УДК 612.017.1:599.323.4:612.65

ОСОБЕННОСТИ РИТМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Ирина Семеновна Рожкова, доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологии и ботаники Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121, polyris@list.ru

Давид Львович Теплый, доктор биологических наук, профессор, Астраханский государственный университет, Российская Федерация, 414000, г. Астрахань, пл. Шаумяна, 1, dima.tepliy@yandex.ru

Исследованы особенности ритмической активности синтеза белка в плазме крови крыс старых животных в норме, при хронической интоксикации и введении антиоксидантов. В ходе эксперимента проведено сравнение активности синтеза общего белка, альбуминов и глобулинов плазмы крови. Выявленные колебания содержания общего белка, альбумина и глобулинов могут быть охарактеризованы как околочасовые с периодами от 20 до 30 минут. В условиях эксперимента наиболее выраженные изменения в ритмических колебаниях синтеза белков плазмы крови зарегистрированы при токсическом воздействии у старых животных.

Ключевые слова: околочасовые ритмы, плазма крови, крысы, хроническая интоксикация, синтез белка, антиоксиданты

FEATURES OF RHYTHMIC ACTIVITY OF THE PROTEINS OF BLOOD PLASMA AT EXPERIMENTAL ANIMALS

Rozhkova Irina S., PhD (Medicine), associate professor, Astrakhan State Medical University, 121 Bakinskaya Str., Astrakhan, 414000, Russian Federation, polyris@list.ru

Teply David L., D.Sc. (Biology), Professor, Astrakhan State University, 1 Shaumyana Sq., Astrakhan, 414000, Russian Federation, dima.tepliy@yandex.ru

The features of rhythmic activity of protein synthesis in the blood plasma of old animals rats in normal, chronic intoxication and the introduction of antioxidants. In the course of the experiment compared the activity of total protein synthesis, albumin and globulins of blood plasma. We identified fluctuations total protein, albumin and globulin can be characterized as ultradian with periods of 20 to 30 minutes. Under experimental conditions, the most expressed changes in the rhythmic oscillations of the synthesis of plasma proteins account with toxic effects in old animals.

Keywords: ultradian rhythms, plasma blood, rats, chronic intoxication, of protein synthesis, antioxidants

Пространство и время представляют собой основные формы существования материи и, следовательно, для любых живых систем свойственна пространственно-временная организация [2]. В связи с этим, хронобиологический подход в онтогенетических исследованиях приобретает все большее значение в настоящее время.

Среди всех прочих биологических ритмов особое место занимают околочасовые клеточные ритмы. Не имея явных экзогенных инициаторов, такие колебательные процессы, тем не менее, ведут себя как выраженные осцилляторы [16]. Околочасовые биологические ритмы в наибольшей степени эндогенны, связаны со спецификой клеточного метаболизма, отражают его нестабильность и, следовательно, могут служить вполне надёжным маркером морфологической зрелости и функциональной активности ткани [14; 15; 17; 18], как в норме, так и при воздействии стрессогенных антропогенных факторов [9; 12; 20].

Сероводород, являющийся составной частью природного газа Астраханского газоконденсатного месторождения (АГКМ), обладает высокой токсичностью для всего живого [1; 3]. Благодаря высокой проницаемости гистогематических барьеров

для сероводорода и образованию низкорастворимых сульфидов, угнетаются ферменты, нарушается кислотно-щелочное равновесие [4; 8; 11].

Ингибируя электронный транспорт в митохондриях, путем формирования прочной связи с железом в молекулах цитохромоксидаз, сероводород вызывает острую тканевую гипоксию [5; 7].

Выраженность защитных реакций организма на внешние воздействия во многом зависит от морфофункционального состояния тканей [10;, 19]. При хронической интоксикации серосодержащие поллютанты проявляют свое действие и в объеме циркулирующей крови, нарушая обменные процессы между микроциркуляторным руслом и клетками [13]. В связи с этим, ультрадианные ритмы могут служить не только надежным маркером морфологической зрелости, но и функциональной активности ткани, а так же позволяют выявить выраженный токсический эффект.

