

ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЕ РИБОФЛАВИНОМ ОКИСЛЕНИЕ ТИАМИНА И ТИАМИНДИФОСФАТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ВИДИМОГО СВЕТА В ПРИСУТСТВИИ ТИРОЗИНА И КРИСТАЛЛИНОВ ИЗ ХРУСТАЛИКА ГЛАЗА БЫКА

Степура И. И.¹, Агейко С. А.¹, Степура В. И.², Смирнов В. Ю.³

¹*Институт биохимии биологически активных соединений Национальной
академии наук Беларуси*

²*Гродненский государственный университет им. Янки Купалы,
г. Гродно, Беларусь*

³*Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Беларусь*

Ионизирующее и ультрафиолетовое излучение вызывает повреждение и гибель клеток вследствие как прямого воздействия на структуру ДНК и белков, так и вследствие генерации активных форм кислорода и активных карбонильных соединений, оказывающих повреждающее действие [1]. Ранее показано, что наблюдается окисление тиамина (Т) и тиаминдифосфата (ТРР) с образованием тиохрома (ТChr) и тиохромдифосфата (ТChrPP), соответственно, под действием видимого света в присутствии рибофлавина (RF). Окисление Т и ТРР происходит в аэробных условиях под действием синглетного кислорода и триплетных уровней RF [2]. Кожа и органы зрения человека в наибольшей степени подвержены воздействию солнечного ультрафиолетового излучения. Наиболее злокачественные заболевания этих органов, такие как рак и катаракта, развиваются примерно у половины населения земного шара, перешагнувшего рубеж 65 лет [3].

Ткани кожи и органов зрения обладают разным белковым составом, однако большая часть белков содержит значительное количество ароматических аминокислот, таких как тирозин и триптофан, которые являются основными хромофорами белковых молекул в UVB диапазоне.

Цель – исследование фотосенсибилизированного рибофлавином окисления Т и ТРР при воздействии видимого света на водные растворы Т в смеси с тирозином (Тур), кристаллинами хрусталика глаза быка, проведение идентификации и установление строения молекул продуктов окисления витамина В₁.

Материалы и методы исследования. В работе использовали Т и ТChr, RF, тиаминпропилдисульфид (TPSST), NAD⁺ фирмы Sigma (США), оксодигидротиохром (ODTChr), полученный химическим синтезом [4], хрусталики из глаза быка. Разделение и идентификацию продуктов фотолиза ТChr, TPSST [5], образовавшихся после воздействия ультрафиолета на их водные растворы, проводили методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent-1100, сорбент ZORBAX-Extend-C18 с использованием соединений стандартов (ТChr и ODTChr). Измерения флуоресценции ТChr и ODTChr проводили на спектрофлуориметре CM2203 (Солар, Беларусь), измерения спектров поглощения ТChr, ODTChr и продуктов фотолиза ТChr проводили на спектрофотометре Cary-100 (США).

Результаты. RF – один из компонентов В₂ витаминного комплекса,

присутствует в живых организмах в свободной форме, а также в виде флавинмононуклеотида (FMN) и флавинаденинмононуклеотида (FAD) во всех аэробных клетках. Эти нуклеотидные формы RF являются простетическими группами целого класса окислительно-восстановительных ферментов. Флавопротеиды распространены повсеместно.

Как видно из представленных данных, наблюдается окисление Т с образованием TChr под действием видимого света в присутствии RF. Окисление Т в TChr происходит в аэробных условиях под действием синглетного кислорода. В присутствии Tyr и ряда других монофенолов возрастает окисление Т и симбатно возрастает выход TChr. Окисление Т с образованием TChr ингибирует образование дитиозиновых межбелковых сшивок в макромолекулах кристаллинов. В анаэробных условиях Т в присутствии рибофлавина RF не окисляется при воздействии ультрафиолета UVA диапазона или видимого излучения.

