

**РЕДОКС-ПОТЕНЦИАЛ ГЛУТАТИОНА ЭРИТРОЦИТОВ
И ЕГО МОДУЛЯЦИЯ ПРИ ИНИЦИИРОВАНИИ БИОСИНТЕЗА
КОФЕРМЕНТА А**

*Т.А. Пеховская¹, И.Л. Коваленчик¹, К.В. Плявго², Е.П. Лукиенко¹,
В.А. Гуринович¹, Н.П. Канунникова², А.Г. Мойсеёнок³*

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

²Гродно, УО «ГрГУ имени Я. Купалы»,

³Минск, НИЦ НАН Беларуси по продовольствию

Исследования системы глутатиона (G) и его редокс-состояния (GSH/GSSG) занимает важное место в оценке выраженности развития окислительного стресса (ОС) при различных физиологических состояниях организма и патологических процессах [1]. Стабилизация уровня G – это не только обратимое восстановление GSSG в G-редуктазной реакции, но и поддержание баланса трипептида между его синтезом, экспортом GSH и GSSG из клеток, образованием смешанных дисульфидов между различными белками и низкомолекулярными соединениями, например, коферментом А (CoA). Получены доказательства тому, что биосинтез CoA может быть

причастен к модуляции образования GSH и его редокс-состояния. В различных экспериментах *in vitro* и *in vivo* инициирование перекисного окисления липидов и развитие ОС предупреждалось предшественниками биосинтеза CoA – производными пантотеновой кислоты, в т.ч. пантетеином (пантетином) [2].

С учетом высокой концентрации GSH в тканях и субклеточных структурах соотношение GSH/GSSG рассматривается в качестве динамического индикатора ОС, т.е. объективного теста прооксидантно/антиоксидантного баланса [1]. Вместе с тем это фактор редокс-сигнализации, предопределяющий транскрипцию ряда G-зависимых ферментов, процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза, а также механизм тонкой регуляции активности ферментов за счет S-глутатионирования белка [1]. Поскольку $2e^-$ переход является общим в редокс-чувствительных белках, соотношение GSH/GSSG не является оптимальным для оценки редокс-состояния при ОС и редокс-сигнализации. Более объективным является редокс-потенциал (E_h), который рассчитывается по уравнению Нернста:

$$E_h = (-E^0 + 59,1/2 \log[GSSG]/[GSH]2) \text{ мВ,}$$

при $E^0 = -252$ мВ для эритроцитов (pH7,2) [3].

В клинических условиях доступно исследование некоторых редокс-пар, в частности GSH/GSSG (эритроциты), цистеин/цистин (плазма крови). Эритроциты, которые не имеют внутренних органелл, выявляют значение E_h пары GSH/GSSG близкое к иным дифференцированным клеткам. Именно поэтому принято положение, что эритроцитарный E_h глутатиона отображает статус системы всего организма [3, 4].

В контексте развития «редокс-гипотезы» [3, 4] и ее роли в проявлениях и последствиях ОС возникает вопрос о потенциальных и интервенционных стратегиях [3], прежде всего, опосредованных через систему глутатиона. В настоящей работе исследован редокс-модулирующий эффект D-пантетина (ПТ) – промежуточного соединения системы биосинтеза CoA и эффективного фармако-терапевтического средства метаболической терапии [5].

Материал и методы. Эксперимент проведен на половозрелых крысах-самках линии Wistar CRL:(WI)WUBR массой 175 г. Крысам опытных групп однократно внутривенно вводили ПТ за 2 ч до забоя в дозе 200 или 400 мг/кг.

Определяли степень адсорбции красителя нильского голубого (НГ) [6], уровень глутатиона (GSH и GSSG) [7], редокс-состояние эритроцитов [8], в плазме крови – уровень суммарных продуктов ОС (Verde V. et al., 2002) и уровень белковых SH-групп (Веревкина И.А. и др., 1977). Исследование содержания CoA-SH и ацетил-CoA в печени крыс осуществляли методом ВЭЖХ.

