

растению более гибко регулировать потоки электронов и восстановительных эквивалентов в электрон-транспортных цепях митохондрий, адаптируя их в соответствии с текущими потребностями энергетического и конструктивного метаболизма. Подобного рода регуляция экспрессии позволяет избежать ситуации overflow, поддерживает функционирование цикла Кребса на свету и благоприятствует нормальному протеканию фотосинтеза.

1. Finnegan P.F., Soole K.L., Umbach A.L. Alternative mitochondrial electron transport proteins in higher plants // *In Plant Mitochondria: From Genome to Function*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. Edited by Day D.A., Millar H. and Whilan J. P. 163-230.
2. Svensson A.S., Rasmussen A.G. Light-dependent gene expression for proteins in the respiratory chain of potato leaves // *Plant J.* - 2001. - Vol. 28. - P. 73-82.

МОДУЛИРОВАНИЕ ГЕНОПРОТЕКТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНАЛОГА НАДН

Н.И. Рябоконт, Р.И. Гончарова

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь
n.ryabokon@igc.bas-net.by

Синтез и исследование синтетических аналогов НАДН и НАДФН приобретают особую актуальность в связи с открытием новых и многочисленных функций этих коферментов в клетке, а также с необходимостью фармакологического вмешательства при заболеваниях, связанных с нарушениями в метаболизме. В настоящей работе представлен краткий обзор данных, полученных при изучении на клетках человека механизмов генопротекторного действия одного из перспективных синтетических производных 1,4-дигидропиридина (1,4-ДГП), аналога активного центра НАДН и НАДФН [1,2]. Исследуемый препарат 3,5-бис-этоксикарбонил-2,6-диметил-1,4-дигидропиридин-4-карбоксилат натрия (AV-153) синтезирован в Латвийском институте органического синтеза [2] и по аналогии с коферментами НАДН и НАДФН обладает электрон-водородными донорными свойствами [2,3]. Производные 1,4-ДГП из этой группы восстанавливают энергетический запас клеток [3] и выступают как биопротекторы, проявляя антиоксидантные, противовоспалительные и другие свойства [2]. На модельных объектах *in vivo* впервые установлено, что производные 1,4-ДГП обладают также антимуtagenными свойствами в строгой зависимости от их электронодонорного потенциала и по своему механизму антимуtagenного действия являются репарогенами, т.е. соединениями, влияющими на репарацию ДНК; предполагаются и другие множественные механизмы их защитного действия, включая влияние на апоптоз [4].

На различных клетках человека *in vitro* впервые показано, что препарат AV-153 проявляет генопротекторные свойства, защищая геном клеток от повреждений, вызванных различными факторами: эндогенными метаболитами и ошибками репликации, а также ионизирующим облучением, окислительным стрессом и алкилированием. При этом наиболее эффективными являются низкие концентрации препарата, снижающие до 70% повреждения ДНК и увеличивающие скорость их репарации по пути эксцизионной репарации оснований (BER) [1]. Обнаружено также, что исследуемый препарат наиболее эффективен в течение первых и наиболее важных минут процесса BER и что он в строгой зависимости от своей концентрации (рис. 1А) стимулирует дополнительный синтез поли(ADP-рибозы), являющейся продуктом активности полимеразы PARP-1, одного из компонентов комплекса ферментов BER [5]. Сверхпродукция до 130% полимера (ADP-рибозы) в присутствии AV-153 коррелирует с эффективностью (рис. 1Б) и скоростью BER [5], тем самым, демонстрируя один из механизмов генопротекторной активности AV-153.

Обнаруженный механизм модулирования BER с использованием синтетических препаратов является на сегодняшний день уникальным [5].

