

сдвигает редокс-состояние тиолов в сторону образования дисульфидной формы, что соответствует открытию поры, а HOCl модифицирует тиольные группы, предотвращая образование дисульфида и открытие поры.

## **РОЛЬ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ГЛУТАТИОНОМ В ЗАЩИТЕ ЭРИТРОЦИТОВ ОТ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ИНИЦИИРОВАННОГО ХЛОРНОВАТИСТОЙ КИСЛОТОЙ**

**Григорьева Д.В.<sup>1</sup>, Горудко И.В.<sup>1</sup>, Терехова М.С.<sup>1</sup>, Шамова Е.В.<sup>1</sup>,  
Панасенко О.М.<sup>2</sup>, Шумаев К.Б.<sup>3</sup>, Ванин А.Ф.<sup>4</sup>, Черенкевич С.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

<sup>2</sup>*ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической  
медицины ФМБА», Москва, Россия*

<sup>3</sup>*Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский  
центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

<sup>4</sup>*Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия*

Одним из наиболее важных молекулярных предшественников свободных радикалов в организме является хлорноватистая кислота (HOCl), образующаяся в реакциях, катализируемых, главным образом, ферментом азурофильных гранул нейтрофилов – миелопероксидазой. HOCl, являясь сильным окислителем, играет важную роль в уничтожении патогенов. Однако, благодаря повышенной реакционной способности, HOCl реагирует со многими биологически важными молекулами, оказывая цитотоксический эффект и инициируя развитие целого ряда социально-значимых заболеваний, сопряженных с окислительным/галогенирующим стрессом и воспалительной реакцией организма [1]. Эритроциты крови человека широко используются как модельная система для изучения механизмов опосредованного нейтрофилами повреждения клеток. В настоящее время хорошо изучены механизмы повреждающего действия гипогалоидных кислот на эритроциты, в результате которого изменяются свойства плазматической мембраны клеток, что ведет к ухудшению деформируемости эритроцитов и гемолизу по коллоидно-осмотическому механизму [2]. В связи с этим актуальным является поиск соединений, способных нейтрализовать цитотоксические эффекты гипогалоидных кислот. Динитрозильные комплексы железа с глутатионовыми лигандами (ДНКЖ) образуются в

организме человека и животных в качестве стабильных доноров NO – важного физиологического мессенджера, выполняющего функции одного из универсальных регуляторов биохимических и физиологических процессов. К настоящему времени показано, что синтезированные химическим путем парамагнитные низкомолекулярные ДНКЖ с глутатионом при введении в кровь вызывают длительную гипотензию у животных, эффективно расслабляют изолированные кровеносные сосуды, заметно снижают зону инфаркта на изолированном сердце, а также ускоряют заживление кожных ран у животных [3]. Ранее нами было показано, что ДНКЖ в низких (микромольных) концентрациях замедляют детергент-индуцированный гемолиз эритроцитов и снижают модуль упругости данных клеток [4]. Поскольку в условиях окислительного/галогенирующего стресса ДНКЖ могут выступать в качестве антиоксиданта, важным представляется исследование способности ДНКЖ защищать эритроциты от HOSCl-инициируемого гемолиза.

Эритроциты выделяли из донорской крови путем отмывания центрифугированием в фосфатно-солевом буфере (ФСБ), содержащем 10 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 137 мМ  $\text{NaCl}$ , 2,7 мМ  $\text{KCl}$  (рН 7,4). Гемолиз эритроцитов инициировали путем внесения HOSCl (0,1 – 1 мМ) в суспензию эритроцитов в ФСБ, содержащем 1 мМ  $\text{CaCl}_2$ , 0,5 мМ  $\text{MgCl}_2$  (оптическая плотность на длине волны 670 нм не превышала 0,7). Кинетику гемолиза изучали с применением компьютеризированного спектрофотометра РВ 2201 (СОЛАР, Минск, Беларусь), регистрируя изменение оптической плотности клеточных суспензий при 670 нм ( $D_{670}$ ), 37 °С и постоянном перемешивании. Для количественной оценки процесса HOSCl-индуцированного гемолиза эритроцитов использовали скорость гемолиза, которую определяли как тангенс угла наклона линейного участка кинетической кривой изменения оптической плотности при 670 нм.

На рис. 1, а приведены типичные кинетические кривые HOSCl-индуцированного гемолиза эритроцитов в отсутствие и в присутствии различных концентраций ДНКЖ. Видно, что предварительная обработка эритроцитов ДНКЖ увеличивала устойчивость эритроцитов к HOSCl. По мере увеличения концентрации ДНКЖ в суспензии эритроцитов скорость HOSCl-индуцированного гемолиза снижалась, при концентрации ДНКЖ, равной 50 мкМ, наблюдалось полное ингибирование гемолиза (рис. 1, б). Учитывая тот факт, что в состав одной молекулы ДНКЖ входят две молекулы глутатиона, являющегося мощным антиоксидантом и перехватчиком HOSCl, далее нами было исследовано, обусловлен ли защитный эффект ДНКЖ реакцией глутатиона с HOSCl. На рис. 1, б представлены данные по

влиянию глутатиона на NOCl-индуцированный лизис эритроцитов. Выявлено, что достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение устойчивости клеток к лизису в присутствии NOCl регистрировалось лишь при добавлении глутатиона в концентрации выше 5 мкМ (рис. 1, б).

