

УДК 616.72-002: 577.122.8

О. Блохіна, асп., О. Короткий, канд. біол. наук,
Л. Кот, канд. біол. наук, Д. Неграй, студ., К. Дворщенко, д-р біол. наук
ННЦ "Інститут біології та медицини",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ В УМОВАХ КАРРАГІНАН-ІНДУКОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ ЗАДНЬОЇ КІНЦІВКИ ТА ТРИВАЛОГО ПРОФІЛАКТИЧНОГО ВВЕДЕННЯ ХОНДРОЇТИНУ СУЛЬФАТУ

Досліджено профілактичну дію хондроїтину сульфату на вміст продуктів окисної модифікації білків та рівень сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів у разі локального запалення задньої кінцівки.

Дослідження здійснено на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180–240 г із дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах. Усіх тварин поділяли на чотири експериментальні групи. Перша група – контроль: тваринам субплантарно вводили 0,1 мл 0,9 % розчину NaCl у задню праву кінцівку. Друга група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили терапевтичну дозу 3 мг × кг⁻¹ хондроїтину сульфату. Третя група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили 0,1 мл 0,9 % розчину NaCl у задню праву кінцівку та на 29-й день моделювали запальний набряк кінцівки (тваринам субплантарно вводили 0,1 мл 1 % розчину каррагінану у задню праву кінцівку). Четверта група – щурам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили терапевтичну дозу 3 мг × кг⁻¹ хондроїтину сульфату, після чого на 29-й день моделювали запальний набряк кінцівки. Тварин умертвляли через 3 години після ін'єкції розчину каррагінану згідно з протоколом етичного комітету, після чого швидко робили забір крові для подальших досліджень. Загальна кількість тварин, залучених до експериментальних досліджень, становила 40 особин. Вміст продуктів окисної модифікації білків (ОМБ) та олігопептидів визначали за рівнем карбонільних похідних, які виявляються в реакції з 2,4-динітрофенілгідрaziном. Рівень загальних, білок-зв'язаних та небілкових сульфгідрильних (SH)-груп вимірювали за методом Елмана.

Виявлено, що за каррагінан-індукованого запалення задньої кінцівки в сироватці крові зростає вміст продуктів окисної модифікації білків та знижується вміст сульфгідрильних груп. Показано, що після профілактичного введення препарату на основі хондроїтину сульфату тваринам з каррагінан-індукованим запаленням вищевказані показники відновлювались.

Ключові слова: гостре запалення кінцівки, хондроїтину сульфат, окисна модифікація білків, сироватка крові.

Вступ. На сьогодні захворювання опорно-рухового апарату є актуальною проблемою медицини, а їх профілактика та лікування має першочергове значення для збереження дієздатності населення. Серед них важливе місце посідають хвороби суглобів (артрози, артрити), формування яких супроводжується розвитком запалення [1]. Важливу роль у розвитку та прогресуванні запалення у суглобах відіграє оксидативний стрес, який виникає внаслідок постійної генерації вільних радикалів активованими фагоцитами та за рахунок гіпоксичних процесів під час роботи суглобів, що призводить до пошкодження синовіальних клітин, деструкції хрящової тканини, ерозії кісток та суглобових поверхонь. Крім того, у разі надмірного утворення вільних радикалів спостерігається виснаження всіх ланок антиоксидантного захисту, що також сприяє формуванню пошкоджень тканин суглобового апарату [2].

Оскільки захворювання опорно-рухового апарату, зокрема суглобів, мають прогресуючий характер, необхідно своєчасно приймати міри для того, щоб зупинити або пригальмувати розвиток патологічних змін у організмі. Важливим є здійснення ефективної профілактики цих захворювань, особливо, якщо є генетична схильність до розвитку хвороб суглобів, у разі професійної ймовірності перевантаження опорно-рухового апарату, а також у людей похилого віку.

