

## **ХРОНІКА**

---

---

### **ПЕРША КАРПАТСЬКА ЛІТНЯ ШКОЛА З БІОХІМІЇ** **«Дослідження вільнорадикальних процесів у живих організмах»** **(30 червня – 7 липня 2013 року, Івано-Франківськ, Україна)**

З 30 червня до 7 липня 2013 р. на базі кафедри біохімії та біотехнології ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника» відбулася Перша Карпатська Літня Школа з біохімії «Дослідження вільнорадикальних процесів у живих організмах».

Організатором виступив колектив кафедри біохімії та біотехнології Інституту природничих наук Прикарпатського національного університету під егідою Українського Біохімічного Товариства.

Впродовж останніх 15 років колектив кафедри біохімії та біотехнології здобув не лише значний досвід в зазначеній галузі, але й міжнародне визнання. Саме тому Школа присвячена проблемам дослідження вільнорадикальних процесів у живих організмах і практичній реалізації наукових проектів та підходів для опублікування результатів досліджень в авторитетних міжнародних виданнях.

Основною метою школи було розширення світогляду та мобільності студентів і молодих учених, які працюють у різних галузях біологічної науки і потребують біохімічних навичок для вирішення конкретних дослідних завдань. Учасниками Літньої Школи стали тридцять студентів, аспірантів і молодих вчених з Києва, Донецька, Харкова, Кривого Рогу, Одеси, Полтави, Дніпропетровська, Львова, Чернівців та Івано-Франківська. Програма Школи передбачала лекції, дискусії та практичну роботу в лабораторіях.

Робота Школи почалася лекцією завідувача кафедри біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету ім. В.В. Стефаника д.б.н., професора В.І. Луцака «Основні уявлення про вільні радикали та активовані форми кисню. Шляхи утворення АФК в біологічних системах». Молоді науковці отримали найсучаснішу інформацію про вільні радикали взагалі та активовані форми кисню (такі як  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$ ,  $^{\cdot}\text{OH}$ ) зокрема, їх класифікацію, детальний механізм утворення, типи вільнорадикальних реакцій. Глибоко проаналізовані ендogenousні шляхи утворення АФК в біологічних системах, зокрема їх генерація в електрон-транспортних ланцюгах мітохондрій, хлоропластів, ендоплазматичного ретикулуму, плазмалеми, при ферментативній активності оксидаз вуглеводів, амінокислот, ксантину та аутоокисленні іонів перехідних металів та різних органічних сполук. Екзогенними чинниками, що можуть спричинити посилення утворення АФК в живих організмах, є ліки, різні ксенобіотики та світлове і радіаційне опромінення.

У лекції «Взаємодія активованих форм кисню з клітинними компонентами» доцент кафедри біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету ім. В.В. Стефаника к.б.н. М.М. Байляк розповіла про «шкідливі» наслідки взаємодії АФК з найпоширенішими біомолекулами – нуклеїновими кислотами, білками, вуглеводами, ліпідами. Зокрема, внаслідок реакції АФК з ДНК утворюються оксо-, гідроксо-, метил- та галогенопохідні азотистих основ, тимінові зшивки, додаткові 5-членні або 6-членні цикли, токсичні продукти окиснення дезоксирибози. Все це призводить до цілої низки порушень: мутацій, ініціації канцерогенезу, аутоімунних захворювань, порушення реплікації та транскрипції. АФК можуть викликати різні типи окисних пошкоджень білкових молекул, що призводять до втрати активності ензимів та до порушень функцій інших білків аж до повної їх деградації.

При взаємодії АФК (наприклад  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) з моносахаридами можуть утворюватись активні дикарбонільні сполуки (глюксаль, глюкозон), які в свою чергу модифікують білки та нуклеїнові кислоти. Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) може бути як неферментативним (взаємодія з  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,

## ХРОНІКА

•ОН, NO•, NO<sub>2</sub>•, іонами Fe<sup>2+</sup>), так і ензиматичним (за участю ліпоксигеназ). Активні кінцеві продукти ПОЛ, взаємодіючи з біомолекулами, утворюють продукти пероксидації, які змінюють антигенні властивості білків, інгібують ферменти, виявляють канцерогенний і мутагенний ефекти.

