

ОКИСНЮВАЛЬНІ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ТКАНИН РИБ ЯК МАРКЕРИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ЗА ІНСЕКТИЦИДНОГО ВПЛИВУ

Смольський Олександр Сергійович

к.б.н., доцент

Янченко Віктор Олексійович

к.фарм.н., доцент

Національний університет «Чернігівський колегіум»
імені Т. Г. Шевченка

Вступ. Окиснювальні модифікації білків (ОМБ) є одним із ранніх і найбільш надійних індикаторів ушкодження тканин при вільно-радикальній патології [8]. Доведено, що в ряді патологічних станів саме протеїни, а не ліпіди і нуклеїнові кислоти є ефективними пастками активних форм кисню (АФК), а їхня окиснювальна модифікація розглядається як один із ранніх і надійних маркерів оксидативного стресу [6].

Продукти окисної модифікації білків є відносно стабільними, а методи їх визначення характеризуються чутливістю та точністю. Відомо, що деградовані білки можуть знаходитися в клітинах годинами і навіть днями, а продукти ПОЛ підлягають детоксикації через декілька хвилин [4]. Отримані дані дозволяють розглядати окиснені протеїни в якості стабільних показників окисного стресу, що має велике значення в клінічній та токсикологічній практиці.

Мета роботи. Метою дослідження було вивчення впливу токсичних концентрацій інсектициду «Престиж» на систему посттрансляційних модифікацій білків коропа лускатого при 14-ти та 28-добовій експозиції.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були постсинтетичні модифікації білків тканин риб за умов *in vivo*. Для досліджень відбирались зразки печінки, зябер, мозку, плазмі крові та еритроцитів коропа лускатого у контрольних та дослідних варіантах експерименту.

Гомогенати всіх тканин готували на основі 0,025М Трис-НСІ-буфера з рН 7,4, що містив 0,175 моль/л КСІ у співвідношенні 7:18 (біологічний

матеріал : буферний розчин) [5]. Кров для досліджень відбирали з синуса зябрової вени з використанням в якості антикоагулянту гепарину з розрахунку 20 од/мл крові [5].

Для оцінки окисних модифікацій білків у тканинах коропа в умовах пестицидного навантаження визначали вміст карбонільних продуктів окиснення білків та вміст білкових і небілкових SH – груп. Окиснювальні модифікації білків вивчали, користуючись методом, що ґрунтується на визначенні альдегідних і кетонних продуктів окиснення амінокислотних залишків по реакції з 2,4-динітрофенілгідразином (2,4-ДНФГ) [2]. Вміст в тканинах білкових та небілкових сульфгідрильних груп визначали за Фоломеєвим [3]. Кількість білка визначали за О. Н Lowry [7].

Математичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента [1].

Результати та обговорення. Дослідженнями структурних змін молекули гемоглобіну за умов експерименту доведено вплив компонентів інсектициду на молекулу гемоглобіну. Так, при 28 добовій експозиції вміст відновлених SH-груп знижується в усіх тканинах у порівнянні з 14 добовим експериментом. Подібна динаміка спостерігається і для небілкових SH-груп. Це може бути пов'язане з вичерпанням відновлених тіолових груп білків на знешкодження АФК, як наслідків оксидативного стресу, що може бути викликаний дією препарату «Престиж».

Збільшення кількості як альдегідних, так і кетонних продуктів ОМБ нейтрального та основного характеру, а також зменшення вмісту білкових та небілкових SH-груп свідчить про активізацію окиснювальних процесів та утворення токсичних метаболітів. Це найбільш яскраво виражене при аналізі вмісту білкових SH-груп у зябрах коропа.

Встановлено збільшення вмісту білкових SH-груп в зябрах, що може бути пов'язане з стабілізацією білкових молекул даної тканини до дії компонентів препарату. В печінці, мозку, плазмі крові та гемолізаті еритроцитів вміст продуктів окисної модифікації білків зменшується, що свідчить про активацію

антиоксидантної системи організму коропа з метою корекції токсичної дії компонентів інсектициду.

Висновки. Експериментально досліджено вміст відновлених SH-груп білків та низькомолекулярних тіолів, ступінь окиснювальної модифікації білків основного та нейтрального характеру тканин коропа, тканьова специфічність впливу компонентів препарату «Престиж» на постсинтетичні модифікації білків в умовах хронічного токсикозу. Проаналізована кореляційна залежність між ступенем й типами окисної модифікації білків та вмістом білкових й небілкових SH-груп тканин коропа лускатого.

1. Збільшення вмісту білкових SH-груп в зябрах може бути пов'язане зі стабілізацією просторової конформації білкових молекул даної тканини до дії компонентів препарату.

2. В печінці, мозку, плазмі крові та гемолізаті еритроцитів вміст продуктів окисної модифікації білків зменшується, що свідчить про використання неферментативної тіолової системи білків для знешкодження активних форм кисню за токсичної дії компонентів інсектициду.

3. Аналіз тканьової залежності впливу діючих компонентів препарату на постсинтетичні модифікації білків свідчить про найбільшу чутливість білкової системи печінки у порівнянні з іншими тканинами коропа.

4. Розрахунок кореляційних залежностей між вмістом білкових SH-груп та ступенем окиснювальної деструкції білків досліджуваних тканин свідчить про активізацію молекулярних систем захисту білків за токсичної дії інсектициду «Престиж».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Біостатистика / В. Ф. Москаленко, Гульчій О. П., Голубчиков М. В., Ледощук Б. О., Лехвн В. М., Огнев В. А., Литвинова И. О., Максименко О. П., Тонковид О. Б. — К.: Книга плюс, 2009. — 184.

2. Казакова В. В., Ёлкина Н. М. Окислительная модификация и изменение молекулярной гидрофобности гемоглобина А при инкубации

эритроцитов человека в среде Фентона // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 4. С. 34 – 38.

3. Фоломеев В. Ф. Фотоколориметрический ультрамикрометод количественного определения сульфгидрильных групп белков и небелковых соединений крови // Лаб. Дело. – 1981. - №1. – С. 33-35.

4. Igagli E, Lodovici M. Circulating oxidative stress biomarkers in clinical studies on type 2 diabetes and its complications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;19:1-17. doi: 10.1155/2019/5953685.

5. Fidelis I. Achuba Effect of Vitamins C and E Intake on Blood Lipid Concentration, Lipid Peroxidation, Superoxide Dismutase and Catalase Activities in Rabbit Fed Petroleum Contaminated Diet // *Pakistan Journal of Nutrition*. – 2005. Vol.4, №5. – P. 330 – 335.

6. Fukuda S, Nojima J, Motoki Y, et al. A potential biomarker for fatigue: Oxidative stress and anti-oxidative activity. *Biological psychology*. 2016 Jul 1;118:88-93. doi: 10.1016/j.biopsycho.2016.05.005.

7. Lowry O. H., Rosebroug N. I., Farr A. L., Randall R. I. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem*. – 1951. – 193, N 1. P. 265–275.

8. Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes / E. Peuchant, J.L. Brun, V. Rigalleau et al. // *Clinical Biochemistry*. – 2004. – Vol. 37 (4). – P. 293–298.