

УДК 577.112.4

**ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ В УРОВНЕ
ПРОДУКТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ
ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОЗВОНОЧНЫХ И
БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Гидулянов А.А.

*Южный филиал национального университета биоресурсов и природопользования Украины
«Крымский агротехнологический университет», Симферополь, Республика Крым,
Российская Федерация
E-mail: sgaa@mail.ru*

Проведено сравнительное изучение тканеспецифических различий в содержании продуктов окислительной модификации в тканях печени и мышц представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius sp.*). В результате исследований получены данные, свидетельствующие о наличии различий в содержании продуктов окислительной модификации белков как в различных тканях, так и у разных представителей позвоночных и беспозвоночных животных.

Ключевые слова: белки, окислительная модификация, филогенез.

ВВЕДЕНИЕ

Течение различных патологических процессов и способность отвечать на стресс у животных в той или иной степени зависят от особенностей организма. Выяснение биохимических механизмов функционирования клетки является важным аспектом решения одной из фундаментальных проблем биологии. Разные филогенетические группы характеризуются различной степенью выраженности процессов перекисных процессов, окислительной модификации белков, содержания среднемолекулярных олигопептидов [1, 2].

Окислительная модификация белков – один из ранних индикаторов поражения тканей при свободнорадикальной патологии. Окислительная модификация белков вызывается активными формами кислорода (АФК), которые образуются во всех аэробных клетках, при этом нарушение баланса в системе «окислительные – антиоксидантные процессы» может является причиной гибели клетки. Таким образом, пероксидация белков играет большую роль в процессе развития ряда патологических заболеваний и старения организма [3, 4].

Окислительная модификация белков (ОМБ) играет важную роль в обороте протеинов в организме. Накопление окисленных белков рассматривается как один из факторов регуляции синтеза и распада протеинов, активации мультипротеолитических протеаз, избирательно разрушающих окисленные белки.

Фактически разрушение окисленных белков рассматривается как проявление вторичной антиоксидантной защиты в организме [5, 6].

ОМБ происходит постоянно во всех живых организмах. На интенсивность деструктивных процессов и процессов распада окисленных метаболитов влияет 2 фактора: внешний, т.е. влияние окружающей среды и внутренний – процессы образования активных форм кислорода (АФК) и их утилизация в результате деятельности антиоксидантной системы (АС). Оба этих фактора взаимосвязаны [5].

Известно, что практически все метаболические реакции катализируются ферментами, поэтому регуляция метаболизма сводится к регуляции типа и интенсивности ферментативных функций. Считается, что основным токсическим субстратом, ответственным за возникновение стадии аутоагрессии эндотоксикоза, могут стать продукты клеточной дезорганизации, неполного распада и неферментного превращения белков крови и тканей.

На этом основании целью исследования явилось сравнительное изучение содержания продуктов окислительной модификации в мышечной ткани и печени представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius sp.*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований была печень и мышечная ткань представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius sp.*). Метод основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием производных 2,4-динитрофенилгидразона. Оптическую плотность образовавшихся динитрофенилгидразонов регистрировали спектрофотометрически при длинах волн: 356нм, 370нм, 430нм, 530нм [7, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее распространенный и легко обнаруживаемый тип повреждения белков - образование карбонильных групп при окислении аминокислот (лизина, аргинина и пролина) [8]. Процессы окислительной модификации белков протекают в нормально функционирующем организме за счет металлокатализирующего окисления. Накопление окисленных белков рассматривается как один из факторов регуляции синтеза и распада белков, активации протеаз. В условиях оксидативного стресса происходит избыточное образование свободных радикалов. В основном это реакционноспособные атомы и молекулы кислорода: супероксидный анионрадикал, перекись водорода, гидроксильный радикал, а также синглетный кислород.

Интенсификация свободнорадикальных реакций может вызвать повреждение мембран клеток и их барьерную, рецепторную и обменные функции, модификацию молекул нуклеиновых кислот и белков, что ведет к мутациям и инактивации ферментов. В условиях окислительного стресса происходит окислительная модификация белков. Свободные радикалы атакуют белки по всей длине полипептидной цепи, нарушая не только первичную, но вторичную и третичную

структуру белков, что приводит к агрегации или фрагментации белковой молекулы [8]. Оценкой степени окислительной модификации белковых молекул является исследование количества входящих в их состав карбонильных групп. Содержание данных групп в циркулирующих и тканевых белках считается ранним, чувствительным и достаточно стабильным маркером свободнорадикального повреждения [9].

