

АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ ГЕНТИНГТОНА

ЗУЕВА Анастасия Анатольевна

магистр

ДОРОШЕВА Марина Васильевна

студент (специалист)

Воронежский государственный университет

г. Воронеж, Россия

В работе исследуется изменение активности антиоксидантных ферментов в тканях крыс на модели нейродегенеративной патологии. Эксперимент проводился с целью выявить взаимосвязь между уровнем активностей ферментов и развитием нейродегенеративных изменений. Изучались ключевые ферменты антиоксидантной системы, такие как глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и глутатионтрансфераза. Результаты показали снижение их активности при прогрессировании патологии. Полученные данные открывают новые перспективы для дальнейшего изучения патогенеза нейродегенеративных заболеваний и разработки методов их профилактики и лечения.

Ключевые слова: окислительный стресс, антиоксидантная система, ферменты, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза, болезнь гентингтона.

Нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Гентингтона, представляют собой неизлечимую прогрессирующую патологию, которая характеризуется потерей нейронов и нарушением функций нервной и опорно-двигательной системы. Одним из ключевых факторов, способствующих развитию патологии, является окислительный стресс, увеличение которого приводит к повреждению клеточных структур и биомолекул. Маркерами, по которым можно оценить состояние оксидативного статуса организма, могут служить ферменты глутатионовой системы. В связи с этим, целью работы явилось изучение активности глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы в тканях крыс при моделировании болезни Гентингтона [2].

Глутатионпероксидаза (ГП) – это фермент, который нейтрализует перекисные соединения липидов, перекись водорода и другие радикалы окислительного стресса, обеспечивая тем самым защиту клеток от повреждения. Редуктаза, еще один ключевой фермент, связанный с метаболизмом глутатиона, играет важную роль в восстановлении окисленного глутатиона в его активную форму. Это позволяет поддерживать антиоксидантную систему в активном состоянии. Глутатионтрансфераза участвует в детоксикации органических пероксидов, позволяя клеткам справляться с повреждающими факторами.

Материалы и методы исследования. Работа была проведена на крысах-самцах линии Wistar, возрастом 3-4 месяца (n=21). Для получения экспериментальной модели БГ использовали 3-нитропропионовую кислоту (Sigma), которую растворяли в физиологическом растворе и конечное значение pH доводили до 7,4 с помощью 5N NaOH. Инъекции 3-НПК осуществляли внутрибрюшинно, ежедневно, в течение 17 дней по утрам. Приготовление гомогената мозга осуществляли измельчением с помощью гомогенизатора Daihan HG-15A-Unit в трехкратном количестве холодной среды выделения, содержащей 50 mM буфера трис-HCl с pH 7,8, 10 mM ЭДТА и 0,5 mM бета-меркаптоэтанола. После измельчения мозга полученный гомогенат процеживали, а затем центрифугировали при пяти тысячах оборотов в минуту на протяжении десяти минут для отделения неразрушенных структур тканей мозга. На протяжении дальнейшей работы применяли надосадочную жидкость [1].

Об интенсивности протекания глутатионпероксидазной реакции судили по снижению оптической плотности из-за окисления НАДФН, происходящего из-за действия сопряженных энзимных процессов, а это: синтез дисульфида глутатиона под влиянием ГП и грядущего преобразования окисленной формы, имеющего связь с окислением НАДФН под влиянием ГР. Определение интенсивно-

сти работы энзима в глутатионпероксидазной реакции осуществляли в среде: 50 mM калий-фосфатного буфера с кислотностью 7,4, 1 mM ЭДТА, 0,12 mM НАДФН, 0,85 mM GSH, 0,37 mM пероксида водорода, и 1 ед/мл ГР. Контроль не имел в своем составе GSH. Реакционный процесс запускали внесением энзимного препарата в среду. Анализ активности ГТ осуществляли по увеличению оптической плотности при 340 нм в результате превращения 1-хлор,2,4-динитробензола в глутатион-2,4-динитробензол. В качестве среды для анализа активности ГТ использовали 0,1 М калий-фосфатный-буфер (pH 7,4), содержащий 1 mM ЭДТА, 1mM 1-Cl-2,4- динитробензол, 5 mM GSH.

Результаты исследования

Выявлено, что при развитии БГ снижается активность энзимов, выраженная в количестве Е/г сырой массы ткани и Е/мл сыворотки. Так, наблюдается снижение ГП-активности в мозге в 1,3 раза; а ГР-активности – в 1,2 раза относительно контрольных значений. Изменение активности ГТ происходит в сторону снижения в 1,4 раза относительно контроля. В литературных источниках упоминается, что при болезни Гентингтона мутантный белок хантингтин способствует избыточной выработке активных форм кислорода (АФК), что при-

водит к окислительному повреждению ферментов, их кофакторов и связанных с ними клеточных компонентов. Кроме того, хронический окислительный стресс может привести к модификации и инактивации этих ферментов, снижая их активность. Кроме того, митохондриальная дисфункция, характерная для болезни Гентингтона, снижает регенерацию НАДФН и GSH, важных кофакторов для этих ферментов, тем самым способствуя снижению активности ферментов и ослаблению антиоксидантной функции.

Можно предположить, что когнитивные и психологические нарушения, связанные с болезнью Гентигтона, могут частично возникать из-за изменений активности ферментов глутатионовой антиоксидантной системы, работа которых может способствовать защите мембран клеток от пероксидного окисления липидов. В условиях снижения их активности такая защита плохо срабатывает, что сказывается на ускорении гибели нейронов и приводит клиническим проявлениям когнитивной дисфункции.

Таким образом, полученные данные открывают перспективы в дальнейшем изучении заболевания и разработке новых методов диагностирования, терапии и профилактики дегенерации нервной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Опыт экспериментального моделирования болезни Гентингтона / А.В. Старовская [и др.] // Экспериментальная неврология. – 2015. – № 3, Т. 9. – С. 1-7.
2. *Mason R. Glutathione peroxidase activity is neuroprotective in models of Huntington's disease / R. Mason [et al.] // Nat Genet 45. 2013. P. 1249-1254.*

ACTIVITY OF SOME ANTIOXIDANT ENZYMES IN RAT TISSUES IN HUNTINGTON'S DISEASE SIMULATION

ZUEVA Anastasia Anatolievna

Undergraduate Student

DOROSHEVA Marina Vasilyevna

Student (Specialist)

Voronezh State University

Voronezh, Russia

The work investigates changes in the activity of antioxidant enzymes in rat tissues using a model of neurodegenerative pathology. The experiment was conducted to identify the relationship between the level of enzyme activity and the development of neurodegenerative changes. Key enzymes of the antioxidant system such as glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione transferase were studied. The results showed a decrease in their activity with the progression of pathology. The data obtained open up new perspectives for further study of the pathogenesis of neurodegenerative diseases and the development of methods for their prevention and treatment.

Keywords: oxidative stress, antioxidant system, enzymes, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione transferase, huntington's disease.