У зв'язку з цим важливим питанням є пошук засобів для відновлення суглобів. На сьогодні виявлено, що дистрофічні зміни хрящової тканини пов'язані зі зниженням вмісту хондроїтину сульфату, який є природним компонентом міжклітинної речовини хряща поряд з гіалуроновою кислотою та глюкозаміном сульфатом. Хондроїтину сульфат являє собою сульфатований протеоглікан, у якому сульфат ковалентно приєднаний до молекули хондроїтину. Він підтримує пружність та щільність хряща [3]. Тому дослідження препаратів, основу яких становить хондроїтин сульфат, є перспективним у профілактиці та лікуванні захворювань суглобів. У наших експериментах було досліджено препарат "Драстоп", основною складовою частиною якого є хондроїтину сульфат.

Метою роботи було дослідити профілактичну дію хондроїтину сульфату на вміст продуктів окисної модифікації білків та рівень сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів під час гострого локального запалення задньої кінцівки.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження здійснено на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180–240 г із дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), інших міжнародних угод та національного законодавства в цій галузі. За добу до здійснення експерименту тварин піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води.

Усіх тварин поділяли на чотири експериментальні групи. Перша група – контроль: тваринам субплантарно вводили 0,1 мл 0,9 % розчину NaCl у задню праву кінцівку. Друга група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили терапевтичну дозу 3 мг × кг⁻¹ хондроїтину сульфату. Третя група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили 0,1 мл 0,9 % розчину NaCl у задню праву кінцівку та на 29 день моделювали запальний набряк кінцівки: тваринам субплантарно вводили 0,1 мл 1 % розчин каррагінану у задню праву кінцівку [4]. Четверта група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили терапевтичну дозу 3 мг × кг⁻¹ хондроїтину сульфату, після чого щурам субплантарно вводили 0,1 мл 1 % розчину каррагінану в задню праву кінцівку. Тварин умертвляли через 3 години після ін'єкції розчину каррагінану згідно з протоколом етичного комітету, після чого швидко робили забір крові для подальших досліджень. Загальна кількість тварин, залучених до експериментальних досліджень, становила 40 особин.

Вміст продуктів окисної модифікації білків (ОМБ) та олігопептидів визначали за рівнем карбонільних похідних, які виявляються в реакції з 2,4-динітрофенілгідрaziном [5]. Рівень загальних, білок-зв'язаних та небілкових сульфгідрильних (SH)-груп вимірювали за методом Елмана [6]. Статистичну обробку результа-

тів дослідження робили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [7].

Результати та їх обговорення. Раннім та надійним індикатором розвитку окисного стресу в організмі є окисне пошкодження білків [8, 9]. Індукторами продукції окисно-модифікованих білків виступають активні форми кисню, збільшення вільного заліза, продукти переокисного окиснення ліпідів на фоні зниження роботи антиоксидантної системи. Вільні радикали атакують білки по всій довжині поліпептидного ланцюга, порушуючи не тільки первинну, але і вторинну та третинну їх структуру, що призводить до агрегації або фрагментації білкової молекули. Інтенсивність окисної модифікації білків визначається особливостями їх амінокислотного складу. Акцепторними групами, що здатні перехоплювати електрони, взаємодіючи з активними формами кисню та утворювати аніон-радикали, можуть бути дисульфідні, сульфгідрильні, карбонільні, карбоксильні та аміногрупи білків. Утворення та накопичення таких модифікованих

білків порушує нормальне функціонування організму як на клітинному рівні, так і на системному, що призводить до розвитку різних патологічних станів та формуванню захворювань [10].

У ході експериментальних досліджень виявлено, що в шурів у разі запалення задньої кінцівки, індукованому каррагінаном, у сироватці крові вміст окисно-модифікованих білків зростає (табл. 1). Зокрема, збільшується рівень нейтральних альдегідних продуктів (макс. абсорбції за 356 нм) – у 2,1 раза та нейтральних кетонних продуктів ($E_{\text{max}} = 370$ нм) відповідно – в 1,8 раза порівняно з контролем. За тих самих умов експерименту в сироватці крові кількість основних альдегідних продуктів (максимум поглинання при 430 нм) збільшується в 1,6 раза щодо контрольної групи тварин, при цьому вміст основних кетонних продуктів ($E_{\text{max}} = 530$ нм) зростає в 1,3 раза порівняно з показниками контрольної групи тварин (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст продуктів окисної модифікації білків у сироватці крові шурів в умовах каррагінан-індукованого запалення та тривалого профілактичного введення хондроїтину сульфату, ум. од. $\times$ мг білка⁻¹ ($M \pm m$, $n = 10$)

