

от 15 до 250 нМ) дозозависимо ингибировали стимулируемую субстратом скорость потребления кислорода V₂ и АДФ-зависимую скорость потребления кислорода V₃ без существенного изменения коэффициентов дыхательного контроля и ADP/O изолированных митохондрий сердца крыс. По сравнению с митохондриями печени чувствительность митохондрий сердца крыс к действию ионов Ca²⁺ значительно ниже в случае открытия митохондриальных пор высокой проницаемости и значительно выше в случае ингибирования респираторной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Calcium-induced mitochondrial permeability transitions: parameters of Ca²⁺ ion interactions with mitochondria and effects of oxidative agents / N. G. Golovach [et al.] // J. Membr. Biol. – 2017. – Vol. 250. – P. 225-236.
2. Gostimskaya, I. Preparation of highly coupled rat heart mitochondria / I. Gostimskaya, A. Galkin // J. Vis. Exp. – 2010. – Iss. 23. – P. 2202.
3. Taegtmeyer, H. Energy metabolism of the heart: from basic concepts to clinical applications / H. Taegtmeyer // Curr. Probl. Cardiol. – 1994. – Vol. 19, iss. 2. – P. 59–113.
4. Mitochondrial calcium and the regulation of metabolism in the heart / G. S. B. Williams [et al.] // J. Mol. Cell Cardiol. – 2015. – Vol. 78. – P. 35–45.
5. Structural and functional changes in rat liver mitochondria under calcium ion loading in the absence and presence of flavonoids / I. B. Zavodnik [et al.] // Biomed. Khim. – 2022. – Vol. 68, iss. 4. – P. 237–249.

ВЛИЯНИЕ АТОРВАСТАТИНА, ПАНТЕНОЛА И N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ БАЛАНС В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ПЕЧЕНИ СТАРЫХ КРЫС

Канунникова Н.П.^{1,2}, Бородина Т.А.¹, Гуринович В.А.¹, Катковская И.Н.¹, Лукиенко Е.П.¹, Титко О.В.¹, Мойсеёнок А.Г.¹

¹Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси;

²УО «Гродненский государственный университет имени Я.Купалы», г. Гродно, Республика Беларусь

Актуальность и цель исследования. Важными факторами патофизиологических механизмов развития атеросклероза, сердечно-сосудистой патологии и метаболических нарушений, характерных для возрастной патологии, являются, наряду с воспалением, дислипидемией и гипергликемией, нарушения окислительно-восстановительного баланса [2]. В настоящее время среди гиполипидемических средств большое внимание привлекает аторвастатин (АТ), который не только выраженно тормозит синтез холестерина в печени за счет угнетения гидроксиметил-глутарат-КоА-редуктазы, но и оказывает противовоспалительное и иммунодепрессивное действие, стабилизирует атеросклеротические бляшки и уменьшает их размер,

подавляет тромбообразование, стимулирует фибринолиз и продукцию окиси азота в эндотелии [1]. Нами был проведен сравнительный анализ влияния на показатели окислительно-восстановительного равновесия в печени старых крыс при действии аторвастатина, а также пантенола и N-ацетилцистеина (АЦЦ), способствующих восстановлению редокс-потенциала в тканях.

Материалы и методы исследования. Эксперимент был выполнен на крысах-самцах с начальной массой 300-350 г линии Вистар, содержащихся на стандартном рационе вивария с учетом рекомендаций и требований «Всемирного общества защиты животных (WSPA)» и «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных» (Страсбург, 1986). Первая группа животных получала аторвастатин (АТ, 10 мг/кг, в/ж, 14 дней), вторая группа — пантенол (400 мг/кг, в/ж, 14 дней) + АЦЦ (200 мг/кг, в/ж, 14 дней). В контрольной группе были интактные крысы такого же возраста.