Таблица – Фотосенсибилизированное RF окисление тиамин и TPP под действием видимого света в присутствии и в отсутствие L-Tyr. Время облучения 20 минут. Концентрация RF – 20 мкМ, Tyr – 1мМ, Т и TPP – 0,1мМ. Облучение растворов проводили светом ртутной лампы ДРК-120, используя стеклянный светофильтр, ЖС-11

Состав раствора	TChr (мкМ) Rt=22,20 минут	ODTChr (мкМ) Rt=27,095 минут	TChrPP (мкМ) Rt=10,304 минут
RF+Т	0,50	0,75	
RF+L-Tyr+Т	5,05		
RF+TPP			0,26
RF+TPP+L-Tyr			0,80

Совсем другая ситуация наблюдается в случае TChr. При воздействии ультрафиолета UVA диапазона или видимого излучения на водные растворы TChr и RF наблюдали быстрое обесцвечивание RF и параллельно протекающую реакцию превращения TChr в ODTChr. Эти результаты свидетельствуют об участии триплетных состояний молекулы RF в окислении TChr. После воздействия видимого света на водные растворы TPP в присутствии RF наблюдали такие же изменения спектров поглощения и флуоресценции, как и воздействия видимого света на водные растворы Т в присутствии фотосенсибилизатора.

Как известно, продолжительное воздействие ультрафиолетового излучения на глаза вызывает образование активных форм кислорода, которые, наиболее вероятно, ответственны за развитие разных дегенеративных процессов, в том числе катаракты [6]. Т, Т-зависимые ферменты играют важную роль в защите роговицы и хрусталика глаза от повреждения активными формами кислорода и азота. В метаболизме роговицы, эндотелия хрусталика преобладает фосфоглюконатный окислительный путь, который использует более 50% потребляемой глюкозы и требует участия Т-зависимых ферментов [7].

Заключение. Нами показано что не только UVA ультрафиолет, но и интенсивный видимый свет в присутствии фотосенсибилизатора RF (витамин B₂) способен уменьшить содержание тиамин в крови, а также в клеточных структурах глаза. Снижение концентрации TPP может происходить не только вследствие прямого действия ультрафиолета на молекулу кофермента, но вследствие его окисления в дифосфаты TChr и ODTChr синглетным кислородом, генерируемого фотосенсибилизаторами, RF под действием видимого света.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davies M. J., Truscott J. W. Photo-oxidation of proteins and its role in cataractogenesis // J. Photochem. Photobiol. – 2001, Vol. 63. – P. 114–125.
2. Степура И. И. и др. Фотосенсибилизированное рибофлавином окисление тиамин в водных растворах при воздействии ультрафиолета и видимого излучения // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 199–211.
3. Sun Protection" National cancer institute's cancer trends progress report, 2007 Update //www.cancer.org (2008-04-15).
4. Oparin D.A. et al. Structure of a thiochrome transformation product // Chem Natur Comp. – 1985. – Vol. 21, № 5. – P. 688–689.
5. Агейко С. А., Степура В. И., Смирнов В. Ю. др. Действие ультрафиолетового излучения на тиамин и дисульфиды тиамин // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук. – 2021. – Т. 57, № 1. – С. 70–86.
6. Light, Eyes, and Vision // Physics of the Human Body. Springer Berlin Heidelberg.
7. Lassen N. The role of corneal crystallins in the cellular defense mechanisms against oxidative stress. Seminars in cell and developmental biology // Academic Press. – 2008. – Vol. 19, № 2. – P. 100–112.

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ МОНООКСИДА АЗОТА В РЕГУЛЯЦИИ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ COVID-19

Степура Т. Л.

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Беларусь

Известно, что заболевание COVID-19, вызванное вирусом SARS-CoV-2, сопровождается чрезмерной активацией воспалительного процесса, продукцией кислородных свободных радикалов, развитием дисфункции эндотелия сосудов, при которых отмечается выраженное снижение продукции и биодоступности оксида азота (NO) [2, 4, 5]. Разрабатываются разные методы коррекции состояния эндотелия, продукции и содержания NO при COVID-19, которые включают как фармакологические, так и нефармакологические подходы [2, 7]. В настоящее время проводятся клинические испытания по применению ингаляционного NO в целях профилактики и лечения COVID-19 [3]. Анализ эффекта вдыхаемого оксида азота при лечении COVID-19 при сравнении со стандартным лечением