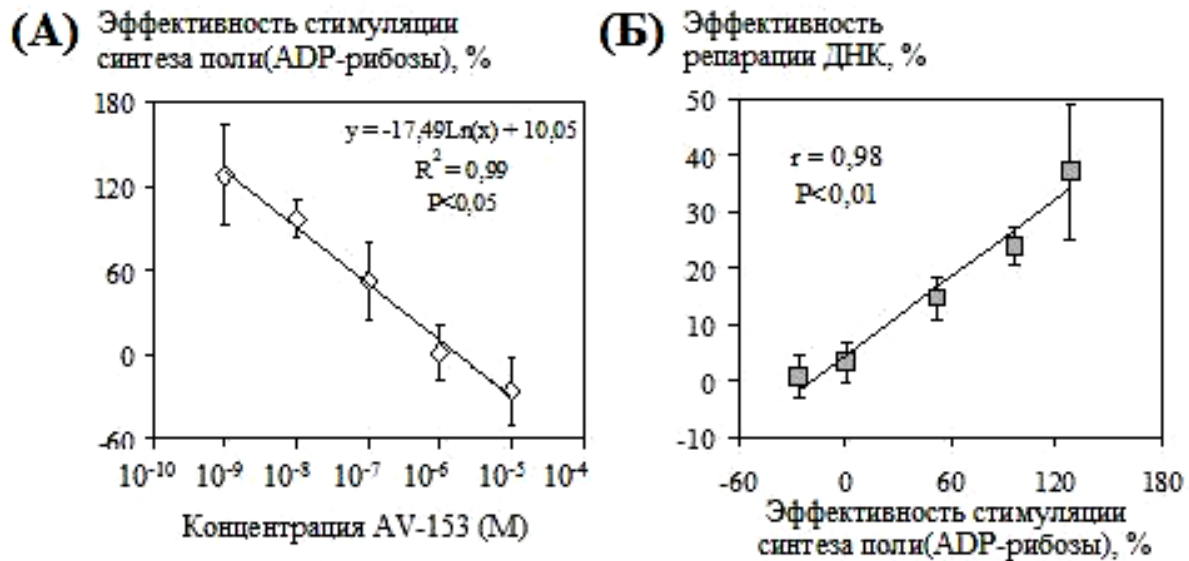


Рис. 1. Корреляция (А) между концентрацией исследуемого препарата AV-153 и дополнительным синтезом поли(ADP-рибозы) в присутствии данного препарата, а также (Б) между упомянутым синтезом поли(ADP-рибозы) и эффективностью репарации ДНК [5].

Хорошо известно, что процесс BER требует больших энергетических затрат для клетки и что в течение 20-30 минут после генотоксического воздействия количество НАД⁺ - окисленная форма кофермента, используемая как субстрат для синтеза поли(ADP-рибозы), - а вслед за ним и количество АТФ драматически уменьшаются [6]. Энергетический потенциал клетки наряду с количеством повреждений ДНК определяют дальнейшую ее судьбу после генотоксического воздействия: от репарации ДНК, задержки клеточного цикла, до программируемой и безопасной для организма клеточной смерти (апоптоза) или до нежелательной и неспецифической клеточной смерти (некроза).

Последнее происходит в случае множественных повреждений и больших энергетических потерь, в то время как клетки с нерепарируемыми повреждениями ДНК и при достаточном энергетическом запасе, могут вступить на путь апоптоза [7]. Нами показано, что исследуемый аналог НАДН имеет тенденцию к увеличению спонтанной частоты апоптоза, что представляет собой проявление еще одного генопротекторного свойства данного препарата, в этом случае, по-видимому, против клеток с нерепарируемыми повреждениями ДНК [8,9]. Однако при генотоксическом воздействии на клетки наблюдается обратное явление – дозозависимое снижение частоты апоптоза в присутствии препарата, - параллельно со стимуляцией репарации ДНК [8].

Прямая корреляция между редуцированными частотами апоптоза и редуцированными уровнями первичных повреждений ДНК после генотоксического стресса (рис. 2) может свидетельствовать о том, что основным генопротекторным механизмом действия препарата является положительное влияние на репарацию ДНК, вследствие чего меньшее

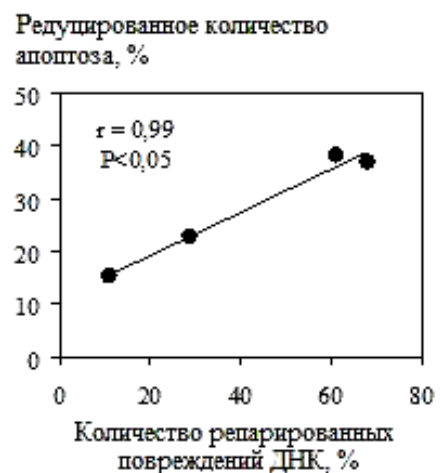


Рис. 2. Корреляция между редуцированными уровнями первичных повреждений ДНК и апоптоза в культуре лимфоцитов здоровых доноров после острого гамма-облучения в дозе 2 Гр и инкубации при различных концентрациях исследуемого препарата.

