

**ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО
БАЛАНСА В КРОВИ И ТКАНЯХ КРЫС С ЛИМФОСАРКОМОЙ НК/ЛҮ
ПРИ ДЕЙСТВИИ ДОКСОРУБИЦИНА, ПАНТЕНОЛА И ЦИСТЕАМИНА**

Семенович Д.С.,

*к. б. н., старший научный сотрудник
государственного предприятия “Институт биохимии биологически
активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;
semen@ibiochemistry.by*

Лукиенко Е.П.,

*к. м. н., старший научный сотрудник
государственного предприятия “Институт биохимии биологически
активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;
Lukgrodn@mail.ru*

Канунникова Н.П.,

*д. м. н., профессор, профессор кафедры технологии, физиологии и
гигиены питания учреждения образования «Гродненский государственный
университет имени Я.Купалы», г. Гродно, Беларусь;
n.kanunnikova@grsu.by*

Мойсеенок А.Г.,

*д. м. н., профессор, член-корреспондент НАН Беларуси,
главный научный сотрудник государственного предприятия “Институт
биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно,
Беларусь;*

andrey.moiseenok@tut.by

*Изучены изменения показателей окислительно-восстановительного
баланса в плазме крови и печени, ткани опухоли крыс-опухоленосителей
лимфосаркомы Плисса при действии доксорубицина, D-пантенола и
цистеамина. Установлено, что в плазме крови при действии данных
препаратов увеличивается содержание продуктов свободнорадикального
окисления, повышается восстанавливающая способность системы глутатиона
в печени, тогда как в ткани лимфосаркомы изменения редокс-баланса носят
противоположный характер.*

Ключевые слова: лимфосаркома; редокс-баланс; доксорубицин; пантенол;
цистеамин

**INDICATORS OF REDUCING BALANCE IN BLOOD AND TISSUE OF
RATS WITH LYMPHOSARCOMA NK / Ly AT THE ACTION OF
DOXORUBICIN, PANTENOL AND CYSTEAMINE**

Semenovich D.S.,

*Candidate of Biology, Senior Researcher,
State Institution “Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances,
National Academy of Sciences”, Grodno, Belarus;*

semen@ibiochemistry.by

Lukiyenko E.P.,

*Candidate of Medicine, Senior Researcher,
State Institution "Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances,
National Academy of Sciences", Grodno, Belarus;*

Lukgrodno@mail.ru

Kanunnikova N.P.,

*Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of
Technology, Physiology and Hygiene of Nutrition of the Educational Institution
«Yanka Kupala»'s Grodno State University», Grodno, Belarus;*

n.kanunnikova@grsu.by

Moiseenok A.G.,

*Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of National
Academy of Sciences,*

*Chief Researcher, State Institution "Institute of Biochemistry of Biologically
Active Substances, National Academy of Sciences", Grodno, Belarus;*

andrey.moiseenok@tut.by

Changes in the indicators of redox balance in blood plasma and liver, tumor tissue of rats-tumor-bearing Pliss lymphosarcoma were studied under the action of doxorubicin, D-panthenol and cysteamine. It was found that in the blood plasma under the action of these compounds, the content of free radical oxidation products increases, the reducing ability of the glutathione system in the liver increases, while in the tissue of lymphosarcoma, changes in the redox balance are of the opposite nature.

Key words: *lymphosarcoma; redox balance; doxorubicin; panthenol; cysteamine*

Одним из перспективных направлений в разработке способов повышения эффективности и снижения токсичности противоопухолевой терапии является избирательная регуляция окислительно-восстановительного баланса в ткани опухоли и в окружающих тканях организма [1, 2, 3]. Доклинические испытания агентов, генерирующих активные формы кислорода (АФК), показали их селективную токсичность на опухолевые клетки за счет повышения уровня АФК, благодаря чему окислительный стресс достигает так называемого «порога токсичности», а антиоксидантная система защиты злокачественной клетки существенно снижает свою активность [3, 4]. Чтобы защитить нормальные клетки организма от побочных эффектов химиотерапевтических препаратов, могут использоваться модуляторы клеточной системы кофермента А, которые играют важную роль в регуляции редокс-баланса, в частности редокс-баланса системы глутатиона в клетках млекопитающих [5, 6].

Исследованы показатели окислительного стресса в плазме крови, а также изучен редокс-статус глутатиона в печени животных-опухоленосителей при воздействии химиотерапии (доксорубицина) в сочетании с производными пантетина (D-пантенолом и цистеамином). Для модуляции редокс-баланса

использовали предшественник КоА D-пантенол (ПЛ), который обладает редокс-модулирующей активностью [7]. В комбинации с ПЛ животным-опухоленосителям вводили цистеамин (ЦSH) – аминотиол, обладающий антиоксидантным действием [8].

