

УДК 615.099:546.817]:615.014.425:546.23]-092.9
©Русецкая, Бородулин

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЕЛЕНООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Н.Ю. Русецкая, В.Б. Бородулин*

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского,
410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112; тел.: 8-(8452)-66-98-21;
эл. почта: rusetskayanu@yandex.ru

Рассмотрены возможные механизмы антитоксического действия селеноорганических соединений при отравлении солями тяжёлых металлов. Токсическое действие ионов тяжёлых металлов проявляется в усилении свободнорадикального окисления, подавлении антиоксидантной системы, повреждении макромолекул, митохондрий и генетического материала, что может вызвать апоптотическую гибель клетки или развитие канцерогенеза. Органические соединения селена являются эффективными антиоксикантами при отравлении солями тяжёлых металлов, поскольку они более биодоступны для млекопитающих, чем неорганические, способны активировать антиоксидантную защиту, связывать ионы тяжёлых металлов и активные формы кислорода, образующиеся при металл-индуцированном окислительном стрессе. Перспективным селеноорганическим соединением является диацетофенонилселенид (ДАФС-25), для которого установлены антиоксидантная и антитоксическая активности, в том числе при интоксикации солями тяжёлых металлов.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, селен, селеноорганические соединения, антитоксическая активность, диацетофенонилселенид (ДАФС-25).

DOI: 10.18097/PBMC20156104449

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение окружающей среды тяжёлыми металлами побуждает к поиску новых эффективных антиоксикантов при отравлении солями тяжёлых металлов как животных, так и человека [1]. Тяжёлые металлы рассматриваются Всемирной организацией здравоохранения как наиболее опасные для здоровья людей ксенобиотики [2, 3]. Токсичность ионов переходных металлов Pb^{2+} , Hg^{2+} и Cd^{2+} обусловлена образованием комплексов с тиогруппами различных биомолекул, а также вытеснением биогенных металлов из металлсодержащих комплексов, что приводит к потере последними биологической активности [4]. Важным аспектом токсического действия тяжёлых металлов является их способность активировать процессы свободнорадикального окисления (СРО). Ведущую роль в подавлении СРО играет антиоксидантная система защиты организма. Одними из главных антиоксидантов и антиоксикантов являются селено-зависимые ферменты и селенопротеины.

В условиях селенодефицита и неблагоприятной экологической обстановки необходимо проводить поиск новых селенсодержащих препаратов, оказывающих гепатопротекторное, нефропротекторное, антиоксидантное и антитоксическое действие при отравлении различными ксенобиотиками [5], в том числе тяжёлыми металлами.

1. ИНТОКСИКАЦИЯ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

1.1. Роль тяжёлых металлов в развитии окислительного стресса

В настоящее время наиболее распространёнными токсикантами окружающей среды являются соли ртути, кадмия и свинца [6-8], которые при поступлении в организм млекопитающих стимулируют окислительный стресс и конкурируют с биогенными металлами (цинк, марганец, медь, железо, кальций и др.) за связывание с активным центром многих белков и ферментов, вызывая нарушение их функций. Окислительный стресс,

* - адресат для переписки

как основной молекулярный механизм токсичности тяжёлых металлов [9], способствует запуску апоптотической гибели клетки, развитию воспалительных процессов и патологических состояний (сердечно-сосудистых заболеваний, неврологических нарушений, поражений печени и почек), а также вызывает канцерогенез [10]. Основными причинами окислительного повреждения клеток являются, с одной стороны, усиление свободнорадикального окисления биомолекул и внутриклеточных структур, а с другой, подавление антиоксидантной системы защиты организма.

Первый возможный механизм развития окислительного стресса при интоксикации тяжёлыми металлами связан с образованием свободных радикалов (рис. 1). Тяжёлые металлы сами не способны напрямую вырабатывать активные формы кислорода (АФК). Однако они запускают окислительный стресс опосредованно за счёт вытеснения редокс-активных металлов (железа и меди) из белков и ферментов. В дальнейшем эти ионы могут участвовать в реакции Фентона (Хабер-Вейса), приводя к образованию высокоактивного гидроксильного радикала [9, 11].

Супероксидный радикал ($O_2^{\cdot-}$) может формироваться при ингибировании ионами тяжёлых металлов, в частности, кадмия, комплекса III митохондриальной цепи переноса электронов (ЦПЭ) [11, 12]. В результате этого появляются нестабильные семихиноны, которые передают электрон на молекулярный кислород с образованием супероксид-аниона, а из него и других активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) [13], например, пероксидного радикала (HO_2^{\cdot} , при связывании с H^+) и пероксинитрит-аниона ($ONOO^-$, при взаимодействии с NO). К АФК также относится пероксид водорода, который генерируется антиоксидантным ферментом супероксиддисмутазой (SOD). Однако активность

SOD может ингибироваться вследствие вытеснения ионов цинка и меди ионами кадмия из активного центра SOD. Результатом этого может явиться увеличение содержания супероксидного и пероксидного радикалов, а также пероксинитрит-аниона.

Второй механизм прооксидантного действия тяжёлых металлов связан с подавлением антиоксидантной защиты организма. Тяжёлые металлы, в том числе кадмий, могут ингибировать цитозольную супероксиддисмутазу (Cu/Zn-SOD) [14], глутатионпероксидазу (GPx) и глутатионредуктазу (GR) [14, 15]. Механизм ингибирования Cu/Zn-SOD основан, скорее всего, на вытеснении ионов меди и цинка из активного центра фермента тяжёлыми металлами [14], а ингибирование GPx и GR – на связывании тяжёлых металлов с восстановленным глутатионом (GSH) в активном центре этих ферментов [9].

Таким образом, интоксикация тяжёлыми металлами приводит, с одной стороны, к усилению выработки АФК, запуску СРО, а с другой стороны, к подавлению активности антиоксидантной защиты организма. Следствием этого является нарушение редокс-баланса в клетках, окислительное повреждение белков, липидов и нуклеиновых кислот [16], что, в свою очередь, определяет развитие окислительного стресса, запуск апоптотической гибели клетки и развитие патологических процессов в различных тканях (печени, почках, сердечно-сосудистой и нервной системах, поджелудочной железе и пр.) [13].

1.2. Роль тяжёлых металлов в развитии апоптоза и канцерогенеза

Тяжёлые металлы (кадмий, ртуть, свинец) стимулируют развитие окислительного стресса [17] и могут вызвать гибель клетки по пути апоптоза, а при нарушении апоптотического механизма привести к канцерогенезу.

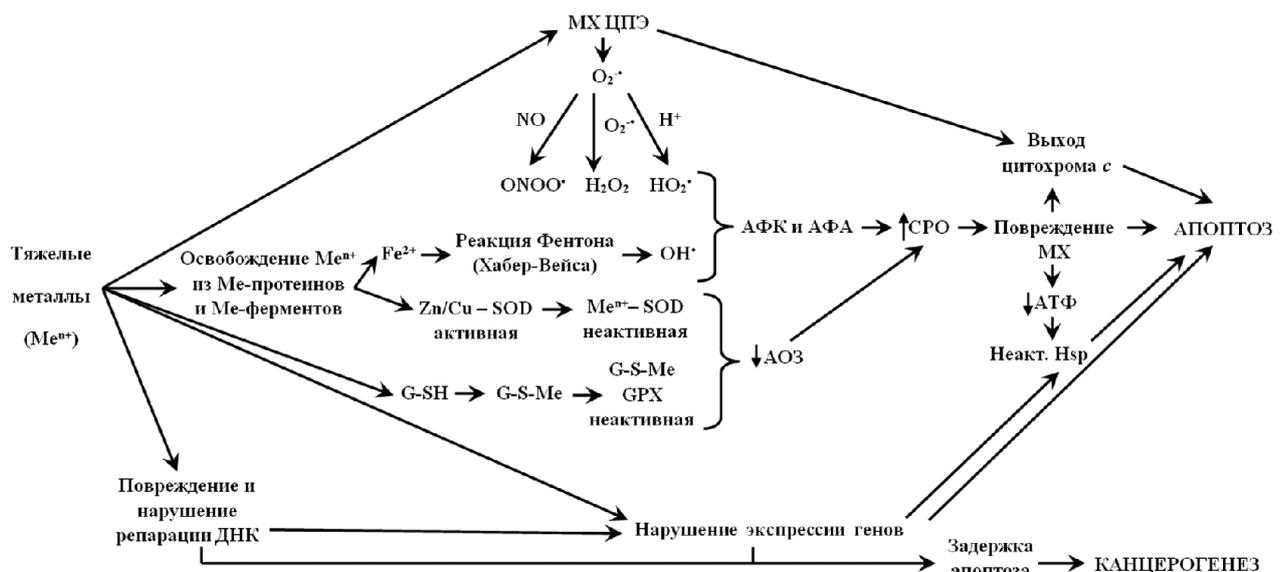


Рисунок 1. Роль тяжёлых металлов в развитии апоптоза и канцерогенеза. ↑СРО - повышение свободнорадикального окисления; ↓АОЗ - снижение антиоксидантной защиты; ↓АТФ - снижение концентрации АТФ.

