

8. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stocks [et al.] // Clin. Science and Mol. Med. – 1974. – Vol. 47. – P. 215–222.

ВОЗМОЖНОСТИ МОДУЛИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА И ЕЕ РЕДОКС-ПОТЕНЦИАЛА В ЦНС В УСЛОВИЯХ СЕКВЕСТИРОВАНИЯ УНИВЕРСАЛЬНОГО КОФАКТОРА МЕТАБОЛИЗМА

**Семенович Д.С., Омелянчик С.Н., Бородина Т.А., Шляхтун А.Г.,
Сатановская В.И., Кондыба Н.И., Гуринович В.А., Пронько П.С.,
Мойсеёнок А.Г.**

*ГП «Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», Гродно, Беларусь*

Редокс-потенциал клеточных и тканевых систем приобретает роль ключевого биофизического фактора, регулирующего процессы иницирования и генерализации воспалительных реакций, клеточной адгезии, пролиферации и дифференциации клеток и их соотношения с развитием и степенью выраженности окислительного стресса [1, 2]. Объем окислительно-восстановительных реакций значительно превосходит сопровождающиеся двуэлектронным переносом, что с учетом массива тиол-дисульфидных превращений различного уровня (прежде всего, опосредованных системой глутатиона и редокс-парой цистеин-цистин) объясняет широкий спектр редокс-чувствительных биообъектов и физиолого-биохимический феномен редокс-сигналирования. Число редокс-зависимых элементов функционирования и защиты нейронов исключительно велико, что позволяет формировать гипотезу о редокс-опосредованности важнейших нейродегенеративных синдромов [3, 4]. Впервые выявленный генетически детерминированный синдром нейродегенерации обусловлен дефектом биосинтеза кофермента А (КоА) – универсального кофактора более 100 метаболических реакций, среди которых образование ацетилхолина из ацил-КоА, рассматриваемого в качестве вторичного мессенджера [5]. Наконец, получил признание и стал экспериментальной технологией феномен «секвестирования КоА», т.е. образование неметаболизируемых ацил-КоА т.н. CASTOR (Coenzyme A sequestration, toxicity or redistribution), что с учетом редокс-свойств системы биосинтеза КоА и его роли в стабилизации внутриклеточного глутатиона

татона открывает новые возможности для модулирования редокс-зависимых реакций при экстремальных и патологических состояниях организма [4].

Осуществлено моделирование сочетанного интоксикационно-дисметаболического синдрома на белых крысах посредством субхронической алкогольной интоксикации с развитием алкогольной зависимости и применения вальпроевой кислоты «секвестрирующей» свободный КоА в форму вальпроил-КоА и блокирующей редокс-трансформацию $\text{CoA} \leftrightarrow \text{CoASSCoA}$ (КоASS-глутатион) и, вероятно, обратимое превращение глутатиона (GSH) и его дисульфидной формы (GSSG). Избыточное образование из алкоголя ацетальдегида в алкогольдегидрогеназной (АДГ) реакции и последующее окисление в альдегиддегидрогеназной (АлДГ) реакции в ацетат и, далее, в ацетил-КоА позволяют обосновать гипотезу о возможности в дисметаболической ситуации модулировать систему глутатиона и его редокс-статус в ЦНС как сочетанным применением алкоголя и «секвестатора», так и применением на этом фоне ксенобиотического предшественника КоА – D-пантенола, являющегося субстратом АДГ с высоким родством к ферменту.

Форсированная алкогольная интоксикация (АИ) по Majchrowicz в модификации Е.Б. Тезикова (1991) осуществлена на половозрелых крысах-самках с начальной дозой этанола 5,0 г/кг внутрижелудочно и в течение последующих 4 суток в дозах от 1 до 5 г/кг в зависимости от индивидуальной переносимости. Одновременно с этанолом назначали вальпроат натрия в дозе 200 мг/кг/сутки или его композицию с D-пантенолом в дозе 400 мг/кг/сутки. Показатели системы КоА, глутатиона и активность ферментов метаболизма этанола исследовали в больших полушариях мозга используя верифицированные методы исследования и цитированные ранее.

Установлено, что в ЦНС алкоголизованных крыс происходит увеличение фракций кислоторастворимого КоА (КРКоА), что соответствует возросшему массиву метаболизма ацетата без его трансформации в длинноцепочечные ацил-КоА. Однако на фоне вальпроата наблюдается секвестирование свободной фракции кофермента, что обусловило падение КРКоА. Дополнительное назначение D-пантенола (ПЛ) предупреждало эффект «секвестирования».