Професор В.І. Лушак прочитав лекцію «Механізми захисту від активованих форм кисню», в якій виклав найсучасніше розуміння принципів захисту від кисневих вільних радикалів. Важливим принципом захисту від АФК є їх елімінація шляхом взаємодії з високомолекулярними сполуками – антиоксидантними і пов'язаними з ними ферментами (СОД, каталаза, ферменти глутатіонового циклу, тіоредоксини) та білками, які зв'язують іони металів, а також нейтралізації АФК низькомолекулярними антиоксидантами – вітамінами Е (токоферол), С (аскорбат), А, сечовою кислотою, глутатіоном, антоціанами тощо. Окиснені біомолекули повинні репаруватися (система репарації ДНК, тіоредоксин, глутаредоксин, метіонінсульфоксидредуктаза), знищуватися відповідними гідролазами або експортуватися (як, наприклад, окиснений глутатіон та інші кон'югати з глутатіоном). Серед способів підвищення антиоксидантного потенціалу, мабуть, найважливішим є координувана реорганізація експресії генів, відповідальних за виживання організму при окиснювальних пошкодженнях (наприклад регулонів SoxR та OxyR у *Escherichia coli*).

Тема оксидативного стресу була продовжена у наступній лекції професора В.І. Лушак «Оксидативний стрес та регуляція захисних механізмів». Були розглянуті основні риси сучасної теорії окисного стресу, а також реакції на дію оксидативного (та на деяких об'єктах нітрозитивного) стресу у клітинах бактерій, грибів, рослин і тварин. На прикладі досліджень науковців кафедри була показана активуюча дія пероксиду водню та нітропрусиду натрію (донора NO), як агентів окиснювального та нітрозитивного стресу відповідно, на активність антиоксидантних ферментів у зв'язку з активацією експресії регулона soxRS у *Escherichia coli* та окисненням ФРТ Yap1 у *Saccharomyces cerevisiae*. На мутантах арабідопсису встановлено, що інгібування генів, які кодують ферменти біосинтезу токоферолів, викликає оксидативний стрес у цих рослин. Крім цього, були представлені дослідження співробітників кафедри щодо розвитку окисного стресу та реакцій на нього цілого ряду риб при різних абіотичних стресорах (гіпоксія, гіпероксія, гіпертермія).

У лекції доцента М.М. Байляк «Корисні функції АФК» основна увага була сконцентрована на важливих функціях активованих форм кисню в клітинах живих організмів. Була показана роль АФК у синтезі простагландинів у ссавців, а також розглянута фізіологічна роль ПОЛ у рослин. Крім того, розкрита роль АФК в імунній відповіді ссавців та у захисті від патогенів у рослин. Однак найбільшу увагу було звернено на АФК та NO• як сигнальні молекули та регулятори фізіологічних функцій організму. Так, були наведені можливі механізми АФК-сигналіну, зокрема, зміни у внутрішньоклітинному тіол-дисульфід редокс-статусі (глутатіон та тіоредоксини) та окисна модифікація білків (окиснення цистеїнових залишків, окиснення FeS-кластерів у білках та карбонілювання).

Запрошений лектор, старший науковий співробітник кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка, к.б.н. В.Р. Дрель у лекції «Транспортери глюкози та їх роль в розвитку оксидативно-нітративного стресу за цукрового діабету» ознайомив учасників з сучасними поглядами на клітинні механізми виникнення діабету I та II типів, зазначивши, що за будь-якого типу захворювання до клітин, що мають переважно інсулін-незалежні транспортери глюкози, а до таких належать практично всі тканини, за винятком м'язових та жирових, значно посилюється надходження глюкози, а отже, зростає інтенсивність дихання. В результаті утворення АФК (перш за все O<sub>2</sub><sup>-•</sup>) починає перевищувати можливості антиоксидантної системи їх елімінації. При цьому активуються альтернативні метаболічні шляхи (сорбітоловий, гексозаміновий тощо), що призводить, зокрема, до глікозилювання гемоглобіну, утворення пероксинітриду, що спричиняє пошкодження судин та може активізувати фермент полі-(АДФ-рибозо)-полімераза. Надлишкова активність останньої призводить до загибелі клітини шляхом апоптозу або некрозу.

Професор В.І. Лушак у лекції «Оксидативний стрес, старіння і хвороби» зробив огляд основних існуючих нині теорій старіння, зосередивши основну увагу на найпопулярнішій – вільно-радикальній теорії старіння живих організмів. Згідно з нею старіння організмів відбувається внаслідок поступового накопичення непридатних для деградації системами клітини продуктів взаємо-

## ХРОНІКА

дії АФК з клітинними компонентами. На користь цієї теорії свідчать дані, отримані на філогенічно різних організмах, починаючи з бактерій і дріжджів, у яких виявлено так звані «материнські» та «дочірні» лінії – під час поділу перші «отримують» основну масу модифікованих сполук, і живуть менше, ніж другі, – завершуючи безхребетними та рибами. Використання ссавців у подібних експериментах досі залишається питанням етики, однак консервативність базових метаболічних процесів дозволяє припускати їх подібність. До стратегій попередження старіння належить обмеження калорійності харчування поряд із фізичною активністю та вживанням речовин з антиоксидантними (аскорбінова кислота) та адаптогенними (рослинні препарати) властивостями. Наприкінці лектор наголосив, що сучасна наука, незважаючи на значні успіхи, ще не готова до розв'язання питання омолодження людини. Більш актуальною нині є стратегія покращення життя людей похилого віку та попередження супровідних хвороб, які спричиняють абсолютну більшість випадків смерті населення Землі.