В эксперименте были использованы крысы-самцы линии Вистар массой 150–200 г, содержащиеся на стандартном рационе вивария. Животным подкожно в паховую область вводили 0,5 мл суспензии клеток лимфосаркомы Плисса (ЛСП), приготовленной на растворе Хенкса. Через 7 дней крысам-опухоленосителям вводили доксорубин гидрохлорид (Dox, 5 мг/кг, однократно, в/бр), после чего в течение 5 дней после инъекции доксорубина вводили композицию ПЛ (200 мг/кг, в/бр) с ЦSH (100 мг/кг, в/бр).

В плазме крови были изучены показатели окислительного стресса: содержание соединений, реагирующих с N, N-диметил-*n*-фенилендиамин (ДФАРС), которые характеризуют интенсивность образования свободнорадикальных продуктов, общая антиоксидантная активность (ОАА), а также содержание белковых SH-групп. В ткани печени исследовали содержание восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) форм глутатиона как основного фактора поддержания редокс-баланса в клетках [5]. В ткани лимфосаркомы определяли уровень небелковых тиолов и дисульфидов, основным компонентом которых являются GSH и GSSG. В печени и опухоли измеряли также содержание S-глутатионилированных белков, образование которых инициируется при окислительном стрессе [9].

Наши исследования показали, что введение доксорубина сопровождалось повышением содержания ДФАРС на 40 % ($p < 0,05$) в плазме крови по сравнению с таковым показателем у животных с лимфосаркомой, что может быть показателем активации свободнорадикальных процессов в организме на фоне химиотерапии (таблица 1). Антиоксидантная активность плазмы и содержание в ней белковых тиолов при этом достоверно не изменились. Дополнительное введение ПЛ+ЦSH на фоне доксорубина привело к превышению уровня ДФАРС не только выше значений в плазме животного-опухоленосителя, но и на 14 % выше значений на фоне действия доксорубина. Одновременно отмечалось повышение ОАА на 30 % ($p < 0,05$) и снижение содержания белковых тиолов на 12 % ($p < 0,05$), что может быть следствием разнонаправленных изменений окислительных и восстановительных реакций в организме, что привело как к усилению процессов образования свободных радикалов и снижению уровня белковых тиолов, так и к повышению активности антиоксидантных систем организма.

Таблица 1. – Изменение показателей окислительного стресса в плазме крови крыс с лимфосаркомой при действии доксорубина в сочетании с D-пантенолом и цистеамином, $M \pm SD$

Группы	Белковые SH-группы, мкмоль/г белка	ДФАРС, Ед/мл	ОАА, ммоль/л
--------	---------------------------------------	-----------------	--------------

ЛСП	3,52±0,29	430,90±60,75	1,06±0,19
ЛСП+Dox	3,19±0,26	603,75±72,70*	1,26±0,21
ЛСП+Dox+ПЛ+ЦSH	3,09±0,12*	691,17±53,33*#	1,38±0,18*

Примечание – * – $p < 0,05$ по отношению к ЛСП, # – $p < 0,05$ по отношению к ЛСП+Dox

Исследование показателей системы глутатиона в печени крыс-опухоленосителей лимфосаркомы показало, что уровень GSH и особенно соотношение GSH/GSSG при действии доксорубицина были выше, чем у крыс с лимфосаркомой, тогда как содержание GSSG не отличалось от значений в первой группе (таблица 2). Добавление ПЛ и ЦSH к действию доксорубицина сопровождалось практически 5-кратным повышением и уровня GSH, и соотношения GSH/GSSG в печени по сравнению с таковыми показателями у животных-опухоленосителей.

Таблица 2. – Содержание восстановленного (GSH) и окисленного глутатиона (GSSG) и их соотношение в печени крыс с лимфосаркомой при действии доксорубицина в сочетании с D-пантенолом и цистеамином, M±SD

Группы	GSH, нмоль/мг белка	GSSG, нмоль/мг белка	GSH/GSSG
ЛСП	4,82±2,18	0,85±0,17	5,60±1,93
ЛСП+Dox	14,41±6,80	0,85±0,16	16,83±6,65*
ЛСП+Dox+ПЛ+ЦSH	22,35±9,34*	0,83±0,26	29,21±8,06* #

Примечание – * – $p < 0,05$ по отношению к ЛСП, # – $p < 0,05$ по отношению к ЛСП+Dox

Изучение содержания небелковых тиолов и дисульфидов в ткани лимфосаркомы крыс показало, что, в противоположность эффектам на систему глутатиона в печени, в ткани опухоли снижаются и уровень тиолов (на 27 - 20 %, $p < 0,05$) и соотношение тиолов к дисульфидам (на 21 %, $p < 0,05$) после введения как доксорубицина, так и его комбинации с пантенолом и цистеамином (таблица 3).