Анализ литературных источников показывает, что сведений о реакции ультрадианных ритмов общего белка, альбумина и глобулинов плазмы крови крыс, как в норме, так и при хронической интоксикации серосодержащего газа практически нет.

Учитывая выше изложенное, целью данной работы явилось изучение особенностей ультрадианных ритмов синтеза белка в плазме крови крыс – самцов молодых животных в норме и при хроническом воздействии серосодержащего природного газа Астраханского газоконденсатного месторождения (АГКМ).

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служили 90 самцов беспородных белых крыс, которых содержали в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде. Животные были разделены на три группы: контрольную и две экспериментальных. Интактные животные находились по 4 ч в герметически закрытой затравочной камере, что и опытные, но без присутствия серосодержащего газа. Первая группа экспериментальных животных подвергалась воздействию природного сероводородсодержащего газа АГКМ, в концентрации 90 ± 4 мг/м^3 в течение 6 недель по 4 ч в день (понедельник – пятница). Вторая группа экспериментальных животных в течение 6 недель опыта через день получала внутримышечно тималин (производство ООО «Самсон-Мед», г. Санкт-Петербург, Россия) из расчета 0,01 мг на 100 г массы тела. Введение альфатокоферола ацетата (10 % масляный раствор, производство ОАО «Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга», Россия) осуществлялось per os в дозе 0,5 мг на 100 г массы тела каждого животного в течение 14 дней до опыта и во время всего периода затравки.

Для осуществления хронобиологических исследований опытных и интактных животных забивали через каждые 20 минут в течение 3 ч после прекращения момента затравки. Последующая наркотизация животных осуществлялась этаминалом натрия (внутрибрюшинно в дозе 5 мг на 100 г массы тела), после чего производили декапитацию и забор крови.

Определение общего белка в плазме крови регистрировали с помощью биуретового метода. Для этого смешивали 5 мл рабочего раствора биуретового реактива и 0,1 мл сыворотки крови. Через 30 мин, используя спектрофотометр “Baekman” (США) производили измерения при длине волны 500–560 нм. Определение содержания альбумина в плазме крови осуществлялось унифицированным методом [6], основанном на взаимодействии альбумина с бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде в присутствии детергента, с последующим образованием окрашенного комплекса синего цвета. Измерения проводили на спектрофотометре Baekman (США) при длине волны 630–690 нм.

Материалы исследования были обработаны статистически с использованием компьютерной программ “Microsoft Excel” и «Косинор-анализ».

Результаты исследования и их обсуждение

Выявленные нами колебания содержания общего белка, альбумина и глобулинов могут быть охарактеризованы как околочасовые с периодами от 20 до 30 мин.

Как показал анализ кинетической кривой, среднее содержание общего белка в плазме крови старых интактных животных составляет 69,07 г/л. За время наблюдения отмечается 4 достоверных пика синтетической активности на 20-й, 80-й, 120-й и 160-й минутах наблюдения. Амплитуда колебательных процессов содержания общего белка в плазме крови старых интактных животных соответствует 6,3% от среднего значения с периодом колебания в 40 мин.

Амплитуда колебательных процессов содержания группы глобулинов в плазме крови старых интактных животных соответствует около 9 % от среднего с периодом колебаний в 40 и 60 мин. На хронограмме выявлен так же околочасовой ритм содержания альбумина с амплитудой 10 % от среднего и периодом колебания в 40 мин. Нами зарегистрировано 4 пика повышения синтетической активности на 20-й, 80-й, 120-й и 160-й минутах наблюдения.

Наиболее выраженные изменения в околочасовых ритмических колебаниях содержания белков плазмы крови у старых животных зарегистрированы при токсическом воздействии. Так, в условиях интоксикации природным сероводородсодержащим газом АГКМ, в концентрации 90 мг/м^3 происходит снижение содержания общего белка на 2%, амплитуда колебаний составляет 5,8 % от среднего, период 40 мин. Характер кинетической кривой глобулинов и альбумина, более сглаженный по сравнению с контролем. Амплитуда колебательных процессов этой группы белков составила около 8 % от среднего с периодами колебаний в 60 и 40 мин.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что на фоне комплексного введения антиоксидантов (альфа-токоферола и тималина) при хроническом воздействии природного газа у данной возрастной группы животных происходит модификация околочасовых осцилляций, которая имеет адаптивный характер, обеспечивая оптимальное функционирование тканей и органов. Изменение околочасовых ритмических процессов в основном касается амплитуды колебаний, практически не изменяет период околочасового ритма и имеет обратимый характер.

