

Канах Ю.С., Гармаза Ю.М., Тамашевский А.В., Слобожанина Е.И.

Изучение функциональной активности белков-транспортеров семейства MRP и RLIP76 при воздействии гидрофильных и гидрофобных антиоксидантов на эритроциты пациентов с ишемической болезнью сердца

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
г. Минск, Беларусь

Введение. Из литературы известно, что белок множественной лекарственной устойчивости 1 (MRP1) модулировал кровяное давление на модели артериальной гипертензии (АГ), индуцированной ангиотензином II, у мышей дикого типа по сравнению с мышами MRP1^{-/-}, за счет увеличения экспорта окисленного глутатиона и снижения уровня восстановленного глутатиона (GSH) в сосудах мышей дикого типа. Также было установлено, что MRP1 играет значимую роль в ряде сосудистых патологий, сопровождающих гипертонию, а его присутствие имеет важное значение для гипертонической реакции на ангиотензин II [Widder JD et al., 2007]. Было выявлено участие RLIP76 (Ral-связывающего белка) в регуляции функционирования провоспалительных цитокинов, способствующих ожирению, и предложен новый механизм для целевой терапии ожирения и метаболического синдрома [Singhal SS et al., 2013]. Однако вопрос о функционировании белков-транспортеров в эритроцитах пациентов с ИБС при изменении редокс-статуса клеток до сих пор не решён.

Цель данной работы – изучение функциональной активности белков-транспортеров семейства MRP и RLIP76 при воздействии гидрофильных и гидрофобных антиоксидантов на эритроциты пациентов с ИБС с диагностированной АГ.

Материалы и методы. Объектом исследования явились эритроциты, выделенные из крови здоровых доноров и пациентов с подтверждённым диагнозом ИБС. Для модификации клеточного редокс-баланса *in vitro* использовали N-ацетилцистеин (NAC) и α -токоферол (α -Т) в концентрациях 0,3 мМ. Концентрацию GSH определяли по методу Элмана. Функциональную активность как RLIP76, так и MRP1 оценивали спектрофотометрически по степени выхода конъюгатов GSH с 1-хлор-2,4-динитробензолом (DNP-SG-конъюгатов). Активность MRP1 и жизнеспособность эритроцитов измеряли методом проточной цитофлуориметрии по остаточному удержанию кальцеина-AM в эритроцитах. Уровень свободнорадикальных соединений в эритроцитах оценивали с помощью зонда хлорометил-2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата. Различия между группами оценивали с помощью непара-

метрических критериев Вилкоксона и Манна-Уитни, результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Установлено, что концентрация GSH в эритроцитах пациентов с ИБС снижена, тогда как уровень активных форм кислорода (АФК) повышен по сравнению с таковыми у доноров, что свидетельствует о значимой роли окислительно-восстановительных процессов в эритроцитах при наличии ИБС.

При действии NAC *in vitro* на эритроциты доноров и пациентов с ИБС уровень GSH в клетках возрастал. В то время как, уровень GSH при действии α -Т на эритроциты доноров и пациентов с ИБС не изменялся.

Выявлена прямая корреляция между жизнеспособностью эритроцитов и уровнем GSH *in vitro*. Установлено, что NAC и α -Т в выбранных концентрациях не оказывали влияния на жизнеспособность клеток. Показано, что воздействие NAC и α -Т на эритроциты доноров и пациентов с ИБС приводило к снижению уровня АФК.

Обнаружено снижение транспорта DNP-SG конъюгатов при воздействии NAC на эритроциты доноров и при ИБС. При инкубации клеток с α -Т изменение выхода DNP-SG конъюгатов по сравнению с интактными клетками не обнаружено. Корреляционный анализ показал, что выход DNP-SG конъюгатов в большей степени связан с функционированием низкомолекулярного белка RLIP76, чем MRP1. Методом проточной цитометрии установлено, что активность MRP1 не изменялась при воздействии NAC и α -Т.

На основании полученных данных можно заключить, что NAC изменял как окислительно-восстановительный баланс клеток, так и активность RLIP76, не затрагивая при этом функционирование MRP1. В то время как α -Т снижал уровень АФК и не оказывал воздействия на исследуемые транспортные белки эритроцитов пациентов с ИБС.