

Влияние перекисного окисления липидов на функционирование белка-транспортера гликопротеина-P *in vitro*

Научный руководитель – Якушева Елена Николаевна

Абаленихина Юлия Владимировна

Кандидат наук

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова,
Лечебный факультет, Рязанская область, Россия

E-mail: abaleniхина88@mail.ru

Гликопротеин-P (Pgp) - это мембранный белок семейства ABC-переносчиков, который обеспечивает выведение экзогенных и эндогенных веществ из клеток и участвует в развитии множественной лекарственной устойчивости.

Цель исследования - оценить влияние перекисного окисления липидов на функционирование Pgp *in vitro*.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на клетках линии Caco-2, гиперэкспрессирующих Pgp. Клетки инкубировали с пероксидом водорода в концентрациях 0,1 мкМ, 0,5 мкМ, 1 мкМ, 5 мкМ, 10 мкМ и 50 мкМ с преинкубацией 3 суток. Для выявления цитотоксичных концентраций H₂O₂ использовали МТТ-тест. Продукты перекисного окисления липидов определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Активность белка-транспортера оценивали по транспорту субстрата Pgp - фексофенадина (150 мкМ) в трансвелл-системе, которая состоит из двух камер апикальной и базальной, разделенных полупроницаемой мембраной, где высевали клетки. Транспорт фексофенадина из базальной камеры в апикальную (ba-транспорт) осуществляется за счет работы Pgp, а из апикальной в базальную (ab-транспорт) пассивной диффузией против работы Pgp. Оценили отношение ba-транспорта к ab-транспорту для характеристики участие белка-транспортера в транспорте субстрата. Для субстратов он превышает значение «2». Концентрацию фексофенадина определяли методом ВЭЖХ-УФ [1]. Полученные результаты обрабатывали дисперсионным анализом.

Результаты. Выживаемость клеток под действием H₂O₂ в концентрации 0,1 и 0,5 мкМ не отличалась от контроля и составила около 90%, при концентрациях 1, 5, 10, 50 мкМ снижалась до 70 %. Содержание ТБК-реактивных продуктов возрастало с 0,039±0,015 до 0,155±0,031 мкмоль/мг белка (p<0,05) при концентрации H₂O₂ 50 мкМ. При концентрации пероксида водорода 1, 5, 10, 50 мкМ ba-транспорт фексофенадина увеличился в 1,52 раза, 2,25 раза, 2,9 раза и 3,1 раза (p<0,05), а ab-транспорт увеличился в 1,9 раз, 2,5 раз, 2,3 раза и 4,5 раза (p<0,05) соответственно. Отношение ba-транспорта к ab-транспорту достоверно от контроля не отличалось при инкубации с H₂O₂ в концентрациях 1, 5, 10 мкМ и снижалось до 1,2 при инкубации с прооксидантом в концентрации 50 мкМ.

Заключение. При концентрации пероксида водорода 50 мкМ происходит повреждение билипидной мембраны клеток Caco-2 и концентрационный градиент транспорта ba к ab снижается.

Работа поддержана грантом Президента РФ МК-1856.2020.7

Источники и литература

- 1) Якушева Е.Н., Щулькин А.В., Черных И.В., Попова Н.М., Котлярова А.А., Слепнев А.А. Метод анализа принадлежности лекарственных веществ к субстратам и ингибиторам белка-транспортера гликопротеина-P *in vitro* // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2019, Том 17, №1, С. 71-78.