилних остатака помоћу Ellman-овог реагенса.

Одређивање GSH у крви методом по Beuthler и сарадника (9): 1.8 ml дестиловане воде, 0.2 ml крви, 3 ml сулфосалицилне киселине (4%) је центрифугирано 10 min на 3000 o/min. Затим је помешано 1 ml супернатанта и 4 ml Ellman-овог реагенса ( $0.2 \text{ mmol/dm}^3$  DTNB у фосфатном пуферу  $0.1 \text{ mmol/dm}^3$ , pH = 8) и мерена је апсорбанција насталог бојеног продукта на 412 nm. Садржај GSH израчунат је из моларног коефицијента ( $\epsilon = 1.36 \cdot 10^4 \text{ dm}^3/\text{molcm}$ ), а прерачунат на ml еритроцита преко хематокрита.

### Глутатион пероксидаза (GSHPx)

Садржај GSHPx је одређен помоћу кумолхидропероксида као супстрата методом Chin и сарадника.(10)

0.05 ml хемолизата је помешано са 0.75 ml  $50 \text{ mmol/dm}^3$  TRIS HCl пуфера pH=7.6 (пуфер I) и термостатирано 10 min на  $37^\circ\text{C}$ . У контролу је затим додато 0.1 ml GSH ( $0.006 \text{ g}$  у 10 ml пуфера I), а у узорак 0.1 ml GSH и 0.1 ml кумолхидропероксида ( $0.05 \text{ ml}$  у 10 ml MeOH) и поново термостатирано 5 мин на  $37^\circ\text{C}$ . Потом је у обе пробе додато по 1 ml TCA (20%), а у контролу још 0.1 ml кумолхидропероксида. Охлађени раствор је центрифугиран на 3000 o/min у току 10 min. Од обе пробе узето је по 1 ml супернатанта и додато 2 ml  $0.4\text{M}$  TRIS HCl

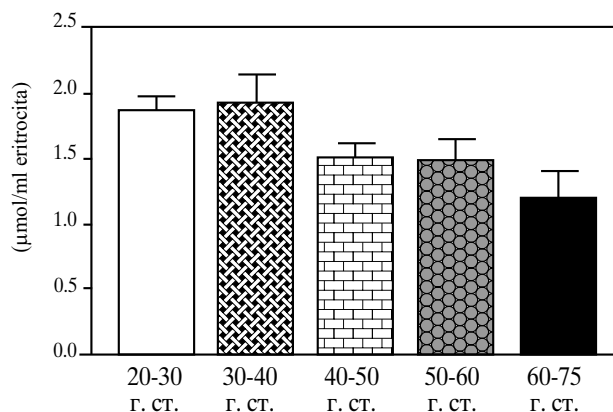
пуфера pH=8.9 (пуфер II), 0.1 ml DTNB ( $0.02 \text{ g}$  у 5 ml пуфера II) и мерена је апсорбанција на 412 nm.

### Глутатион редуктаза (GR)

Глутатион редуктаза је одређивана по методи Glatzle и сар.(11) Реакциона смеша садржи 2 ml фосфатног пуфера pH = 7.6 ( $0.075 \text{ mol/l}$ ), 0.2 ml раствора 3% GSSG, 0.3 ml раствора NADPH ( $0.001 \text{ mol/l}$ ) и 50  $\mu\text{l}$  хемолизата. Промена екстинкције се мери на 340 nm у току 3 минута ( $\epsilon = 6.2 \cdot 10^2 \text{ dm}^3/\text{molcm}$ ). Активност GR се изражава у nkat/g hgb.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултати одређивања садржаја укупног глутатиона у еритроцитима здравих људи подељених у пет старосних група су приказани на графикаону 1.



Графикон 1. GSH у хемолизату здравих особа.

Са графикона 1. се види да долази до смањења садржаја глутатиона са старењем. Највеће смањење је у петој старосној групи.

Еритроцити су специјализоване ћелије за транспорт кисеоника у којима се налази хемоглобин. Овај лабилан хемо протеин транспортује кисеоник само ако је  $\text{Fe}^{2+}$ . Главни заштитни механизам еритроцита, који штити хемоглобин од оксидујућих агенаса је GSH. Хемоглобин, као и други-SH протеини су заштићени великим садржајем тиола у ћелији, који своју заштитну улогу испољавају на различите начине (директним реаговањем са кисеоничним радикалима или кроз реакције које катализује GSHPx).