Одним из возможных механизмов токсического действия тяжёлых металлов является подавление роста клетки путем изменения экспрессии факторов роста. Например, некоторые металлы способны запускать MAP(mitogen-activated protein)-киназные пути, включающие активацию ядерных транскрипционных факторов (AP-1, NF-κB, p53, NFAT и HIF-1), которые, в свою очередь, управляют экспрессией цитопротективных генов, необходимых для репарации ДНК, иммунного ответа, остановки клеточного цикла и запуска апоптоза. Тяжёлые металлы и АФК, вероятно, взаимодействуют с тиольными группами фосфатаз разных типов (в частности серин/треонинфосфатаз и фосфолипидфосфатаз), которые при окислении образуют дисульфидные мостики [18]. Модифицированные таким образом ферменты утрачивают свою способность включаться в различные регуляторные каскады и активировать транскрипционные факторы, названные выше.

Некоторые тяжёлые металлы ингибируют экспрессию опухолевых супрессоров p53 и p16. Поэтому тяжёлые металлы могут увеличивать пролиферацию клетки путём подавления апоптотических процессов, способствуя, таким образом, канцерогенезу [17].

Помимо этого, тяжёлые металлы влияют на экспрессию генов, участвующих в стрессорном ответе, например, белков теплового шока [19] и регуляции клеточного цикла [20]. Белки теплового шока (heat shock protein, Hsp) обычно синтезируются в ответ на какое-либо стресс-воздействие (повышение температуры, интоксикацию и пр.), запускают реакции иммунной защиты и активируют многие сигнальные белки (рецепторы стероидных гормонов, киназы клеточного цикла и др.) [21]. Однако в работах разных авторов есть сведения как о подавлении экспрессии мРНК HSP27, HSP40, HSP60, HSP70 и HSP90 при интоксикация тяжёлыми металлами [12, 22], так и об усилении экспрессии этих шаперонов [22]. В любом случае при интоксикации тяжёлыми металлами функции шаперонов будут нарушены, поскольку для их активности необходимы значительные затраты АТФ [24]. Вместе с тем известно, что токсическое действие металлов выражается, помимо прочего, в ингибировании комплексов I, III и IV митохондриальной ЦПЭ и нарушении окислительного фосфорилирования, что в конечном итоге приводит к выходу цитохрома c из митохондрий и запуску апоптоза [25-27].

В зависимости от дозы тяжёлые металлы могут вызвать разные формы гибели клетки (апоптоз, аутофагию или некроз). Например, субмикромольные и микромольные концентрации тяжёлых металлов (5-10 мкМ), в частности кадмия, определяют развитие или задержку апоптоза [28], а очень высокие концентрации (30-50 мкМ) приводят к некрозу [29, 30]. Соли тяжёлых металлов (в форме хлоридов кадмия, меди и ртути) уже в концентрации 100-200 нМ вызывают значительные нарушения экспрессии генов, что может повлечь за собой запуск апоптоза или некроз клетки [31]. Метилртуть

в концентрации 10 мкМ стимулирует апоптотическую гибель нейтрофилов, а в концентрации 15 мкМ вызывает их некроз [32]. Вместе с тем хлорид ртути может стать причиной апоптоза уже в концентрации 1 мкМ [33]. Согласно экспериментальным данным, ацетат свинца запускает апоптоз и некроз клеток проксимальных канальцев крыс в концентрациях 0,5 и 1 мкМ [34].

Таким образом, поступление и биоаккумуляция тяжёлых металлов в клетках млекопитающих могут привести к апоптотической гибели клетки, а при её задержке стать причиной канцерогенеза [29, 35, 36].

Механизм развития канцерогенеза при участии тяжёлых металлов, возможно, заключается в их действии на так называемые цинк-фингерные белки, в которых ионы тяжёлых металлов конкурируют с ионами цинка за связывание с сульфгидрильными группами [37]. В цинк-фингерных белках часть молекулы, отвечающая за взаимодействие с ДНК, стабилизируется связыванием иона Zn^{2+} с двумя имидазольными азотами остатков гистидина и двумя сульфгидрильными группами остатков цистеина. В отсутствие цинка конформация “цинковых пальцев” изменяется, и они утрачивают способность связываться с ДНК. Следует подчеркнуть, что ионы кадмия и свинца не только могут конкурировать с цинком за присоединение к активному центру “цинковых пальцев”, но даже имеют преимущества перед цинком благодаря большей величине константы связывания. Такая замена ионов приводит к потере способности “цинковых пальцев” контактировать с ДНК, а, значит, регулировать экспрессию генов [38].

Кроме того, сама ДНК очень чувствительна к повреждающему действию тяжёлых металлов (As(III)/As(V), Cd(II), Cr(VI), Ni(II), Hg(II) и Pb(II)) [39].

Следовательно, развитие апоптоза и канцерогенеза под действием тяжёлых металлов обусловлено повреждением митохондрий, нарушением функций шаперонов и “цинковых пальцев”, изменением внутриклеточной биосигнализации и экспрессии генов.

В подавляющем большинстве случаев происходит отравление малыми или средними дозами тяжёлых металлов. При поступлении в организм через пищеварительный тракт (с загрязненной пищей и/или водой), через кожу или с вдыхаемым воздухом тяжёлые металлы доставляются в печень и почки, поэтому именно эти органы являются основными мишенями при интоксикации тяжёлыми металлами [40, 41].

1.3. Гепато- и нефротоксическое действие тяжёлых металлов

Печень и почки являются главными мишенями при отравлении тяжёлыми металлами. Печень выполняет функцию детоксикации различных веществ, поступающих в организм. Тяжёлые металлы, вырабатывая АФК, запускают окислительный стресс и таким образом способствуют повреждению гепатоцитов [42]. Биохимическими маркерами токсического поражения печени являются увеличенная

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЕЛЕНООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

активность аминотрансфераз и сниженная концентрация альбуминов плазмы крови, синтез которых происходит в печени [43, 44].

Токсическое повреждение почек тяжёлыми металлами выражается в развитии глюкозурии, аминоацидурии и фосфатурии вследствие повреждения клеток гломерулярного отдела нефрона, а хроническая интоксикация приводит к артериальной гипертензии и почечной дисфункции [41]. Важными биохимическим маркерами нефротоксичности являются азотсодержащие метаболиты креатинин и мочевины, экскреция которых нарушается при повреждении почек, а также альбумины, концентрация которых в плазме крови снижается вследствие их выведения с мочой [44, 45].

Учитывая значительное загрязнение окружающей среды тяжёлыми металлами и их токсическое воздействие на живые организмы, встаёт вопрос о необходимости поиска препаратов, способных предотвращать интоксикацию тяжёлыми металлами, проявлять антиоксидантные свойства и оказывать гепато- и нефропротекторное действие. Таким широким спектром биологической активности обладают соединения селена, как природные в форме селеноцистеина, так и синтетические: неорганические, например, селенит натрия, и органические, например, эбселен, дифенилдиселенид, ДАФС-25 и др.

II. АНТИТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ СЕЛЕНА ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

2.1. Биологическая роль селена

Селен – жизненно важный микроэлемент с уникальными биологическими функциями

Таблица. Селенопротеины млекопитающих и их функции [47-49].

Селенопротеин	Предполагаемая функция
Глутатиопероксидазы (GPx) GPx1 GPx2 GPx3 GPx4 GPx5 GPx6	Антиоксидант в цитозоле клеток Антиоксидант в ЖКТ Антиоксидант в межклеточном веществе и плазме Мембранный антиоксидант, структурный белок спермы (участие в апоптозе?) Неизвестна Гомолог Gpx1
Тиоредоксинредуктазы (TRxR) TRxR1 TRxR2 TRxR3	Многие функции, активность дитиол-дисульфид оксидоредуктазы, обезвреживание пероксидов, восстановление тиоредоксина (контроль клеточного роста), поддержание редокс статуса транскрипционных факторов. Цитозольная (во многих клетках) Тестикулы Митохондриальная (во многих клетках)
Йодотирониндейодиназы Типы D1 и D2 Типы D1 и D3	Превращение тироксина (T4) в биоактивный 3,5,3'-три-йодотиронин (T3) Превращение тироксина (T4) в неактивный реверсивный rT3
Селенопротеин P	Главный селенотранспортный белок
Селенопротеин W	Антиоксидант в сердечной и скелетных мышцах
Селенофосфатсинтаза	Синтез селенофосфата для синтеза селенопротеинов
15 кДа Селенопротеин	Защита против рака
H, I, K, M, N, O, R, S, T, V	Роли широко неизвестны

и широким спектром биологического действия его соединений. Вывод об антиоксидантной роли селена, впервые сделанный английским биохимиком А. Диплоком в 1970 г. [46], до настоящего времени остаётся основополагающим в метаболических функциях соединений селена.