Групи тварин	Показник	Продукти нейтрального характеру		Продукти основного характеру	
		356 нм, альдопохідні	370 нм, кетопохідні	430 нм, альдопохідні	530 нм, кетопохідні
Контроль		0,145 $\pm$ 0,014	0,109 $\pm$ 0,011	0,085 $\pm$ 0,008	0,039 $\pm$ 0,004
Хондроїтин сульфат		0,133 $\pm$ 0,013	0,115 $\pm$ 0,012	0,091 $\pm$ 0,009	0,042 $\pm$ 0,004
Каррагінан		0,302 $\pm$ 0,029*	0,198 $\pm$ 0,017*	0,134 $\pm$ 0,012*	0,052 $\pm$ 0,005
Каррагінан + хондроїтин сульфат		0,191 $\pm$ 0,018#	0,134 $\pm$ 0,013#	0,101 $\pm$ 0,009#	0,044 $\pm$ 0,004#

* – $p < 0,05$ стосовно контролю; # – $p < 0,05$ стосовно групи тварин, яким вводили каррагінан

Після введення препарату на основі хондроїтину сульфату шурам з експериментальною моделлю локального запалення в сироватці крові спостерігається зниження ступеню окиснення білків (табл. 1). Виявлено зниження вмісту нейтральних альдегідних продуктів – у 1,6 раза, нейтральних кетонних продуктів – в 1,5 раза, основних альдегідних продуктів – у 1,3 раза та основних кетонних продуктів – у 1,2 раза порівняно з групою тварин з експериментальною моделлю гострого локального запалення. Показано, що хондропротектор не впливає на рівень досліджуваних показників ОМБ у сироватці крові контрольної групи тварин.

Показником білкової модифікації є окиснення їхніх сульфгідрильних груп, яке може відбуватись як прямим,

так і ферментативним шляхом за участю ферменту глутатіонпероксидази та гідроперекисей ліпідів [11]. Насамперед окисненню піддаються саме сульфгідрильні групи білків, що оберігає від окиснення інші функціональні групи та молекули.

Виявлено, що за умов гострого запалення у сироватці крові шурів вміст сульфгідрильних груп знижується: небілкових SH-груп – у 1,6 раза, білкових та загальних SH-груп – у 1,8 раза стосовно контролю (табл. 2). Виявлене зниження вмісту сульфгідрильних груп у сироватці крові шурів за умов гострого запалення, індукованого каррагінаном, свідчить про накопичення ковалентних зв'язків за участю цистеїну та метіоніну, а також про окиснення SH-груп.

Таблиця 2. Вміст сульфгідрильних (SH-) груп у сироватці крові шурів в умовах каррагінан-індукованого запалення та тривалого профілактичного введення хондроїтину сульфату, мкмоль $\times$ мг білка⁻¹ ($M \pm m$, $n = 10$)

Групи тварин	Показник	небілкові SH-групи	білкові SH-групи	загальні SH-групи
Контроль		0,26 $\pm$ 0,02	4,38 $\pm$ 0,43	4,64 $\pm$ 0,45
Хондроїтин сульфат		0,23 $\pm$ 0,02	4,29 $\pm$ 0,41	4,52 $\pm$ 0,43
Каррагінан		0,17 $\pm$ 0,01*	2,45 $\pm$ 0,21*	2,62 $\pm$ 0,25*
Каррагінан + хондроїтин сульфат		0,19 $\pm$ 0,02*	3,62 $\pm$ 0,34#	3,81 $\pm$ 0,35#

* – $p < 0,05$ стосовно контролю; # – $p < 0,05$ щодо групи тварин, яким вводили каррагінан

У разі тривалого профілактичного введення хондроїтину сульфату тваринам з каррагінан-індукованим запаленням у сироватці крові рівень білкових та загальних сульфгідрильних груп зростає в 1,5 раза порівняно з групою шурів, яким вводили лише каррагінан. За цих експериментальних умов вміст небілкових тіолових груп залишається на рівні групи шурів із гострим запаленням задньої кінцівки (табл. 2).