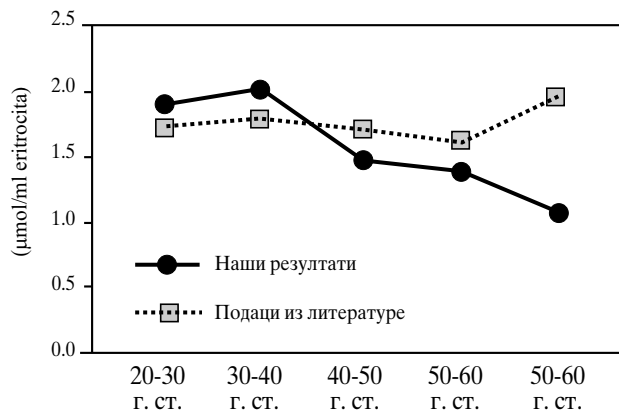
Поређење наших резултата са литературним подацима (12-15) је дато на графикаону 2.

Резултати које смо добили су у складу са подацима из литературе.(12-15)

Постоји сигнификантна разлика између наших резултата у 5. групи и литературних података. Пад садржаја GSH у нашој 5. групи (у односу на литературне податке) може бити последица и еколошких фактора.

Нека истраживања показују пораст садржаја GSH са старењем.(12) Различити резултати могу бити и због методе одређивања јер и неке друге -SH групе се могу мерити DTNB.

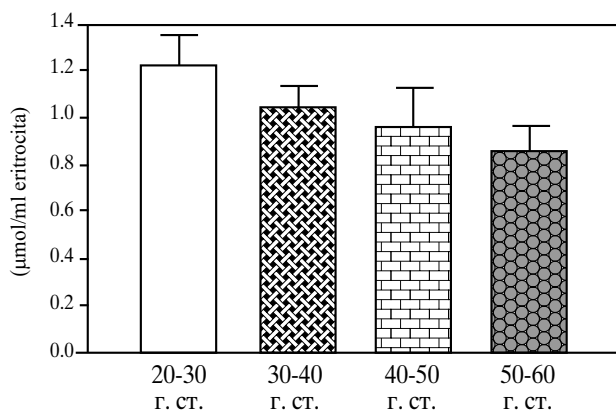
Функција GSH је доста истражена, али је толико разноврсна да се чини да нема иоле значајнијег процеса у којем GSH не учествује, зато вероватно и долази до смањења садржаја GSH са старашћу (графикон 1 и 2). Ако би се успео одржати ниво GSH као код младих особа, можда би се старост продужила и била квалитетнија.



Графикон 2. GSH у хемализају здравих особа (корелација наших резултата и података из литературе).

Пошто GSH има кључну улогу у детоксификацији ендо и егзо електрофилних једињења при чему долази до иреверзибилног губитка и опадања интрацелуларне концентрације GSH, што је вероватно један од главних узрока смањења садржаја GSH са старашћу.

Резултати одређивања садржаја укупног глутатиона у еритроцитима дијабетичара (тип I) подељених у пет старосних група су приказани на графикону 3.

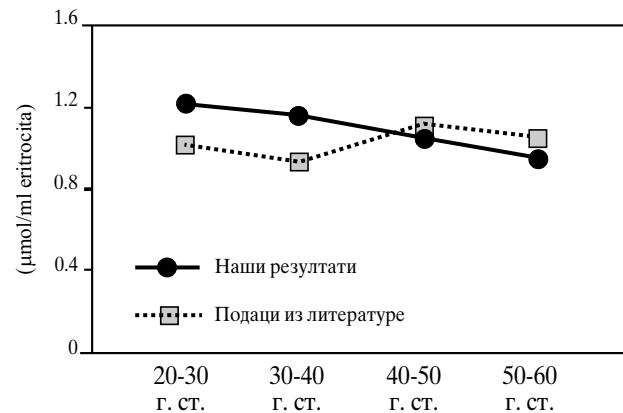


Графикон 3. GSH код дијабетичара (тип I).