Результаты и их обсуждение. В таблице 1 представлены данные, характеризующие систему G, состояние эритроцитарной мембраны и E_h эритроцитов крови лабораторных животных, которые получали внутрь препарат ПТ. Проявился эффект обеих доз ПТ, приближающийся к дозозависимому и заключающийся в росте GSH, GSSG, общего G (GSH+2GSSG), однако достоверные отличия определены (исключая GSSG) для дозы ПТ 400 мг/кг.

Величина показателя E_h достоверно возрастала (становилась более окисленной) в обеих экспериментальных группах. Одновременно наблюдался отчетливый рост степени адсорбции красителя НГ, что свидетельствовало об уменьшении плотности эритроцитарной мембраны. Установлено накопление дихлорфлуоресцеина при инкубации в течение 30 мин в эритроцитах подопытных животных.

Исследования уровня SH-групп белков и суммарных продуктов ОС плазмы крови не выявили достоверных различий опытных и контрольной групп. Содержание CoA-SH и ацетил-CoA в печени животных также оставалось стабильным, что свидетельствовало об эффектах соединения ПТ (т.е. дисульфидной формы пантотеина).

Таблица 1 – Степень адсорбции НГ, уровень глутатиона и его редокс-потенциал в эритроцитах на фоне введения ПТ ($M \pm SD$, $n=8$).

Показатели	Контроль	ПТ, 200 мг/кг	ПТ, 400 мг/кг
GSH, мкмоль/г Hb	3,78±0,33	4,21±0,37	4,34±0,064*
GSSG, мкмоль/г Hb	0,078±0,002	0,082±0,003*	0,086±0,004* #
GSH/GSSG	48,5±4,1	51,6±4,2	50,7±7,3
GSH+2GSSG, мкмоль/г Hb	3,94±0,33	4,37±0,37	4,52±0,65*
E_h [GSSG/2GSH], мВ	-280,5±1,9	-277,9±1,7*	-277,1±2,9*
НГ, у.е./г Hb	39,2±10,2	49,6±4,5*	57,8±5,6* #

*- $p < 0,05$ относительно контроля, #- $p < 0,05$ относительно ПТ200

Полученные результаты свидетельствуют, что назначение массивной дозы дисульфидного соединения пантотеина – предшественника биосинтеза CoA, не изменяет соотношение GSH/GSSG эритроцитов, но увеличивает степень окисленности показателя E_h , что влечет за собой рост поглощения эритроцитами катионного красителя. Это сопровождается изменением интенсивности флуоресценции поглощенного клетками дихлорфлуоресцеина, предполагая модуляцию эффективного восстановительного потенциала и редокс-буферной ёмкости эритроцитов. Возможно, система биосинтеза CoA является участником регуляции редокс-потенциала и редокс-сигналирования, а ПТ – потенциальным средством их коррекции [9].

Список литературы

1. Lushchak, V.I. // J. Amino Acids. – 2012. <http://www.hindawi.com/journals/jaa/2012/736837>.
2. Wojtczak L., Slyshenkov V.S. // BioFactors. – 2003. – Vol.17. – P.61–73.
3. Jones D.P. // Meth. Enzymol. – 2002. – Vol.348. – P.93–112.
4. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках. – Минск: БГУ, 2008. – 159 с.
5. Пантетин: метаболизм, фармакология и регуляция обмена липидов / под ред. Л.Я. Утно. – Рига: Зинатне, 1991. – 133 с.
6. Гаврилов В.Б., Кравченко О.Н., Ветушко Д.А., Гуревич Г.Л., Конев С.В. // Доклады НАН Беларуси. – 2000. – Т. 44, № 5. – С.87–90.
7. Akerboom T.P., Sies H. // Methods Enzymol. – 1981. – Vol.77. – P.373–382.
8. Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Черенкевич С.Н. // Биофизика. – 2008. – Т.53, вып.4. – С.618–623.
9. Мойсеёнок А.Г. // Биохимия, фармакология и клиническое применение производных пантотеновой кислоты / под ред. А.Г. Мойсеёнка. – Гродно, 2003. – С.107–114.