Биологическая активность селена связана в большинстве случаев с экспрессией по крайней мере 30 селенопротеинов (таблица), закодированных в 25 генах человека [47].

Селенопротеины содержат селен в качестве остатка селеноцистеина, который полностью ионизирован при физиологическом значении pH и действует как очень эффективный редокс-катализатор. Из более чем 30 описанных селенопротеинов шесть являются глутатиопероксидазами (GPx), три – йодотирониндейодиназами и три – тиоредоксинредуктазами (TRxR). Селенопротеин P – количественно главный селенопротеин плазмы крови – выполняет как антиоксидантную, так и транспортную функции [47-49]. Селенопротеин P содержит 10 остатков селеноцистеина, 17 остатков цистеина и 28 остатков гистидина. Боковые радикалы этих аминокислотных остатков являются мишенями для связывания тяжёлых металлов [50]. Следует заметить, что селеногидрильные группы обладают большим сродством к тяжёлым металлам, в частности к ртути, чем сульфгидрильные группы.

Следовательно, антиоксидантная активность селена и его соединений напрямую связана также и с их антиоксидантной активностью. Поступление селена в организм усиливает синтез селенопротеина P, GPx и GSH. Селенопротеин P и GSH наряду с другими тиолсодержащими молекулами являются мишенями для связывания тяжёлых металлов.

Таким образом, селен может влиять на четыре основные области клеточной биохимии: антиоксидантную функцию, редокс-статус, метаболизм в щитовидной железе и антитоксическую активность при отравлении солями тяжёлых металлов.

Однако наибольший вклад селен вносит в регуляцию глутатионового статуса (соотношение GSH/GSSG), необходимого для функционирования тиолсодержащих веществ.

2.1.1. Роль селена в функционировании тиолсодержащих /редокс-чувствительных молекул

Уже более полувека известно об антиоксидантной активности селена как составной части GPx, которая обезвреживает пероксид водорода и липопероксиды в различных тканях [51]. Селензависимая GPx при участии восстановленного глутатиона (GSH) разлагает токсичный пероксид водорода до воды, предотвращая, тем самым, окислительное повреждение биомолекул (рис. 2). Ранее установлена прямая зависимость между поступлением селена в организм и активностью GPx [52].

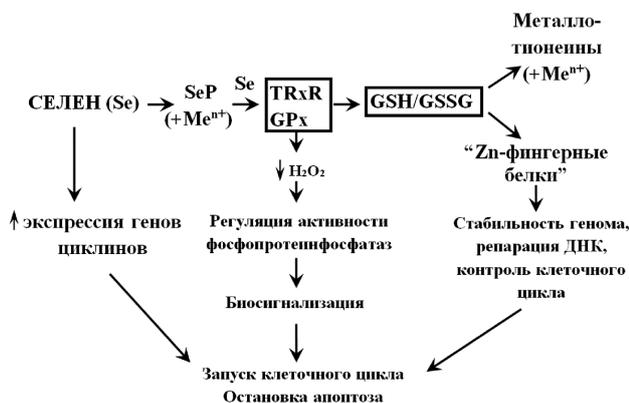


Рисунок 2. Биологическая роль селена. ↓H₂O₂ - уменьшение концентрации перекиси водорода; ↑ - увеличение; GPx - глутатионпероксидаза, SeP - селенопротеин P, TRxR - тиоредоксинредуктаза.

Вместе с тем известно, что H₂O₂ – регуляторная молекула [53-55], способная к окислению сульфгидрильных групп в составе редокс-чувствительных ферментов, участвующих во внутриклеточных сигнальных каскадах, например, фосфотенсфатаз (PTP-1B, PTEN), а, следовательно, значительное колебание концентрации пероксида водорода в клетке приведёт к нарушению редокс-баланса и внутриклеточной биосигнализации [56].

Дисульфидные мостики или окисленные тиогруппы (-SOH), образованные в редокс-чувствительных белках и ферментах под действием пероксида водорода и других АФК, восстанавливаются антиоксидантными ферментами, в том числе селензависимыми GPx и TRxR при участии соответствующих восстановленных коферментов.

Вместе с тем необходимо отметить, что низкомолекулярные тиолы практически не реагируют с пероксидом водорода, поскольку

константы скорости реакции H₂O₂ с цистеином или восстановленным глутатионом (GSH) составляют 2,9 M⁻¹c⁻¹ и 0,87 M⁻¹c⁻¹ соответственно (pH 7,4). В связи с тем, что константа диссоциации сульфгидрильной группы цистеина соответствует pKa=8,3, только 10% свободного цистеина находятся в ионизированном состоянии при физиологических значениях pH. В белках электростатическое окружение сульфгидрильных групп цистеина делает их более кислыми, поэтому они приобретают тиолатную (ионизированную) форму и становятся чувствительными к действию H₂O₂. Тиолатные группы в реакции с пероксидом водорода способны формировать остаток сульфеновой кислоты (-SOH), который может восстанавливаться в реакции с SH-группой соседнего остатка цистеина или остатка цистеина другой полипептидной цепи. SOH-группа также может реагировать с низкомолекулярным тиолом (например, глутатионом) с образованием смешанного дисульфида в реакции, называемой S-глутатионирование. В случае, когда соседний цистеин отсутствует, возможно связывание группы -SOH с атомом азота соседнего остатка гистидина с образованием сульфенамида. Подобная реакция происходит в тирозиновой фосфотенсфатазе PTP1B. Группа -SOH также может реагировать с пероксидом водорода с образованием более окисленных форм: сульфиновой (-SO₂H) и сульфоновой (-SO₃H) кислот. К настоящему моменту неизвестны ферменты, способные катализировать реакцию восстановления остатков сульфеновых кислот в белках. Вместе с тем известно, что образованные под действием H₂O₂ дисульфидные мостики могут восстанавливаться с участием тиоредоксин/тиоредоксинредуктазной и глутаредоксин/GSH/глутатионредуктазной систем [57].

Некоторые тиолсодержащие белки и ферменты, участвующие во внутриклеточной биосигнализации, пролиферации, дифференциации и гибели клетки (киназы, фосфатазы, транскрипционные факторы), содержат остатки цистеина с окисленными сульфгидрильными группами. Чувствительность различных сигнальных белков к окислению H₂O₂ отличается. Например, фосфотирозинфосфатаза PTP1B значительно менее чувствительна к пероксиду водорода [57-59], чем пероксиредоксины, остатки селеноцистеина в активном центре GPx или молекула гема в активном центре каталазы. Вероятно, высокочувствительные белки, такие как пероксиредоксины или GPx, являются первичными сенсорами к H₂O₂ и обеспечивают тиол-дисульфидное превращение в других редокс-чувствительных белках и ферментах.

Вызывает интерес тот факт, что увеличенная концентрация пероксида водорода запускает реакцию фосфорилирования (инактивацию) пероксиредоксинов [60, 61] как путём активации Src-киназ, так и за счёт инактивации тирозиновых фосфотенсфатаз (PTP). Вероятно, фосфорилирование/дефосфорилирование тиолсодержащих белков может изменять их чувствительность к пероксиду водорода. Исходя

из этого, можно предположить, что H_2O_2 сенсор, характеризующийся низкой чувствительностью, может перейти в высокочувствительное состояние, в зависимости от фосфорилированности его молекулы [62].

Редокс-чувствительными также являются некоторые транскрипционные факторы (AP-1, CREB, TP53, NOTCH, NF- κ B и SP1), ферменты MAP-киназы (c-JUN amino-terminal kinase (JNK), p38 MAPK и внеклеточная сигнал-регулируемая протеинкиназа (extracellular signal-regulated protein kinase, ERK)) [62-66], протеинкиназа АКТ и некоторые другие ферменты [62, 67].

Транскрипционный фактор Nrf-2 (NF-E2-related factor-2) локализуется в цитозоле в комплексе с тиолсодержащим белком Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1). Из более чем 20 остатков цистеина, обнаруженных в Keap1, 3 остатка цис-151, цис-273 и цис-288 считаются редокс-чувствительными *in vivo* [68, 69]. Keap1, репрессор Nrf-2, играет центральную роль в регуляции адаптивного ответа на окислительный стресс. Высокое содержание остатков цистеина в Keap1 делает его чувствительным к окислению. Эти остатки цистеина составляют мультикомпонентный редокс-чувствительный “переключатель”, который определяет способность Keap1 подавлять Nrf-2-зависимую транскрипцию. При окислительном стрессе Nrf-2 освобождается из комплекса с Keap1, транслоцируется в ядро, взаимодействует с антиоксидант-чувствительным элементом (ARE) и модулирует экспрессию цитопротективных ферментов, таких как гемоксигеназа, супероксиддисмутаза, пероксиредоксин, глутатион-S-трансфераза и гамма-глутамил-цистеинлигаза, а также восстановленных коферментов (GSH и NADPH) и ферментов, участвующих в утилизации различных ксенобиотиков [70-74]. Считают [75], что Nrf-2 /ARE-зависимая экспрессия генов активируется соединениями селена, вероятно, за счёт их взаимодействия с сульфгидрильными группами остатков цистеина в белке Keap1, что влечёт за собой освобождение Nrf-2 из комплекса с этим белком, его дальнейшее перемещение в ядро и участие в регуляции экспрессии генов.

