

БИОХИМИЯ

УДК 61:577.1

МОДЕЛЬНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ЖЕЛТОЧНЫХ ЛИПОПРОТЕИДОВ: ПАРАМЕТРЫ ИНИЦИИРОВАННОЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ПУЛЕ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ

Г.К. Рубцов, Н.В. Безручко

Пензенский государственный университет, Пенза

Установлены характерные отличия изученной модельной биологической системы по уровню окислительной модификации белков, наиболее ярко выраженные при регистрации на 530 нм. Указанные отличия могут служить параметрами, описывающими реакцию системы в условиях спонтанного и Fe²⁺-индуцированного окисления. Эффективными модельными биологическими системами могут служить желточные липопротеиды с добавлением прополиса и маточного молочка, а также сыворотки крови крыс.

***Ключевые слова:** модельная биологическая система, желточные липопротеиды, инициированная окислительная модификация белков, молекулы средней массы.*

Введение. Эндогенную интоксикацию рассматривают как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме (Копытова и др., 2009). Среди широкого круга метаболитов, обладающих способностью оказывать токсическое действие, особое место занимает пул веществ средней молекулярной массы, динамика которого отражает тяжесть эндогенной интоксикации (Карякина, Белова, 2004; Алабовский и др., 2005; Копытова, 2006; Панченкова, Жичкина, 2011; Келина и др., 2012; Безручко и др., 2013; Кондратюк, Радченко, 2013). Молекулярная масса этих соединений колеблется в диапазоне 300-5000 дальтон (Д), в связи с чем их часто называют молекулами средней массы или среднемолекулярными пептидами (Логинов, 2009; Панченкова, Жичкина, 2011). Молекулы средней массы чаще всего играют роль неспецифических маркеров интоксикации, повышая свой уровень в крови (Скопичев, Жичкина, 2010; Шитов, 2013).

Развитие процессов интоксикации проявляется стереотипными реакциями организма на воздействие токсиканта, приводящими к активации процессов свободно-радикального окисления и окислительной модификации белков плазмы крови. Считается, что нарушение структуры белков, вызванное их окислительной модификацией при активации свободно-радикальных процессов, - один из неспецифических механизмов развития интоксикации (Малахова,

2000; Dalle-Donne et al., 2003; Копытова и др., 2009; Dietrich-Muszalska, Olas, 2009; Обухова, 2010; Степовая и др., 2010; Фомина и др., 2011; Разнатовская, 2012; Халдун и др., 2012; Garcia-Garcia et al., 2012).

Перспективным оказывается комплексное исследование молекул средней массы (МСМ) и окислительной модификации белков (ОМБ) в мониторинге (Рубцов и др., 2013а, б), для чего необходимы разработка и апробирование на различных модельных биологических системах метода оценки ОМБ в пуле МСМ. Этот метод может представлять значительный интерес, как для клинической биохимии, так и для других разделов биохимии и смежных с ней научных дисциплин.

Ранее было проведено обоснование оптимальных вариантов комплексного применения модельных биологических систем для оценки окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы, одним из которых является модельная биологическая система желточных липопротеидов с добавлением маточного молочка, а также с добавлением сыворотки крови крыс (Рубцов, 2013).

Цель работы – изучить параметры инициированной окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопротеидов.

Методика. Для оценки изучаемых тестов была проведена серия наблюдений на желточных липопротеидах с введением различных веществ, которые могли бы реагировать на изменение уровня свободно-радикальных процессов, в том числе в условиях металл-катализируемого окисления.

Желточные липопротеиды получали по методике Клебанова с соавторами (1988).

Выделены следующие серии наблюдений для изучения индуцированной (в присутствии ионов Fe^{2+}) ОМБ в пуле МСМ: 1) желточные липопротеиды с добавлением препаратов с антиоксидантными свойствами (продукты пчеловодства в виде 30 % водных растворов – прополис, гомогенат трутневого расплода, мед, маточное молочко); 2) желточные липопротеиды с добавлением продуктов пчеловодства указанной концентрации и сыворотки крови крыс (самки и самцы). В каждой серии наблюдений эксперименты проводили в 7 повторениях.

