

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Пензенский государственный университет»

Рубцов Георгий Константинович

**МОДЕЛЬНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА
ЖЕЛТОЧНЫХ ЛИПОПРОТЕИДОВ: ПАРАМЕТРЫ
СПОНТАННОЙ И Fe²⁺-ИНИЦИИРОВАННОЙ
ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В
КОМПЛЕКСЕ С УРОВНЕМ
МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ**

03 01 04 - Биохимия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
д.б.н., доц.
Н.В. Безручко

Пенза-2014

Содержание

Список сокращений	4
Введение	5
Глава 1. Обзор литературы	13
1.1. Клинико-биохимическое значение показателей молекул средней массы в анализе выраженности эндогенной интоксикации	13
1.2. Параметры оценки процессов окислительной модификации белков в клинико-биохимическом мониторинге эндотоксикоза	16
1.3. Комплексный подход к изучению параметров окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы в клинико-биохимическом анализе эндогенной интоксикации	24
1.4. Модельные биологические системы и их применение для оценки окислительной модификации белков и величин молекул средней массы	29
Глава 2. Материал и методы исследования	38
2.1. Материал исследования	38
2.2. Методы исследования	41
Глава 3. Исследование уровня окислительной модификации белков и молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопропротеидов, продуктах пчеловодства как веществах природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотке крови экспериментальных животных (крысы)	43
3.1. Сравнительная оценка спонтанной окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы	43
3.2. Сравнительная оценка Fe ²⁺ -инициированной окислительной модификации белков и уровня молекул	46

средней массы	
3.3. Обоснование маркерных параметров для оценки окислительной модификации белков в совокупности с уровнем молекул средней массы	48
Глава 4. Разработка подходов комплексного использования модельной биологической системы желточных липопротеидов при одновременном добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы) при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении	51
4.1. Комплексное использование модельной биологической системы для изучения спонтанной окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы	51
4.2. Комплексное использование модельной биологической системы для изучения Fe^{2+} -индуцированной окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы	57
4.3. Обоснование комплексного применения маркерных параметров оценки уровня спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, коррелирующих с уровнем молекул средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеидов	64
Обсуждение результатов	75
Выводы	85
Практические рекомендации	87
Список литературы	88

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЖЛП – желточные липопротеиды

МБС – модельная биологическая система

МСМ – молекулы средней массы

ОМБ – окислительная модификация белков

2,4-ДФГ – 2,4-динитрофенилгидразин

ВВЕДЕНИЕ

Изучение биохимических механизмов развития окислительного стресса весьма актуально, так как затрагивает большое число заболеваний и патологий, но – необычайно сложно, так как требует решения комплекса проблем методического и теоретического плана (Е.Б. Меньщикова и соавт., 2006, 2008). Одним из аспектов исследований составляющих окислительного стресса может служить анализ свободно-радикальных процессов, затрагивающих белки.

Значимость исследований окислительной модификации белков в комплексе с уровнем веществ средней молекулярной массы обусловлена тем, что данные биохимические тесты – маркеры выраженности эндотоксикоза, чувствительные к изменению степени окислительного стресса. (Р.Н. Белоногов и соавт., 2009; Т.В. Копытова и соавт., 2009; Н.Ю. Келина и соавт., 2012; О. Халдун и соавт., 2012; Н.В. Безручко и соавт., 2013; Г.К. Рубцов и соавт., 2013.) Изучение их в совокупности, в одной пробе биологической среды, позволит увеличить информативность каждого из этих параметров и снизить расход используемого материала, что особенно важно в клинической биохимии.

Метод оценки окислительной модификации белков (ОМБ) в совокупности с уровнем молекул средней массы (МСМ) может быть реализован в соответствии с авторским способом (Г.К. Рубцов и соавт., 2012). Метод предполагает определение в одной и той же пробе биологического материала и уровня МСМ, и величин ОМБ. Для этого проводят осаждение белков трихлоруксусной кислотой. Надосадочную жидкость используют для регистрации экстинкций МСМ (при 254 нм), а осадок – для определения величин ОМБ (при 356 нм, 370 нм, 430 нм, 530 нм). Уровень ОМБ изучают в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-

ДФГ) с образованием карбонильных производных белков (2,4-динитрофенилгидразонов). Регистрация уровней ОМБ спектрофотометрически на четырех длинах волн позволяет выявить уровни 2,4-динитрофенилгидразонов различной природы: при 356 нм - алифатические альдегиддинитрофенилгидразоны нейтрального характера, при 370 нм – алифатические кетондинитрофенилгидразоны нейтрального характера, при 430 и 530 – алифатические альдегиддинитрофенилгидразоны и кетондинитрофенилгидразоны основного характера (Е.Е. Дубинина и соавт., 1995).

Для изучения спонтанной и инициированной (металлкатализируемой) окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы удобно использовать модельные биологические системы (МБС), например МБС желточных липопропротеидов (ЖЛП).