Транскрипционные факторы Nrf2, Nrf1 и ZNF143 (zinc finger factor) также стимулируют экспрессию генов GPX и GRX в ответ на окислительный стресс. Вероятно, это связано с тем, что нарушение редокс-баланса в клетке, приводит к активации сигнальных путей (протеинкиназы C, MAP-киназных и фосфоинозитидного путей) и транскрипционных факторов, названных выше [76-80].

Важно подчеркнуть, что транскрипционные факторы NF- κ B и AP-1 регулируются тиоредоксином и селен-зависимой тиоредоксинредуктазой. Из чего можно предположить, что изменение селенового статуса может повлечь за собой модификацию редокс-чувствительных транскрипционных факторов и, как следствие, нарушение в экспрессии большого числа генов [81].

Тиоредоксин/тиоредоксинредуктазная и глутаредоксин/GSH/глутатионредуктазная системы

также участвуют [57] в гомеостазе тиолсодержащих металлотионеинов и цинк-фингерных белков. Металлотионеины – это группа низкомолекулярных белков (6-8 кДа), в которых на долю остатков цистеина приходится до 30% [82]. Металлотионеины синтезируются в ответ на поступление в организм тяжёлых металлов и могут оказывать двоякое действие [11, 83]. С одной стороны, металлотионеины связывают тяжёлые металлы, обезвреживая их и удаляя из клеточного пространства. При этом аффинность тяжёлых металлов к металлотионеинам снижается в направлении: $Hg^{2+} > Cu^{+} > Cd^{2+} > Zn^{2+}$ [84]. С другой стороны, металлотионеины используют свои сульфгидрильные группы для обезвреживания АФК, которые вырабатываются при окислительном стрессе, вызванном тяжёлыми металлами [10].

Цинк-фингерные белки изначально представлялись как группа транскрипционных факторов. Теперь известно, что “цинковые пальцы” – это довольно обширная группа белков у эукариот, участвующая в различных клеточных процессах [37]. Около 3% генов генома человека кодируют белки с цинк-фингерными доменами, среди них не только транскрипционные факторы, но также и белки, отвечающие за стабильность генома и участвующие в репарации ДНК и контроле клеточного цикла [85]. Предположительно, функциональная активность многих из этих белков регулируется окислением цинк-связывающих остатков цистеина, что ведёт к образованию дисульфидных мостиков, выходу ионов цинка и потере ДНК-связывающей способности [86]. В присутствии GSH происходит восстановление сульфгидрильных групп, благодаря чему они возвращают способность связывать ионы цинка и формировать “цинковый палец”, а, следовательно, восстанавливают способность взаимодействовать с ДНК и регулировать экспрессию генов.

К тиолсодержащим молекулам также можно отнести транскрипционный фактор, активирующий синтез шаперонов (heat shock factor, Hsf), поскольку Hsf в своем ДНК-связывающем домене содержит 2 редокс-чувствительных остатка цистеина [88]. Ранее было установлено, что превентивное введение соединений селена при кадмиевой интоксикации сопровождается одновременно и стабилизацией редокс-состояния клетки [87] и усилением синтеза шаперонов [25].

Следовательно, поступление селена в организм усиливает активность селенсодержащих ферментов GPx и TRxR, от которых зависит глутатионовый статус и редокс-баланс клетки. Соотношение GSH/GSSG опосредованно через редокс-регуляцию тиолсодержащих белков определяет активность “цинковых пальцев”, фолдинг белков, экспрессию генов, а также смену фаз клеточного цикла.

2.1.2. Селен в пролиферации/ дифференциации клеток

В физиологических условиях селен как компонент селенопротеинов необходим для пролиферации/дифференциации клеток. Селен играет существенную роль в регуляции

клеточного цикла, его отсутствие приводит к остановке G2 стадии клеточного цикла. Селен как в форме селенита, так и в форме селенометионина может усиливать экспрессию генов некоторых циклинов (с-Мус, *cyclin C*, циклин-зависимых киназ (*cyclin-dependent kinase* – *cdk1*, *cdk2*, *cdk4*), *cyclin B* и *cyclin D2*), которые участвуют в смене фаз клеточного цикла, регулируют транскрипцию и процессинг мРНК. Циклин-зависимые киназы являются серин/треониновыми киназами и фосфорилируют соответствующие аминокислотные остатки белков, поэтому в присутствии селена увеличивается общее количество внутриклеточных фосфорилированных белков. Важно отметить, что активация *cdk1*, *cdk2*, *cdk4*, циклинов B и D2 приводит к запуску клеточного цикла, особенно к переключению G2/M и/или подавлению апоптоза, *in vivo* и *in vitro* [89, 90].

Следовательно, адекватное потребление селена необходимо для пролиферации клеток, поскольку от поступления селена зависит глутатионовый статус и активность тиолсодержащих ферментов, участвующих в регуляции клеточного цикла (рис. 3) [91].

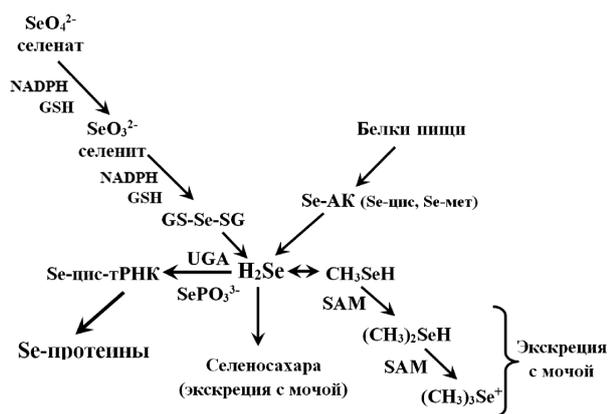


Рисунок 3. Предполагаемые пути метаболизма биологически важных соединений селена (адаптировано на рус. яз. по [94] с изменениями).

Учитывая распространённость селенодефицитных состояний и заболеваний, связанных с ним, особую актуальность приобретает изучение и применение селеносодержащих препаратов для нормализации селенового и глутатионового статуса и редокс-баланса клетки.

2.2. Метаболизм органических и неорганических соединений селена

Селен поступает в организм человека и животных в составе пищевых продуктов в органической форме селенометионина, селеноцистеина и селенометилселеноцистеина или в форме селенита натрия в составе биологически активных добавок. Каждое из этих селеносодержащих соединений может метаболизироваться

до селеноводорода/гидроселенид-аниона, который является необходимым субстратом для биосинтеза селенопротеинов [91].

Организмы млекопитающих и человека лучше абсорбируют и аккумулируют органические формы селена, чем его неорганические соли [92]. Органические соединения селена содержат селен в восстановленном состоянии (селенида Se(-II)), тогда как неорганические соли содержат селен в окисленных формах (селенита (IV) и селената (VI)). Селенат- и селенит-анионы, поступающие с пищей, быстро восстанавливаются под действием белка тиоредоксина до селеноводорода, находящегося при физиологических значениях pH, в основном, в виде гидроселенид-аниона (HSe^-). Необходимым кофактором данного процесса является восстановленный глутатион (GSH) [93, 94].

Некоторое количество образующегося селеноводорода присоединяется к особым селенсвязывающим белкам. Избыточные количества селеноводорода медленно подвергаются ферментативному метилированию с последовательным образованием метилгидроселенида, диметилселенида и катиона триметилселениния. Эти соединения селена экскретируются с мочой, а диметилселенид в больших количествах также и с потом. Строго определенное количество селена, входящего в состав пула селеноводорода, через стадию селенофосфата включается в высокоспецифический процесс синтеза селенопротеинов. В состав этих белков селен входит у позвоночных исключительно в виде остатка селеноцистеина [94].

Необходимо отметить, что поступивший с пищей селенометионин, как правило, превращается сначала в селеноцистеин, а последний метаболизируется с образованием селенида (H_2Se) [92]. Селенид/селеноводород может подвергаться метилированию или превращаться в селеносахара, которые выделяются с мочой. Некоторые биопроизводные селена (H_2Se , CH_3SeH и селенометионин) имеют большое значение для клетки, в том числе для регуляции клеточного цикла и апоптоза [91].