Согласно Клебанову с соавторами (1988), введение в систему ионов Fe^{2+} сопровождается ускорением процессов свободно-радикального окисления, уровень аутоокисления плазмы крови и суспензии желточных липопротеидов крайне мал, причем плазма крови, по сравнению с желточными липопротеидами, в присутствии ионов Fe^{2+} окисляется намного меньше. Клебанов с соавторами (1988) предположили, что в самом общем случае ингибирование плазмой крови перекисидации липидов желточных липопротеидов в присутствии ионов Fe^{2+} обусловлено наличием в плазме крови антиоксидантов и

(или) веществ, обеспечивающих окисление и связывание ионов Fe^{2+} .

Однако ранее не изучалась окислительная модификация белков в пуле молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопротеидов, как спонтанная, так и инициированная.

Серии проведенных нами наблюдений для изучения спонтанной ОМБ в пуле МСМ были аналогичны сериям наблюдений в случае инициированного окисления.

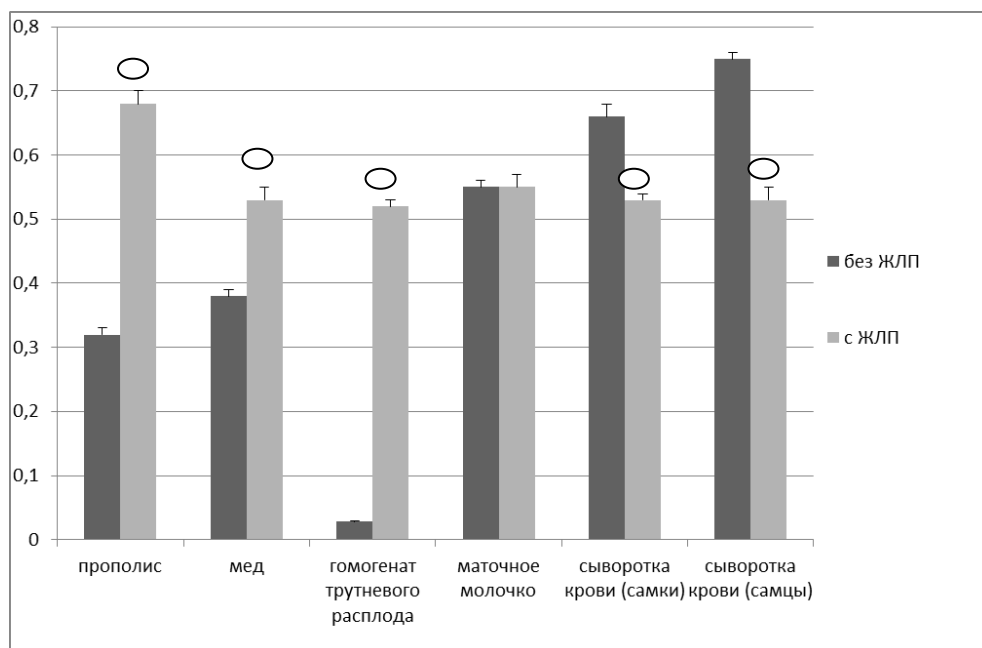
Изучение уровней ОМБ в пуле МСМ в нашей работе проводили на основе разработанного «Способа определения окислительной модификации белков в пуле веществ средней молекулярной массы» (Рубцов и др., 2012).

Для измерений экстинкций (в единицах оптической плотности) МСМ (при 254 нм) и ОМБ (при 356 нм, 370 нм, 430 нм, 530 нм) использовался спектрофотометр СФ-2000 (лаборатория кафедры биохимии Пензенского государственного университета). Согласно данным литературы, при 356 нм регистрируются алифатические альдегиддинитрофенилгидразоны нейтрального характера, при 370 нм – алифатические кетондинитрофенилгидразоны нейтрального характера, при 430 и 530 – алифатические альдегиддинитрофенилгидразоны и кетондинитрофенилгидразоны основного характера (Дубинина и др., 1995; Лобанов и др., 2010).