По мере становления адаптационных механизмов к экзогенным токсическим воздействиям на фоне введения антиоксидантов у старых животных ответная реакция проявляется в снижении амплитуды колебаний общего белка и глобулинов в сравнении, как с контролем, так и при сравнении с группой, подвергшихся интоксикации. В сравнении с контролем регистрируется уменьшение амплитуды колебаний общего белка на 1,3 % и глобулинов на 6 %. В сравнении с группой животных, находящихся в условиях интоксикации амплитуда колебаний общего белка ниже на 0,8 % и группы глобулинов на 4,4 % от среднего. Кроме того, на фоне введения антиоксидантов наблюдается сглаживание кинетической кривой группы глобулинов. Возможно, это связано с истощением компенсаторных возможностей изучаемой возрастной группы животных. Полученные данные говорят о целесообразности введения антиоксидантов группе старых животных на фоне хронической интоксикации.

Список литературы

1. ***Боев В. М.*** Сернистые соединения природного газа и их действие на организм / В. М. Боев, Н. П. Сетко. – М. : Медицина, 2001. – 216 с.

2. ***Бродский В. Я.*** Околочасовые метаболические ритмы / В. Я. Бродский // Биохимия. – 2014. – Т. 79, вып. 6. – С. 621–634.

3. ***Доценко Ю. И.*** Гигиена труда при переработке природного газа с высоким содержанием сероводорода / Ю. И. Доценко, В. Г. Сердюков // Астраханский медицинский журнал. – 2007. – Т. 2, № 2. – С. 71.

4. ***Дубинина Е. Е.*** Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях стресса / Е. Е. Дубинина // Вопр. мед. химии. – 2001. – Т. 47, вып. 6. – С. 561–581.

5. ***Мажитова М. В.*** Свободнорадикальные процессы и антиоксидантная защита разных отделов центральной нервной системы на этапах постнатального онтогенеза белых крыс в норме и при действии промышленных серосодержащих поллютантов : автореф. дис. … д-ра биол. наук / М. В. Мажитова. – Астрахань, 2012. – 44 с.

6. ***Меньшиков В. В.*** Методические указания по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследований / В. В. Меньшиков. – М., 1973. – С. 45–47.

7. ***Полунин И. Н.*** Токсический отек легких при остром отравлении сероводородсодержащим газом / И. Н. Полунин, Р. И. Асфандияров, Н. Н. Тризно. – Астрахань, 1999. – 219 с.

8. ***Рожкова И. С.*** Онтогенетические особенности показателей свободнорадикальных процессов плазмы крови крыс / И. С. Рожкова, Д. Л. Теплый, Б. В. Фельдман // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 209–211.

9. ***Рожкова И. С.*** Анализ морфофизиологических изменений тимуса при хронической интоксикации и введении антиоксидантов / И. С. Рожкова, Д. Л. Теплый, Б. В. Фельдман // Астраханский медицинский журнал. – 2015. – Т. 10, № 4. – С. 73–78.

10. ***Саноцкий И. В.*** Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм / И. В. Саноцкий, В. Н. Фоменко. – Москва : Медицина, 1979. – 232 с.

11. ***Теплый Д. Л.*** Особенности морфологической картины сыворотки крови мышей разных возрастных групп при экспериментальном стрессе / Д. Л. Теплый., Н. А. Аюпова // Естественные науки. – 2005. – № 10. – С. 47–50.

12. ***Юшков Б. Г.*** Система крови и экстремальные воздействия на организм / Б. Г. Юшков, В. Г. Климин, М. В. Северин. – Екатеринбург : УрО РАН, 1999. – 199 с.

