

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ С НАКОПЛЕНИЕМ ЖЕЛЕЗА

Семенович Д.С.^{1,3}, Лукиенко Е.П.¹, Солонец К.В.², Збирухович А.О.³,
Смирнов А.А.³, Ястремская Н.С.³, Канунникова Н.П.^{1,3}

¹*Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», Гродно, Беларусь*

²*Гродненский государственный медицинский университет;
Гродно, Беларусь*

³*Гродненский государственный университет им.Я.Купалы,
Гродно, Беларусь*

При нейродегенеративных патологиях происходит активация внутриклеточных систем генерации активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА), которые приводят к модуляции про- и антиоксидантного статуса в нейронах и их дегенерации [1]. Эффективным способом моделирования окислительного стресса в головном мозге является введение липополисахарида (ЛПС) *Escherichia coli*, действие которого сопровождается индукцией перекисного окисления липидов (ПОЛ) и развитием системного воспаления.

Одним из пусковых механизмов развития окислительного стресса в головном мозге является накопление железа в базальных ганглиях. Избыточное накопление железа в базальных ганглиях способствует образованию устойчивых комплексов железа с цистеином, активирующих ПОЛ. Индукция ПОЛ и гиперпродукция АФК и АФА, в конечном итоге, приводят к запуску апоптоза и гибели нейронов [2]. Инициация ПОЛ в данных условиях протекает по механизму реакции Фентона. Подобным образом происходит повреждение нейронов при синдроме Галлевордена-Шпатца, связанного с нарушением экспрессии пантотенаткиназы-2 (PANK-2), играющей ведущую роль в биосинтезе кофермента А (КоА) [3].

Целью настоящего исследования явилось изучение возможного протекторного действия производных пантотеновой кислоты D-пантетина (ПТ) и D-пантенола (ПЛ) на показатели про/антиоксидантного статуса в плазме крови крыс при окислительном стрессе, моделируемом введением карбонильного железа (Fe) и ЛПС *E. coli*.

Постнатальным 10-дневным крысам линии Вистар массой 20±5 г в течение 5 дней внутривентрикулярно вводили суспензию Fe (30 мг/кг в 1 %-

ном растворе крахмала). Контрольные крысы аналогично получали только раствор крахмала. Спустя 20 дней 30-дневным крысам, получавшим Fe, внутрибрюшинно вводили ЛПС (200 мкг/кг), с последующим 14-дневным пероральным введением ПЛ (группа Fe+ЛПС+ПЛ) или ПТ (группа Fe+ЛПС+ПТ) в дозах 200 мкг/кг. Повторное введение ЛПС в дозе 200 мкг/кг осуществляли за 24 ч до эвтаназии крыс.

Интенсивность процессов ПОЛ в плазме крови оценивали по содержанию ТБК-реагирующих соединений (ТБКРС) [4] и N,N-диметил-*n*-фенилендиамин-реагирующих соединений (ДФАРС) [5]. Содержание общих (белковых и небелковых) SH-групп измеряли колориметрически [6]. Феррооксидазную активность плазмы крови оценивали по содержанию церулоплазмينا (ЦП) [7]. Определение общей антиокислительной активности (ОАА) осуществляли в модельной системе по уровню торможения ПОЛ *in vitro* [8].

Исследования ПОЛ в плазме крови крыс выявило, что введение Fe и особенно Fe в комбинации с ЛПС сопровождалось увеличением содержания ДФАРС на 10 % и ТБКРС более чем на 45 % по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Введение крысам ПЛ на фоне введения Fe+ЛПС привело к снижению уровня ТБКРС на 26 % по отношению к группе Fe+ЛПС ($p < 0,05$). Аналогичным образом проявился эффект ПТ, однако не столь выраженный, как у ПЛ. Увеличение содержания продуктов ПОЛ, очевидно, является следствием индукции окислительного стресса под влиянием Fe+ЛПС, а введение модуляторов биосинтеза КоА – ПЛ и ПТ – способствует ослаблению процессов свободнорадикального окисления *in vivo*.

Модулирование прооксидантно-антиоксидантного баланса в условиях окислительного стресса и системного воспаления оценивали также по показателю ОАА плазмы крови. Оказалось, что действие только ЛПС сопровождалось повышением ОАА на 16 %, тогда как на фоне действия Fe+ЛПС ОАА оказалась ближе к контрольным значениям. Производные пантотеновой кислоты способствовали дальнейшему возвращению ОАА к уровню контроля. По-видимому, сдвиги этого показателя были обусловлены в первую очередь системным воспалением, но не явлениями ОС.

Нами установлено, что введение ЛПС, и Fe+ЛПС крысам способствовало повышению феррооксидазной активности плазмы, о чем можно судить по повышению уровня церулоплазмينا. Действие ПЛ способствовало возвращению данного показателя до значений, близких значениям в группе контроля. Влияние ПТ было более слабым.

Введение и одного ЛПС, и комбинации Fe+ЛПС привело к снижению содержания общих SH-групп в плазме крови более чем на 20 % в опытных группах ($p < 0,05$), что можно расценить как следствие активации ПОЛ в плазме крови и сдвиг редокс-баланса в окисленную сторону. Действие на этом фоне и ПТ, и ПЛ не привело к модуляции данного показателя.

Таким образом, введение препаратов железа и ЛПС в использованных нами дозах приводит к напряженному состоянию прооксидантно-антиоксидантного баланса в организме, проявляющемуся в накоплении конечных продуктов ПОЛ, увеличении уровня церулоплазмина, снижении содержания общих SH-групп, но сохранившейся способности антиоксидантных систем в плазме крови. Производные пантотеновой кислоты – ПЛ и ПТ – проявляют в данных условиях определенное протекторное действие в отношении показателей активности ПОЛ.

Литература

1. Васенина, Н.Е. Окислительный стресс в патогенезе нейродегенеративных заболеваний: возможности терапии / Н.Е. Васенина, О.С. Левин // *Соврем. терап. в псих. и неврол.* – 2014. – № 3-4. – С. 39–46.
2. Levi, S. Neurodegeneration with brain iron accumulation: update on pathogenic mechanisms / S. Levi, D. Finnazi // *Frontiers in Pharmacology.* – 2014. – Vol. 5. – № 99. – P. 1–20.
3. Chemical Knockout of Pantothenate Kinase Reveals the Metabolic and Genetic Program Responsible for Hepatic Coenzyme A Homeostasis / Y.-M. Zhang [et al.] // *Chemistry and Biology.* – 2007. – Vol. 14. – P. 291–302.
4. Стальная, И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Д. Гаришвили // *Современные методы в биохимии* / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина. – 1977. – С. 66–68.
5. Verde, V. Use of N,N-dimethyl-p-phenylenediamine to evaluate the oxidative status of human plasma / V. Verde // *Free Radic. Res.* – 2002. – Vol. 36, № 8. – P. 869–873.
6. Ellman, G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82. – P. 70–77.
7. Ravin, H.A. An improved colorimetric enzymatic assay of ceruloplasmin / H.A. Ravin // *J. Lab. Clin. Med.* – 1961. – Vol. 58. – P. 161–168.

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., Омельянчик 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 тиолдисульфидных 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