

УДК 577.112.4:598/599+591.1

## **ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА *IN VITRO* НА УРОВЕНЬ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ГЕМОЛИЗАТЕ ЭРИТРОЦИТОВ *SUS SCROFA***

*Никольская В. А.*

*Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, Симферополь,  
victoria\_nikol@crimea.edu*

Результаты исследования свидетельствуют о достоверных изменениях содержания молекул средней массы в сыворотке крови и гемоллизате эритроцитов *Sus scrofa* (Mammalia) в условиях окислительного стресса различного уровня интенсивности.

*Ключевые слова:* окислительный стресс, среда Фентона, молекулы средней массы, сыворотка крови, гемоллизат эритроцитов, Mammalia, *Sus scrofa*.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В последние годы внимание исследователей обращено на ответную реакцию организма на различных уровнях при воздействии факторов стрессового характера для получения понимания механизмов регуляции системы гомеостаза. Молекулам средней массы отведена особая роль в биохимических процессах, что вызвано проявлением высокой биологической активностью их отдельных фракций [1, 2].

Низкомолекулярные олигопептиды обладают широким спектром биологического действия и координируют выполнение биологических функций различными органами и тканями. Одной из функций биорегуляторных пептидов является осуществление воздействия на репаративные процессы в тканях организма за счет стимуляции клеточной пролиферации или ее торможения в процессе апоптоза. Существует предположение, что олигопептиды и аминокислоты обладают также протекторными свойствами при действии повреждающих агентов, нарушающих синтез и репарацию ДНК [3]. Показана антиоксидантная роль среднемолекулярных пептидов [4].

Представляло интерес оценить изменения уровня молекул средней массы в сыворотке крови и гемоллизате эритроцитов, подвергнутых воздействию окислительного стресса модели Фентона различного уровня интенсивности у представителя Mammalia – *Sus scrofa* Linnaeus, 1758.

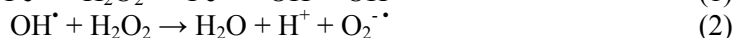
Целью данного исследования явилось изучение воздействия окислительного стресса *in vitro* на показатель содержания молекул средней массы в сыворотке крови и гемоллизате эритроцитов *S. scrofa*.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Материалом исследования служили сыворотка крови и гемоллизат эритроцитов *S. scrofa* до (в исходном состоянии) и после инкубации в среде Фентона. Гемоллизат

эритроцитов получали по методу Д. Драбкина [5]. Уровень молекул средней массы определяли по методу Н. И. Габриэлян и др. [6]. В качестве модели воздействия окислительного стресса использовали среду Фентона, содержащую А) 10 мМ FeSO<sub>4</sub> и 0,3 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и Б) 10 мМ FeSO<sub>4</sub> и 3 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [7]. Инкубацию осуществляли в течение 15 минут.

Среда Фентона является источником свободных радикалов кислорода по реакции:



## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе исследования свидетельствуют о достоверных изменениях содержания молекул средней массы как в сыворотке крови, так и в гемолизате эритроцитов при воздействии окислительного стресса, однако, их уровень и направление для продуктов, регистрируемых на разных длинах волн не имеют однозначного характера.

Сыворотка *S. scrofa*, инкубированная в среде Фентона, реагирует на воздействие окислительного стресса достоверным повышением содержания молекул средней массы, регистрируемых при длинах волн  $\lambda$ 254 и  $\lambda$ 272 нм и снижением – при  $\lambda$ 280 нм по сравнению с исходным состоянием.

Таблица 1

Содержание молекул средней массы (ед. опт. плотности) в сыворотке крови и гемолизате эритроцитов *Sus scrofa* до и после инкубации в среде Фентона (M±m)

Исследуемый материал	Длина волны, нм	До инкубации в среде Фентона	После инкубации в среде Фентона А	После инкубации в среде Фентона Б
Сыворотка крови <i>Sus scrofa</i> , n=18	254	0,790 ± 0,002**	0,845 ± 0,002*	0,920 ± 0,003*,**
	272	0,195 ± 0,004**	0,230 ± 0,003*	0,251 ± 0,002*,**
	280	0,167 ± 0,004**	0,080 ± 0,006*	0,143 ± 0,008*,**
Гемолизат эритроцитов, <i>Sus scrofa</i> n=18	254	0,604 ± 0,002	0,670 ± 0,002*	0,703 ± 0,001*,**
	272	0,171 ± 0,001	0,180 ± 0,002*	0,203 ± 0,001*,**
	280	0,078 ± 0,001	0,082 ± 0,001	0,092 ± 0,002*,**

Примечание к таблице: \* – достоверность различий показателя при воздействии среды Фентона по сравнению с исходным состоянием ( $p < 0,05$ ); \*\* – достоверность различий показателя материала, инкубированного в среде Фентона А, по сравнению с показателем в среде Фентона Б ( $p < 0,05$ ).

Возможно, что окислительный стресс в сыворотке крови приводит к деградации определенных групп белков и возникновению соединений, играющих регуляторную или антиоксидантную роль, о чем свидетельствует повышение показателя содержания молекул средней массы, регистрируемых при  $\lambda$  254 и 272 нм. Таким образом, достоверное увеличение содержания молекул средней массы в

сыворотке крови в сравнении с исходным состоянием может свидетельствовать о том, что эти вещества выполняют функцию индикатора степени повреждения или же регулятора, играющего важную роль в восстановительных процессах в организме.