13. ***Ярошинская А. П.*** Функционально-морфологическое состояние плазмы крови и эритроцитов человека в юношеском, взрослом и зрелом возрастах в норме и в условиях воздействия серосодержащих поллютантов : автореф. дис. … д-ра биол. наук / А. П. Ярошинская. – Астрахань, 2011. – 34 с.

14. ***Brodsky V. Y.*** Ganglioside-mediated metabolic synchronization of protein synthesis activity in cultured hepatocytes / V. Y. Brodsky, N. V. Nechaeva, N. D. Zvezdina et al. // Cell Biology International. – 2000. – № 24. – P. 211–222.

15. ***Brodsky V. Y.*** Loss of hepatocyte co-operative activity after inhibition of ganglioside GM1 synthesis and shedding / V. Y. Brodsky, N. V. Nechaeva, N. D. Zvezdina et al. // Cell Biology International. – 2003. – № 27. – P. 935–942.

16. ***Brodsky V. Y.*** Rhythm of protein synthesis and other circahoralian oscillations / V. Y. Brodsky, D. Lloyd, E. Rossi // Ultradian rhythms in life processes. – London : Springer, 1992. – P. 23–40.

17. ***Brodsky V. Y.*** Single short-term signal that enhances cooperative activity of old rat hepatocytes acts for several days / V. Y. Brodsky, N. D. Zvezdina, N. V. Nechaeva et al. // Cell Biology International. – 2005. – № 29. – P. 971–975.

18. ***Brodsky V. Y.*** Small cooperative activity of old rat hepatocytes may depend on composition of the intercellular medium / V. Y. Brodsky, N. V. Nechaeva, N. D. Zvezdina et al. // Cell Biology International. – 2004. – № 28. – P. 311–316.

19. ***Schulber D.*** Oxidative glutamate toxicity can be a component of the excitotoxicity cascade / D. Schulber, D. Piasecki // J. Neurosci. – 2001. – Vol. 21, № 19. – P. 7455–7462.

20. ***Selye H.*** The nature of stress / H. Selye // Basal Facts. – 1985. – Vol. 7 (1). – P. 3–11.

References

1.Boev V. M. *Sernistye soedinenija prirodnogo gaza i ih dejstvie na organizm* [Sulphur compounds of natural gas and their effect on the body]. Moscow, Medicina Publ., 2001, p. 216

2.Brodsky V.Y. *Ultradiannyie metabolicheskie ritmyi* [Ultradian metabolic rhythms]. *Biohimiya* [Biochemistry], 2014, vol. 79, no. 6, pp. 621 – 634.

3.Dotsenko Y. I., Serdyukov V. G. *Gigiena truda pri pererabotke prirodnogo gaza s vysokim soderzhaniem serovodoroda* [Occupational hygiene in the processing of natural gas with a high content of hydrogen sulphide]. *Astrahanskij medicinskij zhurnal* [Astrakhan Medical Journal], 2007, vol. 2, no. 2, p. 71.

4.Dubinina, E.E. Rol' aktivnyh form kisloroda v kachestve signal'nyh molekul v metabolizme tkanej pri sostojanijah stressa [Role of reactive oxygen species as signaling molecules in the metabolism of the tissues in states of stress]. *Vopr. Med. Himii* [Questions of medical chemistry], 2001, vol. 47, no. 6, pp. 561 – 581.

5. Mazhitova M. V. *Avtoreferat dissertacii kandidata biologicheskih nauk "Svobodnoradikal'nye process I antioksidantnaja zashhita raznyh otdelov central'noj nervnoj*

sistemy na jetapah postnatal'nogo ontogeneza belyh krys v norme I pri dejstvii promyshlennyh serosoderzhashhih polljutantov" [The abstract of Dissertation of the D. Sc. (Biology) "Free radical processes and antioxidant protection of different parts of central nervous system at the stages of postnatal ontogenesis in white rats in norm and under the influence of industrial pollutants containing sulphur"]. Astrakhan, 2012, 44 p.

6. Menshikov V. V. *Metodicheskie ukazanija po primeneniju unificirovannyh klinicheskih laboratornyh metodov issledovanij* [Guidelines for the use of standardized clinical laboratory testing methods]. Moscow, 1973, pp. 45–47.