Металлкатализируемое окисление представляет собой местный специфический процесс, протекающий в нормально функционирующем организме, и его уровень является важным прогностическим показателем. Т.е. диагностическое значение имеет не только определение спонтанной ОМБ, которая указывает на количество модифицированных аминокислот, но и металлиндуцированная деструкция белковых молекул. Индуцированная ОМБ позволяет выявить как изменения аминокислот, входящих в состав полипептидной цепи, так и модификации, связанные с конформацией молекулы и состоянием белкового окружения. (М.В. Ведунова и соавт., 2010.)

В связи с этим в работе проведены серии наблюдений не только в условиях спонтанного, но и в условиях металлкатализируемого окисления, в качестве которого было применено Fe^{2+} -индуцированное окисление. Выбор способа индуцирования ОМБ в пуле МСМ с помощью ионов Fe^{2+} обусловлен следующим.

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 (Г.И. Клебанов и соавт., 1988). Г.И. Клебанов и соавт. (1988) предположили, что в самом общем случае ингибирование плазмой крови пероксидации липидов желточных липопротеидов в присутствии ионов Fe^{2+} обусловлено наличием в плазме крови антиоксидантов и (или) веществ, обеспечивающих окисление и связывание ионов Fe^{2+} .

С этих позиций представляют практический интерес разработка и оптимизация методического обеспечения исследования данных параметров (МСМ и ОМБ) в комплексе, в одной пробе биологической среды. Актуально применение для этого модельной биологической системы желточных липопротеидов в условиях спонтанной и инициированной ОМБ, что позволяет апробировать предлагаемый метод оценки ОМБ в пуле МСМ.

Наше исследование ориентировано на изучение биологического значения параметров спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков и молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопротеидов. Это направлено на решение задачи повышения информативности исследуемых биохимических тестов путем исследования их в комплексе – в одной и той же пробе, снизив расход биологического материала, имеющей ключевое значение для развития медицинской биохимии и ее клинического раздела.

Необходимость изучения как спонтанной, так и индуцируемой ионами металлов ОМБ, обусловлена тем, что это дает возможность определить чувствительность данной модельной биологической системы к

изменению условий процессов свободно-радикального окисления. В нашей работе в основе применяемого метода регистрации уровня ОМБ использовалась реакция с 2,4-динитрофенилгидразином, в процессе которой могут образовываться динитрофенилгидразоны альдегидной и кетонной природы. Изучение инициированной ОМБ проводилось в модельных биологических системах в присутствии ионов железа (Fe^{2+}).

Цель исследования: предложить маркерные параметры оценки уровня спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, коррелирующие с уровнем молекул средней массы, и обосновать диапазоны их чувствительности к изменению условий процессов свободно-радикального окисления на модельной биологической системе желточных липопропротеидов.

Задачи исследования:

1. Изучить спонтанную и Fe^{2+} -инициированную окислительную модификацию белков и уровни молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопропротеидов, продуктах пчеловодства как веществах природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотке крови экспериментальных животных (крысы).
2. Исследовать спонтанную и Fe^{2+} -инициированную окислительную модификацию белков и уровни молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопропротеидов при добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы).
3. Определить особенности спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков и уровней молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопропротеидов при

одновременном добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы).

4. Выявить возможности комплексного использования маркерных параметров оценки уровня спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, коррелирующих с уровнем молекул средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеидов.

Научная новизна.

Предложен способ определения уровня окислительной модификации белков и молекул средней массы (патент на изобретение Российской Федерации № 2525437, в соавторстве).

Исследованы спонтанная и Fe^{2+} -инициированная окислительная модификация белков и уровни молекул средней массы на модельной биологической системе, в качестве которой были выбраны желточные липопротеиды. Соответствующие тесты определены в продуктах пчеловодства как вещества природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотке крови экспериментальных животных (крысы).

Изучены особенности проанализированной модельной биологической системы по уровню окислительной модификации белков различного характера, регистрируемой по изменению концентрации карбонильных соединений, реагирующих с 2,4-динитрофенилгидразином, в условиях спонтанного и Fe^{2+} -индуцированного окисления. Выявлено, что наиболее показательна регистрация уровней ОМБ при длинах волн 430 и 530 нм, на которых отмечается образование алифатических альдегиддинитрофенилгидразонов и кетондинитрофенилгидразонов основного характера.

Установлены возможности комплексного использования изученных маркерных параметров оценки уровня спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, коррелирующих с уровнем молекул средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеидов.

Практическая значимость работы и внедрение в практику.

Работа является фрагментом научных исследований Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Пензенский государственный университет». Научно-практическим значением данной работы является повышение информативности биохимических тестов окислительной модификации белков и молекул средней массы: предложена методика исследования их в комплексе, в одной и той же пробе, апробированная на модельной биологической системе. Эта методика может быть рекомендована к практическому использованию.

Полученные результаты внедрены с 2013 г. в учебный процесс на кафедре биохимии Пензенского государственного университета. Издано учебное пособие по медицинской биохимии (в соавторстве): «Медицинская биохимия: Учебное пособие. – Издательство Пензенского государственного университета» (2013). (Данное учебное пособие было представлено на IV Дальневосточный региональный конкурс изданий высших учебных заведений «Университетская книга – 2013» и награждено грамотой: выписка из протокола заседания жюри № 4 от 01.10.2013.)