В плазме крови определяли общую антиоксидантную активность [5]. В ткани печени измеряли содержание ТБК-реагирующих субстратов (ТБКРС) [4], содержание небелковых и белковых тиолов и дисульфидов и их соотношение [7], активность основных ферментов антиоксидантной защиты (ГПО, ГТ, ГР) [3], содержание S-глутатионилированных белков [6], а также содержание КоА, ацетил-КоА (Ац-КоА) и их соотношение [8].

Результаты и обсуждение. Проведенные эксперименты показали, что общая антиоксидантная активность в плазме крови старых животных, получавших АТ ($1,43 \pm 0,17$ ммоль/л), не отличалась от таковой в интактной группе ($1,49 \pm 0,18$), тогда как после введения ПЛ+АЦЦ она повысилась на 20 % ($1,78 \pm 0,14$, $p < 0,05$) (таблица).

Таблица – Показатели окислительно-восстановительного баланса в печени старых крыс при действии аторвастатина, пантенола и АЦЦ ($M \pm SD$, $n=7$)

Показатели		Контроль	АТ	ПЛ+АЦЦ
Показатели окислительного стресса	СОД, Ед/мин/мг белка	13,05±0,77	13,94±0,43	12,95±0,31
	Каталаза, ммоль/мин/мг белка	1,45±0,28	1,41±0,18	1,16±0,21*
	ТБКРС, нмоль/мг белка	0,31±0,03	0,31±0,02	0,25±0,02*
Небелковые тиолы и дисульфиды	Тиолы, нмоль/г ткани	2,94±0,89	4,80±0,82*	4,21±1,26*
	Дисульфиды, нмоль/г ткани	1,55±0,38	1,84±0,07	1,74±0,34
	SH/SS	1,87±0,30	2,60±0,41*	2,52±0,29*
Белковые тиолы и дисульфиды	Тиолы, нмоль/г ткани	11,85±0,71	9,71±0,61*	10,23±1,32*
	Дисульфиды, нмоль/г ткани	2,35±0,42	1,77±0,29*	2,49±0,34
	SH/SS	5,14±0,88	5,67±0,70	4,33±0,60
Система глутатиона	Глутатионилированные белки, нмоль/г ткани	0,25±0,03	0,29±0,04*	0,24±0,03
	ГПО, нмоль GSH/мин/мг белка	63,1±8,2	50,7±6,3 *	47,8±2,5 *
	ГТ, нмоль ХДНБ/	554,9±109,1	475,3±69,4	459,6±42,1

	мин/мг белка			
	ГР, нмоль NADPH/ мин/мг белка	63,9±7,2	49,9±10,4*	48,9±3,5 *
Система КоА	КоА, нмоль/г	160,00±38,95	189,50±36,21	222,9±28,21*
	Ацетил-КоА, нмоль/г	65,69±27,36	42,91±12,82	44,66±11,83
	Ацетил-КоА/КоА	0,39±0,22	0,23±0,09	0,19±0,05

Примечание – * – $p < 0,05$ по отношению к группе контроля

В печени на фоне АТ активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание ТБКРС соответствуют значениям в контрольной группе, а на фоне введения композиции ПЛ+АЦЦ наблюдается снижение уровня ТБКРС и активности каталазы, что можно расценить как снижение интенсивности перекисного окисления липидов при действии комплекса ПЛ+АЦЦ и отсутствии эффектов АТ на эти показатели (таблица). Содержание небелковых тиолов и соотношение небелковых тиолов к дисульфидам оказались выше контрольных значений и при действии АТ, и ПЛ+АЦЦ, а содержание белковых тиолов и дисульфидов было снижено только при действии АТ. Уровень S-глутатионилированных белков был повышен только на фоне действия АТ, тогда как активность ГПО и ГР были снижены и при действии АТ, и при действии ПЛ+АЦЦ.

Полученные результаты в совокупности с изменениями тиолов и дисульфидов, очевидно, свидетельствуют об отсутствии защитных эффектов на систему белковых тиолов и дисульфидов при действии АТ по сравнению с действием ПЛ+АЦЦ. Повышение содержания КоА, и тенденция к снижению соотношения ацетил-КоА/КоА, наблюдаемые нами в печени на фоне действия ПЛ+АЦЦ, очевидно, вносят вклад в восстановление редокс-баланса у старых животных при действии данного комплекса.