7. Polunin I. N., Asfandijarov R. I., Trizno N. N. *Monografija "Toksicheskij otek legkih pri ostrom otravlenii serovodorodsoderzhashhim gazom"* [Monograf "Toxic pulmonary edema in acute poisoning with hydrogen sulfide gas"]. Astrakhan, 1999, 219 p.

8. Rozhkova I. S., Teplyi D. L., Feldman B. V. Ontogeneticheskie osobennosti pokazatelej svobodnoradikal'nyh processov plazmy krovi krys [Ontogenetic peculiaritiess of free radical processes indicator of blood plasma of rats]. *Astrahanskij medicinskij zhurnal* [Astrakhan Medical Journal], 2013, vol. 8, no. 1, pp. 209–211.

9.Rozhkova I. S., Teplyi D. L., Feldman B. V. Analiz morfofiziologicheskih izmenenij timusa pri hronicheskoj intoksikacii i vvedenii antioksidantov [The analysis of morfophysiological changes of timus at chronic intoxication and administration of antioxidants]. *Astrahanskij medicinskij zhurnal* [Astrakhan Medical Journal], 2015, vol. 10, no. 4, pp. 73–78.

10.Sanockij I. V., Fomenko V. N. *Otdalennye posledstvija vlijanija himicheskih soedinenij na organism* [The long-term effects of exposure to chemicals on the body]. Moscow, Medicina Publ., 1979, 232 p.

11.Teplyj D. L., Ajupova N. A. Osobennosti morfologicheskoj kartiny syvorotki krovi myshej raznyh vozrastnyh grupp pri jeksperimental'nom stresse [Features of a morphological picture of serum of blood of mice of different age groups at an experimental stress]. *Estestvennye nauki* [Natural sciences], 2005, no. 10, pp. 47–50.

12.Yushkov B. G. *Sistema krovi i jekstremal'nye vozdejstvija na organism* [Blood system and extreme effects on the body]. Ekaterinburg, Ural Branch of Russian Academy of Science Publ., 1999, p. 199.

13.Yaroshinskay A. P. *Funkcional'no-morfologicheskoe sostojanie plazmy krovi i jeritrocitov cheloveka v junosheskom, vzroslom i zrelom vozrastah v norme i v uslovijah vozdejstvija serosoderzhashhih polljutantov: Thesis of the dissertation of the D.Sc. (Medicine)* [Functional and morphological state of human erythrocytes and blood plasma in the youth, adult and middle age in norn and under conditions of sulfur pollutants: Thesis of the dissertation of the D.Sc. (Medicine)]. Astrakhan, 2011, p. 34.

14.Brodsky V. Y., Nechaeva N. V., Zvezdina N. D. et al. Ganglioside-mediated metabolic synchronization of protein synthesis activity in cultured hepatocytes. *Cell Biology International*, 2000, no. 24, pp. 211–222.

15.Brodsky V. Y., Nechaeva N. V., Zvezdina N. D. et al. Loss of hepatocyte co-operative activity after inhibition of ganglioside GM1 synthesis and shedding. *Cell Biology International*, 2003, no. 27, pp. 935–942.

16.Brodsky V. Y., Lloyd D., Rossi E. *Rhythm of protein synthesis and other circahoralian oscillations. Ultradian rhythms in life processes*. London, Springer Publ., 1992, pp. 23–40.

17.Brodsky V.Y., Zvezdina N.D., Nechaeva N.V. et al. Single short-term signal that enhances cooperative activity of old rat hepatocytes acts for several days. *Cell Biology International*, 2005, no. 29, pp. 971-975.

18.Brodsky V. Y., Nechaeva N. V., Zvezdina N. D. et al. Small cooperative activity of old rat hepatocytes may depend on composition of the intercellular medium. *Cell Biology International*, 2004, no. 28, pp. 311–316.

19.Schulber D., Piasecki D. Oxidative glutamate toxicity can be a component of the excitotoxicity cascade. *J. Neurosci*., 2001, vol. 21, no. 19, pp. 7455–7462.

20.Selye H. The nature of stress. *Basal Facts*, 1985, vol. 7 (1), pp. 3–11.