Доцент М.М. Байляк у доповіді «Про- і антиоксидантні властивості речовин рослинного походження» представила коротку характеристику відомих низькомолекулярних антиоксидантів рослин – вітамінів, поліфенолів та механізми їх антиоксидантної дії, особливо відзначивши катехіни зеленого чаю, родіоли рожевої («золотий корінь»), ресвератрол червоного вина. Доповідач також наголосила, що за високих концентрацій та в певних умовах фенольні антиоксиданти виявляють цитотоксичну дію в тваринних клітинах, зумовлену прооксидантним впливом. Навіть у буферному розчині в екстрактах зеленого чаю, кави, родіоли рожевої зафіксовано утворення пероксиду водню, яке зростає у кілька разів із підвищенням рН. Механізм процесу обговорюється. Припускається, що прооксидантна функція фенолів може мати протипухлинну дію або просто ініціювати активацію антиоксидантної системи клітин.

В доповіді к.б.н., викладача кафедри біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету ім. В.В. Стефаника О.Б. Аброт «Слабкі органічні кислоти як індуктори оксидативного стресу у дріжджів» основну увагу було приділено органічним кислотам-консервантам – бензойній, сорбінової, пропіонової та оцтової. Охарактеризувавши механізми їх консервуючої дії, доповідач зазначила, що за дії оцтової кислоти на дріжджі в них спостерігається розвиток окиснювального стресу, зокрема, вміст  $H_2O_2$  та  $O_2^{\cdot-}$  зростає через 15 хв та 2 год відповідно, підвищується вміст карбонільованих білків. Мутантні штами  $\Delta sod$  та  $\Delta Yap1$  (фактори регуляції транскрипції генів СОД і каталази) виявилися більш чутливими до впливу кислоти, ніж  $\Delta kat$ . Пропіонова кислота не викликала ефекту окиснювального стресу взагалі.

К.б.н., доцент кафедри біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету ім. В.В. Стефаника В.В. Гусак представив доповідь на тему «Іони металів та пестициди як індуктори оксидативного стресу у риб», в якій охарактеризував сучасні уявлення про токсичну дію металів – в першу чергу, Fe, Cu, Co і Ni – і пестицидів (інсектицидів та гербіцидів) – на клітини риб, механізми їх проникнення і шляхи можливої нейтралізації та виведення з організму риби. Особливий акцент було зроблено на той факт, що токсична дія як важких металів, так і пестицидів пов'язана з посиленою генерацією АФК різними способами – від прямого утворення радикалів перехідними металами до інгібування антиоксидантних ферментів і запуску «окиснювального апоптозу» нервових синапсів.

Програма кожного дня, крім лекцій, передбачала проведення практичних занять. Для освоєння методик дослідження вільнорадикальних процесів учасники мали змогу обрати один з чотирьох експериментальних об'єктів: пекарські дріжджі, плодovu мушку, риб чи рослину різущка Талля. Розподілені за об'єктами дослідні групи під керівництвом співробітників кафедри опрацьовували методики оцінки рівня окиснювального стресу в клітинах – вміст пероксидів ліпідів FOX-методом, вміст тіобарбітурат-активних продуктів та карбонільних груп білків, визначення вмісту антиоксидантних сполук – глутатіону, низько- та високомолекулярних тіолів, а також активність антиоксидантних та пов'язаних з ними ферментів – супероксиддисмутази, каталази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіон-S-трансферази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази.

## **ХРОНІКА**

Завершення школи відбувалося серед мальовничих Карпат у с.м.т. Яремче Івано-Франківської області. Останню лекцію «Крізь терни до зірок: як досягти успіху в царині науки в Україні» керівник школи, професор В.І. Луцак присвятив рекомендаціям з підготовки наукових доповідей та написання статей, які могли б бути опубліковані в закордонних наукових журналах. Після цього всі бажаючі учасники школи могли зробити невелику доповідь за власною науковою тематикою, поділитися власними проблемами та вислухати коментарі інших. Завершення останнього дня школи було відзначено святкуванням ночі на Івана Купала.

© 2013 р. А. О. Вайнер, Т. О. Ястреб, Н. М. Мосійчук