

<https://doi.org/10.3176/phys.math.1975.3.09>

УДК 537.226+537.311.33 : 541.7

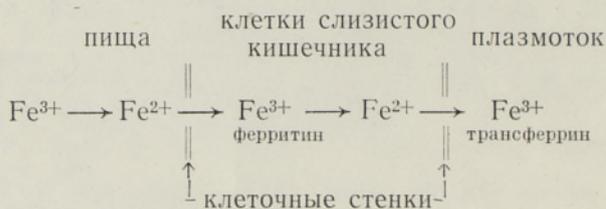
Р. РАУДСЕПП

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА С ГЛЮТАТИОНОМ ПРИ ПОМОЩИ ЭФФЕКТА МЭССБАУЭРА (ЯГР)

Введение

Трипептид глутатион (γ -глутамин-цистеил-глицин) является почти универсальной составной частью в биологических системах. Его физиологические функции основаны на реакциях $-\text{SH}$ группы цистеина. Он участвует в клеточных редокс-процессах [1], в процессах синтеза белка, обеспечивает устойчивость клеточных мембран против химических и оксидирующих агентов [2, 3], поддерживает многие ферменты в восстановленной форме [4]. Хотя поискам физиологических функций глутатиона посвящено много работ (см., напр., обзоры [5, 6]), тем не менее его роль в клетке до сих пор не вполне ясна.

Установлено, что в организм человека и животных железо поступает из клеток слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (прежде всего из слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки) [7, 8]. В процессе всасывания происходит, с помощью до сих пор не ясного механизма, последовательное изменение валентности железа:



Для выяснения возможного участия глутатиона в восстановлении трехвалентного железа исследовалось взаимодействие ионов Fe^{3+} с глутатионом при различных значениях рН среды и наличии некоторых аминокислот в реакционной среде.

Экспериментальная часть

Синтез образцов. Для приготовления раствора $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ использовалось металлическое железо, обогащенное изотопом ^{57}Fe до 80%. Маточный раствор $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ готовили растворением металлического железа в горячей 35%-ной перхлоровой кислоте (марки «х.ч.») и выпаривали до начала кристаллизации. Маточный раствор разбавляли дистиллированной водой до концентрации $4 \cdot 10^{-2}$ М (по Fe).

Глютатинон восстановленный (G—SH), глютатион окисированный (G—S—S—G), глицин (Gly), гистидин (His), серин (Ser) и тирозин (Tyr) использовались марки «Reanal» (ВНР).

Реакционные смеси готовили смешиванием растворов соответствующих веществ и немедленно замораживали жидким азотом в криостате. рН измеряемого раствора устанавливали прибавлением перхлоровой кислоты или бикарбоната натрия и измеряли с точностью до $\pm 0,1$ рН единиц с помощью рН-метра типа «Radelkis» ОР 201/1.

Методика исследования. ЯГР спектры ^{57}Fe замороженных растворов измерялись на спектрометре постоянного ускорения. Калибровка шкалы скоростей спектрометра проводилась поглотителем из металлического железа. Изомерные сдвиги даны относительно центра спектра нитропруссидата натрия ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Источником γ -квантов служил ^{57}Co в хроме при 295 К (активность источника ~ 5 мкюри). Для измерения спектров ЯГР поглотители (концентрация ^{57}Fe 0,35 мг/см²) помещали в пенопластовый криостат (рис. 1) и поддерживали при температуре 78 К.

Для стабилизации температуры и структуры замороженных растворов измерения начинали через 1 ч после вливания жидкого азота в криостат.

Обсуждение результатов

Типичные спектры исследованных систем изображены на рис. 2—4, а измеренные ЯГР параметры приведены в таблице.

Сопоставляя величины Δ и δ для ионов трехвалентного железа в растворах G—S—S—G, $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$; G—SH, $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ и $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ (при рН 2), можно видеть их совпадение. По данным работы [12], при рН 2 в растворе $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ железо находится в форме димерных ионов $[\text{Fe}_2(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_8]^{4+}$, где атомы железа связаны кислородными мостиками. Эти димерные ионы при конденсации образуют полимерные молекулы [13], в которых электронная структура железа очень близка к электронной структуре железа в димерных молекулах [14] (см. рис. 2).