Аналізуючи отримані нами результати та літературні дані, було виявлено, що в під час гострого запалення

задньої кінцівки в сироватці крові шурів зростає рівень вільних радикалів, що призводить до порушення нативної конформації білків з утворенням білкових агрегатів або фрагментів білкової молекули. Утворення карбонільних похідних білків може відбуватись декількома шляхами. По-перше, за участю залишків проліну, аргініну, лізіну, треоніну з утворенням аддуктів Міхаеля, при цьому карбонілювання аргініну та лізіну супроводжується втратою одного або декількох атомів азоту. По-друге, карбонільні похідні білків можуть формувати-

ся за участю амінокислотних залишків лізіну, цистеїну та гістидину є продуктами перекисного окиснення ліпідів. Карбонільні групи білків, які утворились внаслідок перетворення карбоксильних груп під дією вільних радикалів, можуть взаємодіяти з аміногрупами, утворюючи шиффові основи, які є баластом для клітин, що дестабілізує мембрани та сприяє деструкції клітин [12].

Виявлене нами зниження сульфгідрильних груп пов'язане з виснаженням рівня небілкових низькомолекулярних тіолів (цистеїну, глутатіону, дигідролипоевої кислоти та ін.) та порушенням нативної структури і пригніченням каталітичної активності тіолових ферментів за рахунок блокування їх сульфгідрильних груп (глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази, глутатіонредуктази, АТФази, дегідрогенази). Крім того, зменшення рівня тіолових груп може порушувати процеси транспорту та пасивної проникності іонів крізь мембрану, а в крові зміна нативного стану тіолових груп може призвести до порушення функціонування гемоглобіну [13].

Отже, окисна модифікація викликає порушення структурної організації білків, їх агрегацію та денатурацію, зміни заряду білкової молекули, її чутливості до протеолізу, що може призвести до трансформації або втрати функціональної активності протеїнів (каталітичної, регуляторної, транспортної, рецепторної та ін.). Наслідком цих змін буде порушення стану клітинних мембран (проникності, адгезивних властивостей тощо), зміни активності ферментів, клітинної проліферації тощо. Крім того, утворений пул модифікованих білків робить їх більш чутливими до протеолізу, що сприяє подальшій інтенсифікації деструктивних процесів. Окиснені білки здатні виступати джерелами вільних радикалів, виснажувати запаси клітинних антиоксидантів (глутатіон, аскорбінова кислота). У молекулярних механізмах вільнорадикальних процесів окисна модифікація білків може спричинити деструкцію інших молекул (ліпіди, ДНК) клітини, що сприятиме розвитку та прогресуванню захворювань [14, 15]. Відповідно, окиснені білки є не тільки показниками ступеня вільнорадикального пошкодження клітини, але і його активними співучасниками.

Виявлене зниження утворення окиснених білкових молекул у сироватці крові в разі профілактичного тривалого введення хондроїтину сульфату щурам під час локального запалення пов'язане з антизапальними, антирадикальними та регенераційними властивостями. Хондроїтин сульфат є одним з основних компонентів екстрацелюлярного матрикса хряща та є складовою протеогліканових комплексів основної речовини хрящової тканини. Він володіє вираженою гідрофільністю за рахунок наявності карбоксильної та сульфатної груп, що сприяє нормальному функціонуванню хряща та збереженню його еластичності. Хондроїтин сульфат активує анаболічні процеси за рахунок стимуляції синтезу протеогліканів і колагену, а також пригнічує синтез ферментів деструкції хряща (металопротеїнази 3, 9, 13, 14; катепсину-бета, лейкоцитарної еластази) [16].