Таблица 3. – Содержание небелковых тиолов и дисульфидов в ткани лимфосаркомы крыс-опухоленосителей при действии доксорубицина в сочетании с D-пантенолом и цистеамином, нмоль/мг белка, M±SD

Группы	Небелковые тиолы	Небелковые дисульфиды	SH/SS
ЛСП	4,00±0,37	2,11±0,32	1,98±0,19
ЛСП+Dox	2,94±0,34*	1,90±0,27	1,56±0,13*
ЛСП+Dox+ПЛ+ЦSH	3,21±0,32*	2,09±0,26	1,67±0,27

Примечание – * – $p < 0,05$ по отношению к ЛСП, # – $p < 0,05$ по отношению к ЛСП+Dox

Доксорубицин и особенно его комбинация с пантенолом и цистеамином в по-разному влияют на содержание S-глутатионилированных белков в ткани печени и ткани опухоли: в печени их уровень снижается (на 20 %, $p < 0,05$), тогда как в ткани опухоли он увеличивается на 67 % ($p < 0,05$) (таблица 4).

Таблица 4. – Содержание S-глутатионилированных белков в ткани печени и лимфосаркомы печени крыс-опухоленосителей при действии доксорубицина в сочетании с D-пантенолом и цистеамином, нмоль/мг белка, $M \pm SD$

Группы	Печень	Лимфосаркома
ЛСП	21,59±2,82	50,65±5,91
ЛСП+Dox	19,20±3,38	67,55±10,10*
ЛСП+Dox+П Л+ЦSH	17,18±2,09*	84,38±8,58*

Примечание – * – $p < 0,05$ по отношению к ЛСП, # – $p < 0,05$ по отношению к ЛСП+Dox

В совокупности с данными об изменениях уровня небелковых тиолов и дисульфидов в ткани опухоли и изменениях системы глутатиона в печени, результаты изменений содержания S-глутатионилированных белков свидетельствуют о разнонаправленных эффектах химиотерапевтических препаратов и модуляторов редокс-баланса на активность системы глутатиона как основной системы поддержания редокс-баланса и его влиянии на посттрансляционную модификацию белков в ткани опухоли и в тканях организма-опухоленосителя.

Таким образом, нами установлено, что в плазме крови животных-опухоленосителей на фоне химиотерапии и ее сочетанном воздействии с D-пантенолом и цистеамином увеличивается содержание продуктов свободнорадикального окисления, повышается восстанавливающая способность системы глутатиона и снижается глутатионилирование белков в печени. В то же время в ткани лимфосаркомы доксорубицин в совокупности с пантенолом и цистеамином способствуют сдвигу баланса небелковых тиолов и дисульфидов в окисленную сторону и повышают посттрансляционную окислительную модификацию белков, что, очевидно, может усиливать повреждения, обусловленные окислительным стрессом. Данные результаты могут быть использованы в дальнейших исследованиях, направленных на поиск новых редокс-активных соединений и их комбинации с химиотерапевтическими препаратами для лечения и метаболической коррекции онкологических заболеваний.

Список литературы

1. Trachootham, D. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? / D.Trachootham, J.Alexandre, P.Huang // Nat. Rev. Drug Discov. – 2009. – Vol. 8, № 7. – P. 579–591.
2. The role of cellular reactive oxygen species in cancer chemotherapy / Н. Yang [et al.] // J. Exp. Clin. Cancer Res. – 2018. – Vol. 37. – P. 266.
3. Flohé, L. Changing paradigms in thiology from antioxidant defense toward redox regulation / L. Flohé // Methods Enzymol. – 2010. – Vol. 473. – P. 1–39.
4. Особенности редокс-регуляции в опухолевых клетках / Н.К. Зенков, П.М. Кожин [и др.] // Сибирский онколог. журнал. – 2019. – Т. 39, № 2. – С. 11–26.
5. Singh, S. Role of glutathione in cancer pathophysiology and therapeutic interventions / S.Singh, A.R.Khan, A.K.Gupta // J. Exp. Therap. Oncol. – 2012. – Vol. 9, № 4. – P. 303–316.
6. Coenzyme A: back in action / R. Leonardi, Y.M. Zhang, C.O. Rock et al. // Prog. Lipid Res. – 2005. – Vol. 44, № 2–3. – P.125–153.
7. Specific antioxidant compounds differentially modulate cytotoxic activity of doxorubicin and cisplatin: *in vitro* and *in vivo* study / R. Panchuk _ [et al.] // Croat. Med. J. – 2014. – Vol. 55, № 3. – P. 206–217.
8. Wood, P.L. Cellular thiol pools are responsible for sequestration of cytotoxic reactive aldehydes: central role of free cysteine and cysteamine / P.L.Wood, M.A.Khan, J.R.Moskal // Brain Res. – 2007. – Vol. 1158. – P.158–163.
9. Townsend, D.M. S-glutathionylation: indicator of cell stress and regulator of the unfolded protein response / D.M.Townsend // Mol. Interv. – 2007. – Vol. 7, № 6. – P. 313–324.