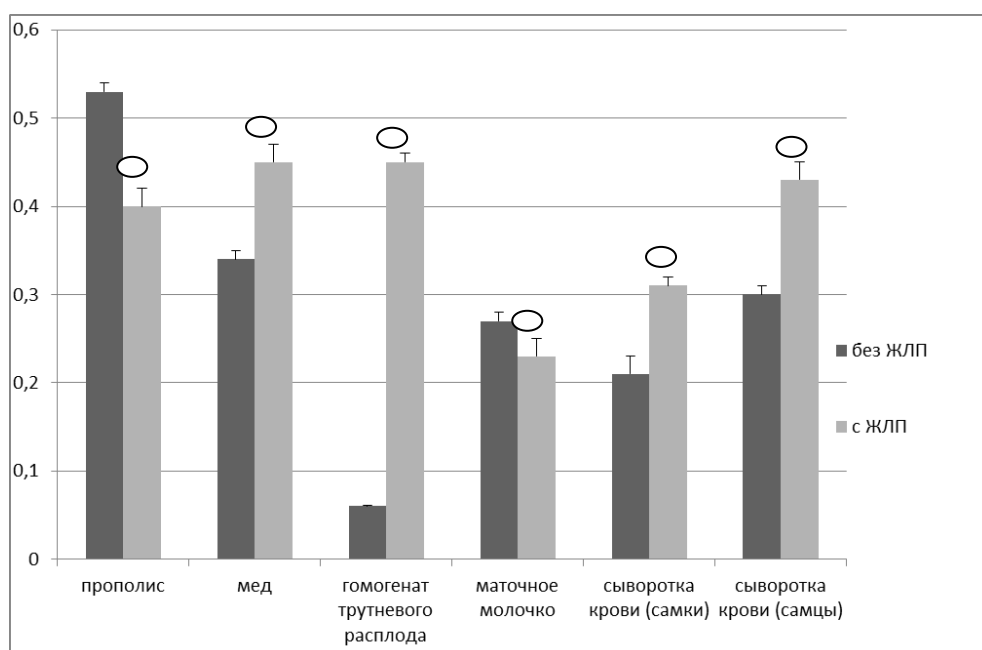
Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента (MS Excel).

Результаты и обсуждение. Анализ уровней МСМ и ОМБ в модельных биологических системах (МБС) с добавлением желточных липопротеидов при Fe^{2+} -индуцированном окислении выявил две основные тенденции. При добавлении желточных липопротеидов к прополису и гомогенату трутневого расплода величины МСМ были выше, чем в исходных продуктах пчеловодства, а при добавлении меда и сыворотки крови крыс (как самок, так и самцов) проявилась обратная тенденция (рис. 1). Например, в меде уровень МСМ, по сравнению с желточными липопротеидами с добавлением меда, был больше в 1,4 раза ($p < 0,05$).

Уровни ОМБ в желточных липопротеидах с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (как самок, так и самцов) при Fe^{2+} -индуцированном окислении, как и при спонтанном окислении, проявили общую тенденцию снижения величин при переходе от 356 нм к 530 нм. Сопоставление их уровней ОМБ, по сравнению с добавляемыми продуктами пчеловодства и сывороткой крови крыс (как самок, так и самцов), показало наиболее ярко выраженные отличительные особенности при 530 нм (рис. 2).