Обращает внимание тот факт, что инициация окислительных процессов в среде Фентона, содержащей меньшее количество окисляющих компонентов приводит к двукратному снижению молекул средней массы, регистрируемых при  $\lambda 280$  нм (табл. 1). Можно предположить, что система крови в большей степени реагирует на воздействие, если оно имеет «точечный» характер, а в случае стрессового повреждения большей интенсивности отвечает активацией комплекса систем в пределах разумной достаточности. Следует учитывать и тот факт, что низкомолекулярные олигопептиды являются регуляторными и обладают широким спектром биологической активности, в том числе антиоксидантной, а также координируют выполнение биологических функций различными органами и тканями [3, 8, 9, 10, 11].

Эритроциты человека обладают характерными для эукариотических клеток органеллами лишь до определенной стадии дифференцировки – до ретикулоцита. На более поздних этапах из этих клеток исчезают ядра, митохондрии и другие органеллы. Несмотря на отсутствие ряда метаболических систем, эритроциты не являются инертными протоплазматическими частицами.

После инкубации эритроцитов в гемолизате наблюдается однонаправленное увеличение содержания молекул средней массы на всех длинах волн регистрации, однако в среде с меньшим количеством окисляющих компонентов изменение уровня регистрируемых продуктов при  $\lambda 280$  нм имеет характер тенденции.

## **ВЫВОДЫ**

1. Реакция на стрессовое воздействие на клеточном уровне у одного из представителей Mammalia – *S. scrofa* проявляется изменением уровня различного рода соединений, в частности, молекул средней массы, вероятно, играющих важную роль маркеров дифференциального ответа.

2. Реализация действия маркеров дифференциального ответа как сигнальных молекул зависит от интенсивности воздействия на систему, что, однако, требует дальнейшего изучения.

## **Список литературы**

1. Ковалевский А.Н. Замечания по скрининговому методу определения молекул средних масс / А.Н. Ковалевский, О.Е. Нифантьев // Лабораторное дело. – 1989. – № 10. – С. 35–39.
2. Николайчик В.В. Способ определения средних молекул / [В.В. Николайчик, В.М. Моин, В.В. Кирковский и др.] // Лабораторное дело. – 1991. – № 10. – С. 13–18.
3. Лесняк В.В. Влияние аминокислот и олигопептидов на лимфоидные ткани молодых и старых крыс: диссертация кандидата медицинских наук / В.В. Лесняк. – СПб., 2009. – 124 с.
4. Юдакова О.В. Интенсивность ПОЛ и АОА, уровень молекул средней массы как показателя эндогенной интоксикации при распространенном перитоните / О.В. Юдакова, Е.В. Григорьев // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – Вып. 10. – С. 20–22.

5. Drabkin D. Asimplified technique for large crystallisation of haemoglobin in the enistalline / D. Drabkin // *Fnn. N. S. Acad. Sci.* – 1964. – Vol. 121, N 11 – P. 404–407.
6. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях. Метод рекоменд. / [Н.И. Габриэлян, Э.Р. Левицкий, А.А. Дмитриев и др.] – М.: Медицина, 1985. – 18 с.
7. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / [Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов и др.] // *Вопросы медицинской химии.* – 1995. – Т. 41, вып. 1. – С. 24–26.
8. Абакумова Ю.В. Свободнорадикальное окисление при атеросклерозе как патогенный фактор / Ю.В. Абакумова, Н.А. Ардаматский // *Медико-биологический вестник им. Я.Д. Витебского.* – 1996. – Т. 21, вып. 2. – С.15–21.
9. Бахмет А.А. Влияние некоторых олигопептидов на иммунные структуры лимфоидных бляшек тонкой кишки (экспериментальное исследование) / А.А. Бахмет // *РЖГГК.* – 2008. – Т. 18, № 5. – С. 38–44.
10. Калуев А.В. Выполняют ли регуляторную роль в клетке взаимодействия АФК с ДНК? / А.В. Калуев // *Український біохімічний журнал.* – 1999. – Т. 71, вып. 2. – С.104–108.
11. Копытова Т.В. Окислительная модификация белков и олигопептидов у больных хроническими дерматозами с синдромом эндогенной интоксикации / [Т.В. Копытова, О.Н. Дмитриева, Л.Н. Химкина и др.] // *Фундаментальные исследования.* – 2009. – № 6. – С. 25–29.

**Нікольська В. О. Вплив окислювального стресу *in vitro* на рівень молекул середньої маси в сироватці крові та гемолізаті еритроцитів *Sus scrofa* // Екосистеми, їх оптимізація та охорона. Сімферополь: ТНУ, 2011. Вип. 4. С. 123–126.**

Результати дослідження свідчать про достовірні зміни вмісту молекул середньої маси в сироватці крові і гемолізаті еритроцитів *Sus scrofa* (Mammalia) в умовах окислювального стресу різного рівня інтенсивності.

*Ключові слова:* окислювальний стрес, середа Фентона, молекули середньої маси, сироватка крові, гемолізат еритроцитів, Mammalia, *Sus scrofa*.

**Nikolskaya V. A. Influence of oxidizing stress *in vitro* on the rate of molecules of the middle weight in the blood serum and erythrocyte's gemolizate in *Sus scrofa* // Optimization and Protection of Ecosystems. Simferopol: TNU, 2011. Iss. 4. P. 123–126.**

Research results testify to the reliable changes of maintenance of molecules of the average weight in the serum of blood and erythrocyte's gemolizate of *Sus scrofa* (Mammalia) in the conditions of oxidative stress of different level of intensity.

*Key words:* oxidative stress, Fenton environment, a molecule of average weight, blood serum, erythrocyte's gemolizate, Mammalia, *Sus scrofa*.

*Поступила в редакцію 27.07.2011 г.*