Висновки. Виявлено, що за умов локального запалення задньої кінцівки, індукованого введенням каррагінану, у сироватці крові зростає рівень окисно-модифікованих білків та знижується вміст сульфгідрильних груп, що свідчить про загальний зсув редокс-балансу крові у прооксидантний бік. Тривале профілактичне введення хондроїтину сульфату щурам з експериментальною моделлю локального запалення призводить до часткового зниження продукції окиснених білкових молекул у сироватці крові.

Список використаних джерел:

1. Man G. Osteoarthritis pathogenesis – a complex process that involves the entire joint [Electronic resource] / G. Man, G. Mologhianu // J. Med. Life. – 2014. – Vol. 7, № 1. – P. 37–41. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
2. Reactive oxygen species and NADPH oxidase 4 involvement in osteoarthritis [Electronic resource] / S. Drevet, G. Gavazzi, L. Grange et al. // Exp. Gerontol. – 2018. – Vol. 111. – P. 107–117. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
3. Chondroitin sulphate: a focus on osteoarthritis [Electronic resource] / M. Bishnoi, A. Jain, P. Hurkat, S. Jain // Glycoconj. J. – 2016. – Vol. 33, № 5. – P. 693–705. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
4. Morris C. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse [Electronic resource] / C. J. Morris // Methods Mol. Biol. – 2003. – Vol. 225. – P. 115–121. – Access mode : <http://link.springer.com/protocol/10.1385/1-59259-374-7%3A115>
5. Окислительные модификации белков сыворотки крови человека, метод ее определения [Электронный ресурс] / Е. Дубинина, С. Бурмистров, Д. Ходов, И. Порогов // Вопросы медицинской химии. – 1995. – № 1. – С. 24–26. – Режим доступа : <http://pbmc.ibmc.msk.ru/index.php/ru/article/PBMC-1995-41-1-24-ru>
6. Ellman G. Tissue sulfhydryl groups [Electronic resource] / G. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – Vol. 82, № 1. – P. 70–77. – Access mode : <http://aufsi.auburn.edu/recommendedmethods/01B06.pdf>
7. Реброва О. Статистический анализ медицинских данных [Electronic resource] / О. Реброва. – М.: Информполиграф, 2002. – 305 с. – Access mode : <http://www.twirpx.com/file/1440496/>
8. Dahl J. Protein quality control under oxidative stress conditions [Electronic resource] / J. Dahl, M. Gray, U. Jakob // J. Mol. Biol. – 2015. – Vol. 427, № 7. – P. 1549–1563. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
9. Redox control of protein degradation [Electronic resource] / M. Pajares, N. Jiménez-Moreno, I. Dias et al. // Redox. Biol. – 2015. – Vol. 6. – P. 409–420. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
10. Breusing N. Biomarkers of protein oxidation from a chemical, biological and medical point of view [Electronic resource] / N. Breusing, T. Grune // Exp. Gerontol. – 2010. – Vol. 45, № 10. – P. 733–737. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
11. Vázquez-Torres A. Redox active thiol sensors of oxidative and nitrosative stress [Electronic resource] / A. Vázquez-Torres // Antioxid. Redox. Signal. – 2012. – Vol. 17, № 9. – P. 1201–1214. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
12. Lipoxidation adducts with peptides and proteins: deleterious modifications or signaling mechanisms? [Electronic resource] / R. Domingues, P. Domingues, T. Melo et al. // J. Proteomics. – 2013. – Vol. 92. – P. 110–131. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
13. Meyer A. Glutathione homeostasis and redox-regulation by sulfhydryl groups [Electronic resource] / A. Meyer, R. Hell // Photosynth. Res. – 2005. – Vol. 86. – P. 435–457. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
14. Davies M. Protein oxidation and peroxidation [Electronic resource] / M. Davies // Biochem. J. – 2016. – Vol. 473, № 7. – P. 805–825. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
15. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease [Electronic resource] / M. Valko, D. Leibfriz, J. Moncol et al. // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2007. – Vol. 39. – P. 44–84. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
16. Discrepancies in composition and biological effects of different formulations of chondroitin sulfate [Electronic resource] / J. Martel-Pelletier, A. Farran, E. Montell et al. // Molecules. – 2015. – Vol. 20, № 3. – P. 4277–4289. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