Выводы. Изменения окислительно-восстановительного баланса в тканях являются одним из характерных проявлений метаболических нарушений при старении. Введение аторвастатина способствует определенному росту восстановительного потенциала небелковых тиолов (глутатиона) и содержания S-глутатионилированных белков при уменьшении активности глутатион-метаболизирующих ферментов в печени старых крыс, что предполагает возможность его применения как лечебно-профилактического средства с редокс-модулирующей активностью. При действии же пантенола и N-ацетилцистеина наблюдаются более выраженные защитные эффекты комплекса по стабилизации редокс-баланса в ткани, что определяется не только стабилизирующим влиянием на редокс-потенциал системы глутатиона, но и его антипероксидным действием, отсутствием активирующего влияния на S-глутатионилирование белков, а также повышением уровня КоА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аронов, Д. М. Плейотропные эффекты статинов на современном этапе их изучения (фокус на аторвастатин). Часть I / Д. М. Аронов, М. Г. Бубнова // Кардиосоматика. – 2012. – Т. 3, № 3. – С. 55–64.

2. Медведева, Е. Окислительный стресс и воспаление у больных атеросклерозом / Е. Медведева, Ю. Щукин, Е. Селезнев. – Saarbrücken, LAP LAMBERT Acad. Publishing, 2013. – 65 с.
3. Современные проблемы биохимии. Методы исследования / Е. В. Барковский [и др.]; под общ. ред. Е. В. Барковского – Мн., Выш. школа, 2013. – 491 с.
4. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determination of lipid peroxidation products in rat brain tissues / M. Durfinova [et al.] // Chem. Pap. – 2007. – Vol. 61, № 4. – P. 321–325.
5. Erel, O. A novel automated direct measurement for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation / O. Erel // Clin. Biochem. – 2004. – Vol. 37, № 4. – P. 277–285.
6. Menon, D. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde / D. Menon, P. G. Board // Anal. Biochem. – 2013. – Vol. 433. – P. 132–136.
7. Patsoukis, N. Determination of the thiol redox state of organisms: new oxidative stress indicators / N. Patsoukis, C. D. Georgiou // Anal. Bioanal. Chem. – 2004. – Vol. 378. – P. 1783–1792.
8. Tsuchiya, Y. Methods for measuring CoA and CoA derivatives in biological samples / Y. Tsuchiya, U. Pham, I. Gout // Biochem. Soc. Trans. – 2014. – Vol. 42. – P. 1107–1111.

ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМЫЕ АМИНОКИСЛОТНЫЕ ОСТАТКИ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ТИАМИНДИФОСФАТКИНАЗЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА, ОТВЕТСТВЕННЫЕ ЗА БИОСИНТЕЗ ТРИФОСФОРНОГО ЭФИРА ТИАМИНА

Костеневич Н.Н., Черникевич И.П., Барановская Е.А.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
г.Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Тиаминтрифосфату отводится важная роль в генерировании и распространении нервного импульса, активации Na^{+} -, Ca^{2+} - и макси - Cl^{-} - каналов, координации и регуляции энергетического обмена клетки [1-3], обуславливая тем самым повышенный интерес к ферментной системе его биосинтеза.

Цель. Выяснение природы аминокислотных остатков, ответственных за связывание и катализ трифосфорного эфира.

Материалы и методы исследования. Тиаминдифосфаткиназу (EC 2.7.4.15, ThDP-киназа) из митохондрий головного мозга свиньи выделяли по описанной ранее методике [4]. Чистоту ферментного препарата контролировали методом диск-электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле при рН 8,9. Активность фермента определяли по количеству образовавшегося трифосфорного эфира тиамин (ThPP) с применением [^{14}C]-тиаминдифосфата ([^{14}C]-ThDP) в качестве одного из субстратов [4]. Радиоактивность измеряли на