Подтверждены ранее известные для АИ проявления активации системы глутатиона при использовании неспецифического метода анализа (с нитробензоатом): увеличение GSH, GSSG, GSH+GSSG со значительной активацией глутатионредуктазы (ГР) и глутатионтрансферазы (ГТ). Эта активация практически нивелировалась при назначении вальпроата

или его композиции с ПЛ. В отличие от эффекта этанола, в последних 2-х группах падало соотношение небелковых SH/SS групп, тогда как соотношение этих групп в белках больших полушарий мозга существенно возрастало. При этом выявлено нарастание процесса S-глутатионилирования белков не подвергшееся воздействию только АИ. На основании расчетных данных исходя из соотношения GSH/GSSG и $E_0 = -240$ мВ величина редокс-потенциала (E_h) глутатиона увеличилась с $-264,0 \pm 2,8$ (контроль) до $-268,5 \pm 2,0$ (АИ) мВ. Возвращение показателя к нормальным значениям отмечено в группах с назначением вальпроата.

Дополнительное исследование фракций глутатиона с использованием глутатионредуктазного метода и модифицированного способа пробоподготовки выявило иную направленность изменения соотношения фракций и редокс-показателя. Установлено, что при АИ уровень GSH в ЦНС двукратно снижается при аналогичном возрастании GSSG и практически 4-х кратном падении соотношения GSH/GSSG. Степень модулирования показателей возрастает при композиции вальпроата с ПЛ. Величина E_h значительно снижена до -248 ± 5 мВ (-322 ± 3 мВ – контроль) возростала до -308 ± 2 мВ в группе сочетанного применения вальпроата и ПЛ.

На фоне развития интоксикационно-дисметаболического синдрома в организме подопытных животных активность ферментов метаболизма этанола оставалась практически стабильной, что показали результаты их исследования в печени за исключением группы с назначением ПЛ, где выявлен значительный рост активности АлДГ с высокой Км и АДГ. Активность первого фермента в ЦНС, напротив, снижалась в группах, подвергнутых «секвестированию» КоА и имеющих увеличенный редокс-потенциал глутатиона и нарушенный тиол-дисульфидный метаболический статус.

Литература

1. Мартинович, Г.Г. Редокс-регуляция клеточной активности: концепции и механизмы / Г.Г. Мартинович [и др.] // Весці Нац. Акад. навук Бел. Сер. біял. навук. – 2013. – № 1. – С. 92–108.
2. Мартинович, Г.Г. Окислительно-восстановительные процессы в клетках / Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич. – Мн.: БГУ, 2008. – 155 с.
3. Chiurchiù, V. Is Modulation of Oxidative Stress an Answer? The State of the Art of Redox Therapeutic Actions in Neurodegenerative Diseases / V. Chiurchiù, A. Orlacchio, M. Maccarrone // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 1–11.

4. Hereditary and acquired diseases of acyl-coenzyme A metabolism / G.A. Mitchell [et al.] // Mol. Genet. Metab. – 2008. – Vol. 94. – P. 4–15.
5. Acetyl coenzyme A: a central metabolite and second messenger / F. Pietrocola [et al.] // Cel. Metab. – 2015. – Vol. 21. – P. 805–821.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АМИЛОИДНЫХ СТРУКТУР И ИОНОВ СВИНЦА

**Скоробогатова А.С., Зубрицкая Г.П., Лукьяненко Л.М.,
Слобожанина Е.И.**

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь*

Как известно, ряд веществ различной структуры, в том числе и металлы, могут вызывать генерацию активных форм кислорода (АФК) в клетках, в том числе и в эритроцитах. При этом в организме человека постоянно функционирует система антиоксидантной защиты, которая компенсирует активность процессов радикалообразования и поддерживает изначально низкий уровень АФК. При патологических состояниях или действии на клетки различных агентов (металлы, избыток кислорода и др.) возникает дисбаланс между активностью ферментов антиоксидантной защиты и генерацией АФК, что может привести к развитию окислительного стресса. На эритроцитах крыс было показано, что *in vitro* воздействие А β -амилоида приводит к снижению активности ферментов антиоксидантной системы [1]. С другой стороны, известно, что ионы свинца могут индуцировать образование АФК в эритроцитах путем взаимодействия с оксигемоглобином и последующим перекисным окислением мембран; свинец способен изменять активность ферментов антиоксидантной защиты, а также концентрацию в клетках низкомолекулярных антиоксидантов [2].

С целью выявления эффектов сочетанного воздействия амилоидных структур и ионов токсичных металлов на эритроциты в данной работе изучено образование АФК в суспензии эритроцитов человека при воздействии на них зрелых фибрилл лизоцима в сочетании с ацетатом свинца в концентрации 7,5 мкМ. Для моделирования развития окислительного стресса в эритроцитах была использована третбутилгидроперекись (ТВН).