Получен патент на изобретение Российской Федерации (№ 2525437, в соавторстве) по способу определения окислительной модификации белков в пуле веществ средней молекулярной массы.

Положения, выносимые на защиту.

Fe²⁺-инициированная окислительная модификация белков на модельной биологической системе желточных липопротеидов, продуктах пчеловодства как веществах природного происхождения, обладающие антиоксидантным действием, и сыворотке крови экспериментальных животных (крысы) наиболее показательно изменялась, по отношению к спонтанному окислению, при 430 нм и 530 нм (длинах волн, проявивших себя как маркерные).

Установлены возможности комплексного использования маркерных параметров оценки уровня спонтанной и Fe²⁺-инициированной окислительной модификации белков, коррелирующих с уровнем молекул средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеидов.

Выявлены тенденции увеличения величин окислительной модификации белков, регистрируемых при 430 нм и 530 нм, и молекул средней массы при Fe²⁺-индуцированном окислении, по отношению к спонтанному окислению, на модельной биологической системе желточных липопротеидов при добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы).

Показана перспективность комплексного использования модельной биологической системы желточных липопротеидов при одновременном добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы) при спонтанном и Fe²⁺-индуцированном окислении: «желточные липопротеиды + продукты пчеловодства или сыворотка крови крыс», «желточные липопротеиды + продукты пчеловодства + сыворотка крови крыс».

Апробация диссертации.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на совещаниях кафедры биохимии Пензенского государственного университета, а также на:

- XI межвузовской биохимической научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону, 2012, 2013);
- V Беломорском симпозиуме (Архангельск, 2013);
- V ежегодной конференции «Балтийский форум. Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии» (Светлогорск, 2012);
- XVII Форума «Национальные дни лабораторной медицины России – 2013» (Москва, 2012, 2013);
- Девятой международной крымской конференции «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии» (Судак, Крым, Украина, 2012, 2013).

Публикации результатов исследования.

По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе двух на международных научно-практических конференциях, 9 статей в российских рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 111 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы.

Работа иллюстрирована 8 таблицами, 31 рисунком.

Список литературы включает 189 источников (140 отечественных, 49 зарубежных).

Глава 1.

Обзор литературы**1.1. Клинико-биохимическое значение показателей молекул средней массы в анализе выраженности эндогенной интоксикации.**

Эндогенная интоксикация, как патологический процесс, сопровождается образованием и накоплением в организме веществ, обладающих токсическими свойствами. (А.И. Карпищенко и соавт., 2002; А.А. Соломаха, 2006; Н.В. Безручко, 2009; С.Б. Матвеев и соавт., 2009; Э.А. Кчибеков, 2011.)

Степень эндотоксикоза организма считают одним из важнейших критериев тяжести состояния больных при различных заболеваниях. (А.Н. Афанасьева, 2004; Ю.А. Грызунов и соавт., 2004; Э.Э. Кузнецова и соавт., 2004; В.Г. Васильков и соавт., 2005; Н.В. Безручко и соавт., 2005, 2008; А.А. Соломаха и соавт., 2009; Л.М. Обухова, 2010; Н.Ю. Келина и соавт., 2012.) Одним из актуальных аспектов проблемы клинико-биохимической оценки эндогенной интоксикации служит исследование метаболических проявлений эндотоксикоза, разработка системы информативных критериев их анализа.

В комплексе метаболических проявлений эндогенной интоксикации одними из ведущих служат повышение уровня белкового катаболизма, нарушение функций выделительных и детоксикационных систем организма. Эндотоксины считаются патологическими медиаторами нарушения функции органов и обменных процессов в организме. (С.И. Емельянов и соавт., 2010.)

Эндогенную интоксикацию рассматривают как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. (М.Я. Малахова, 2000.)

Среди широкого круга метаболитов, обладающих способностью оказывать токсическое действие, особое место занимает пул веществ средней молекулярной массы, динамика которого отражает тяжесть эндогенной интоксикации. (Е.В. Карякина, С.В. Белова, 2004; В.В. Алабовский, 2005; Т.В. Копытова, 2006.)

Молекулы средней массы (МСМ) включают в себя вещества низкой и средней молекулярных масс (ВН и СММ, содержащие катаболический и анаболический пулы) и олигопептиды (ОП, среди которых выделяют регуляторные и нерегуляторные пептиды), имеющие молекулярную массу менее 10 кДа. МСМ как критерии и маркеры эндогенной интоксикации адекватно отражают, с одной стороны, метаболические сдвиги, с другой – интенсивность белкового катаболизма, являющегося основным источником среднемолекулярных эндогенных токсинов. (А.И. Карпищенко и соавт., 2002.)

МСМ и составляющие этого пула (ВН и СММ, ОП) - универсальные биохимические маркеры уровня патологического белкового метаболизма, коррелирующий с основными клиническими и лабораторными прогностическими критериями метаболических нарушений при эндогенной интоксикации. (Е.В. Карякина, С.В. Белова, 2004.)