References:

1. Man G.S., Mologhianu G. Osteoarthritis pathogenesis – a complex process that involves the entire joint // J. Med. Life. – 2014. – Vol. 7, №1. – P. 37–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
2. Drevet S., Gavazzi G., Grange L. et al. Reactive oxygen species and NADPH oxidase 4 involvement in osteoarthritis // Exp. Gerontol. – 2018. – Vol. 111. – P. 107–117. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
3. Bishnoi M., Jain A., Hurkat P., Jain S.K. Chondroitin sulphate: a focus on osteoarthritis // Glycoconj. J. – 2016. – Vol. 33, №5. – P. 693–705. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
4. Morris C.J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse // Methods Mol. Biol. – 2003. – Vol. 225. – P. 115–121. Available from: <http://link.springer.com/protocol/10.1385/1-59259-374-7%3A115>
5. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Порогов И.Г. Окислительные модификации белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопросы медицинской химии. – 1995. – № 1. – С. 24–26. Available from: <http://pbmc.ibmc.msk.ru/index.php/ru/article/PBMC-1995-41-1-24-ru>
6. Ellman G. Tissue sulfhydryl groups / G. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – Vol. 82, №1. – P. 70–77. Available from: <http://aufsi.auburn.edu/recommendedmethods/01B06.pdf>
7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: Информполиграф, 2002. – 305 с. Available from: <http://www.twirpx.com/file/1440496/>

8. Dahl J.U., Gray M.J., Jakob U. Protein quality control under oxidative stress conditions // J. Mol. Biol. 2015. – Vol. 427, №7. – P. 1549-1563. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

9. Pajares M., Jiménez-Moreno N., Dias I.H. et al. Redox control of protein degradation // Redox. Biol. – 2015. – Vol. 6. – P. 409-420. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

10. Breusing N., Grune T. Biomarkers of protein oxidation from a chemical, biological and medical point of view // Exp. Gerontol. – 2010. – Vol. 45, №10. – P. 733-737. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

11. Vázquez-Torres A. Redox active thiol sensors of oxidative and nitrosative stress // Antioxid. Redox. Signal. – 2012. – Vol. 17, №9. – P. 1201-1214. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

12. Domingues R.M., Domingues P., Melo T. et al. Lipoxidation adducts with peptides and proteins: deleterious modifications or signaling mechanisms? // J. Proteomics. – 2013. – Vol. 92. – P. 110-131. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

13. Meyer A. Glutathione homeostasis and redox-regulation by sulfhydryl groups / A. Meyer, R. Hell // Photosynth. Res. – 2005. – Vol. 86. – P. 435-457. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

14. Davies M.J. Protein oxidation and peroxidation // Biochem. J. – 2016. – Vol. 473, №7. – P. 805-825. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

15. Valko M., Leibfriz D., Moncol J. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2007. – Vol. 39. – P. 44-84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

16. Martel-Pelletier J., Farran A., Montell E. et al. Discrepancies in composition and biological effects of different formulations of chondroitin sulfate // Molecules. – 2015. – Vol. 20, №3. – P. 4277-4289. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Надійшла до редколегії 14.09.2018

Отримано виправлений варіант 15.10.2018

Підписано до друку 15.10.2018

Received in the editorial 14.09.2018

Received a revised version on 15.10.2018

Signed in the press on 15.10.2018

О. Блохина, асп., А. Короткий, канд.биол. наук, Л. Кот, канд. биол. наук, Д. Неграй, студ., Е. Дворщенко, д-р биол. наук
УНЦ "Институт биологии и медицины",
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ КАРРАГИНАН-ИНДУЦИРОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ ЗАДНЕЙ КОНЕЧНОСТИ И ДЛИТЕЛЬНОГО ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ХОНДРОИТИНА СУЛЬФАТА

Исследовано профилактическое действие хондроитина сульфата на содержание продуктов окислительной модификации белков и уровень сульфгидрильных групп в сыворотке крови крыс при локальном воспалении задней конечности.

