

Blazej Różga

**DYSMUTAZA PONADTLENKOWA,
KATALAZA I PEROKSYDAZA GLUTATIONOWA
W TRISOMICZNYCH FIBROBLASTACH LUDZKICH
Z HODOWLI *IN VITRO***

W pracy określano aktywność wewnątrzkomórkowych enzymów antyoksydacyjnych, dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i peroksydazy glutationowej w prawidłowych i trisomicznych fibroblastach ludzkich pochodzących z hodowli *in vitro*. Stwierdzono, że w komórkach aktywność dysmutazy ponadtlenkowej jest o około 50% wyższa w porównaniu z aktywnością tego enzymu w komórkach prawidłowych. W trisomicznych fibroblastach podwyższona jest o około 30% aktywność peroksydazy glutationowej, natomiast aktywność katalazy jest podobna do aktywności tego enzymu w komórkach prawidłowych.

1. WSTĘP

Fibroblasty, podobnie jak inne komórki, zawierają enzymy antyoksydacyjne, które znoszą skutki biologicznej redukcji tlenu. Aktywność tych enzymów uwarunkowana jest szeregiem różnorodnych czynników, między innymi zależy od typu tkanki, przynależności gatunkowej, wieku organizmu i warunków środowiskowych [18]. Podstawowymi enzymami uczestniczącymi w procesach ochrony komórki przed szkodliwym wpływem wolnych rodników są dysmutazy ponadtlenkowe, które w połączeniu z katalazą i peroksydazami tworzą kompleks enzymów antyoksydacyjnych, zabezpieczających komórki przed toksycznym działaniem tlenu.

Dysmutazy ponadtlenkowe są unikalnymi metaloproteinami zdolnymi do przeprowadzenia anionorodnika ponadtlenkowego w nadtlenek wodoru we wszystkich znanych komórkach organizmów aerobowych. Jednakże funkcjonalne znaczenie anionorodnika ponadtlenkowego jako współdziałającego czynnika w niektórych reakcjach biochemicznych nie jest pewne, a jego specyficzna toksyczność w przeciwieństwie do H_2O_2 i innych zredukowanych form tlenu dyskusyjna [8]. Sądzi się jednak [4, 11], że produkcja O_2^- *in vivo*, choć rzadka, ma duże znaczenie funkcjonalne w monocytach, neu-

trofilach, eozynofilach i w wielu typach makrofagów, będąc podstawą mechanizmu ich działania w organizmach. Postulowany bezpośredni udział tego rodnika [7, 2], generowanego podczas napromieniowania komórek, czy w reakcjach chemicznych towarzyszących procesom indukcji uszkodzeń, należy uznać za wątpliwy. Bardziej prawdopodobnym jest, że działa on pośrednio, głównie poprzez tworzenie w reakcji dysmutacji nadtlenu wodoru i następnie reakcja tego związku z metalami przejściowymi z wytworzeniem rodnika hydroksylowego [10, 11]. Duże biologiczne znaczenie mogą mieć również produkty reakcji peroksydacji związków organicznych występujących w komórce lub w płynach biologicznych. Sugerowano, że SOD może być naturalnym związkiem, którego poziom określa wrażliwość komórek na promieniowanie, lub związki chemiczne o wolnorodnikowym mechanizmie działania, kiedy generowany jest anionorodnik ponadtlenkowy, niezależnie od sposobu przemian, czy roli, jaką może on pełnić w komórce. Z tych powodów istnieje potrzeba ustalenia roli dysmutazy ponadtlenkowej w procesach detoksykacji nadtlenu, a ponieważ nie odkryto jeszcze w komórkach eukariotycznych genetycznego braku dysmutazy, komórki od pacjentów z zespołem Downa posiadające potrójny locus dla dysmutazy ponadtlenkowej stanowią doskonały model do badań występowania dysmutazy i jej udziału w metabolizmie tlenowym. Wydaje się, że dla prawidłowego przebiegu procesów ochronnych przeciwko stresowi oksydacyjnemu w komórkach jest istotny właściwy poziom aktywności wszystkich wewnątrzkomórkowych enzymów antyoksydacyjnych. Z tych względów określenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych takich jak: dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationowa i katalaza ma istotne znaczenie dla prawidłowej charakterystyki materiału badawczego w pracach nad metabolizmem tlenowym komórek.

