

**СТАН ГЛУТАТІОНОВОЇ ЛАНКИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ
ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ З ГОСТРОЮ ЦЕРЕБРАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ:
АНТИОКСИДАНТНІ ЕФЕКТИ БАГАТОРАЗОВИХ ІН'ЄКЦІЙ HSP70**

Білки теплового шоку HSP70 відіграють значиму роль у регуляції глутатіонової системи при ішемії головного мозку. Так, введення цих стрес-білків щурам з гострою церебральною ішемією призводить до збільшення рівня відновленого глутатіону та значної активації глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та глутатіонтрансферази. Також спостерігається зниження вмісту маркерів окисної модифікації білків (альдегідфенілгідрозонів та кетонфенілгідрозонів), що свідчить про пригнічення розвитку оксидативного стресу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: HSP70, глутатіонова система, оксидативний стрес, церебральна ішемія.

ВСТУП. Білки теплового шоку (БТШ) є одними з найбільш вивчених захисних систем, які запобігають клітинному пошкодженню. Захисну дію цих білків пояснюють перш за все шаперонною активністю [5, 7, 9, 12]. Проте, крім безпосередньої участі всіх БТШ у захисті клітинних білків від різних видів денатурацій та окиснення, вони за допомогою різних, ще до кінця не вивчених механізмів захищають клітини від стресіндукованого апоптозу, блокуючи шляхи його активації і стабілізуючи клітинні структури [1, 2]. Революційні дослідження останнього десятиріччя розширили уявлення про високий терапевтичний потенціал HSP70 при ішемії серця, печінки, трансплантації органів, тепловому ударі, сепсисі, виразковій хворобі, інфекційних, злоякісних та нейродегенеративних захворюваннях [3, 4, 6, 8, 10, 11]. Головними завданнями, які вирішувались у цих роботах, були реалізація проєктивної функції HSP70 та отримання даних про способи підвищення стійкості модельних клітинних систем та тварин до пошкоджувальних факторів. Зміна показників тіол-дисульфідної системи залишилася невивченою.

Метою даної роботи було встановити антиоксидантний механізм захисної дії HSP70 за ступенем регуляції глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи головного мозку щурів з церебральною ішемією.

© І. Ф. Беленічев, О. В. Однокоз, К. В. Александрова, 2011.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти було проведено на дорослих щурах-самцях лінії Вістар масою 150–250 г. Під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) у тварин контрольної групи перев'язували сонні артерії для створення моделі гострої церебральної ішемії. Експериментальній групі тварин з церебральною ішемією щоденно вводили препарат HSP70 протягом трьох діб з розрахунку 8,25 мг/кг. Для експериментів використовували препарат HSP70, який містить HSP70і та HSP70с у співвідношенні 3:2, отриманий у ФГУП ГНИИ РФ. Декапітацію тварин проводили на 3 добу після операції. В цитоплазматичній фракції кори головного мозку визначали інтенсивність оксидативного стресу за вмістом альдегід- та кетонфенілгідрозонів (АФГ та КФГ). Стан глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи оцінювали за вмістом відновленого глутатіону та активністю таких ферментів: глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та глутатіон-S-трансферази.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У тварин з гострою церебральною ішемією на 3 добу спостерігали достовірне зниження рівня відновленого глутатіону (GSH) на 56 % та значне зниження активності глутатіонпероксидази (GPO) на 63 %, глутатіонредуктази (GR) – на 52 % та глутатіон-S-трансферази (GST) – на 40 %. Крім того, було виявлено значне збільшення альдегід- та кетонфенілгідрозонів

(маркерів окисної модифікації білків) – АФГ і КФГ на 60 та 65 % відповідно відносно групи інтактних тварин (табл. 1).

Введення білків теплового шоку HSP70 щурам з церебральною ішемією приводило до нормалізації глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи та пригнічення розвитку оксидативного стресу. Так, введення HSP70 викликало збільшення рівня GSH, підвищення активності GPO, GR та GST. Вміст маркерів окисної деструкції білків (АФГ та КФГ) при цьому зменшувався (табл. 1).

фідної системи та пригнічення розвитку оксидативного стресу. Так, введення HSP70 викликало збільшення рівня GSH, підвищення активності GPO, GR та GST. Вміст маркерів окисної деструкції білків (АФГ та КФГ) при цьому зменшувався (табл. 1).

Таблиця 1 – Вплив білків теплового шоку HSP70 на показники глутатіонової системи та маркери окисної деструкції білка в цитоплазматичній фракції кори головного мозку щурів з церебральною ішемією

Показник	Група тварин		
	інтакт, n=10	контроль (ішемія), n=10	дослід (ішемія+HSP70), n=10
GST, ммоль/хв·г білка	12,54±1,10	7,53±1,05*	8,97±0,45
GR, ммоль/хв·г білка	13,66±0,70	6,5±0,93*	9,9±0,51**
GPO, ммоль/хв·г білка	67,20±3,90	24,90±2,27*	49,05±2,84**
АФГ, ум. од./г білка	1,324±0,07	3,307±0,121*	1,742±0,109**
КФГ, ум. од./г білка	0,861±0,04	2,437±0,093*	1,240±0,086**
GSH, мкмоль/г тканини	3,90±0,16	1,73±0,08*	2,37±0,10**

Примітка. * – $p \leq 0,05$ відносно інтакту; ** – $p \leq 0,05$ відносно контролю.

