

ность исследуемых веществ окислять α -ГЭР или присоединять сольватированный электрон. Преимущественное протекание последнего процесса подтверждается снижением выходов образования продуктов присоединения α -ГЭР к добавкам в условиях вещественного инициирования свободнорадикальных процессов в сравнении с радиоллизом. Таким образом, показан существенный вклад сольватированных электронов в процесс образования сшивок углерод-центрированными радикалов с субстратом. Необходимым условием протекания процесса сшивки является наличие в пиримидиновых азотистых основаниях фрагмента $-C=C-C=O$.

Литература:

1. C. von Sonntag, Free-radical-induced DNA Damage and its repair. Berlin: Springer-Verlag, (2006) 523.
2. P. Wardman. The British Journal of Radiology, (2009) 82, 89–104.
3. G. Melillo, Hypoxia and Cancer: Biological Implications and Therapeutic Opportunities. Springer Science & Business Media, (2013) 362.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА И АКТИВАЦИЯ КАСПАЗЫ-3

Белевич Е.И., Костин Д.Г., Слобожанина Е.И.

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

Один из механизмов развития эритроптоза – запрограммированной гибели эритроцитов, связан с активацией в клетке каспаз. Окислительный стресс приводит либо к прямой, либо к опосредованной активации каспазы-8, которая затем протеолитически расщепляет прокаспазу-3 до эффекторной каспазы-3 [1]. Показано участие каспазы-3 в развитии эритроптоза при таких заболеваниях, как диабет второго типа [1] и почечная недостаточность [2]. С другой стороны, известно, что течение диабета второго типа [3] и сердечной недостаточности [4], сопровождаются окислительным стрессом и повышенным эритроптозом. В процессе своей жизнедеятельности эритроциты также постоянно подвергаются окислительному стрессу, что вносит существенный вклад в их старение. Обнаружена активность каспазы-3 и каспазы-8 в аннексин-V-положительных «изношенных» эритроцитах, выделенных из общей популяции эритроцитов крови [5]. Однако до настоящего времени вопрос об активации каспазы-3 при окислительном стрессе остается не ясным.

Цель работы – на модели эритроза, вызванного воздействием различных концентраций трет-бутилгидроперокси (t-BHP), выяснить, происходит ли активация каспазы-3 в эритроцитах человека.

В работе использовали кровь здоровых доноров (консервант гепарин), полученную из РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий МЗ РБ. Эритроциты получали из крови путем центрифугирования и трижды отмывали в 155 мМ NaCl (4°C, 3000 об/мин). Окислительный стресс в эритроцитах вызывали инкубацией суспензии клеток (2 %-ный гематокрит) с 0,2 мМ, 1 мМ и 2 мМ t-BHP при 37°C в течение 15 мин. Для оценки активности каспазы-3 использовали набор CaspGlow™, содержащий специфический свободно проникающий в клетку флуорогенный субстрат каспазы-3 – FITC-DEVD-fmk и нефлуоресцирующий ингибитор каспаз Z-VAD-fmk. Флуоресцентные измерения выполнены с помощью проточного цитофлуориметра BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США).

Из рисунка 1 видно, что активность каспазы-3 в эритроцитах, предварительно проинкубированных с ингибитором каспазы-3 Z-VAD-fmk, а затем подвергшихся окислительному стрессу, не отличалась от контроля. Однако, при окислительном стрессе, вызванном воздействием 0,2 мМ t-BHP в течение 15 мин при 37°C, происходила активация каспазы-3 у $13,8 \pm 5,0\%$ клеток по сравнению с контрольными эритроцитами.

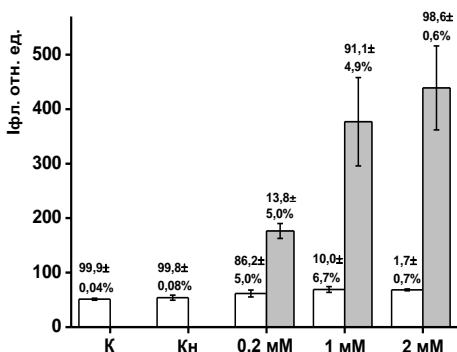


Рисунок 1 – Активность каспазы-3 (I фл. ингибирующего субстрата FITC-DEVD-fmk, отн.ед.): в контрольных эритроцитах (K); в эритроцитах, предварительно проинкубированных с ингибитором каспазы-3 Z-VAD-fmk, а затем подвергшихся окислительному стрессу (Kn – негативный контроль); в эритроцитах, обработанных 0,2 мМ t-BHP (0,2 мМ), 1 мМ t-BHP (1 мМ) и 2 мМ t-BHP (2 мМ).

В данной фракции эритроцитов интенсивность флуоресценции расщепленного субстрата FITC-DEVD-fmk была в 3,5 раз выше чем контрольных клетках. Воздействие 1 мМ t-BHP приводило к активации каспазы-3 у $91,1 \pm 4,9\%$ эритроцитов, при этом уровень интенсивности флуоресценции расщепленного субстрата FITC-DEVD-fmk в данной группе клеток был в 7,4 раза выше, чем в контроле. Обработка эритроцитов 2 мМ t-BHP вызывала активацию каспазы-3 в $98,6 \pm 0,6\%$ клеток, а интенсивность флуоресценции расщепленного субстрата FITC-DEVD-fmk возростала в 8,6 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что в эритроцитах человека при окислительном стрессе, вызванном краткосрочным воздействием t-BHP, происходит дозозависимая активация каспазы-3.

Литература:

1. Maellaro E. et. al. // Acta Diabetol. 2013. V.50 №4. P. 489–495.
2. Polak-Jonkisz D. et. al. // Clin. Biochem. 2013. V. 46. P. 219–224.
3. Calderón-Salinas J.V. et. al. // Mol. Cell. Biochem. 2011. V. 357. № 1-2. P. 171–179.
4. Mahmud H. et. al. // Cardiovasc. Res. 2013. V. 98. № 1. P. 37–46.
5. Bratosin D. et al. // Cytometry A. 2009. № 75A. P. 236–244.

ПРОТИВОГЕРПЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-АЦИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-АМИНО-4,6-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛФЕНОЛА НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК

Бореко Е.И.¹, Шадыро О.И.², Фроленков К.А.³

¹НИИ эпидемиологии микробиологии, Минск, Беларусь
²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
³РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь

Общим недостатком противовирусных препаратов является быстрое развитие лекарственной устойчивости возбудителя. Особую актуальность эта проблема приобрела для борьбы с герпетической (из-за возникновения ацикловир-резистентных штаммов) инфекцией [1]. Проблема привыкания вынуждает создавать новые препараты и реализовывать новые подходы к ингибированию репродукции вирусов (искать новые мишени). Кроме того, современные противовирусные препараты, особенно производные неклеозидов, наряду с высокими вирусингибирующими свойствами потенциально опасны нежелательными побочными эффектами вследствие возможного воздействия на генетический аппарат «клетки-хозяина». В связи с этим для ингибирующего воздействия на