В состав ВН и СММ входят креатинин, мочевины, олигосахара, молочная кислота, билирубин, аминокислоты, холестерин, продукты перекисного окисления липидов и другие соединения. Как концентрация, так и распределение ВН и СММ между плазмой и эритроцитами, поддерживаются в организме на постоянном и индивидуальном уровне, зависящем, в том числе, от характера метаболизма. ОП содержат в своем составе регуляторные пептиды (нейротензины, соматостатин, вазоактивный интестинальный пептид, энкефалины и другие биологически активные вещества) и нерегуляторные пептиды (продукты

протеолитической деградации плазменных и тканевых белков, поступившие в кровь в результате аутолиза, ишемии, гипоксии органов, процессов протеолиза). Концентрация регуляторных пептидов в норме невелика и строго контролируется организмом, они участвуют в формировании адаптационных реакций и регулировании процессов жизнедеятельности. Нерегуляторные пептиды – это пептиды с нерегулируемым уровнем в плазме крови, с непредсказуемыми свойствами, зачастую токсическими. (А.И. Карпищенко и соавт., 2002.)

Перечисленные выше соединения – это физиологические компоненты, объединенные в понятие «молекулы средней массы». Патологическими компонентами являются продукты неуправляемого протеолиза и деструкции органов и тканей, микробные токсины, гидроперекиси, полиамины, а также увеличенные концентрации физиологических компонентов. Накопление большой концентрации молекул средней массы и нарушение их распределения между плазмой и эритроцитами, а также нарушение их выведения почками, вызванное различными этиологическими факторами, приводят к развитию эндогенной интоксикации организма. (Л.А. Данилова и соавт., 2003.)

Существенная особенность МСМ заключается в их высокой биологической активности. Накопление молекул средней массы может усугублять течение патологического процесса, так как они приобретают роль вторичных токсинов, оказывая негативное влияние на жизнедеятельность всех систем и органов. (Т.Э. Эсаулова, 2009.)

Таким образом, показатели молекул средней массы являются одними из базовых биохимических тестов в мониторинге и анализе выраженности эндогенной интоксикации.

1.2. Параметры оценки процессов окислительной модификации белков в клинико-биохимическом мониторинге эндотоксикоза.

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. (Л.М. Обухова, 2010.)

В патогенезе системных цитотоксических поражений при эндогенной интоксикации сопоставимое участие принимают оксидативный стресс и гипоксия. (Э.И. Начкина, 2011.)

Активация процессов свободно-радикального окисления (СРО) является типовым процессом дезорганизации структур и функций органов и систем при различных видах патологии. (В.З. Ланкин и соавт., 2001, 2007; В.В. Ляхович и соавт., 2005, 2006; Е.Е. Дубинина, 2006; Н.П. Чеснокова и соавт., 2006; Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина, 2007; Zs.-Nagy I., 2001; Dean J.T., 2002; Rahman I., Biswas S.K., 2004; Deminice R. et al., 2010; Rytter E. et al., 2010; Burlakova E.V. et al., 2011.)

Многие жизненно важные метаболические процессы, протекающие в организме, тесно связаны со свободно-радикальным окислением. Свободно-радикальное окисление влияет на физико-химические свойства биологических мембран, их проницаемость, структуру, что отражается на обмене веществ, функциональном состоянии клеток и организма в целом. (Д.М. Габитова и соавт., 2006.)

Реакции свободно-радикального окисления инициируются активными формами кислорода (АФК), приводящими к химической модификации биомолекул. Благодаря наличию в организме сложных

ферментных комплексов со специфическими электронтранспортными простетическими и коферментными группировками процесс восстановления кислорода протекает по многоступенчатому механизму, что сводит к минимуму возможность образования высокореакционных промежуточных соединений кислорода. В условиях оксидантного стресса или усиленного образования активных форм кислорода может происходить нарушение функционирования ферментов антиоксидантной системы. (Л.Т. Рязанцева, 2011.)

Свободно-радикальное окисление постоянно протекает во всех клетках в норме и считается одним из способов метаболической регуляции. Повышение уровня окислительных процессов может наблюдаться при различных патологических состояниях, сопровождающихся изменением баланса активности антиоксидантной и оксидантной систем. Это может приводить к усилению генерации активных форм кислорода (АФК), способных оказывать модифицирующее действие на липиды и белки мембран. (Ю.А. Владимиров, 2000; Ю.В. Медведев, А.Д. Толстой, 2000; Н.К. Зенков и соавт., 2001; В.Г. Подопрigorova, 2004; Е.Б. Меньщикова и соавт., 2006; Е.Л. Мальцева, 2011; Gutteridge J.M., Halliwell B., 2000; Droge W., 2001; Mal'tseva E.L. et al., 2002; Ostdal H. et al., 2002; Lankin V.Z. et al., 2003; Niki E., 2008; Parihar A. et al., 2008.)

Нарушение сбалансированности процессов свободно-радикального окисления и антиоксидантной защиты может привести к формированию окислительного стресса, характеризующегося патобиохимическими последствиями взаимодействия активных форм кислорода с биомолекулами. Накопление модифицированных АФК биомолекул является причиной развития тяжелых, а порой и необратимых нарушений процессов и структур, поддерживающих гомеостаз организма. (В.Г.