ВИСНОВКИ. Результати наших досліджень мають фундаментальне значення для розуміння ролі HSP70 в модуляції тіол-дисульфідної системи нервової тканини. Виявлене нами підвищення функціональної активності глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи свідчить про роль HSP70 в регуляції прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в ЦНС.

Ці дані можуть бути експериментальним обґрунтуванням для використання в клініці лікарських засобів, які збільшують експресію та вміст HSP70 в тканинах головного мозку й інших тканинах при лікуванні нейродегенеративних захворювань, в тому числі ішемічних та геморагічних інсультів, черепно-мозкових травм і т. д.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Взаимосвязь апоптоза и экспрессия белков теплового шока у лимфоцитов периферической крови больных с инфарктом миокарда / А. М. Сапожников, Н. А. Константинова, Е. В. Константинова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – № 12. – С. 622–625.
2. Косенков Д. А. Белки теплового шока и апоптоз / Д. А. Косенков, Е. С. Зыкова, А. А. Обухов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2007. – № 2. – С. 52–56.
3. Макарова О. В. Белки теплового шока и их роль в развитии патологии / О. В. Макарова, И. М. Богданова, В. В. Малайцев // Архив патологии. – 2008. – № 6. – С. 31–38.
4. Манухина Е. Б. Стресс-белки при болезни Альцгеймера / Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2005. – № 7. – С. 40–46.
5. Москалева Е. Ю. Роль шаперонов в развитии некоторых заболеваний / Е. Ю. Москалева, И. А. Рыч-

- ков // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2007. – № 4. – С. 49–54.
6. Мухоедова Т. В. Протеины теплового шока в противоинфекционной и полиорганной защите / Т. В. Мухоедова, О. В. Жидкова // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2010. – № 4. – С. 69–73.
7. Пастухов Ю. Ф. Молекулярные, клеточные и системные механизмы протективной функции белка теплового шока 70 кДа / Ю. Ф. Пастухов, И. В. Екимова // Межд. научно-практ. журнал нейронауки. – 2005. – 2 (2). – С. 3–25.
8. Сравнение уровня экспрессии Hsp70 на клеточных линиях меланомы / А. Ю. Барышников, И. Н. Михайлова, Т. В. Михайлова [и др.] // Рос. биотерапевт. журн. – 2010. – № 1. – С. 43–47.
9. Структура, функции, биологическая активность белка теплового шока HSP70 / В. И. Киселев, А. А. Ляшенко, Е. С. Северин, А. В. Катлинский // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2003. – № 4. – С. 3–11.

10. Giuseppina Turturici Hsp70 and its molecular role in nervous system diseases / Giuseppina Turturici, Gabriella Sconzo, Fabiana Geraci // Biochem. Res. Int. – 2011 618127.

11. Hsp70 ATPase Modulators as Therapeutics for Alzheimer's and other Neurodegenerative Diseases /

Umesh K. Jinwal, John Koren III, John C. O'Leary III [et al.] // Mol. Cell Pharmacology. – 2010. – 2 (2). – P. 43–46.

12. Mayer M. P. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism / M. P. Mayer, B. Bukau // Cell Mol Life Sci. – 2005. – 62(6). – P. 670-684.

И. Ф. Беленичев, Е. В. Однокоз, Е. В. Александрова
ЗАПОРІЖСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

СОСТОЯНИЕ ГЛУТАТИОНОВОГО ЗВЕНА ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ: АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ МНОГОРАЗОВЫХ ИНЪЕКЦИЙ HSP70

Резюме

Белки теплового шока HSP70 выполняют значимую роль в регуляции глутатионовой системы при ишемии головного мозга. Так, введение этих стресс-белков крысам с острой церебральной ишемией приводит к увеличению уровня восстановленного глутатиона и значительной активации глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы. Также наблюдается снижение содержания маркеров окислительной модификации белков (альдегидфенилгидразонов и кетонфенилгидразонов), что свидетельствует об угнетении развития окислительного стресса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **HSP70, глутатионовая система, окислительный стресс, церебральная ишемия.**

I. F. Bielenichev, O. V. Odnokoz, K. V. Aleksandrova
ZAPORIZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

THE STATE OF GLUTATHIONE LINK OF BRAIN THIOL-DISULFIDE SYSTEM OF RATS WITH ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA: ANTIOXIDANT EFFECTS OF REPEATED HSP70 INJECTIONS

Summary

Heat shock proteins Hsp70 significantly take part in regulation of glutathione system at cerebral ischemia. So this stress-proteins introduction to rats with cerebral ischemia leads to an increase of reduced glutathione level and to a significant activation of Glutathione peroxidase, Glutathione reductase and Glutathione-S-transferase. It's also results in a decrease of markers of protein oxidative modification (Adehyde phenylhydrazones and Ketone phenylhydrazones) indicative of oxidative stress development suppression.

KEY WORDS: **HSP70, glutathione system, oxidative stress, cerebral ischemia.**

Отримано 18.10.11

Адреса для листування: *І. Ф. Беленічев, Запорізький державний медичний університет, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.*