W niniejszej pracy do badań wykorzystywano fibroblasty ludzkie uzyskane w jednowarstwowej hodowli *in vitro*. Komórki hodowane poza organizmem stanowią dogodny materiał do badań, z powodu ograniczonego wpływu czynników mających znaczenie *in vivo*, a także dzięki ujednoliceniu warunków środowiska i wyeliminowanie procesów ogólnoustrojowych.

2. MATERIAŁ I METODY

2.1. Materiał

Materiałem używanym do badań były fibroblasty człowieka uzyskane z jednowarstwowej hodowli *in vitro*. Komórki otrzymywano z hodowli pierwotnych założonych w Instytucie Genetyki Medycznej AMN Rosji w Moskwie, Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie i Katedrze Termobiologii

Uniwersytetu Łódzkiego w Łodzi. Po przepasażowaniu fibroblastów uzyskano linie komórkowe, które przechowywano w stanie zamrożonym w temperaturze -196°C , w roztworze surowicy cieplej z dodatkiem 4% DMSO. Komórki zamrażano obniżając temperaturę o 1°C na minutę do temperatury -50°C i ostatecznie umieszczając komórki w parach ciekłego azotu. Komórki przechowywano w Banku Komórek przy Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie.

Do badań wykorzystywano fibroblasty należący do 8 linii komórkowych pochodzących od zdrowych osób i od dawców z zespołem Downa, trisomicznych dla chromosomu nr 21. Kariotypy komórek określano na podstawie listów przewozowych, charakterystyk komórek w bankach komórek i tkanek lub oznaczeń wykonanych w Zakładzie Genetyki Medycznej AM w Łodzi.

Charakterystykę komórek przedstawiono w tab. 1, w której podano również źródło pochodzenia tych komórek.

Tabela 1

Linie fibroblastów ludzkich

Linia komórkowa	Komórki	Wiek dawcy	Kariotyp	Pochodzenie komórek
Komórki kontrolne				
B-2	skóry	7 miesięcy	46,XY	IGM
S-126	skóry	26 lat	46,XY	CZD
WA-1	skóry	16 lat	46,XX	KT
Komórki trisomiczne zespół Downa – DS				
B-1	skóry	10 miesięcy	47,XX,+21	IGM
T-74	płodu		47,XX,+21	CZD
T-107	płodu		47,XX,+21	CZD
T-155	płodu		47,XX,+21	CZD
S-158	skóry	18 lat	47,XY,+21	CZD

IMG – Instytut Genetyki Medycznej, Akademia Medycznych Nauk Rosji, Moskwa.

CZD – Centrum Zdrowia Dziecka, Warszawa.

KT – Katedra Termobiologii, Uniwersytet Łódzki, Łódź.

2.2. Metody

2.2.1. Hodowla komórek

Hodowlę fibroblastów prowadzono klasyczną techniką jednowarstwowych kultur komórek diploidalnych do osiągnięcia późnej fazy logarytmicznej w polistyrenowych naczyniach firmy Nunk, Dania. Komórki poszczególnych

linii po wyjęciu z par ciekłego azotu szybko rozmrażano i umieszczano w medium wzrostowym Eagle'a wzbogaconym 10% surowicą cielęcą, 10% hydrolizatem laktoalbuminy i dodatkiem gentamycyny w stężeniu $8 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ pożywki. Inkubację prowadzono w temperaturze 37°C , stężeniu CO_2 – 5% i wilgotności względnej – 100%, w inkubatorze Heraeus, Niemcy. Co 24 h dokonywano obserwacji mikroskopowych naczyń w celu kontroli wzrostu komórek.