Са графикона 3. се може видети да се смањује садржај GSH, али да не постоји статистички значајна разлика између појединих група.

Резултати које смо добили су слични резултатима које смо пронашли у литератури (графикон 4). (16-18) Повећана активност полиол метаболичког пута (који је индукован хипергликемијом) доводи до смањења GSH, што потом повратно повећава брзину метаболизма глукозе кроз полиол-ни пут Укупан ефекат ових ре-

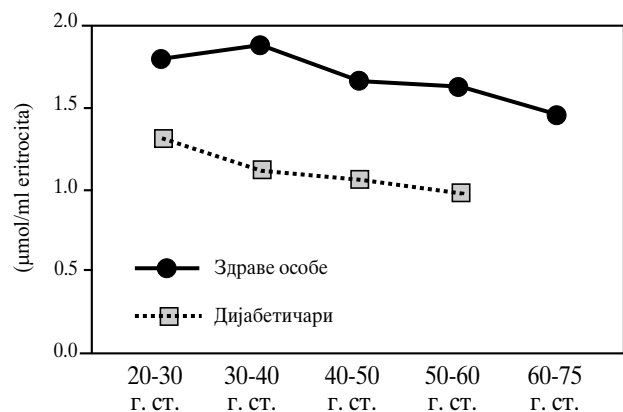
акција је прогресивна метаболичка хипоксија и смањење нивоа GSH, што смањује антиоксидативни капацитет заштите, и уопште слаби имуни систем као и систем детоксификације путем коњугације са SH групом.(19)



Графикон 4. GSH код дијабетичара (тип I) (корелација наших резултата и података из литературе).

Наши резултати одређивања GSH за прву и другу старосну групу дијабетичара су нешто виши у односу на литературне податке, али се скоро поклапају у трећој и четвртој групи.

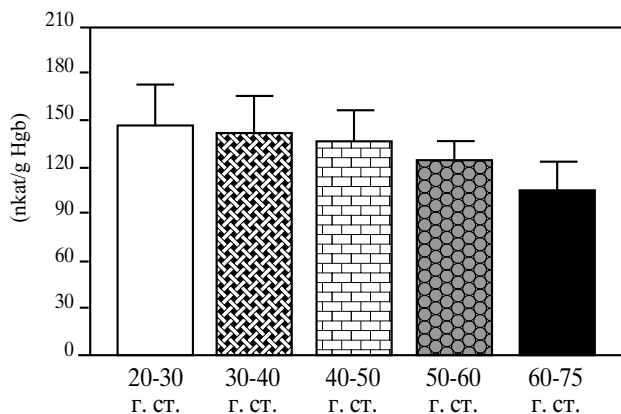
Поређење вредности глутатиона код дијабетичара и здравих људи приказано је на графикону 5. У поређењу са резултатима садржаја GSH код здравих људи, запажа се да је садржај GSH у еритроцитима дијабетичара знатно нижи.



Графикон 5. Поређење вредности GSH код дијабетичара и здравих особа

Као што се види постоји тенденција опадања GSH и то више него код здравих особа. У процесу гликоксидације GSH омогућава превођење реактивних дикарбонил деривата у хемитиоацетал интермедијер и на тај начин детоксификује и "троши" се. Пошто је количина реактивних карбонилних компоненти већа код дијабетичара него код здравих особа то може бити један од узрока смањења GSH, а повећано је антиоксидативно дејство GSH у процесу гликоксидације код дијабетеса.

Активност глутатион редуктазе у хемолизату здравих људи приказана је на графикону 6. Према резултатима које смо добили за активност GR у хемолизату код здравих људи може се запазити да не постоји сигнификантна разлика између 1.15. групе, односно до опадања активности GR са годинама. Активност GR се веома мало мења између 30 и 60 године.



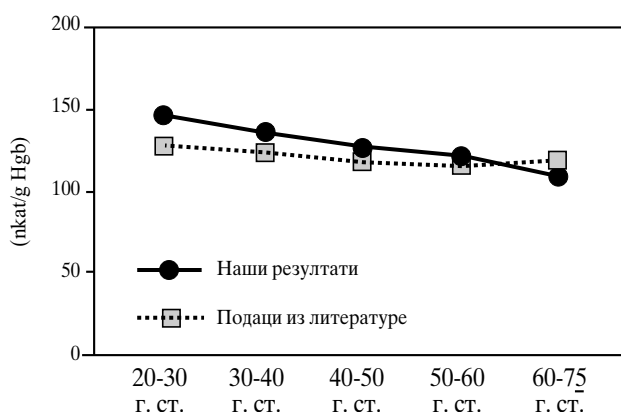
Графикон 6. GR у хемолизату здравих особа.