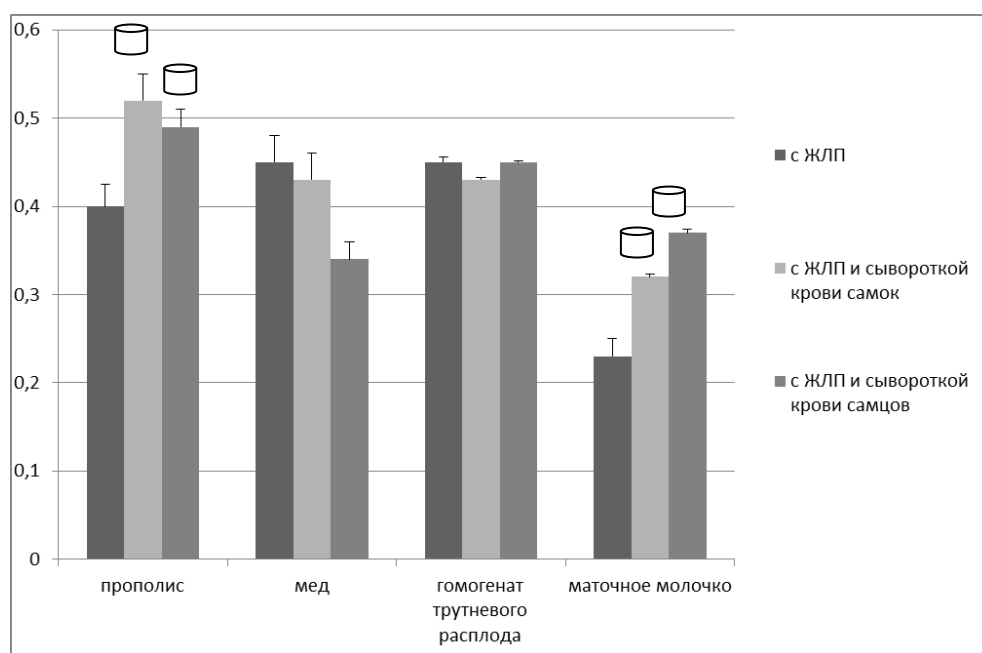
Р и с . 1 . Уровни МСМ в пробах без желточных липопротеидов (ЖЛП) и с ЖЛП при Fe^{2+} -индуцированном окислении:
 ○ - $p < 0,05$ по отношению к пробам без ЖЛП



Р и с . 2 . Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в пробах без желточных липопротеидов (ЖЛП) и с ЖЛП при Fe^{2+} -индуцированном окислении:
 ○ - $p < 0,05$ по отношению к пробам без ЖЛП

Установлено, что уровень ОМБ в пуле МСМ при 530 нм при добавлении к желточным липопротеидам указанных препаратов повышался во всех случаях, кроме прополиса и маточного молочка. При добавлении прополиса и маточного молочка к желточным липопротеидам имело место уменьшение значений в 1,3 раза ($p < 0,05$).

Анализ уровней ОМБ в желточных липопротеидах с добавлением сыворотки крови крыс, по сравнению с желточными липопротеидами с добавлением продуктов пчеловодства, а также продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс, как и в предыдущей серии наблюдений, а также при спонтанном окислении, показал наиболее ярко выраженные отличительные особенности при 530 нм (рис. 3).



Р и с . 3 . Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в пробах с желточными липопротеидами (ЖЛП) и с ЖЛП сывороткой крови крыс и при Fe^{2+} -индуцированном окислении:

○ - $p < 0,05$ по отношению к пробам только с ЖЛП

В случае желточных липопротеидов с добавлением прополиса величины ОМБ были выше при добавлении сыворотки крови самок и самцов крыс в 1,3 раза и в 1,2 раза, соответственно, а в случае маточного молочка - в 1,4 раза и в 1,6 раза, соответственно ($p < 0,05$).

Заклучение. Представляется перспективным использование рассматриваемой модельной биологической системы для изучения Fe^{2+} -индуцированной окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы. Одним из эффективных вариантов такого использования

могут служить желточные липопротеиды с добавлением прополиса и маточного молочка, а также сыворотки крови крыс. Установлены характерные отличия изученной модельной биологической системы по уровню ОМБ, наиболее ярко выраженные при регистрации на 530 нм, что может служить параметрами, описывающими их реакционную способность, в том числе в условиях Fe^{2+} -индуцированного окисления.