Fibroblasty pobierano po dwukrotnym przemyciu kultur roztworem 0,9% NaCl i trypsynizacji roztworem 0,5% trypsyny w soli fizjologicznej. Uwolnione komórki zawieszano w roztworze medium wzrostowego lub roztworze PBS w zależności od późniejszego przeznaczenia, liczono w komorze Thoma i przygotowywano zawiesiny komórek wykorzystywane w dalszych pracach.

2.2.2. Oznaczenia enzymatyczne

2.2.2.1. Przygotowanie homogenatu komórkowego

Fibroblasty do oznaczeń aktywności enzymatycznych pobierano po dwukrotnym przemyciu kultur roztworem 0,9% NaCl i trypsynizacji roztworem 0,5% trypsyny w roztworze fizjologicznym. Uwolnione komórki zawieszano w roztworze medium wzrostowego, odwirowywano i przemycano trzykrotnie roztworem 0,9% NaCl każdorazowo odwirowując komórki przy $600 \times g$. Z osadu komórek przygotowywano zawiesiny fibroblastów w $5 \times 10^{-2} \text{ mol}/\text{dm}^3$ buforze fosforanowym o pH 7,0 o gęstości 10^7 komórek/ cm^3 , które zamrażano. Komórki lizowano, trzykrotnie zamrażając i rozmrażając zawiesinę, którą następnie homogenizowano w homogenizatorze Pottera. Preparat wirowano przy $2000 \times g$ przez 30 min., a następnie przy $110\,000 \times g$ przez 60 min. w celu usunięcia pozostałości błon plazmatycznych, które mogą wykazywać aktywność dysmutazową. Otrzymany cytosol używano bezpośrednio do oznaczeń enzymatycznych.

2.2.2.2. Oznaczanie aktywności dysmutazy nadtlenkowej (EC.1.15.1.1., oksydoreduktaza $\text{O}_2^- : \text{O}_2$)

Aktywność dysmutazy nadtlenkowej (SOD) oznaczano metodą opisaną przez Fridovicha i wsp. [6], w której anion nadtlenkowy jest generowany w układzie „ksantyna–oksydaza ksantynowa”. Detektorem O_2^- jest NBT. Zasada metody oparta jest na dwóch reakcjach. W pierwszej w wyniku działania oksydazy ksantynowej na ksantynę generowany jest rodnik ponad-

tlenkowy, NBT reagując z rodnikiem ponadtlenkowym przechodzi w niebiesko-granatowy barwnik formazanu, którego przyrost jest rejestrowany spektrofotometrycznie przy długości fali 540 nm. Dysmutaza ponadtlenkowa współzawodniczy z NBT o rodnik ponadtlenkowy i w ten sposób zahamowuje szybkość zaniku NBT. Ilość oksydazy ksantynowej dobierano w ten sposób, żeby w nieobecności SOD zmiana absorbancji wynosiła 0,020 jednostek/minutę. Jednostkę aktywności SOD zdefiniowano jako ilość enzymu, która o 50% obniża szybkość reakcji przejścia NBT w formazon.

2.2.2.3. Oznaczanie aktywności katalazy (EC.1.11.1.6, oksydoreduktaza $H_2O_2 : H_2O_2$)

Aktywność katalazy określano spektrofotometrycznie przez śledzenie rozpadu H_2O_2 przy długości fali 240 nm przez 2 minuty według metody podanej przez Aebiego [1]. Cystol do oznaczeń przygotowywano według metody opisanej w rozdziale 2.2.2.1, dodając dodatkowo do buforu fosforanowego o pH 7,0 roztwór Tritonu X-100 do stężenia 0,1%.

2.2.2.4. Oznaczanie aktywności peroksydazy glutationowej (EC.1.11.1.9, oksydoreduktaza GSH : H_2O_2)

Aktywność enzymu oznaczano metodą Hopkinsa [13], która polega na pomiarze utleniania NADPH sprzęgniętego z redukcją GSSH przez reduktazę glutationową. Zmiany stężenia NADPH mierzono przy 340 nm przez 5 minut. Aktywność enzymu wyrażano w μ molach utlenionego NADPH₂ na mg białka.