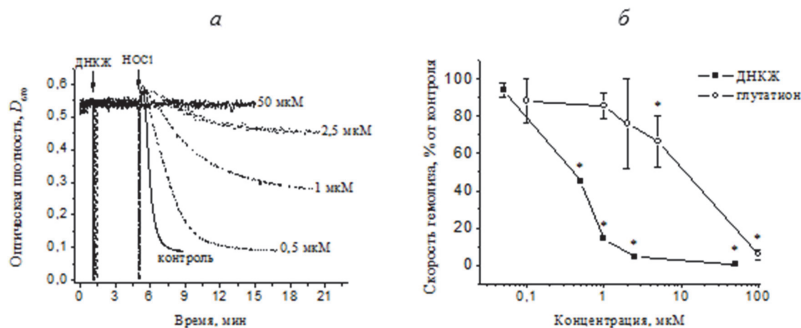


Рис. 1. Влияние ДНКЖ на NOCl-индуцированный гемолиз эритроцитов: а – типичные кинетические кривые гемолиза эритроцитов, инициированного внесением 0,25 мМ NOCl в отсутствие и в присутствии различных концентраций ДНКЖ; б – зависимость скорости NOCl-индуцированного гемолиза эритроцитов от присутствия в среде инкубирования различных концентраций ДНКЖ и глутатиона. За 100 % приняты параметры NOCl-индуцированного гемолиза в контроле (без добавления ДНКЖ или глутатиона). \* $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

В то же время с использованием спектроскопии ЭПР нами показано, что ДНКЖ эффективно перехватывают NOCl, который в первую очередь реагирует с лигандами глутатиона. При этом Fe-(NO)<sub>2</sub> группы комплексов могут переходить на другие лиганды, тем самым потенциально оказывая регуляторное действие. Можно предположить, что значительное ингибирование (на 70-100 %) гемолиза эритроцитов, инициированного внесением NOCl, в присутствии 2,5-50 мкМ ДНКЖ может быть обусловлено их способностью непосредственно взаимодействовать с NOCl.

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные свидетельствуют о возможном использовании ДНКЖ для коррекции структурно-функциональных свойств эритроцитов при патологиях, ассоциированных с развитием окислительного/галогенирующего стресса и воспаления. Работа поддержана РФФИ (14-04-01710, 14-04-00807) и БРФФИ (Б16Р-015).

## Литература

1. Панасенко, О.М. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах / О.М. Панасенко, И.В. Горудко, А.В. Соколов // Успехи биологической химии. – 2013. – Т. 53. – С. 195-244.
2. Hypochlorous acid-induced oxidative damage of human red blood cells: effects of *tert*-butyl hydroperoxide and nitrite on the HOCl reaction with erythrocytes / I.B. Zavodnik [et al.] // Bioelectrochemistry. – 2002. – Vol. 58, № 2. – P. 127-135.
3. Ванин, А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами: физикохимия, биология, медицины / А.Ф. Ванин. – Москва: Ин-т комп. исследований, 2015. – 219 с.
4. Шамова, Е.В. Регуляция функциональных и механических свойств тромбоцитов и эритроцитов донорами монооксида азота / Е.В. Шамова [и др.] // Биофизика. – 2011. – Т. 56, вып. 2. – С. 265-271.

## О РОЛИ ФАЗОВЫХ СТРУКТУРНЫХ ПЕРЕСТРОЕК В ФОСФОЛИПИДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ КАНЦЕРОГЕННЫХ ПРОЦЕССОВ

Киселев П.А.

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Гипотеза о существовании генерализованного механизма регуляции в биологических мембранах была высказана С.В. Коневым в 1965 году и получила дальнейшее развитие и экспериментальное подтверждение в ряде последующих работ его и его учеников. Основные ее положения, связанные с функциональной значимостью, обусловленных этим процессов, представлены в монографии С.В. Конева «Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы», вышедшей в издательстве «Наука и техника» в 1987 году. Очевидно, что выдвинутая концепция существенно дополняет существовавшие к тому времени представления о регуляции мембран. Она носит универсальный характер и ее можно использовать для описания поведения всех мыслимых клеточных процессов. Вместе с тем, приложение общего подхода к конкретной ситуации часто приводит к выявлению ряда нюансов, которые важны при направленной регуляции функциональной активности. Такой ситуацией, на наш взгляд,