Следовательно, селенид является ключевой точкой двух метаболических путей превращения биоорганических и неорганических соединений селена. Первый путь отвечает за биосинтез селенопротеинов, который связан с котрансляционным включением селеноцистеина. Этот процесс основан на каталитическом обмене гидроксильной группы остатка серина в серил-тРНК на селенольный остаток (-SeH) из селенофосфата с образованием селеноцистеинил-тРНК под действием селеноцистеинил-тРНК-синтазы. Уникальность этого процесса объясняется тем, что аминокислота селеноцистеин кодируется кодоном UGA, который обычно выступает в роли стоп-кодона [95, 96]. Второй метаболический путь превращения селена связан с утилизацией избытка селена через реакции метилирования и образования селеносахаров, которые выводятся из организма с мочой [97].

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЕЛЕНООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Таким образом, поступивший с пищей селен (в неорганической или биоорганической формах) подвергается последовательным метаболическим превращениям с образованием селенида и селенофосфата. Последний участвует в биосинтезе селеноцистеинил-тРНК, которая необходима для образования селенопротеинов и селеноферментов в разных тканях. Селен в различных тканях распределяется по-разному: 30% в печени, 30% в мышцах, 15% в почках, 10% в плазме крови и 15% в других тканях [98].

Следует отметить, что селенопротеины, содержащие селен в форме селеноцистеина, выполняют большое количество жизненно важных функций, включая антиоксидантную защиту, иммунный ответ, репродукцию, пролиферацию, дифференциацию клеток и ряд других биологических эффектов [98].

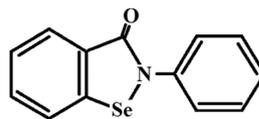
Однако избыточное поступление неорганических соединений селена может привести к истощению внутриклеточного пула GSH, необходимого для превращения Se (IV) и Se (VI) в гидроселенид-анион, нарушению глутатионового статуса и редокс-баланса в тканях, а, следовательно, стать причиной токсического поражения организма.

Представленные выше данные объясняют различия в эффективности органического и неорганического селена для человека. Поэтому органическая форма селена является предпочтительной при снабжении организма селеном в профилактических целях.

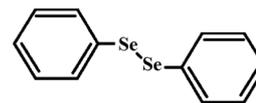
2.3. Роль селеноорганических соединений при интоксикации тяжёлыми металлами

Наиболее перспективными антиоксидантами и антиоксидантами при отравлении солями тяжёлых металлов являются органические соединения селена. На протяжении последних тридцати лет изучается биологическая активность селеноорганического препарата эбселена (2-фенил-1,2-бензисоселеназол-3(2H)-он) (рис. 4). Эбселен обладает GPx- и TRxR-подобной активностями [99-105], способен разрушать пероксид водорода с использованием тиолсодержащих соединений, таких как глутатион [106], а также напрямую инактивировать свободные радикалы, образующиеся при интоксикации тяжёлыми металлами [107]. Ранее было установлено, что оптимальной концентрацией эбселена, необходимой для проявления GPx-подобной активности является 20 мкМ [99].

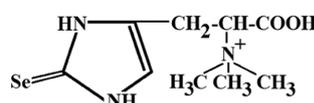
Кроме того, эбселен восстанавливает нормальный синтез мРНК GPx1 при интоксикации метилртутью. Вероятно, эбселен способствует транслокации транскрипционного фактора Nrf-2 в ядро [108-110], где последний связывается с антиоксидант-чувствительным элементом (ARE) и стимулирует транскрипцию генов, вовлечённых в синтез глутатиона и антиоксидантных ферментов, в том числе и GPx1 [111].



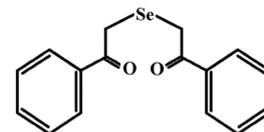
Эбселен



Дифенилдиселенид



Селенонин



ДАФС-25

Рисунок 4. Селеноорганические соединения.

Следует отметить, что применение эбселена не повышает количество биодоступного селена, но способствует образованию его селенольной формы, которая является мишенью для связывания метилртути [112]. Эбселен устраняет ранние признаки метилртуть-индуцированной токсичности, такие как фосфорилирование ERK, повреждение каспазы 3 и нарушение редокс потенциала во внутренней мембране митохондрий, которые влекут за собой нарушение клеточного гомеостаза и синтеза АФК [113].

Помимо этого, эбселен и его селеносодержащие аналоги ингибируют NAD(P)H-оксидазу (NOX), эндотелиальную синтазу оксида азота (eNOS), липоксигеназу (LOX) и некоторые другие ферменты [114-117]. Снижение активности LOX, вероятно, обусловлено уменьшением концентрации субстратов (липоперексидов) вследствие проявления эбселеном GPx-подобной активности [118].

Многие эффекты эбселена, включая противовоспалительное действие, которые ранее объяснялись антиоксидантными свойствами эбселена [119], вероятно, обусловлены его ингибирующим действием на активность NOX за счёт нарушения сборки NOX2-активирующих регуляторных субъединиц [120].

Другим синтетическим селеноорганическим соединением, обладающим GPx- и TRXR-подобной активностью наравне с эбселеном, является дифенилдиселенид (рис. 4) [109, 121-122]. В присутствии восстановленного тиола (например, глутатиона) дифенилдиселенид очень эффективно реагирует с гидропероксидами и органическими пероксидами, проявляя GPx-подобную активность [123], которая сильнее, чем у эбселена [126, 127]. Однако активность природной GPx значительно выше [126]. Согласно экспериментальным данным [127], инкубация эндотелиальных клеток аорты быка (BAEC) с дифенилдиселенидом сопровождается значительным повышением уровня внутриклеточного GSH, в отличие от эбселена, который вызывает лишь незначительное увеличение концентрации GSH. Дифенилдиселенид, вероятно,

может непосредственно реагировать с сенсорным белком Keap1 и обеспечивать его редокс-регуляцию, следствием чего является транслокация Nrf-2 из цитозоля в ядро, как это уже показано для эбселена [109]. В конечном итоге это приводит к усилению синтеза GPx, гамма-глутамил-цистеин-синтетазы (GGCS), GSH и других антиоксидантных ферментов и коферментов, названных выше.

Следовательно, дифенилдиселенид способен более эффективно по сравнению с эбселеном предотвращать окислительный стресс, вызванный интоксикацией солями тяжёлых металлов.

Помимо эбселена и дифенилдиселенида антиоксическое действие оказывает недавно открытое природное селеноорганическое соединение селенонеин (2-селенил-N α ,N α ,N α -триметил-L-гистидин) (рис. 4) [128]. Селенонеин обладает не только высокой антирадикальной активностью, но также обезвреживает токсичную метилртуть [129, 130]. Селенонеин, обнаруженный в крови морских рыб, может существовать в двух таутомерных формах: мономерных селенольной и селеноксо-формах и димерной окисленной форме [129]. Вместе с тем, димерная окисленная форма селенонеина может восстанавливаться в клетках при участии GSH до мономерной формы, которая проявляет выраженные антиоксидантные свойства. Кроме того, селенонеин снижает аккумуляцию неорганической ртути и метилртути в культурах клеток рыб и человека. По мнению авторов [129], биоинактивация метилртути происходит в три стадии: 1) образование комплекса “селенонеин-метилртуть”; 2) реакция деметилирования метилртути в составе этого комплекса и 3) образование селенида ртути, который затем выводится из организма [129]. При этом молярное соотношение “селен : метилртуть” может варьировать от 3,5:1 до 81,1:1 (среднее 41,9:1), подтверждая, что избыточное поступление селена с пищей способно снижать токсичность метилртути [131].

Вышеизложенное позволяет сделать вывод, что органические препараты селена обладают значительной антиоксической активностью при отравлении как неорганической ртутью, так и органической метилртутью.

Наряду с селеноорганическими препаратами, изучаемыми за рубежом, эффективным антиоксическим препаратом в России является соединение 1,5-дифенил-3-селенапентандион-1,5 (диацетофенонилселенид, ДАФС-25) (рис. 4). Согласно полученным ранее результатам, селеноорганический препарат ДАФС-25 обладает как антиоксидантной [132, 133], так и антиоксической активностью при отравлении солями тяжёлых металлов [134-136]. Например, добавление в корм препарата ДАФС-25 приводит к нормализации содержания тиоловых групп в печени крыс при интоксикации солями свинца и цинка. При этом все биохимические показатели, характеризующие функциональное состояние печени (активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы,

концентрация билирубина, общего белка), и почек (концентрация креатинина и мочевины) крыс, соответствуют контрольным величинам [134-136].

Вместе с тем, применение ДАФС-25 различным сельскохозяйственным животным характеризуется активизацией антиоксидантной системы, что выражается в увеличении концентрации восстановленного глутатиона, повышении активности антиоксидантных ферментов глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы при достоверном снижении уровня диеновых конъюгатов и малонового диальдегида [137].

Необходимо отметить, что, в отличие от зарубежных селеноорганических соединений (эбселена и дифенилдиселенида), ДАФС-25 является биодоступным источником селена, поскольку при его применении происходит накопление селена в тканях животных: почки > печень > селезёнка > стенка мышечного желудка > стенка тонкого кишечника > стенка железистого желудка > головной мозг > кровь > грудная мышца > сыворотка крови > лёгкие > мышца сердца [137]. Учитывая, что соли тяжёлых металлов оказывают наибольший токсический эффект на почки и печень, а применение препарата ДАФС-25 сопровождается накоплением селена в этих тканях, данный селеноорганический препарат можно характеризовать как потенциальный антиоксикант при отравлении солями тяжёлых металлов.