Зайцев, О.В. Островский, 2008; В.А. Чистяков, 2011; Ermak G., Davies K.J., 2002; Ray S.D. et al., 2004.)

Одним из видов биомолекул, чувствительных к усилению процессов свободно-радикального окисления, являются белки. Состояние окислительного стресса, в комплексе с другими метаболическими проявлениями, сопровождается повышенным уровнем ОМБ. (Г.А. Рябов и соавт., 2000; И.Н. Пасечник и соавт., 2002; Т.В. Жаворонок и соавт., 2007; Л.Е. Муравлева и соавт., 2010; Boscia F. et al., 2000; Chevion M. et al., 2000; Conrad C.C. et al., 2000; Griffiths H.R., 2000; Peng J. et al., 2000; Stadman E.R. et al., 2000; Chen S.S. et al., 2001; Levine R.L. et al., 2000, 2001; Requena J.R. et al., 2001; Choi J. et al., 2002; Korolainen M.A. et al., 2002; Mirzaei H. et al., 2008.)

АФК рассматриваются одними из основных индукторов ОМБ, наряду с увеличением содержания свободного железа, продуктов ПОЛ при снижении уровня антиоксидантной защиты. При действии АФК происходит нарушение нативной конформации белков с образованием крупных белковых агрегатов или фрагментация белковой молекулы. Наиболее важным следствием окислительной модификации белков является инактивация ферментов. (Л.Е. Муравлева и соавт., 2010.)

Для определения продуктов ОМБ обычно используется метод оценки уровня карбонильных соединений, реагирующих с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов основного и нейтрального характера в условиях спонтанного и/или металлкатализируемого окисления (Е.Е. Дубинина и соавт., 1995). В результате реакции окисления белков могут образовываться альдегидные и кетонные группировки аминокислотных остатков, которые и взаимодействуют с 2,4-динитрофенилгидразином (Т.В. Копытова и соавт., 2009).

Одним из вариантов металлкализируемого окисления белков, часто используемых на практике, может служить медь-зависимая индукция ОМБ.

Изучена ОМБ тимуса крыс в условиях применения нанопорошков меди как модулятора биохимических процессов. Установлено, что в условиях данной модели дозозависимо повышается окислительная модификация протеинов с преобладанием процессов фрагментации белковых молекул. Соотношение альдегид-динитрофенилгидразонов и кетон-динитрофенилгидразонов зависело от изменения уровня свободной меди в организме в сторону преобладания первичных маркеров окислительного стресса. Воздействие меди в ультрадисперсной форме сопровождается сайт-специфическим окислительным повреждением белков в области остатков триптофана. Глубокие окислительные повреждения белков в условиях данной модели способствуют снижению возможности обновления белков ткани тимуса, что, вероятно, связано со снижением активности клеточных протеазных систем. (Ю.В. Абаленихина и соавт., 2012.)

Молекулярные процессы, происходящие в организме при окислительном стрессе, тесно взаимосвязаны с реакциями карбонильного стресса. В комплексе они способны вызывать структурные и функциональные изменения биомолекул. Основной результат карбонильного стресса – гликирование и гликоокисление белков под действием активных карбонильных соединений, в том числе малонового диальдегида. (К.Б. Шумаев, 2010.)

Е.Ю. Кравцовой и соавт. (2011, 2012) обследованы пациенты трудоспособного возраста в остром периоде инсульта с изучением динамики окислительной модификации белков и показано, что данный тест может использоваться в качестве маркера прогноза течения

заболевания. Установленная взаимосвязь восстановления неврологического дефицита с регрессом степени выраженности оксидантного стресса при разных подтипах ишемического инсульта позволяет использовать динамические показатели ОМБ, отмечая наибольшую их чувствительность в диапазоне альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов основного характера (III и IV волны) в качестве маркера прогноза течения заболевания. Отмечается, что отсутствие полной нормализации показателей ОМБ к 15-му дню заболевания на фоне приема этилметилгидроксипиридина сукцината, обусловленное значительным нарушением оксидантной системы при инсульте, обосновывает необходимость длительной антиоксидантной терапии и разработки лекарственных средств с целенаправленным устранением процессов окислительной модификации белков в диапазоне альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов основного характера.

В формировании ответной реакции организма на стрессорное воздействие большую роль играет система крови. Это одна из биологических сред организма, в которой наиболее информативно определение параметров антиоксидантной и оксидантной систем в оценке эндогенной интоксикации.

Кровь – реактивная система, чутко реагирующая на различные воздействия на организм. Единство и целостность системы крови, ее саморегулирующиеся адаптационные механизмы позволяют организму поддерживать гомеостаз, а метаболический статус крови служит интегральным показателем его состояния, в том числе реакции на стресс. (Г.И. Козинец и соавт., 2008.)

В критических состояниях наблюдается значительное повышение уровня окислительной модификации белков (ОМБ) крови. Повреждающее действие АФК на белки может играть существенную роль в механизмах

формировании и развития критических состояний (Г.А. Рябов и соавт., 2000).