2.2.2.5. Oznaczanie białka całkowitego

Białko w homogenatach oznaczano metodą Lowry'ego i wsp. [16], jako wzorca używano frakcji V albuminy wołowej. Wszystkie aktywności enzymatyczne przeliczano na miligram białka.

3. WYNIKI

Dla określenia roli enzymów antyoksydacyjnych, głównie dysmutazy ponadtlenkowej, w ochronie komórek przed wolnorodnikowymi produktami

działania promieniowania czy związków chemicznych określano zdolność fibroblastów do enzymatycznego zmiatania rodnika ponadtlenkowego przez dysmutazę ponadtlenkową oraz rozkładu H_2O_2 przez katalazę i peroksydazę glutationową.

W cytosolu prawidłowych i trisomicznych fibroblastów skóry i tkanki płodu określano sumaryczną aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i peroksydazy glutationowej. Tabela 2 przedstawia wyniki pomiarów aktywności dysmutaz w trzech liniach komórek prawidłowych i pięciu liniach komórek trisomicznych.

Tabela 2

Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w fibroblastach ludzkich [U/mg białka]

Komórki prawidłowe				Komórki trisomiczne			
	$\bar{x}$	s	n		$\bar{x}$	s	n
B-2	2,6	0,4	15	B-1	4,2	0,3	15
S-126	2,8	0,3	6	T-74	3,5	0,5	10
WA-1	2,8	0,3	4	T-107	4,0	0,3	12
				T-155	4,3	0,5	3
				T-158	4,2	0,3	3
$\bar{x} \pm SD$	2,7	0,2	25		4,0	0,3	43
test Studenta	$\alpha < 0,05$						

W komórkach trisomicznych stwierdzono wyższe o około 48% aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Wykazane różnice były istotne statystycznie przy poziomie istotności $\alpha < 0,05$. W tab. 3 przedstawiono oznaczenia aktywności katalazy w porównywanych komórkach. Wobec trudności w prawidłowym określeniu stężenia nadtlenu wodoru, aktywności katalazy przedstawiono jako stałe szybkości reakcji w przeliczeniu na miligram białka zawartego w cytosolu. Stwierdzono, że w porównywanych komórkach aktywności katalazy są zbliżone, a występujące niewielkie różnice nie są istotne statystycznie.

Przebadano, czy aktywności w cytosolu peroksydazy glutationu zależnej od selenu nie różnią się w porównywanych komórkach. Wyniki przedstawiono w tab. 4.

Na podstawie porównania wyników oznaczeń zamieszczonych w tab. 4 stwierdzono, że aktywność peroksydazy glutationu jest w trisomicznych komórkach o około 35% wyższa niż w komórkach o prawidłowym kariotypie. Stwierdzone różnice były istotne statystycznie.

Tabela 3

Aktywność katalazy w fibroblastach ludzkich [k (1/s)/mg białka]

Komórki prawidłowe				Komórki trisomiczne			
	$\bar{x}$	s	n		$\bar{x}$	s	n
B-2	0,043	0,002	15	B-1	0,047	0,002	15
S-126	0,050	0,005	6	T-74	0,036	0,006	10
WA-1	0,048	0,004	3	T-107	0,041	0,002	12
				T-155	0,043	0,005	3
				T-158	0,045	0,004	3
$\bar{x} \pm SD$	0,047	0,004	24		0,043	0,004	43
test Studenta	n.s.						

n.s. – różnice nieistotne statystycznie przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Tabela 4

Aktywność peroksydazy glutationowej w fibroblastach ludzkich
[nmol NADP/min $\times$ mg białka]