Наши резултати указују да у еколошким условима Инђије код здравих испитаника нема већих промена у садржају GSH, а самим тим ни у активности GR.

Глутатион редуктаза са GSH, GSHPx глутатион трансферазом и NADPH образује антиоксидативни систем глутатиона. Оксидативни стрес који може бити или узрок или последица неке болести или поремећаја метаболизма је лимитиран и учешћем GSH.

Пошто GSH учествује у великом броју физиолошки значајних процеса, самим тим је изузетно значајна и улога GR. За крајњу консеквенцу активност GR преко садржаја GSH има успоравање процеса старења, атерогенезе, мутагенезе и канцерогенезе.

Поређење наших резултата и литературних података приказано је на графикону 7.



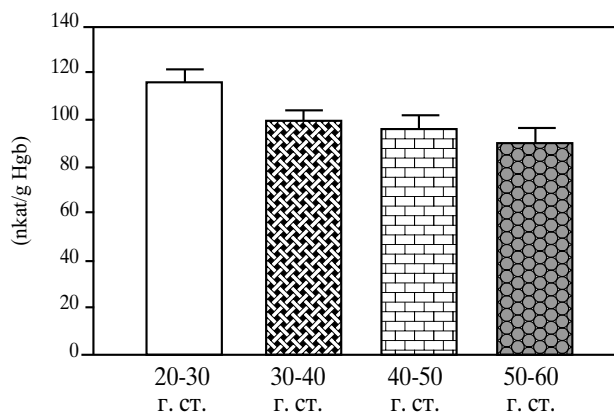
Графикон 7. GR у хемолизату здравих особа (корелација наших резултата и података из литературе)

Подаци који се односе на старосну зависност глутатион редуктазе су врло оскудни. Подаци који су

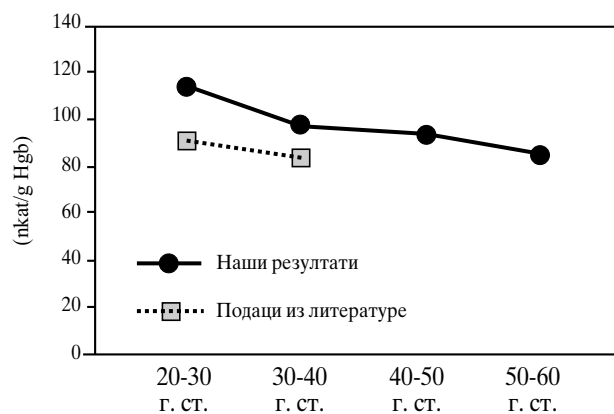
нам били доступни су веома слични нашим резултатима. Постоји мала разлика у активности код 1. групе. Наши резултати су нешто већи.

Stohs и сар. индицирају да је садржај GR, GSH и GSHPx у еритроцитима највећи у средњем животном добу, док је код људи старости преко 60 година њихов садржај знатно смањен. (20)

Активност глутатион редуктазе у хемолизату дијабетичара (tip I) приказана је на графикону 8. Код дијабетичара је дошло до смањења активности глутатион редуктазе у свим старосним групама. Ово је сигурно последица основне болести као и смањења садржаја глутатиона. Пошто се овај ензим инактивира редукцијом свог електрон донора (NADPH), вероватно да због природе болести долази до поремећаја у хексозамонофосфатном шланту, што доводи до смањења количине NADPH, а самим тим и активности глутатион редуктазе.



Графикон 8. Активност GR код дијабетичара.