Присутствие Fe^{2+} ионов в случае G—S—S—G, $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ и $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$, а также Fe^{3+} ионов в случае G—SH, $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ можно объяснить реакцией электронного обмена между ионами Fe^{3+} — Fe^{2+} [10].

Следует вывод, что при рН 2,0 комплексообразования железа с глютатином не происходит (хотя трехвалентное железо восстанавливается в случае G—SH) и что железо находится в формах двухвалентного комплекса $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2$, димерных ионов и в ряде полимерного $\text{FeO}(\text{OH})$.

При росте рН раствора до 8 в случае G—S—S—G доля полимерного $\text{FeO}(\text{OH})$ значительно увеличивается и в спектре ЯГР появляются следы магнитной сверхтонкой структуры (рис. 3). Для G—SH изменение состояния железа начинается при рН 7 и полностью завершается при рН 9 (рис. 4). Так как И. Деси с сотрудниками, исследуя растворы $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2$ и $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$ при различных значениях рН, установили [9, 11] независимость ЯГР параметров ионов двухвалентного железа от рН, то наблюдаемое явление можно объяснить изменением элект-

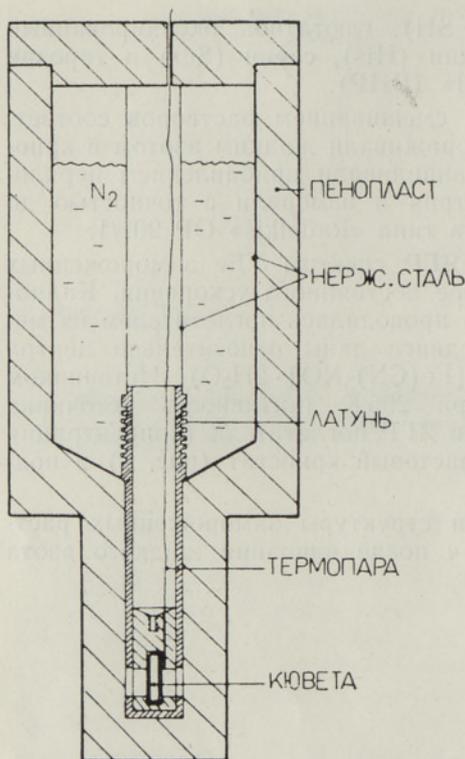


Рис. 1.

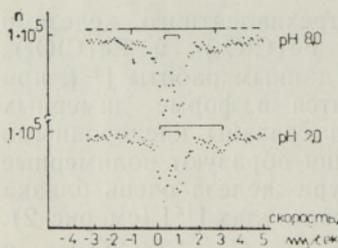


Рис. 3.

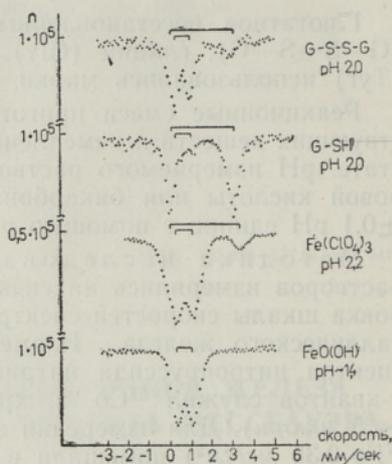


Рис. 2.

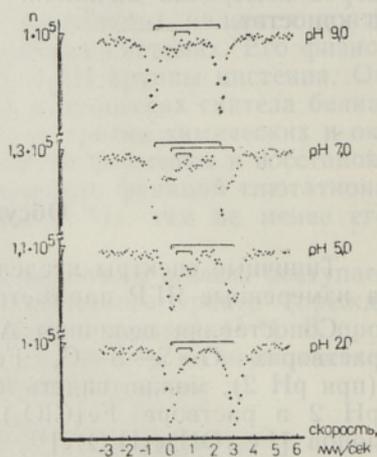


Рис. 4.