количество клеток вступает на путь апоптоза. По-видимому, это обусловлено приоритетом потребления энергии в клетке на репарацию ДНК и в меньшем количестве на апоптоз. Отмечено также положительное влияние препарата на выживаемость клеток человека после генотоксического стресса. Таким образом, полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что некоторые аналоги НАДН и НАДФН могут эффективно усиливать клеточную защиту против краткосрочного генотоксического воздействия путем стимуляции репарации ДНК с последующим снижением гибели клеток.

Обзор подготовлен в ходе выполнения проектов при поддержке БРФФИ (№ договора Б07-223) и ГКПНИ «Биологическая инженерия и биобезопасность», а также в рамках международного сотрудничества между Институтом генетики и цитологии НАНБ, Латвийским институтом органического синтеза (г. Рига, Латвия) и Центром Онкологии (г. Гливице, Польша).

1. *N.I. Ryabokon, R.I. Goncharova, G. Duburs, J. Rzeszowska-Wolny.* A 1,4-dihydropyridine derivative reduces DNA damage and stimulate DNA repair in human cells *in vitro* // *Mutat. Res.* – 2005. – V. 587. – P. 52–58.
2. *G. Duburs, B. Vigante, A. Plotniece, A. Krauze, A. Sobolev, J. Briede, V. Klusa, A. Velena.* Dihydropyridine derivatives as bioprotectors // *Chemistry Today.* – 2008. – V. 26, № 2. – P. 68–70.
3. *Y. Sambongi, H. Nitta, K. Ichihashi M. Futai, I. Ueda.* A novel water-soluble Hantzsch 1,4-dihydropyridine compound that functions in biological processes through NADH regeneration // *J.Org.Chem.* – 2002. – V. 67. № 10. – P. 3499–3501.
4. *Т.Д. Кузур.* Антимутагены и химический мутагенез в системах высших эукариот. – Минск: Тэхналогія. – 1999. – 267 с.
5. *N.I. Ryabokon, R.I. Goncharova, G. Duburs, R. Hancock, J. Rzeszowska-Wolny.* Changes in poly(ADP-ribose) level modulate the kinetics of DNA strand break rejoining // *Mutat. Res.* – 2008. – V. 637. – № 1–2. – P. 173–181.
6. *Schraufstatter I.U., Hyslop P.A., Hinshaw D.B., Spragg R.G., Sklar L.A., Cachrane C.G.* Hydrogen peroxide-induced injury of cells and its prevention by inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1986. – V. 83. – P. 4908–4912.
7. *S. Shall, G. de Murcia.* Poly(ADP-ribose) polymerase-1: what have we learned from the deficient mouse model? // *Mutat. Res.* – 2000. – V. 460. – P. 1–15.
8. *Н.В. Никитченко, О.В. Даливеля, Р.И. Гончарова, Н.И. Рябоконе.* Влияние аналога НАДН на формирование спонтанных и радиационно-индуцированных повреждений ДНК, микроядер и апоптоза в лимфоцитах периферической крови здоровых доноров *in vitro* (в данном сборнике).

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ГИПЕРМУТАБИЛЬНОСТИ V3 РЕГИОНА ПОВЕРХНОСТНОГО ГЛИКОПРОТЕИНА gp120 ВИЧ1

В.В. Хрусталёв, Е.В. Барковский

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь
vkhrustalev@mail.ru*

Большое количество научных трудов посвящено изучению гипермутабильности вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Найдена молекулярная причина наиболее часто возникающих мутаций – замен гуанина на аденин на «+» цепи. Эти замены являются «отражением» ферментативного дезаминирования цитозина, происходящего на ДНК «-» цепи вируса во время репликации [1]. Установлено, что наиболее иммуногенным эпитопом ВИЧ является V3 регион поверхностного гликопротеина gp120 [2]. Соответственно, большая часть мутаций, приводящих к уходу вируса от иммунного ответа, происходит в V3 регионе gp120. Предшественник gp120 – вирусный белок gp160 – кодируется геном env.

Отличительной особенностью большей части штаммов ВИЧ2 является более низкая, по сравнению с ВИЧ1, мутабельность. С этой особенностью связывают более длительный латентный период ВИЧ2 инфекции: мутации, приводящие к уходу от иммунного ответа, происходят реже [3].

Целью настоящего исследования явился поиск причин гипермутабильности V3 региона gp120 ВИЧ1 на молекулярном уровне. Для этого мы сравнили нуклеотидный состав участка