Сывороточные белки подвергаются окислительной модификации при различной патологии, степень которой может быть соотнесена с тяжестью заболевания, а также может быть использована в качестве контроля лечения и проведения антиоксидантной терапии. Метод оценки ОМБ сыворотки крови по уровню карбонильных групп, определяемых в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином, может быть использован в клинической практике, так как соответствует критериям аналитической надежности. Интерпретация полученных с применением этого метода результатов должна проводиться на основе представлений о зависимости степени ОМБ от концентрации в среде АФК и от типа белка. Содержание карбонильных групп в белках сыворотки крови - показатель, характеризующий выраженность «окислительного стресса» и глубину окислительного повреждения белков. (М.Ю. Фролова, 2003.)

Показана возможность ранней диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей яичников путем идентификации карбонильных групп белков в сыворотке крови и эндометриальных смывах обследуемых пациенток. Установлена патогенетическая роль продуктов окислительной модификации белков в формировании опухолей яичников. Высокий уровень карбонильных групп белков в указанных биологических жидкостях может рассматриваться как возможный биохимический маркер развития данной патологии. (Е.Г. Шварев и соавт., 2011.)

Продукты ОМБ могут служить причиной вторичного повреждения других биомолекул. В процессе формирования критических состояний ОМБ, наряду с перекисным окислением липидов (ПОЛ), становится важным фактором нарушения нормального функционирования организма.

Процессы перекисного окисления липидов и окислительной

модификации белков тесно взаимосвязаны. Различные составляющие ОМБ, оцениваемые по уровням альдегиддинитрофенилгидразонов и кетондинитрофенилгидразонов характеризуют не только наличие СРО, но и его этапность и свидетельствуют о резервных способностях организма. ОМБ – обобщающий термин: различные его составляющие по-разному реагируют на стресс, проявляя в зависимости от вида белков либо антиоксидантные, либо прооксидантные свойства. (О.В. Занозина и соавт., 2009.)

В норме в организме человека между системами генерации АФК и системой антиоксидантной защиты существует равновесие, обеспечивающее функционирование субклеточных структур и органов в целом. При различных патологических состояниях это равновесие (баланс) может нарушаться. (И.Н. Пасечник, 2001, 2004; Mal`tseva E.L., 2003.)

Установлено, что развитие окислительного стресса отмечается при сахарном диабете 2 типа вследствие дисрегуляции системы «проантиоксиданты - антиоксиданты», более выраженного при декомпенсированной форме. Рост окислено-модифицированных липопротеидов обусловлен усилением их окислительной модификации за счет как неферментативного гликолизирования апо-белков, так и в результате повреждения их липидного компонента активными формами кислорода. (З.И. Микашинович и соавт., 2010.)

Показано, что в реализации механизмов защиты белков от окислительной модификации в нейтрофилах крови при окислительном стрессе *in vitro* и развивающемся при остром воспалении играет важную роль тиолдисульфидная система. В условиях действия протектора SH-групп 1,4-дителиоэритритола в нейтрофильных лейкоцитах крови пациентов с внебольничной пневмонией и при экспериментальном окислительном стрессе отмечено снижение содержания карбонильных производных

белков. При инкубировании клеток с ингибитором каталазы или ингибитором синтеза глутатиона выявлено, что дефицит восстановленного глутатиона и нарушение образования белково-связанного глутатиона в нейтрофилах у больных внебольничной пневмонией и при экспериментальном окислительном стрессе приводит к активации окислительной модификации белков. (Е.А. Степовая и соавт., 2010.)

Исследована динамика процессов ОМБ в плазме крови при стрессогенном воздействии и при фармакологической коррекции (введение α -токоферол-ацетата, циклоферона) у половозрелых крыс. У стрессированных крыс достоверно повысилось количество 2,4-динитрофенилгидразонов, по сравнению с контролем. При введении α -токоферол-ацетата и циклоферона наблюдалось достоверное снижение в плазме крови количества альдегиддинитрофенилгидразонов основного характера. Выявленное повышение интенсивности ОМБ плазмы крови у стрессированной группы животных отображало общую направленность свободнорадикальных процессов. Выраженный антиоксидантный эффект оказывал комплекс « α -токоферол-ацетата + циклоферон» на стрессированных крыс. В условиях стресса циклоферон, вероятно, оказал протективное действие на антиоксидантную систему. (Л.К. Хужахметова, Л.Г. Сентюрова, 2011.)

Ряд других экспериментальных исследований также свидетельствуют о том, что ОМБ – один из маркерных тестов, чувствительных к изменению степени проявлений окислительного стресса (С.С. Артемьева и соавт., 2002; М.Д. Дубровская и соавт., 2004; И.Р. Кулмагамбетов и соавт., 2009; Т.И. Бондаренко и соавт., 2012; К.В. Кулакова и соавт., 2012; З.С. Толочко, В.К. Спиридонов, 2012).

Процессы свободно-радикального окисления рассматриваются как одно из ключевых звеньев метаболизма, нарушение регуляции которого

является ранним, универсальным механизмом развития различных заболеваний. (Д.М. Габитова и соавт., 2006.)