Помимо этого, следует подчеркнуть, что в настоящее время ДАФС-25 является наиболее доступной в экономическом плане органической формой селена как в России, так и за рубежом [138].

Кроме того, наиболее перспективным антиоксикантом при отравлении солями тяжёлых металлов можно считать селеноорганический препарат ДАФС-25, поскольку его применение способствует накоплению селена в тканях, активации антиоксидантной защиты организма, а также предотвращает металл-индуцированную токсичность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время антропогенное воздействие приводит к значительному загрязнению окружающей среды токсическими веществами, главными из которых являются соли тяжёлых металлов. Тяжёлые металлы попадают в окружающую среду с промышленными и бытовыми отходами, накапливаются в почве, аккумулируются в тканях растений и животных и, наконец, в составе загрязнённого воздуха, воды и пищи поступают в организм человека [1]. Наиболее распространёнными и токсичными являются соли ртути, свинца и кадмия. Согласно классификации металлов по их токсичности, ртуть и кадмий относятся к особо токсичным металлам, свинец – к умеренно токсичным металлам. Одними из основных молекулярных и клеточных мишеней для ионов тяжёлых металлов служат системы свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты, ферменты транспорта

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЕЛЕНООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

электронов и синтеза АТР, а также металлотионеины и цинк-фингерные белки. Следовательно, биологическая активность металлов обусловлена их способностью связываться с белками, блокировать многие ферментные системы, повреждать клеточные мембраны, приводя в итоге к токсическому поражению тканей, в первую очередь, печени и почек.

Перспективными антиоксидантами при отравлении солями тяжёлых металлов являются селеноорганические соединения. Предположительный механизм антиоксидантного действия селеноорганических соединений может иметь несколько аспектов. Во-первых, атом селена в составе органических соединений селена (эбселена, селенонеина, дифенилдиселенида и, вероятно, ДАФС-25) может связывать как ионы тяжёлых металлов, так и активные кислородные метаболиты, образующиеся при интоксикации тяжёлыми металлами. Во-вторых, предполагается, что соединения селена способны усиливать экспрессию цитопротективных генов, включая антиоксидантные ферменты GPx, GRx, GT, SOD и др. В-третьих, селензависимая GPx разрушает избыток пероксида водорода, образованного при металл-индуцированном окислительном стрессе (рис. 5). Учитывая, что H₂O₂ является важной регуляторной молекулой, можно заключить, что нормализация концентрации пероксида водорода приведет к восстановлению внутриклеточных сигнальных каскадов, экспрессии генов, нормальной смене фаз клеточного цикла, а, следовательно, предотвратит апоптоз, некроз и канцерогенез.

Подводя итог, необходимо подчеркнуть взаимосвязь между установленной антиоксидантной природой селеноорганических соединений и их антиоксидантной активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Satarug S., Garrett S.H., Sens M.A., Sens D.A. (2010) Environ. Health Perspect., **118**(2), 182-190.
2. Satarug S. (2012) Curr. Drug Metab., **13**(3), 257-271.
3. Nair A.R., DeGheselle O., Smeets K., Kerkhove E.V., Cuypers A. (2013) Int. J. Mol. Sci., **14**, 6116-6143.
4. Исидоров В.А. (1999) Введение в химическую экотоксикологию, Химиздат, Спб., 144 с.
5. Саноцкий И.В. (2010) Прикладная токсикология, **1**(2), 10-13.
6. Matovic V., Buha A., Bulat Z., Dukic-Cosic D. (2011) Arch. Industr. Hyg. Toxic., **62**(1), 65-76.
7. Bernhot R.A. (2012) J. Envir. Public Health, ID 460508. 10 p.
8. Flora G., Gupta D., Tiwari A. (2012) Interdisciplin. Toxicol., **5**(2), 47-58.
9. Sears M.E. (2013) Scient. World J., ID 219840. 13 p.
10. Cuypers A., Plusquin M., Remans T., Jozefczak M., Keunen E., Gielen H., Opendakker K., Nair A.R., Munters E., Artois T.J. (2010) Biometals, **23**, 927-940.
11. Thevenod F. (2009) Toxicol. Appl. Pharmacol., **238**, 221-239.
12. Cannino G., Ferruggia E., Luparello C., Rinaldi A.M. (2009) Mitochondr., **9**, 377-384.
13. Wang Y., Fang J., Leonard S.S., Rao K.M. (2004) Free Radic. Biol. Med., **36**, 1434-1443.
14. Waisberg M., Joseph P., Hale B., Beyersmann D. (2003) Toxicol., **192**(2-3), 95-117.

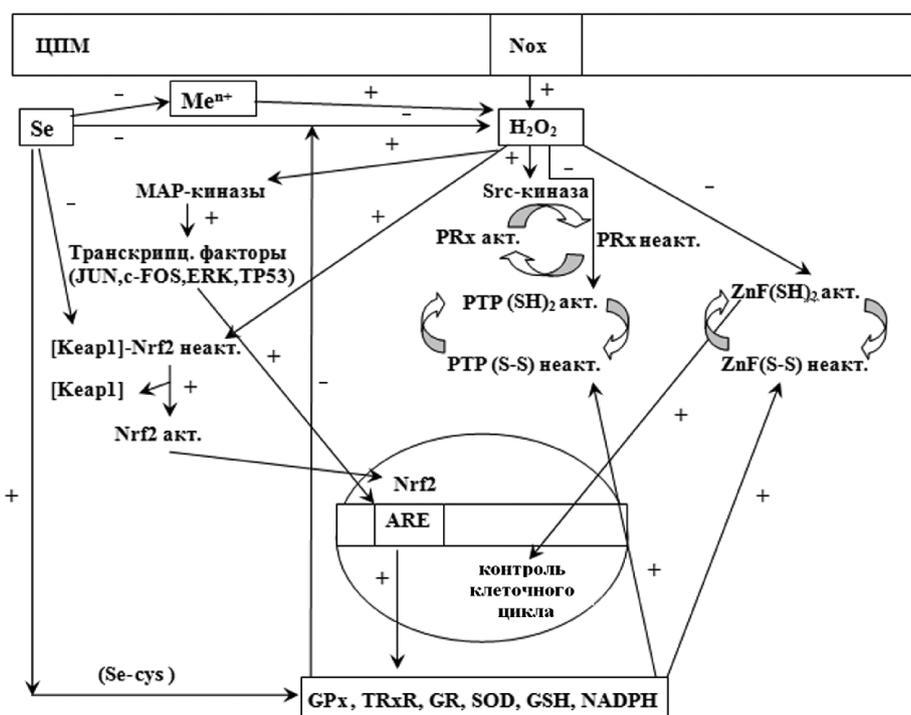


Рисунок 5. Предполагаемый механизм антиоксидантного действия соединений селена. “-” обозначают торможение/ингибирование, “+” - активацию/стимулирование, ARE - антиоксидант-респонзивный элемент, ZnF - цинк-фингерные белки, PTP - фосфотирозинфосфатазы, PRx - пероксиредоксины, GPx - глутатионпероксидаза, TRxR - тиоредоксинредуктаза, GR - глутатионредуктаза, SOD - супероксиддисмутаза.