При изучении содержания продуктов окислительной модификации белков в гомогенате мышечной ткани и печени представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius* sp.) получены данные, представленные в таблице 1.

Таблица 1

Содержание продуктов окислительной модификации белков в гомогенате мышечной ткани и печени представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius* sp.), (M±m)

Объекты исследования	Исследуемая ткань	Длина волны (нм)			
		356 нм ед.опт.пл / 1 г белка	370 нм ед.опт.пл / 1 г белка	430 нм ед.опт.пл / 1 г белка	530 нм ед.опт.пл / 1 г белка
<i>Helix albescens</i> (n=30)	мышцы	7,2±0,22	5,4±0,16	3,2±0,01	0,9±0,027
	печень	6,2±0,19	5,5±0,17	4,2±0,13	0,4±0,012
<i>Eubania vermiculata</i> (n=30)	мышцы	5,6±0,17*	4,2±0,13*	3,8±0,12*	0,8±0,024*
	печень	4,5±0,13*	3,7±0,11*	3,2±0,09*	0,6±0,018*
<i>Cyprinus carpio</i> (n=30)	мышцы	10,2±0,3***	9,8±0,29***	8,8±0,26***	1,2±0,036**
	печень	7,2±0,21***	4,8±0,14***	4,2±0,13***	1,5±0,047***
<i>Carassius</i> sp. (n=30)	мышцы	11,66±0,4***	9,72±0,29***	9,2±0,2***	1,7±0,06***
	печень	7,8±0,23***	5,8±0,11***	8,9±0,32***	1,6±0,06***

Примечание: * - достоверность различий показателей *Eubania vermiculata*, *Cyprinus carpio* и *Carassius* sp. относительно *Helix albescens* (p<0,05); ** - достоверность различий показателей *Cyprinus carpio* и *Carassius* sp. относительно *Eubania vermiculata* (p<0,05); *** - достоверность различий показателей *Carassius* sp. относительно *Cyprinus carpio* (p< 0,05).

Полученные результаты свидетельствуют о протекании процессов окислительной модификации белков, свидетельством чего является наличие продуктов окислительной модификации в гомогенате печени и мышечной ткани исследуемых животных. Наибольшее количество альдегидных и кетонных группировок аминокислотных остатков, которые взаимодействуют с 2,4 -

денитрогидразином и регистрируются при 356 нм, 370 нм (продукты окислительной модификации нейтрального характера) и альдегидных и кетонных группировок аминокислотных остатков, регистрирующихся при 430 нм и 530 нм (продукты основного характера), характерно для представителя класса костные рыбы *Carassius* sp. и снижаюся в ряду *Carassius* sp.→*Cyprinus carpio*→*Helix albescens*→ *Eubania vermiculata*.

У представителя класса брюхоногие моллюски *Eubania vermiculata* отмечено достоверное снижение продуктов окислительной модификации нейтрального характера по сравнению с *Helix albescens* в мышцах - на 22,2 %, и печени – на 27,4%. Уровень продуктов основного характера в печени и мышечной ткани снижается на 17% и на 12% соответственно. При сравнении уровня продуктов окислительной модификации белков нейтрального характера у представителя класса костные рыбы *Cyprinus carpio* относительно представителей брюхоногие моллюски получены данные, свидетельствующие о том, что в мышечной ткани карпа суммарный уровень продуктов нейтрального характера на 107% выше чем у *Eubania vermiculata*, в печени – на 45% выше соответственно.

Уровень продуктов основного характера в мышечной ткани *Cyprinus carpio* достоверно преобладает – на 117% относительно показателей *Eubania vermiculata*, в печени – на 50%. Сравнивая показатели *Cyprinus carpio* относительно *Helix albescens* выявлено, что продукты окислительной модификации как нейтрального, так и основного характера достоверно повышаются в мышечной ткани – на 38,7% и на 114%, в печени прослеживается тенденция к повышению на 2,56% и достоверно повышается на 23,9% соответственно.

В мышечной ткани отмечено достоверное повышение альдегидных и кетонных группировок аминокислотных остатков нейтрального характера в направлении *Eubania vermiculata*→*Helix albescens*→*Cyprinus carpio*→*Carassius* sp. и повышение составляет относительно их уровня у *Eubania vermiculata* на 28,6%, на 104%, на 118% соответственно.