Таким образом, антиоксидантно-оксидантный баланс организма определяется уровнями процессов образования АФК и состоянием антиоксидантной защиты. При патологии может иметь место нарушение антиоксидантно-оксидантного баланса организма, проявляющегося, в том числе, изменениями динамики ОМБ.

Процессы ОМБ изучены недостаточно, хотя, по данным проанализированной литературы, они могут служить одними из информативных биохимических тестов, отражающих выраженность эндогенной интоксикации. В комплексе с показателями пула МСМ, тесты ОМБ будут способствовать увеличению прогностической значимости клинико-биохимического мониторинга эндотоксикоза.

1.3. Комплексный подход к изучению параметров окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы в клинико-биохимическом анализе эндогенной интоксикации.

Состояние эндогенной интоксикации возникает при патологии различного генеза. Метаболический ответ организма на образование и накопление в его биологических жидкостях веществ с токсическими свойствами характеризуется универсальными закономерностями, среди которых одними из ведущих служат повышение уровня молекул средней массы и увеличение интенсивности окислительной модификации белков. Это позволяет считать клинико-биохимически обоснованным комплексное изучение молекул средней массы и окислительной модификации белков для оценки эндотоксикоза.

Представляет интерес установление взаимосвязей между такими показателями окислительного стресса, как окислительная модификация

белков и перекисное окисление липидов. (И.А. Волчегорский и соавт., 2007; Г.К. Рубцов и соавт., 2013; Cederberg J. et al., 2001; Lim P.S. et al., 2002.)

Согласно И.Н. Пасечник (2004), у больных разлитым гнойным перитонитом и деструктивным панкреатитом в первую очередь регистрируется окислительное повреждение белковых структур, а уже потом липидов. Мониторинг выраженности окислительного стресса информативен с применением показателей содержания карбонильных и SH-групп и в белках. Выраженное снижение SH-групп в белках на 1 сутки послеоперационного периода может служить неблагоприятным фактором исхода заболевания. Степень выраженности полиорганной недостаточности у хирургических больных в критических состояниях коррелирует с уровнем окислительного повреждения белковых структур организма.

В клинико-биохимическом мониторинге эндогенной интоксикации используются расчетные показатели, отражающие взаимозависимости оцениваемых метаболических цепочек и позволяющих характеризовать степень их сбалансированности. Предложены регрессионные зависимости параметров катаболических, антиоксидантных и оксидантных реакций и их расчетные индексы, способствующие увеличению информативности оценки развития эндогенной интоксикации при неотложной абдоминальной патологии (Н.Ю. Келина, Н.В. Безручко, 2007). Это может служить подтверждением необходимости исследования динамики СРО (в том числе ОМБ, как одного из ключевых его тестов), и величин МСМ, как одного из маркерных показателей выраженности эндотоксикоза, в комплексе.

Исследования ряда других авторов также свидетельствуют о необходимости комплексного подхода к изучению параметров

окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы в клинико-биохимическом анализе эндогенной интоксикации.

Т.В. Копытовой и соавт. (2009) установлено, что при тяжелых распространенных дерматозах происходит увеличение содержания в плазме крови веществ низкой и средней молекулярной массы и олигопептидов относительно уровня здоровых лиц, свидетельствующее об эндогенной интоксикации организма. У больных тяжелыми распространенными дерматозами увеличивается количество всех видов карбонильных производных олигопептидов. Наличие синдрома эндогенной интоксикации характеризуется повышением уровня общей окислительной модификации белков и снижением уровня окислительной модификации олигопептидов. Это обуславливает накопление и циркуляцию в крови патологических эндотоксинов, что приводит к необходимости назначения лекарственных препаратов дезинтоксикационного воздействия.

Р.Н. Белоноговым и соавт. (2009) проведено определение уровня показателей окислительной модификации белков и липидов в плазме крови больных различными гистологическими типами рака легкого, в плазме крови которых оценивалось содержание диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, карбонильных производных белков, среднемолекулярных пептидов, битирозина, SH-групп белков. Изменение содержания данных показателей свидетельствовало об увеличении интенсивности свободно-радикальных процессов и варьировало в зависимости от гистологического типа заболевания. Показано, что при немелкоклеточных формах рака легкого (плоскоклеточный рак и аденокарцинома) изменения показателей во многом имеют сходный характер, в то время, как их значения при мелкоклеточном раке могут иметь существенные отличия.

Исследовано содержание карбонильных групп белков плазмы крови и среднемолекулярных пептидов крови у больных с ожоговой болезнью. У них наблюдается снижение общего белка плазмы крови на фоне резкого увеличения содержания среднемолекулярных пептидов, наиболее выраженного с 5-х суток наблюдения. Исследование уровня одного из маркеров окислительного повреждения белков – карбонильных групп – позволило установить, что в крови обожженных наблюдается усиление окислительной модификации белков, происходящее на 5-е сутки болезни. Повышение степени окислительного повреждения белков, как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*, может быть связано с изменением аминокислотного состава или конформации циркулирующих в плазме крови белков, в результате чего на их поверхности увеличиваются места связывания для ионов железа. (Халдун О. и соавт., 2012.)