15. Ikediobi C.O., Badisa V.L., Ayuk-Takem L.T., Latinwo L.M., West J. (2004) *Int. J. Mol. Med.*, **14**(1), 87-92.
16. Silva J.P., Coutinho O.P. (2010) *Drug Discov. Therap.*, **4**(3), 144-167.
17. Koedrith P., Seo Y.R. (2011) *Int. J. Mol. Sci.*, **12**, 9576-9595.
18. Thannickal V.J., Fanburg B.L. (2000) *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, **279**, L1005-L1028.
19. Goering P.L., Fisher B.R., Noren B.T., Papaconstantinou A., Rojko J.L., Marler R.J. (2000) *Toxicol. Sci.*, **53**, 447-457.
20. Jeong E.M., Moon C.H., Kim C.S. (2004) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **320**, 887-892.
21. Fu D., Chen J., Zhang Y., Yu Z. (2011) *Fish Shellfish Immunol.*, **31**(1), 118-125.
22. Chen X., Zhu Y.-H., Cheng X.-Y., Zhang Z.-W., Xu S.-W. (2012) *Molecules*, **17**, 14565-14572.
23. Ivanina A.V., Cherkasov A.S., Sokolova I.M. (2008) *J. Experim. Biol.*, **211**, 577-586.
24. Hartl F.-U., Hlodan R., Langer T. (1994) *Trends Bioch. Sci.*, **19**(1), 20-25.
25. Enoksson M., Fernandes A.P., Prast S., Lillig C.H., Holmgren A., Orrenius S. (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **327**, 774-779.
26. Gobe G., Crane D. (2010) *Toxicol. Lett.*, **198**(1), 49-55.
27. Marchetti C. (2013) *Toxicology*, ID 184360. 9 p.
28. Yiran Z., Chenyang J., Jiajing W., Yan Y., Jianhong G., Jianchun B., Xuezhong L., Zongping L. (2013) *Oxid. Med. Cell Longev.*, ID 516051.
29. Templeton D.M., Liu Y. (2010) *Chem. Biol. Interact.*, **188**, 267-275.
30. Messner B., Ploner C., Laufer G., Bernhard D. (2012) *Toxicol. Lett.*, **212**, 268-275.
31. Varotto L., Domeneghetti S., Rosani U., Manfrin C., Cajaraville M.P., Raccanelli S., Pallavicini A., Venier P. (2013) *PLoS ONE.*, **8**(1), e54602.
32. Kuo T.C., Lin-Shiau S.Y. (2004) *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, **4**(6), 274-281.
33. Lash L.H., Putt D.A., Hueni S.E., Payton S.G., Zwickl J. (2007) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **221**(3), 349-362.
34. Wang L., Wang H., Li J., Chen D., Liu Z. (2011) *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **1**(3), 500-511.
35. Fasinu P.S., Orisakwe O.E. (2013) *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, **14**, 3393-3402.
36. Schwerdtle T., Ebert F., Thuy C. (2010) *Chem. Res. Toxicol.*, **23**, 432-442.
37. Hartwig A. (2001) *Antioxid. Redox Signal.*, **3**, 625-634.
38. Petering D.H., Huang M., Moteki S., Shaw C.F. III (2000) *Mar. Environ. Res.*, **50**(1-5), 89-92.
39. Beyersmann D., Hartwig A. (2008) *Arch. Toxicol.*, **82**, 493-512.
40. Fowler B.A. (2009) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **238**, 294-300.
41. Reyes J.L., Molina-Jijón E., Rodríguez-Muñoz R., Bautista-García P., Debray-García Y., del Namorado M.C. (2013) *BioMed Research International.*, ID 730789, 14 p.
42. Reus I.S., Bando I., Andrés D., Cascales M. (2003) *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **17**(3), 161-168.
43. Sobutskii M.P., Kovanko E.G., Liutinskii S.I., Ivanov S.D. (2007) *Adv. Geront.*, **20**(2), 91-96.
44. Брин В.Б., Митицвев А.К., Митицвев К.Г. (2011) *Вестн. нов. мед. технол.*, **XVIII**(4), 209-211.
45. Брин В.Б., Митицвев А.К., Митицвев К.Г. (2012) *Вестн. нов. мед. технол.*, **XIX**(1), 166-168.
46. Diplock A.T. (1970) in: Trace element metabolism in animals (Mills C.F., ed.). E and S. Livingstone. Edinburg and London, pp. 190-203.
47. Reeves M.A., Hoffmann P.R. (2009) *Cell. Mol. Life Sci.*, **66**, 2457-2478.
48. Kryukov G.V., Castellano S., Novoselov S.V., Lobanov A.V., Zehtab O., Guigy R., Gladyshev V.N. (2003) *Science*, **300**, 1439-1443.
49. Shchedrina V.A., Zhang Y., Labunskyy V.M., Hatfield D.L. (2010) *Antioxid. Redox Signal.*, **12**, 839-849.
50. Suzuki K.T., Sasakura C., Yoneda S. (1998) *Biochem. Biophys. Acta*, **1429**(1), 102-112.
51. Mills G.C. (1957) *J. Biol. Chem.*, **229**, 189-194.
52. Костюк В.А., Потапович А.И. (2004) Биорадикалы и биоантиоксиданты, БГУ, Мн., 174 с.
53. Качук В.А., Тюрин-Кузьмин П.А., Белоусов В.В., Воротников А.В. (2012) *Биол. мембраны*, **29**(1-2), 21-37.
54. Sartoretto J.L., Kalwa H., Shiroto T., Sartoretto S.M., Pluth M.D., Lippard S.J., Michel T. (2012) *PLOS ONE*, **7**(9), e44627. - 14 p.
55. Shibata A., Tanabe E., Inoue S., Kitayoshi M., Okimoto S., Hirane M., Araki M., Fukushima N., Tsujiuchi T. (2013) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **433**, 317-321.
56. Steinbrenner H., Speckmann B., Pinto A., Sies H. (2011) *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **48**(1), 40-45.
57. Marinho H.S., Real C., Cyrne L., Soares H., Antunes F. (2014) *Redox Biol.*, **2**, 535-562.
58. Salmeen A., Andersen J.N., Myers M.P., Meng T.-C., Hinks J.A., Tonks N.K., Barford D. (2003) *Nature*, **423**, 769-773.
59. Meng T.-C., Fukada T., Tonks N.K. (2002) *Molecular Cell*, **9**, 387-399.
60. Rhee S.G., Woo H.A., Kil I.S., Bae S.H. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 4403-4410.
61. Woo H.A., Yim S.H., Shin D.H., Kang D., Yu D.-Y., Rhee S.G. (2010) *Cell*, **140**, 517-528.
62. Marinho H.S., Real C., Cyrne L., Soares H., Antunes F. (2014) *Redox Biol.*, **2**, 535-562.
63. Matsuzawa A., Ichijo H. (2008) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1780**, 1325-1336.
64. Gugliesi F. (2005) *J. Leukocyte Biol.*, **77**, 820-829.
65. De Sarno P. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 11086-11093.
66. McNeill-Blue C., Wetmore B.A., Sanchez J.F., Freed W.J., Merrick B.A. (2006) *Brain Research.*, **1112**, 1-15.
67. Iwakami S., Mitsu H., Takeda T., Sugimori M., Matsugo S., Kaneko S., Takamura T. (2011) *PLoS One*, **6**, e27401.
68. Keum Y.-S., Choi B.Y. (2014) *Molecules*, **19**(7), 10074-10089.
69. Yamamoto T., Suzuki T., Kobayashi A., Wakabayashi J., Maher J., Motohashi H., Yamamoto M. (2008) *Mol. Cell. Biol.*, **28**, 2758-2770.
70. Ishii T., Mann G.E. (2014) *Redox Biol.*, **2**, 786-794.
71. Kundu J.K., Surh Y.J. (2008) *Mutat. Res.*, **659**, 15-30.
72. Kensler T.W., Wakabayashi N., Biswal S. (2007) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **47**, 89-116.
73. Ma Q. (2010) *Pharmacol. Ther.*, **125**, 376-393.
74. Keum Y.-S., Choi B.Y. (2014) *Molecules*, **19**(7), 10074-10089.
75. Magesh S., Chen Y., Hu L. (2012) *Med. Res. Rev.*, **32**, 687-726.
76. Iskusnykh I.Y., Popova T.N., Agarkov A.A., de Carvalho M.Á., Rjevskiy S.G. (2013) *J. Toxicol.*, ID 870628.
77. Harvey C.J., Thimmulappa R.K., Singh A., Blake D.J., Ling G., Wakabayashi N., Fujii J., Myers A., Biswal S. (2009) *Free Rad. Biol. Med.*, **46**(4), 443-453.
78. Wu K.C., Cui J.Y., Klaassen C.D. (2011) *Toxicol. Sci.*, **123**(2), 590-600.