ронного состояния и ближайшего окружения ионов Fe^{2+} вследствие образования комплекса железо—глутатион ($\Delta = 3,18$ мм/сек; $\delta = 0,94$ мм/сек) с участием —SH групп [15, 16]. Одновременно в растворе присутствует незначительное количество трехвалентного железа с параметрами Δ и δ , характерными для полимерного $FeO(OH)$.

Сопоставляя изомерные сдвиги комплексов двухвалентного железа, где ионы железа связаны с кислородом ($\delta = 1,61$ мм/сек), и комплекса глутатион—железо ($\delta = 0,94$ мм/сек), можно видеть в последнем значительное увеличение электронной плотности на ядрах железа вследствие большей донорной способности атомов серы. Это находится в хорошем согласии с увеличением донорных способностей ионов в ряду: $O^{2-} < S^{2-} < Cl^-$.

Для выяснения влияния некоторых свободных аминокислот на комплексообразование железа с глутатионом составляли реакционные смеси восстановленного глутатиона и $Fe(ClO_4)_3$ с аминокислотами (при pH 3).

Таблица

Состав раствора	pH раствора	Изомерный сдвиг δ , мм/сек $\pm 0,05$	Квадрупольное расщепление Δ , мм/сек $\pm 0,05$	Величина резонансного эффекта ϵ , %
G—S—S—G, Fe(ClO ₄) ₃	2,0	1,65 0,73	3,09 0,70	1,5 5,8
"	8,0	0,80 0,69	4,02 0,75	0,9 8,0
G—S—S—G, FeO(OH)	2,0	1,65 0,76	3,09 0,70	1,2 4,3
G—SH, Fe(ClO ₄) ₃	2,0	1,65 0,71	3,09 0,70	7,8 0,9
"	5,0	1,60 0,71	2,94 0,70	4,5 1,3
"	7,0	0,99 1,69 0,71	3,27 3,04 0,75	4,9 1,5 0,9
"	9,0	0,94 0,71	3,18 0,75	7,4 0,8
G—SH, Fe(ClO ₄) ₃ , Gly	3,0	1,65 0,85	3,02 0,75	5,2 0,8
"	7,3	0,94 1,67 0,71	3,22 2,90 0,84	5,1 1,6 1,0
G—SH, Fe(ClO ₄) ₃ , His	3,0	1,67	3,13	10,5
"	8,0	0,99 1,51 0,67	3,32 3,13 0,89	9,7 1,9 1,9
G—SH, Fe(ClO ₄) ₃ , Ser	3,0	1,65 0,74	3,18 0,60	10,0 2,5
G—SH, Fe(ClO ₄) ₃ , Tyr	3,0	1,62 0,75	2,85 0,68	13,4 1,1
Gly, Fe(ClO ₄) ₃	3,0	1,70 0,73	2,60 0,79	4,7 14,3
His, Fe(ClO ₄) ₃	3,0	0,73	0,72	14,0
Ser, Fe(ClO ₄) ₃	3,0	0,74	0,59	8,1
Tyr, Fe(ClO ₄) ₃	3,0	0,75	0,72	15,6
FeO(OH)	14,0	0,73	0,68	33,1
Fe(ClO ₄) ₃ [9]	2,0	1,66 0,71	3,28 0,69	0,3 9,0
Fe(ClO ₄) ₂ [10, 11]	—	1,61	3,30	

Аминокислоты выбирались с учетом возможного их участия в комплексообразовании (глицин, серин, тирозин, гистидин). ЯГР параметры растворов этих аминокислот с Fe(ClO₄)₃ (рН 3) совпадают с параметрами кристаллических комплексов аминокислота—железо [17], состоящих из полимерного FeO(OH) и аминокислот. ЯГР спектры смесей G—SH, Fe(ClO₄)₃, аминокислота при низких значениях рН показали наличие двухвалентного железа с параметрами, характерными для высокоспинового комплекса Fe(ClO₄)₂, и трехвалентного высокоспинового железа в виде FeO(OH) — аналогично смеси G—SH, Fe(ClO₄)₃. Но при повышении рН до физиологических значений и выше (7,5—9) в спектрах появлялись сложные комбинации пиков с параметрами, ха-

рактёрными для высокоспиновых соединений Fe^{2+} и Fe^{3+} . Это указывает, по-видимому, на участие аминокислот в образовании ряда комплексов, помимо комплекса глутатион—железо.