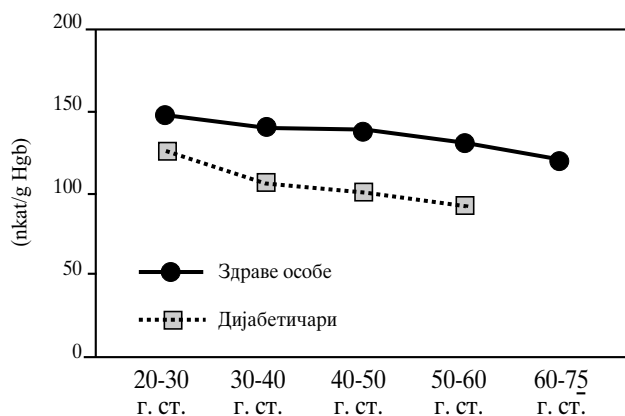


Графикон 9. Активност GR код дијабетичара (корелација између наших резултата и литературних података). (18, 21)

Корелација наших резултата са подацима из литературе приказана је на графикону 9. У литератури има мало података о активности глутатион редуктазе код дијабетичара. Наши резултати су нешто виши у прве две старосне групе, а за остале групе немамо релације. Литературни подаци такође указују на тенденцију сма-

њења активности глутатион редуктазе у зависности од старости код тип I дијабетеса. (21)

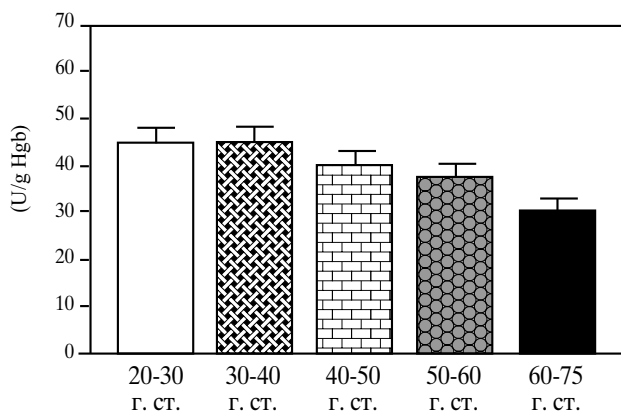
Поређење вредности за активност глутатион редуктазе код дијабетичара и здравих људи приказано је на графикону 10.



Графикон 10. Поређење вредности GR код дијабетичара и здравих људи

Резултати које смо добили указују на знатно ниже вредности за активност GR код дијабетичара у односу на здраве људе, у свим групама. Тенденција опадања активности GR са старењем је израженија (статистички значајна) у односу на здраве људе.

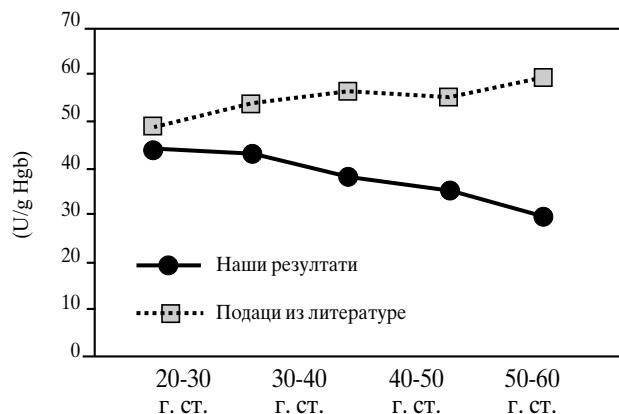
Активност глутатион пероксидазе у хемолизату код здравих људи је приказана на графикону 11. Према резултатима које смо добили, активност глутатион пероксидазе опада са годинама, али је значајно смањена само у петој групи (старости преко 60 година).



Графикон 11. GSHPx у хемолизату здравих особа.

Пошто је активност GSHPx у еритроцитима у корелацији са садржајем селена у еритроцитима требало би одредити и концентрацију јона селена у хемолизату јер смањење активности GSHPx са старашћу може бити и последица недовољног уношења селена храном.

На графикону 12. је дато поређење резултата за активност глутатион пероксидазе код здравих људи, добијених у нашим истраживањима са резултатима из литературе.