Komórki prawidłowe				Komórki trisomiczne			
	$\bar{x}$	s	n		$\bar{x}$	s	n
B-2	13,6	0,6	4	B-1	18,5	1,2	15
S-126	14,0	0,3	4	T-74	17,8	0,8	10
WA-1	12,8	0,4	3	T-107	18,4	2,0	12
				T-155	19,0	1,5	3
				T-158	17,9	2,3	3
$\bar{x} \pm SD$	13,5	0,4	11		18,3	1,7	43
test Studenta	$\alpha < 0,05$						

4. DYSKUSJA

Z uzyskanych danych wynika, że aktywność dysmutazy ponadtlenkowej była o około 50% wyższa w trisomicznych fibroblastach niż w komórkach o prawidłowym kariotypie. Uzyskane w tej pracy wyniki są zgodne z wynikami otrzymanymi wcześniej [25] (a także szereg innych autorów dla różnych typów komórek [8, 14, 15, 18, 20, 24]) i potwierdzają fakt znaczenia efektu dawki genu dla dysmutazy ponadtlenkowej SOD-1, genu zlokalizowanego w tzw. rejonie zespołu Downa w chromosomie nr 21. Podobny mechanizm działania genów związanych z „nadprodukcją CuZnSOD”, pomocny w zrozumieniu etiologii zespołu Downa, zaobserwowano na zwierzęcych modelach

zespołu Downa, szczególnie u myszy, w których genomie w chromosomie nr 16 występuje gen warunkujący powstawanie Cu/Zn SOD. Gen ten zlokalizowany jest w regionie (MMU-16) i jest on podobny strukturalnie do „regionu zespołu Downa” w ludzkim chromosomie nr 21 [23]. Identyfikacja efektu dawki dla tego genu obserwowano w wielu różnych komórkach i typach tkanek, co umożliwia badanie antyoksydacyjnej roli dysmutazy ponadtlenkowej w ochronie przed uszkodzeniami wywołanymi przez wolne rodniki tlenowe i inne aktywne formy tlenu. Również u transgenicznym myszy z ludzkim genem dla Cu/Zn dysmutazy ponadtlenkowej (hSOD) [23], po wcześniejszym jego sklonowaniu i wprowadzeniu do mysich komórek metodą transfekcji, obserwowano podobne efekty działania genu dla SOD-1. [5, 12, 22].

Porównując aktywność katalazy, której locus zlokalizowany jest w chromosomie nr 11, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w aktywnościach tego enzymu między porównywanymi fibroblastami. Podobne rezultaty otrzymano podczas badań nad aktywnością katalazy w różnych trisomicznych komórkach. Nie obserwowano różnic w aktywności katalazy w erytrocytach [9, 18, 20], fibroblastach [17, 21], leukocytach [17]. Szereg autorów sugeruje, że zwiększona aktywność dysmutazy ponadtlenkowej powoduje wzrost stężenia H_2O_2 w komórce, a tym samym wzmacnia peroksydację związków organicznych, głównie lipidów [3, 18]. Proces ten powinien wywołać efekt adaptacyjny w komórce i wzrost poziomu enzymów uczestniczących w rozkładzie nadtlenu wodoru. Efektu tego nie obserwuje się dla katalazy w trisomicznych komórkach, w których stwierdza się wzrost aktywności SOD-1 [3, 5, 12].

W przeciwieństwie do katalazy, w niniejszej pracy obserwowano znaczący wzrost aktywności peroksydazy glutationowej w pięciu liniach trisomicznych fibroblastów komórkowych w porównaniu z fibroblastami od osób o prawidłowym kariotypie. Wzrost aktywności peroksydazy glutationowej enzymu, który nie jest kodowany na chromosomie nr 21, był stwierdzony także wcześniej przez innych badaczy: w erytrocytach [15, 18, 20, 25], komórkach limfoidalnych [8] i fibroblastach skóry [17]. Natomiast nie obserwowano wzrostu aktywności tego enzymu w płodowej tkance tłuszczowej mózgu [3]. Indukcja peroksydazy glutationowej w komórkach trisomicznych dla chromosomu nr 21, której locus jest zlokalizowany w chromosomie nr 6, nie wynika z efektu dawki genu, lecz prawdopodobnie związana jest z efektem adaptacyjnym wynikającym ze wzrostu stresu oksydacyjnego w organizmach z zespołem Downa [11, 18]. Na podstawie przedstawionych obserwacji nasuwa się pewna interpretacja związana z poziomem wymienionych trzech enzymów antyoksydacyjnych w komórkach od osób z zespołem Downa. Z jednej strony występuje w nich zwiększony