На основе изложенного выше можно сделать вывод, что глутатион вполне способен участвовать в биологических процессах восстановления Fe^{3+} как при низких (2), так и при более высоких (9) значениях рН. Предварительное комплексообразование ($FeO(OH) +$ полимеры, $Fe +$ аминокислота и др.) не влияет на процесс восстановления. Представляется важным, что формирование комплекса глутатион—железо начинается с рН 7 и выше, обеспечивая тем самым свободный доступ другим связывающим железо агентам к восстановленным ионам железа при более низких значениях рН. Это явление может иметь решающее значение для всасывания железа из пищевого тракта, а также транспорта ионов железа через биомембраны клетки.

Для более детального обсуждения вопроса о транспорте железа нужны дальнейшие исследования в этом направлении.

В заключение выражаю благодарность Э. Реало и И. Яэку за ценные замечания при обсуждении результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kosower E. M., Kosower N. S., *Nature*, **224**, 117 (1969).
2. Glutathione (ed. by Colowick S., et al.), New York, 1954.
3. Кнох W. E., In: *The Enzymes* (ed. by Boyer P. D., et al.), New York, 1960, 2, 253.
4. Диксон М., Уэбб Э., *Ферменты*, М., 1966, с. 329.
5. Waley S. G., *Adv. Protein Chem.*, **21**, 1 (1966).
6. Crook E. M. (ed.), *Glutathione*, *Biochem. Soc., Sympos. No. 17*, Cambridge, 1959.
7. Belander M., Claveau R., St-Hilaire B., Brovencher B., *Laval. méd.*, **33**, No. 6, 436 (1962).
8. Ohkavara Y., Bamba M., Nakai J., Kinka Sh., Masuda M., *Gastroent.*, **44**, Nr. 5, 611 (1963).
9. Dézsi I., Vértes A., Komor M., *Inorg. Nucl. Chem. Lett.*, **4**, 649 (1968).
10. Komor M., Vértes A., Dézsi I., Ruff I., *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, **66**, Nr. 3, 285 (1970).
11. Dézsi I., Gorobchenko V. D., Lukachevich I. I., Vértes A., *Chem. Phys. Lett.*, **2**, 665 (1968).
12. Vértes A., Ranogajec-Komor M., Gelencsér P., *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, **77**, Nr. 1, 57 (1973).
13. Spiro T. G., Allerton S. A., Renner J., Terzis A., Bils R., Saltman P., *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 2721 (1966).
14. Lázár K., Horwath-Pardavi M., Vértes A., *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, **74**, Nr. 2, 163 (1972).
15. Perrin D. D., Watt A. E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **230**, Nr. 1, 96 (1971).
16. Sugiura Y., Tanaka H., *Biochem. and Biophys. Res. Comm.*, **46**, Nr. 2, 335 (1972).
17. Paudsepp P., Arro H., *Изв. АН ЭССР, Физ. Матем.*, **21**, 187 (1972).

*Институт физики
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
3/X 1974

R. RAUDSEPP

RAUA JA GLUTATIOONI KOOSMÖJU UURIMINE MÖSSBAUERI EFEKTI (TGR) ABIL

Mõõdeti külmutatud, erineva koostise ja pH-ga raua-glutatioonilahuste Mössbaueri (TGR) spektrid temperatuuril 78 K. Näidatakse, et glutatsioon võib osaleda bioloogilistes taandamisprotsessides ja moodustab kompleksi rauaga keskkonnas, mille pH > 7. Neil asjaoludel võib olla oluline tähtsus raua imendumises ja transportimises läbi biomembraanide.

