

## Активность окислительных ферментов придатка крыс в норме и при нарушении сперматогенеза

Научный руководитель – Проскурнина Елена Васильевна

Федотов Д.А.<sup>1</sup>, Борисова А.М.<sup>2</sup>

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра медицинской биофизики, Москва, Россия, *E-mail: feddan505@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра медицинской биофизики, Москва, Россия, *E-mail: borisova.nh2a@gmail.com*

Свободнорадикальный метаболизм является неотъемлемым звеном гомеостаза. Известно, что работа окислительных ферментов происходит с промежуточным образованием радикалов, в частности, супероксидного анион-радикала. Следовательно, активность этих ферментов может быть оценена по уровню продукции этого соединения. Для этой цели наиболее чувствительным и информативным методом является хемилюминометрия с использованием люцигенина — селективного зонда на супероксидный анион-радикал. В настоящем исследовании применен новый подход люц-ХЛ клеток в присутствии восстановительных эквивалентов НАДН и НАДФН, дающий информацию об активности НАДН- и НАДФН-зависимых ферментов. Механизм хемилюминесценции выяснен не полностью, но известно, что НАДН-стимулированная ХЛ обусловлена активностью цитохром b5-редуктазы - конечного фермента митохондриальной цепи [1].

Исследовали пробы суспензии ткани придатков крыс трех групп — интактный контроль ( $n = 13$ ), животные с нарушением сперматогенеза ( $n = 17$ ), и группа терапии кломифеном, стимулятором продукции гонадотропинов ( $n = 18$ ). Хемилюминограммы регистрировали на приборе Lum-1200 (ДИСофт, Россия) в режиме спонтанной люц-ХЛ и после добавления НАДН (раствор Кребса-Рингера рН 7,4) и НАДФН (раствор Хенкса + NERES рН 4,1).

Определяли интенсивность хемилюминесценции после достижения стационарного свечения. Результаты представлены в виде медианы и межквартильного размаха.

Группа	НАДФН-люц-ХЛ		НАДН-люц-ХЛ	
	Медиана	МКР	Медиана	МКР
Контроль	4,12	3,40	4,41	2,19
Нарушения сперматогенеза	2,01	0,93	3,54	1,52
Терапия кломифеном	2,02	0,87	2,64	1,64

Значимые различия по критерию Манна-Уитни были получены для НАДФН-зависимой ХЛ между группами контроля и крыс с патологией, для НАДН-зависимой ХЛ для группы крыс с патологией и леченых кломифеном ( $p < 0,9$ ).

В итоге были получены две совокупности данных, отражающие активность НАДФН-зависимых ферментов сперматозоидов (предположительно, диафороза) и активность цитохром b5-редуктазы - фермента эндоплазматического ретикулаума (ЭПР-стрессе), участвующего, в том числе, в поддержании на необходимом уровне липидного антиоксиданта коэнзима Q10 в восстановленной форме. Для группы крыс с нарушением сперматогенеза активность НАДФН-зависимых ферментов была значимо в два раза ниже по сравнению с группой контроля. Лечение кломифеном практически не оказывало влияния на этот показатель, что может свидетельствовать о неэффективности препарата. Изменение активности цитохром b5-редуктазы может свидетельствовать об ЭПР-стрессе и в более узком смысле - о внутриклеточном окислительном стрессе. По этому показателю группы

контроля и нарушения сперматогенеза не различались по критерию Манна-Уитни, хотя медиана в группе с патологией оказалась ниже. Терапия кломифеном приводила к значимому снижению активности этого фермента по сравнению как с группой контроля, так и с группой с патологией.

#### **Источники и литература**

- 1) Schepetkin I.A. Lucigenin as a substrate of microsomal NAD(P)H-oxidoreductases // Biochemistry. Moscow, 1999. Т. 64. С. 25-32.