Авторы выражают признательность коллективу кафедры биохимии естественно-научного факультета Педагогического института им. В.Г. Пензенского государственного университета за поддержку и практические советы при проведении исследований.

Список литературы

- Алабовский В.В., Василенко Д.В., Маслов А.И., Текунова Н.А.* 2005. Сопоставление среднемoleкулярных пептидов в плазме и сыворотке крови // Клиническая лабораторная диагностика. № 2. С. 21-25.
- Безручко Н.В., Рубцов Г.К., Анопин К.Д., Кривченкова Е.В.* 2013. Клинико-биохимические перспективы разработки неинвазивных методов оценки эндогенной интоксикации, значение показателей мочи и слюны// Технологии живых систем. № 1. С. 47-52.
- Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г.* 1995. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопросы медицинской химии. № 1. С. 24-26.
- Карякина Е.В., Белова С.В.* 2004. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. № 3. С. 3-8.
- Келина Н.Ю., Безручко Н.В., Рубцов Г.К.* 2012. Биохимические проявления эндотоксикоза: методические аспекты изучения и оценки, прогностическая значимость (аналитический обзор) // Вестн. Тюменского гос. ун-та (серия медико-биологические науки). № 6. С. 143-147.
- Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Комаров О.С., Владимиров Ю.А.* 1988. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // Лабораторное дело. № 5. С. 59-62.
- Кондратюк М.А., Радченко Е.М.* 2013. Структурно-функциональные параметры сердца у больных хронической сердечной недостаточностью в зависимости от уровня молекул средней массы // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. № 9 (1). С. 40-43.
- Копытова Т.В.* 2006. Молекулы средней массы как субстрат эндогенной интоксикации при тяжелых дерматозах // Успехи соврем. естествознания. № 9. С. 7-10.
- Копытова Т.В., Дмитриева О.Н., Химкина Л.И., Пантелеева Г.А.* 2009. Окислительная модификация белков и олигопептидов у больных хроническими дерматозами с синдромом эндогенной интоксикации // Фундаментальные исследования. № 6. С. 25-29.
- Лобанов С.А., Черепанов Н.С., Султанов И.Х.* 2010. Особенности процессов