В печени наблюдается достоверное повышение продуктов нейтрального характера у *Carassius* sp. по сравнению с *Eubania vermiculata* и *Helix albescens* на 66% и на 16%. По сравнению с *Cyprinus carpio* в печени наблюдается тенденция к повышению на 13%. Уровень продуктов основного характера как в печени, так и в мышечной ткани достоверно понижается в направлении *Carassius* sp.→*Cyprinus carpio*→*Helix albescens*→ *Eubania vermiculata*.

Различия в накоплении продуктов свободнорадикального окисления белковых компонентов тканей различных филогенетических групп служат основанием для более глубоких дальнейших исследований механизмов повреждающего действия АФК на белки тканей. Данные об энергетической «стоимости» поддержания позы и передвижения у животных различных филогенетических групп показали, что преимущества высокого аэробного потенциала у позвоночных связаны с увеличением способности к длительному передвижению за счет аэробного источника энергии. Для беспозвоночных очень важны процессы анаэробного гликолиза, так как это позволяет им совершать очень медленные передвижения. Напротив, у позвоночных локомоция обеспечивается главным образом аэробными

процессами (хотя эти животные, разумеется, должны быть способны и к интенсивному анаэробному гликолизу). Необходимость аэробного обеспечения локомоции была главным фактором, который в процессе эволюции привел к увеличению потребления O_2 позвоночными животными примерно в 10 раз по сравнению с беспозвоночными [11]. Плотность расположения митохондрий у позвоночных на порядок выше, чем у беспозвоночных. В ходе реакций биологического окисления выделяется и расходуется энергия с КПД порядка 50 – 90%, энергия затрачивается на синтез макроэргических соединений, основным из которых является аденозинтрифосфат. Материальным механизмом процесса биологического окисления является дыхательная цепь – система транспорта электронов от восстановленного органического субстрата к кислороду. В начале цепи группа дегидрогеназ осуществляет активацию водорода субстрата, а в окончании цепи имеет место активация кислорода с помощью терминальных оксидаз. Возникающие в ходе этого универсального процесса нестойкие промежуточные продукты – активные формы кислорода ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , HO^{\cdot}), в силу возможной “утечки” из системы транспорта электронов, могут играть роль инициаторов процесса неферментативного пероксидного окисления. Таким образом, преобладание содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях рыб по сравнению с брюхоногими моллюсками может быть связано с более высокой концентрацией митохондрий в тканях рыб, и как следствие более активной “утечкой” АФК из системы транспорта электронов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показана зависимость интенсивности окислительных процессов от типа ткани, в которой они происходят, и от классов животных, что может характеризовать филогенетический аспект.
2. Установлено, что белки мышечной ткани и печени подвержены окислительной модификации, в большей степени у *Carassius sp.* и отмечено снижение в ряду *Carassius sp.* → *Cyprinus carpio* → *Eubania vermiculata* → *Helix albescens*.

Список литературы

1. Синицкая Н.С. Роль пептидов в свободно-радикальном окислении и старении организма / Н.С. Синицкая, В.Х. Хавинсон // Успехи совр. биологии. – 2002. – Т. 122. – Вып. 6. – С. 557.
2. Немова Н.Н. Свойства и физиологическая роль внутриклеточных протеиназ в тканях рыб / Н.Н. Немова // Усп. совр. биол. – 1991. – Т. III. – Вып. 6. – С. 948-954.
3. Подунай Ю.А. Возрастная динамика активности катепсинов и содержания средномолекулярных пептидов в мышцах морского ерша / Ю.А. Подунай, И.Н. Залевская, И.И. Руднева // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского, Серия «Биология, химия». - Том 22 (61). - 2009. - № 4. - С. 128-134.
4. Лушак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма / В.И. Лушак // Биохимия. – 2007. – Т. 72, № 8. – С. 995-1017.
5. Влияние разных типов питания на степень окислительной модификации белков плазмы крови кролика (*Oryctolagus cuniculus*). Библиографическое описание: Тарасов С.С. Влияние разных типов питания на степень окислительной модификации белков плазмы крови кролика (*Oryctolagus cuniculus*) [Текст] / С. С. Тарасов // Молодой ученый. — 2011. — №12. Т.1. — С. 116-120.