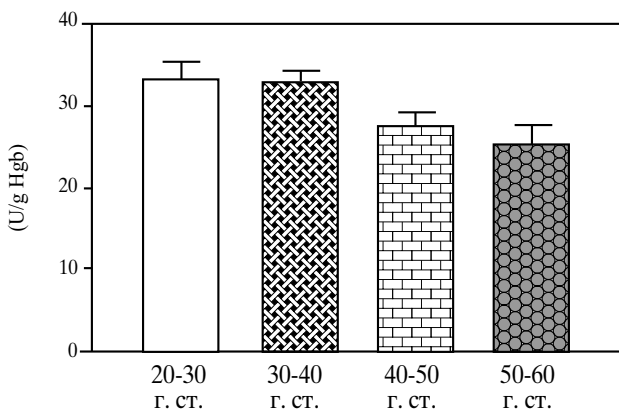


Графикон 12. GSHPx у хемолизату здравих особа (корелација наших резултата и података из литературе).

Види се да су наши резултати нижи, односно да је веће смањење активности GSHPx у односу на литературне податке. Наши резултати указују на тенденцију опадања у односу на старост, док литературни подаци не указују на смањење активности GSHPx са годинама. Пошто оваквих података нема много, можемо претпоставити да је еколошки фактор значајан чинилац, те би требало узети далеко већи узорак из сличних еколошких регија.

У раду В. Ђорђевића и сарадника (22) доказано је да еритроцити хипертоничних болесника поседују мању активност селен зависне GSH-пероксидације у односу на контролну групу испитаника, док је активност селен независне GSH-пероксидазе еритроцита знатно већа у поређењу са контролним вредностима. Метода са кумолхидро-пероксидом коју смо ми користили за одређивање GSHPx редукује све три пероксидазе (селен зависну GSHPx, селен независну GSHPx и фосфолипид хидропероксид GSHPx), те би требало урадити и мерења активности различитих GSHPx.

У неким радовима се наводи значајан пораст GSHPx у еритроцитима код људи старости преко 60 година. (23)



Графикон 13. GSHPx код дијабетичара.

Радови који прате старосну зависност антиоксидантних ензима најбројнији су за мишчеве и пацове.

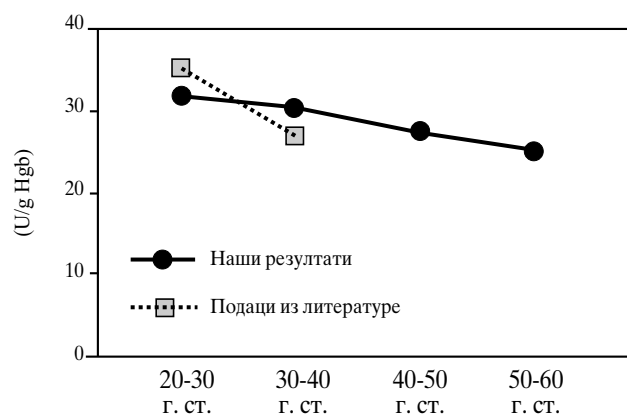
Код мужјака C57BL/65 мишева, активност глутатион пероксидазе опада у јетри, бубрезима и срцу за 53, 28 и 35% између 10. и 36. месеца живота.(15)

Код мужјака Fischer 344 пацова активност глутатион пероксидације у мозгу и јетри се не мења са старењем.(15)

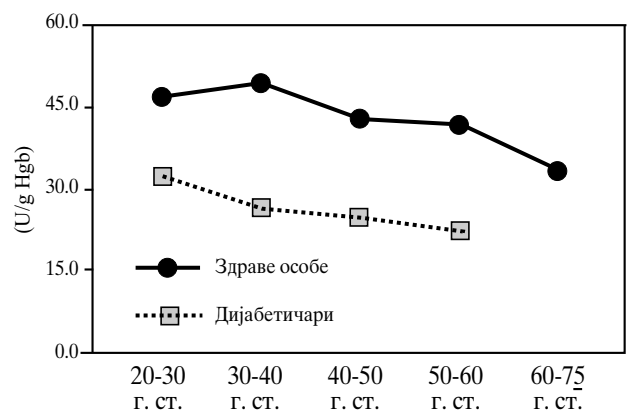
Активност глутатион пероксидазе у хемолизату код дијабетичара (тип I) приказана је на графикону 13. Наши подаци указују на опадање активности GSHPx код дијабетичара са старењем.