poziom dysmutazy ponadtlenkowej wykazującej efekt ochronny poprzez zmiatanie rodników tlenowych w komórce. Z drugiej strony zaś działanie tego enzymu poprzez wytwarzanie dużych ilości nadtlenu wodoru powoduje wzrost reakcji utleniania, wzrost stresu tlenowego w tych komórkach. Sądzić należy więc, że poziom wywołanych stresem tlenowym uszkodzeń w komórkach od osób z zespołem Downa zależy od wzajemnego stosunku tych enzymów.

Parametrem, który mógłby charakteryzować komórki pod względem ich oporności na stres tlenowy, może być stosunek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej do aktywności katalazy i peroksydazy glutationowej [SOD/KAT + GSH-Px]. Wzrost wartości tego stosunku w komórkach trisomicznych dla chromosomu 21 od osób z zespołem Downa w porównaniu do jego wartości w komórkach prawidłowych, może świadczyć o obniżeniu ochronnych antyoksydacyjnych właściwości kompleksów enzymatycznych w tych komórkach i potencjalnie podwyższonym poziomie molekularnych uszkodzeń indukowanych wolnymi rodnikami tlenowymi. Parametr ten może mieć charakter uniwersalny i służyć do oceny potencjału antyoksydacyjnego komórek lub organizmów.

5. BIBLIOGRAFIA

- [1] Aebi H. (1984), *Methods Enzymol.* (H. U. Bergmeyer, ed., Academic Press, New York, London), **105**, 121–126.
- [2] Birnboim H. C. (1988), *A superoxide anion induced DNA strand-break metabolic pathway in human leukocytes: Effects of vanadate*, *Biochem. Cell Biol.*, **66**, 374–384.
- [3] Brooksbank B. W. L., Balazs R. (1984), *Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and lipoperoxidation in Down's syndrome fetal brain*, *Dev. Brain Res.*, **16**, 37–44.
- [4] Curnutte J. T., Babior B. M. (1987), *Chronic granulomatous disease*, *Adv. Human Genet.*, **16**, 229–245.
- [5] Eltay-Stein O. Y., Bernstein Y., Groner Y. (1987), *Reduced oxygen species, mutation, induction and cancer initiation*, *Mut. Res.*, **186**, 43–72.
- [6] Fridovich I. (1976), *Oxygen radicals, hydrogen peroxide and oxygen toxicity*, [in:] *Free Radicals in Biology* (W. A. Pryor, ed.), New York, Academic Press, 239.
- [7] Fridovich I. (1978), *The biology of oxygen radicals*, *Science*, **201**, 875–880.
- [8] Frischer H., Chu L. K., Ahmed T., Justice P., Smith G. F. (1981), *Superoxide dismutase and glutathione peroxidase abnormalities in erythrocytes and lymphoid cells in Down syndrome*, [in:] *The Red Cell: fifth Ann Arbor Conference*, 269–283.
- [9] Guemouri L., Artur Y., Herbeth B., Jeandel C., Cuny G., Siest G. (1991), *Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood*, *Clin. Chem.*, **37**, 1932–1937.
- [10] Halliwell B., Aruoma O. (1991), *DNA damage by oxygen-derived species: Its mechanism and measurement in mammalian systems*, *FEBS Lett.*, **281**, 9–19.