79. Kulak M.V., Cyr A.R., Woodfield G.W., Bogachek M., Spanheimer P.M., Li T., Price D.H., Domann F.E., Weigel R.J. (2013) *Oncogene*, **32**(34), 4043-4051.
80. Lu W., Chen Z., Zhang H., Wang Y., Luo Y., Huang P. (2012) *Cell Death and Disease*, **3**, e422;
81. Barger J.L., Kayo T., Pugh T.D., Vann J.A., Dawson K., Weindruch R., Prolla T.A. (2012) *Genes Nutr.* **7**, 155-165.
82. Hamer D.H. (1986) *Ann. Rev. Biochem.*, **55**, 913-951.
83. Andrews G. K. (2000) *Biochem. Pharm.*, **59**(1), 95-104.
84. Varotto L., Domeneghetti S., Rosani U., Manfrin C., Cajaraville M.P., Raccanelli S., Pallavicini A., Venier P. (2013) *PLoS ONE*, **8**(1), e54602.
85. Maret W. (2003) *J. Nutr.*, **133**, 1460S-1462S.
86. Wilcox D.E., Schenk A.D., Feldman B.M., Xu Y. (2001) *Antioxid. Redox Signal.*, **3**, 549-564.
87. Zhou Y.J., Zhang S.P., Liu C.W., Cai Y.Q. (2009) *Toxicol. In Vitro*, **23**, 288-294.
88. Niforou K., Cheimonidou C., Trougakos I.P. (2014) *Redox Biology*, **2**, 323-332.
89. Hu B., Mitra J., van den H.S., Enders G.H. (2001) *Mol. Cell. Biol.*, **21**, 2755-2766.
90. Kaushal N., Bansal M.P. (2007) *J. Nutr. Biochem.*, **18**, 553-564.
91. Zeng H., Cao J.J., Combs G.F.J. (2013) *Nutrients*, **5**(1), 97-110.
92. Finley J.W. (2006) *Nutr. Rev.*, **64**(3), 146-151.
93. Тутельян В.А., Княжев В.А., Хотимченко С.А., Голубкина Н.А., Кушлинский Н.Е., Соколов Я.А. (2002) Селен в организме человека: метаболизм, антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе, РАМН, М., 224 с.
94. Zeng H. (2009) *Molecules*, **14**, 1263-1278.
95. Gladyshev V.N., Hatfield D.L. (1999) *J. Biomed. Sci.*, **6**(3), 151-160.
96. Gladyshev V.N. (2006) in: *Selenium: Its molecular biology and role in human health* (Hatfield D.L., Berry M.J., Gladyshev V.N., eds.) Springer, New York, pp. 99-114.
97. Ogra Y., Anan Y. (2012) *Biol. Pharm. Bull.*, **35**, 1863-1869;
98. Mehdi Y., Hornick J.-L., Istasse L., Dufrasne I. (2013) *Molecules*, **18**, 3292-3311.
99. Muller A., Cadenas E., Graf P., Sies H. (1984) *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 3235-3239.
100. de Freitas A.S., Prestes A.S., Wagner C., Sudati J.H., Alves D., Porciuncula L.O., Kade I.J., Rocha J.B.T. (2010) *Molecules*, **15**, 7699-7714.
101. Sies H. (1993) *Free Radic. Biol. Med.*, **14**(3), 313-323.
102. Parnham M.J., Leyck S., Graf E., Dowling E.J., Blake D.R. (1991) *Agents Actions*, **32**(1-2), 4-9.
103. Parnham M.J. (1990) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **264**, 193-197.
104. Schewe T. (1995) *Gen. Pharmacol.*, **26**(6), 1153-1169.
105. Sies H., Arteel G.E. (2000) *Free Radic. Biol. Med.*, **28**, 1451-1455.
106. Saluk J., Bijak M., Nowak P., Wachowicz B. (2013) *Bioorg. Chem.*, **50**, 26-33.
107. Yin Z., Lee E., Ni M., Jiang H., Milatovic D., Rongzhu L., Farina M., Rocha J.B.T., Aschner M. (2011) *Neurotoxicol.*, **32**, 291-299.
108. Kim S.J., Park C., Han A.L., Youn M.J., Lee J.H., Kim Y., Kim E.S., Kim H.J., Kim J.K., Lee H.K., Chung S.Y., So H., Park R. (2009) *Hear. Res.* **251**, 70-82.
109. Sakurai T., Kanayama M., Shibata T., Itoh K., Kobayashi A., Yamamoto M., Uchida K. (2006) *Chem. Res. Toxicol.*, **19**, 1196-1204.
110. Tamasi V., Jeffries J.M., Arteel G.E., Falkner K.C. (2004) *Arch. Biochem. Biophys.*, **431**, 161-168.
111. Chui D.H., Tang W., Orkin S.H. (1995) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **209**, 40-46.
112. Usuki F., Yamashita A., Fujimura M. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 6641-6649.
113. Yin Z., Lee E., Ni M., Jiang H., Milatovic D., Rongzhu L., Farina M., Rocha J.B.T., Aschner M. (2011) *Neurotoxicol.*, **32**(3), 291-299.
114. Zembowicz A., Hatchett R.J., Radziszewski W., Gryglewski R.J. (1993) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **267**(3), 1112-1118.
115. Shimohashi N., Nakamuta M., Uchimura K., Sugimoto R., Iwamoto H., Enjoji M., Nawata H. (2000) *J. Cell Biochem.*, **78**(4), 595-606.
116. Schewe C., Schewe T., Wendel A. (1994) *Biochem. Pharmacol.*, **48**(1), 65-74.
117. Mishra B., Priyadarsini K.I., Mohan H., Mughesh G. (2006) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**(20), 5334-5338.
118. Tabuchi Y., Sugiyama N., Horiuchi T., Furusawa M., Furuhashi K. (1995) *Eur. J. Pharmacol.*, **272**(2-3), 195-201.
119. Parnham M.J., Graf E. (1987) *Biochem. Pharmacol.*, **36**(19), 3095-3102.
120. Smith S.M.E., Min J., Ganesh T., Diebold B., Kawahara T., Zhu Y., McCoy J., Sun A., Snyder J.P., Fu H., Du Y., Lewis I., Lambeth J.D. (2012) *Chem. Biol.*, **19**(6), 752-763.
121. de Freitas A.S., Rocha J.B. (2011) *Neurosci. Lett.*, **503**, 1-5.
122. de Bem A.F., Fiuza B., Calcerrada P., Brito P.M., Peluffo G., Dinis T.C.P., Trujillo M., Rocha J.B.T., Radi R., Almeida L.M. (2013) *Nitric Oxide*, **31**, 20-30.
123. Wilson S.R., Zucker P.A., Huang R.R.C., Spector A. (1989) *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 5936-5939.
124. Mughesh G. (2000) *Chem. Soc. Rev.*, **29**, 347-357.
125. Nogueira C.W., Meotti F.C., Curte E., Pilissao C., Zeni G., Rocha J.B. (2003) *Toxicol.*, **183**, 29-37.
126. Cotgreave A., Morgenstern R., Engman L., Ahokas J. (1992) *Chem. Biol. Interact.*, **84**, 69-76.
127. Brito P.M., Mariano A., Almeida L.M., Dinis T.C. (2006) *Chem. Biol. Interact.*, **164**, 157-166.
128. Pluskal T., Ueno M., Yanagida M. (2014) *PLoS ONE*, **9**(5), e97774.
129. Yamashita Y., Amlund H., Suzuki T., Hara T., Hossain A.M., Yabu T., Touhata K., Yamashita M. (2011) *Fish Sci.*, **77**, 679-686.
130. Yamashita Y., Yamashita M. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 18134-18138.
131. Yamashita M., Yamashita Y., Ando T., Wakamiya J., Akiba S. (2013) *Biol. Trace Elem. Res.*, **156**, 36-44.
132. Русецкая Н.Ю., Бородулин В.Б., Горошинская И.А., Мартыанова В.А., Бородулин Я.В., Димидов А.П. (2013) *Известия вузов. С.-К. регион. Естественные науки*, №2, 52-56.
133. Русецкая Н.Ю., Бородулин В.Б., Саратцев А.В., Бородулин Я.В. (2013) *Фунд. иссл.*, **4**(1), 125-129.
134. Макарова Е.С., Павленко Г.И. (2011) *Ветер. патол.*, **4**, 117-120.
135. Русецкая Н.Ю., Меркулова Е.П., Бородулин В.Б., Древо Б.И., Горошинская И.А. (2010) *Известия вузов. С.-К. регион. Естественные науки*, №5, 69-71.
136. Русецкая Н.Ю., Дьякова В.И., Чупис В.Н., Древо Б.И., Емельянова Н.В., Мартыанова В.А., Бородулин Я.В., Бородулин В.Б. (2012) *Теор. и прикл. экол.*, **2**, 59-65.
137. Родионова Т.Н., Антипов В.А., Лазарев В.Г. (2010) *Фармакология селеноорганического препарата ДАФС-25 и его использование в животноводстве и ветеринарии.* – Саратов: ИЦ Наука, 241 с.
138. Воронин С.П. (2009) *Инновации*, **9**, 11-13.

Поступила: 21. 04. 2013.

**BIOLOGICAL ACTIVITY OF SELENORGANIC COMPOUNDS
AT HEAVY METAL SALTS INTOXICATION**

N.Y. Rusetskaya, V.B. Borodulin

Razumovskiy Saratov State Medical University,
112 Bolshaya Kazachya str., Saratov, 410012 Russia; tel.: 8-(8452)-66-98-21; e-mail: rusetskayanu@yandex.ru

Possible mechanisms of the antitoxic action of organoselenium compounds in heavy metal poisoning have been considered. Heavy metal toxicity associated with intensification of free radical oxidation, suppression of the antioxidant system, damage to macromolecules, mitochondria and the genetic material can cause apoptotic cell death or the development of carcinogenesis. Organic selenium compounds are effective antioxidants during heavy metal poisoning; they exhibit higher bioavailability in mammals than inorganic ones and they are able to activate antioxidant defense, bind heavy metal ions and reactive oxygen species formed during metal-induced oxidative stress. One of promising organoselenium compounds is diacetophenonyl selenide (DAPS-25), which is characterized by antioxidant and antitoxic activity, under conditions including heavy metal intoxication.

Key words: heavy metals, selen, selenorganic compounds, antitoxic activity, diacetophenonylselenide (DAPS-25).