Активност еритроцитне GSHPx корелира са садржајем селена у еритроцитима тако да се може користити као индекс процене дефицитарности селена. Потребно је одредити и садржај селена код дијабетичара због саме болести и због лекова које користе. Смањен садржај GSH (опада са годинама) је један од фактора који утиче на смањену активност GSHPx или обрнуто.

Подаци из литературе указују да код пацијентата са повишеним крвним притиском долази до промене активности GSHPx, али да примена ACE инхибитора битније не мења ове резултате. Испитаници у нашим истраживањима су такође користили ове и неке друге лекове за повишен крвни притисак, што може, а не мора да утиче на резултате.(22)



Графикон 14. GSHPx у хемолизату дијабетичара (корелација наших резултата и података из литературе).



Графикон 15. Поређење GSHPx код дијабетичара и здравих људи.

Такође је познато да долази до промене активности GSHPx (Se зависне и Se независне) код ендемске нефропатије (региона Ниш), а пошто дијабетичари могу да имају поремећај бубрежне функције (и најчешће имају) то може да утиче на активност GSHPx.(24)

Корелација наших резултата са подацима из литературе приказана је на графикону 14.

Код дијабетичара се не запажа значајно опадање активности GSHPx са старењем, а ни у литератури нема података који би указали на то.(15,18,23)

Поређење вредности за активност глутатион пероксидазе код здравих људи и дијабетичара је дато на графикону 15.

Резултати које смо добили у истраживањима показују да су вредности добијене за GSHPx код дијабетичара значајно ниже у односу на здраве људе у свим групама, а долази до смањења активности у зависности од старости.

## ЗАКЉУЧАК

Улога слободних радикала у процесу старења је значајна, јер је доказано да дужина живота једне ћелије одређује стање митохондрија, за које знамо да су изузетно подложне оксидативној модификацији. Такође је познато да оксидативна модификација протеина у физиолошким условима диктира дужину живота протеина и попут најтачнијег часовника све протеине и ензиме води ка протеолитичкој разградњи-смрти.

Данас би требало да човек у свакодневном животу поведе више рачуна о оксидативном стресу и да барем путем хране, смањења уношења непотребних лекова, водећи рачуна о својој околини смањи деловање оксидативног стреса.

- Садржај GSH код здравих особа се не мења до 40 година, затим опада и задржава ту вредност до 60 година, да би после 60 година нагло опао.

- Садржај GSH је јако смањен код дијабетичара у односу на здраве особе и опада са староснућу.

- GR показује високу активност до 50 година старости код здравих особа, а затим опада.

- Активност GR се смањује са годинама и нема је у односу на здраве особе.

- GSHPx показује максималну активност у периоду 30-40 година код здравих особа, а затим активност GSHPx опада, да би после 60 године њена активност била знатно смањена.

- Активност GSHPx је нижа код дијабетичара у односу на здраве особе и опада са старењем.

- Корелација литературних података за GSH и GR и наших података показује релативно добро слагање.

- Корелацијом литературних података за активност GSHPx код здравих особа са нашим резултатима, добијамо да наше вредности више опадају са годинама.