- окислительной модификации белков и содержание молекул средней массы при длительной гиподинамии // Вестн. Челябинского гос. пед. ун-та. № 5. С. 373-382.
- Логин В.Н.* 2009. Спектр молекул средней массы как показатель эндогенной интоксикации у больных шизофренией в процессе фармакотерапии // Сибирский вестн. психиатрии и наркологии. № 3 (54). С. 98-100.
- Малахова М.Я.* 2000. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме // Эфферентная терапия. № 4. С. 3-14.
- Обухова Л.М.* 2010. Роль протеинов в формировании структурного макропортрета плазмы крови при интоксикации организма: автореф. дисс. ... д-ра. биол. наук. Н. Новгород. 49 с.
- Панченкова И.А., Жичкина Л.В.* 2011. Молекулы средней массы как критерий эффективности физических воздействий // Вестн. Брян. гос. ун-та. № 4. С. 248-250.
- Разнатовская Е.Н.* 2012. Изменение процессов окислительной модификации белков у больных химиорезистентным туберкулезом легких // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. № 2. С. 39-42.
- Рубцов Г.К., Безручко Н.В., Генгин М.Т., Васильков В.Г., Борисова Е.Ю., Анопин К.Д., Васильева А.Д., Садовникова Д.Г., Козлова Г.А., Кручинина А.Д., Гамзин С.С.* Способ определения окислительной модификации белков в пуле веществ средней молекулярной массы в сыворотке крови, плазме, эритроцитах и в моче. Заявка на патент на изобретение РФ № 2012153044, приоритет от 7.12.2012.
- Рубцов Г.К., Безручко Н.В., Садовникова Д.Г., Козлова Г.А., Анопин К.Д.* 2013а. Клинико-биохимическое значение комплексного изучения молекул средней массы и окислительной модификации белков для оценки эндотоксикоза // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. № 2. С. 41-47.
- Рубцов Г.К.* 2013. Комплексное применение модельных биологических систем для оценки окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы // Вестн. Томского гос. пед. ун-та. № 8. С. 81-90.
- Рубцов Г.К., Безручко Н.В., Генгин М.Т.* 2013б. Методологическое обоснование комплекса модельных биологических систем оценки окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы // Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии: материалы восьмой междунар. крымской конф. Судак: ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ. С. 60.
- Скопичев В.Г., Жичкина Л.В.* 2010. Физиологические принципы детоксикации. СПб.: АКЦ. 460 с.
- Степовая Е.А., Жаворонок Т.В., Петина Г.В., Рязанцева Н.В., Иванов В.В., Тетенев Ф.Ф., Агеева Т.С., Новицкий В.В.* 2010. Участие тиолдисульфидной системы в регуляции окислительной модификации белков в нейтрофилах при окислительном стрессе // Бюл. Сибирского отделения РАМН. № 5. С. 64-69.
- Фомина М.А., Шумская Е.И., Фомина Н.В.* Окислительная модификация белков плазмы крови при тромбозах // Астраханский медицинский журн. 2011. № 2. С. 234-235.

- Халдун О., Лакал А., Бекшоков К.С., Кличханов Н.К.* 2012. Окислительная модификация белков плазмы крови ожоговых больных // Вестн. Дагестанского гос. ун-та. № 1. С. 128-132.
- Шитов А.Ю.* 2013. Молекулы средней массы как показатель «гипербарической интоксикации» у водолазов // Альманах клинической медицины. № 28. С. 48-52.
- Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Colombo R.* 2003. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress // Clinica Chimica Acta. № 329. P. 23-38.
- Dietrich-Muszalska A., Olas B.* 2009. Modifications of blood platelet proteins of patients with schizophrenia // Platelets. V. 20. № 2. P. 90-96.
- Garcia-Garcia A., Rodriguez-Rocha H., Madayiputhiya N., Franco R., Pappa A., Panayiotidis M.I.* 2012. Biomarkers of protein oxidation in human disease// Current Molecular Medicine. V. 12. № 6. P. 681-697.

**YOLK LIPOPROTEINS BIOLOGICAL SYSTEM MODEL:
PARAMETERES OF INITIATED OXIDATIVE MODIFICATION OF
PROTEINS IN POOL OF AVERAGE-WEIGHT MOLECULES**

G.K. Rubsov, N.V. Besruchko

Penza State University, Penza

The characteristic differences of yolk lipoproteins biological system model in terms of the level of oxidative modifications of proteins were studied. Mentioned differences are better seen during the registration at 530 nm. These differences can serve as the parameters describing the reactivity of the system under spontaneous and Fe²⁺-induced oxidation. Yolk lipoproteins with propolis and royal jelly or rat blood serum can serve as effective biological model systems.

Keywords: *biological system model, yolk lipoproteins initiated oxidative modification of proteins, average-weight molecules.*

Об авторах:

РУБЦОВ Георгий Константинович – ассистент кафедры биохимии, ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет», 440026, Пенза, ул. Красная, д. 40, e-mail: gkr1974@rambler.ru

БЕЗРУЧКО Наталья Валериановна – доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии, ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет», 440026, Пенза, ул. Красная, д. 40, e-mail: bnv1976@rambler.ru

Рубцов Г.К. Модельная биологическая система желточных липопротеидов: параметры инициированной окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы / Г.К. Рубцов, Н.В. Безручко // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2014. № 2. С. 30-37.