Исследования проведены на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 180-240 г с соблюдением общих этических принципов экспериментов на животных. Всех животных разделяли на четыре экспериментальные группы. Первая группа – контроль: животным субплантарно вводили 0,1 мл 0,9 % раствора NaCl в заднюю правую конечность. Вторая группа – животным ежедневно в течение 28 суток внутримышечно вводили терапевтическую дозу 3 мг × кг-1 хондроитина сульфата. Третья группа – животным ежедневно в течение 28 суток внутримышечно вводили 0,1 мл 0,9 % раствора NaCl в заднюю правую конечность и на 29-й день моделировали воспалительный отек конечности (животным субплантарно вводили 0,1 мл 1 % раствор каррагинан в заднюю правую конечность). Четвертая группа – крысам ежедневно в течение 28 дней внутримышечно вводили терапевтическую дозу 3 мг × кг-1 хондроитина сульфата, после чего на 29-й день моделировали воспалительный отек конечности. Животных умерщвляли через 3:00 после инъекции раствора каррагинана согласно протоколу этического комитета, после чего быстро делали забор крови для дальнейших исследований. Общее количество животных, вовлеченных в экспериментальные исследования, составила 40 особей. Содержание продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) и олигопептидов определяли по уровню карбонильных производных, которые проявляются в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином. Уровень общих, белок-связанных и небелковых сульфгидрильных (SH)-групп измеряли по методу Элмана.

Установлено, что при каррагинан-индуцированном воспалении задней конечности в сыворотке крови возрастает содержание продуктов окислительной модификации белков и снижается содержание сульфгидрильных групп. Показано, что при профилактическом введении препарата на основе хондроитин сульфата животным с каррагинан-индуцированным воспалением вышеуказанные показатели восстанавливались.

Ключевые слова: острое воспаление конечности, хондроитин сульфат, окислительная модификация белков, сыворотка крови.

O. Blokhina, PhD, stud., O. Korotkiy, PhD, L. Kot, PhD, D. Negray, stud., K. Dvorshchenko, DSc
ESC "Institute of Biology and Medicine",
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN SERUM OF RATS UNDER CONDITIONS OF CARRAGEENAN-INDUCED INFLAMMATION BACK LIMB AND PROLONGED PROPHYLACTIC ADMINISTRATION OF CHONDROITIN SULFATE

The aim of the work was to investigate the preventive effect of Chondroitin Sulfate on the content of products of oxidative modification of proteins and the level of sulfhydryl groups in blood serum of rats at local inflammation of the hind limb.

The studies were conducted on white non-linear, sexually mature male rats weighing 180–240 g, in compliance with the general ethical principles of experiments on animals. All animals were divided into four experimental groups. The first group – control: animals sub-planar injected 0,1 ml of 0,9 % NaCl solution into the posterior right limb. The second group – animals received a therapeutic dose of 3 mg x kg-1 chondroitin sulfate daily for 28 days daily. The third group – animals were infused intramuscularly with 0,1 ml of 0,9 % NaCl solution in the posterior right limb for 28 days and for 29 days inflammatory edema of the limb was stimulated (animals were sub-planar injected with 0,1 ml of 1 % carrageenan solution to the posterior right limb). The fourth group – for 28 days rats were daily intramuscularly injected with a therapeutic dose of 3 mg x kg-1 chondroitin sulfate, after which on 29th day, inflammatory edema of the limb was stimulated. Animals were killed 3 hours after injection of carrageenan solution according to the protocol of the ethical committee, and then blood sampling for further research was quickly taken. The total number of animals involved in experimental studies was 40 individuals. The content of the products of oxidative modification of proteins (OMP) and oligopeptides was determined by the level of carbonyl derivatives that were detected in reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine. The level of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl (SH) -groups was measured by the Elman method.

It has been established that with carrageenan-induced inflammation of the posterior limb, the content of the products of oxidative modification of proteins increases and the content of sulfhydryl groups decreases in the serum. It was shown that the prophylactic administration of chondroitin sulfate based drug on animals with carrageenan-induced inflammation restored the abovementioned parameters.

Key words: acute inflammation of the limb, chondroitin sulfate, oxidative modification of proteins, blood serum.