Наше вредности одређивања GSHPx и GR, код дијабетичара веома добро корелирају са литературним подацима.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Free Radicals in Aging, Edited by Byung Pal Yu, CRC Press 1993.
2. Lloyd L. Ingraham, Damon L. Meyer.: Biochemistry of Dioxygen, Superoxide Ions, Biochemistry of the Elements, Plenum Press, New York and London, 1985, 4:45–73.
3. Barry Halliwell and John M.C.Gutteridge. Free radicals in biology and medicine, 2nd ed. Oxford University Press, New York, 1989, 207–237.
4. Kehrer, J.P.: Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease, Crit. Rev. Toxicol., 1993, 23(1):21–48.
5. Baynes, J.W.: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes, Diabetes 1991, 40:5–40.
6. Fritsch, B., Dieckmann, A., Menz, B., Wendel, A., Hempelmann, E., Fritsch, K.G., Stahl, W., Eisenbrand, G. Spira, D.T., Schirmer, H., Fritsch, G., Jung, A.: Glutathione and Peroxide Metabolism in Malaria Parasitized Erythrocytes, Oxygen free radicals and the Tissue Injury, B. Matkovics, D. Boda, H. Kalasz, (eds), Akademia Kiado, Budapest 1988, 397–406.
7. Powers, S.K., Hamilton, K. Antioxidants and Exercise, Clin in Sports Medicine, 1999, 18(3):525–535.
8. Glutathione, Ed. Flohe, L., Benohr, H.M., Sies, H., Waller, H.D., Wendel, A., Proceedings of the 16<sup>th</sup> Conference of the German Society of Biological Chemistry, 1973.
9. Beutler, E.: Glutathione Reductase, Glutathione, Proceedings of the 16<sup>th</sup> Conference of the German Society of Biological Chemistry, Tubingen, March 1973, 109–113.
10. Chiu, D.T., Stults, F.H., Tappel, A.L. Purification and properties of rat lung soluble glutathione peroxidase, Biochemica Biophysica Acta 1976, 445:558–566.
11. Majkić-Singh, N.T., Medicinska biohemija, DMBJ, 1994, 6:135.
12. Duthie, G.G., Robertson, J.D., Maughan, R.J., Morrice, P.C.: Blood Antioxidant Status and Erythrocyte Lipid Peroxidation following Distance Running, Arc. of Bioch. and Bioph., 1990, 282:78–83.
13. Jozwiak, Z., Jasnowska, B., Changes in oxygen-metabolising enzymes and lipid peroxidation in human erythrocytes as a function of age of donor, Mechanisms of Aging and Development, 1985, 32:77–83.
14. Scott, M.D., Eaton, J.W., Kuypers, F.A., Chiu, D.T., Lubin, B.H., Enhancement of Erythrocyte Superoxide Dismutase Activity: Effects on Cellular Oxidant Defence, Blood, Vol 74, 1989, 2542–2549.
15. Tolmasoff, J.M., Ono, T., Cutler, R.G. Superoxide dismutase: correlation with lifespan and specific metabolic rate in primate species, Proc, Natl, Acad. Sci. USA, 1980, 77, 2777.
16. Domingez, C., Ruiz, E., Gussinye, M., Carrascosa, A., Oxidative stress at onset and in early stages of type I diabetes in children and adolescents, Diabetes-care, 1998, 21(10):1736–42.
17. Ruiz, C., Alegria, A., Barbera, R., Farre, R., Lagarda, M.J.: Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients with tipe I diabetes mellitus, Scant J.Clin.Lab. Invest., 1999, 59(2):99-105.
18. Kedziora, K.Z., Luciak, M., Blaszczyk, J., Pawlak, N.: Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in erythrocytes of patients with non-insulinedependent diabetes with or without diabetic nephropathy, Nephrol. Diab. Transplant, 1998, 13(II):2829–32.
19. Ciuchi, E., Odetti, P., Praudo, R.: Relationship between glutathione and sorbitol concentrations in erythrocytes from diabetic patients, Metabolism, 1996, 45(5):611–3.
20. Stohs, S.J., El-Rashidy, E.H., Lawson, T., Kobayashi, R.H., Wulf, B.G., Potter, J.F., Changes in glytathione and glytathione metabolizing enzymes in human erythrocytes and limphocytes as a function of age donor, Age, 1984, 7:3–7.
21. Atalay, M., Laaksonen, D.E., Niskanen, L., Uusitupa, M., Hanninen, O., Sen, S.K., Altered antioxidant enzyme defences in insulin dependent diabetic men with increase resting and exercise-induced oxidative stress, Acta Physiol. Scand., 1997, 161(2): 195–201.
22. Đorđević B.V., Grubor-Lajšić G., Jovanović-Galović A., Pavlović D., Cvetković T., Pejović M., Lečić N.: Selenium-Dependent GSHPx in Erythrocytes of Patients with Hypertension Treated with ACE Inhibitors, J. Environ. Path. Tox. One., 1998, 17 (3&4) 1–3.
23. Cutler, R.G. Antioxidants and longevity of mammalian species, Molecular Biology of Aging, Plenum Press 1985, 77-40.
24. Grubor-Lajšić G., Đorđević V., Jovanović-Galović A., Lečić N., Đorđević V., Spasić M.: Selenium-Dependent and Selenium-Non-Dependent Glutathione Peroxidase in Patients with Balkan Endemic Nephropathy, J. Envir. Path. Tox. One., 1998, 17(3&4) 321–324.