- [11] Halliwell B. (1991), *Drug antioxidant effects: a basis for drug selection?* *Drugs*, **42**, 569–605.
- [12] Holtzman D. M., Epstein C. J. (1992), *The molecular genetics of Down syndrome*, [in:] *Molecular Genetic Medicine*, vol. 2 (T. Friedmann ed.), Academic Press, San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, 105–120.
- [13] Hopkins J., Tudhope G. R. (1973), *Glutathione peroxidase in human red cells in health and disease*, *Br. J. Haematol.*, **25**, 563–575.
- [14] Kędziora J., Bartosz G., Leyko W., Rożynkova D. (1979), *Dismutase activity in translocation trisomy*, *Lancet*, **13**, 105.
- [15] Kędziora J., Łukaszewicz R., Kotler M., Bartosz G., Pawłowska B., Aitken D. (1982), *Red blood cell glutathione peroxidase in simply trisomy 21 and translocation 21/22*, *Experientia*, **38**, 543–544.
- [16] Lowry O. H., Rosebrough W. J., Farr A. L., Randall R. J. (1951), *Protein measurement with the Folin phenol reagent*, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265–275.
- [17] Marklund S. L. (1984), *Extracellular superoxide dismutase and other superoxide dismutase isoenzymes in tissues from nine mammalian species*, *Biochem. J.*, **222**, 649–655.
- [18] Marklund S. L. (1986), *Superoxide dismutase in human tissues, cells and extracellular fluids: clinical implications*, [in:] *Free Radicals, Aging and Degenerative Diseases*, Alan R. Liss, New York, 509–526.
- [19] Marklund S. L., Midander I., Westman G. (1984), *CuZn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in glutathione-deficient human fibroblasts*, *Biochem. Biophys. Acta*, **798**, 302–305.
- [20] Percy M. E., Dalton A. J., Markovic V. D., Crapper McLachlan D. R., Hummel J. T., Rusk A. C. M., Andrews D. F. (1990), *Red cell superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in Down syndrome patients with and without manifestations of Alzheimer disease*, *Am. J. Med. Genet.*, **35**, 459–467.
- [21] Rózga B. (1992), *Pojedyncze pęknięcia DNA fibroblastów od osób z zespołem Downa*, *Acta Univ. Lodz., Folia Biochim. Biophys.*, **9**, 141–149.
- [22] Schwaiger H., Weisich H. G., Brunner D., Rass Ch., Hirsch-Kauffmann M., Groner Y., Schweiger M. (1989), *Radiation sensitivity of Down's syndrome fibroblasts might be due to overexpressed Cu/Zn-superoxide dismutase (EC 1.15.1.1)*, *Eur. J. Cell Biol.*, **48**, 79–87.
- [23] Searle A. G., Peters J., Lyon M. F., Hall J. G., Evans E. P., Edwards J. H., Buckle V. J. (1989), *Chromosome maps of mouse and man*, *Ann. Human Genet.*, **53**, 89–140.
- [24] Sinet P. M. (1982), *Metabolism of oxygen derivations in Down's syndrome*, *Ann. NY Acad. Sci.*, **39b**, 83–94.
- [25] Sinet P. M., Michelson A. M., Bazin A., Lejeune J., Jerome H. (1975), *Increase in glutathione activity in erythrocytes from trisomy 21 subjects*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **67**, 910–915.

Wpłynęło do Redakcji
„Folia biochimica et biophysica”
20.09.1996

Katedra Termobiologii
Uniwersytetu Łódzkiego

Błażej Różga

**ACTIVITY OF SUPEROXIDE DISMUTASE,
CATALASE AND GLUTATHIONE PEROXIDASE
IN HUMAN TRISOMIC FIBROBLASTS FROM *IN VITRO* CULTURE**

The activities of intercellular antioxidative enzymes: superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase were estimated in control and trisomic human fibroblasts in culture. It was found that in trisomic cells the activity of SOD is approximately 50% higher than in control cells. The activity of glutathione peroxidase is increased by 30% in trisomic fibroblasts, whereas catalase activity is similar in both types of cells.