Карбонильные производные белков - это стабильные продукты, которые образуются при участии аминокислотных остатков пролина, аргинина, лизина, треонина с образованием аддуктов Михаэля. Также карбонильные производные белков могут образовываться при участии аминокислотных остатков лизина, цистеина и гистидина с продуктами ПОЛ. Причем карбонилирование аргинина и лизина сопровождается потерей одного или более атомов азота. Кроме этого, они могут образовываться в процессе гликирования/гликооксидации аминогрупп лизина. (Л.Е. Муравлева и соавт., 2010.)

В эксперименте у животных в ткани мозжечка в условиях длительной гиподинамии отмечено повышение показателей окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы (С.А. Лобанов и соавт., 2011; Н.С. Черепанов, 2013).

Проведено исследование биохимических показателей белкового обмена лабораторных мышей для изучения функционирования

детоксикационных систем. Описана динамика изменения содержания перекисного окисления белков и липидов, веществ низкой и средней молекулярной массы при интоксикации метилфосфоновой кислотой, являющейся ксенобиотиком антропогенного происхождения, в различных дозах. Показано, что метилфосфоновая кислота оказывает обратимое влияние на антиоксидантную и детоксикационную системы мышечной ткани. Метилфосфоновая кислота при интоксикации лабораторных мышей выступала в качестве инициатора появления различных эндотоксинов, образующихся в результате патологической деградации белков и липидов, о чем свидетельствовали данные по содержанию карбонильных производных белков и липидов, веществ низкой и средней молекулярной массы и олигопептидов. Токсическое действие метилфосфоновой кислоты в зависимости от дозы вызывало различный уровень эндогенной нагрузки. Предполагается, что появление метилфосфонатов в природных средах может оказывать дополнительную нагрузку на антиоксидантную систему организмов. (О.М. Плотникова и соавт., 2011.)

Таким образом, перспективно комплексное исследование молекул средней массы и окислительной модификации белков. В этом плане представляет практический интерес разработка и апробирование на различных модельных биологических системах метода оценки окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы. Этот метод может представлять значительный интерес, как для клинической биохимии, так и для других разделов биохимии и смежных с ней научных дисциплин.

1.4. Модельные биологические системы и их применение для оценки окислительной модификации белков и величин молекул средней массы.

Одним из методологических подходов к решению проблемы разработки и применения модельных биологических систем для оценки окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы может быть метод их анализа в комплексе (Г.К. Рубцов и соавт., заявка на патент на изобретение Российской Федерации № 2012153044, приоритет от 7.12.2012, решение о выдаче патента от 14.04.2014). Изучение ОМБ может быть проведено на основе реакции с 2,4-динитрофенилгидразином, являющимся реагентом на карбонильные соединения.

Одной из базовых модельных биологических систем для проведения соответствующих исследований может служить модельная биологическая система желточных липопротеидов, разработанная Г.И. Клебановым и соавт. (1988) и применяемая в условиях спонтанного и Fe^{2+} -индуцированного окисления для оценки уровня карбонильных соединений, реагирующих с 2,4-динитрофенилгидразином.

Метод определения карбонильных групп белков может быть использован для изучения окислительной модификации в белках липопротеидов, во фракциях альбуминов и глобулинов сыворотки крови. (М.Ю. Фролова, 2003.)

В.Г. Зайцевым (2001) показано, что изменение концентрации карбонильных соединений, реагирующих с 2,4-динитрофенилгидразином, может быть использовано для оценки интенсивности ПОЛ в липосомальных модельных системах, в том числе при инициации ПОЛ металлами переходной валентности. Обосновано, что модельная система длительно протекающего процесса ПОЛ на основе суспензии фосфатидилхолиновых липосом с использованием различных

инициаторов окисления и оценкой уровня ПОЛ по содержанию карбонильных соединений, реагирующих с 2,4-динитрофенилгидразином, может служить тест-системой для скринингового выявления антиоксидантных свойств у веществ различной химической природы.

Другой серией модельных биологических систем для оценки уровня карбонильных соединений, реагирующих с 2,4-динитрофенилгидразином, могут быть предложены продукты пчеловодства – прополис, гомогенат трутневого расплода, мед, маточное молочко. Практический интерес к использованию продуктов пчеловодства в качестве модельных биологических систем оценки уровня ОМБ в пуле МСМ связан с тем, что они могут служить тест-системами, обладающими антиоксидантными свойствами. С этих позиций исследование биохимических характеристик продуктов пчеловодства, в том числе величин ОМБ, особенно важно для медицины.

Продукты пчеловодства (например, мед, пыльца и маточное молочко) можно отнести к многофункциональным пищевым добавкам, так как они, являясь для пчел концентрированным кормом, способны обеспечить организм человека недостающими компонентами в натуральном виде (Е.А. Дубцова, 2009). Они содержат биологически активные вещества, способные оказывать влияние на обменные процессы, на чем и основывается их практическое применение (А.В. Любимов, 2002; Н.З. Хисматуллина, 2005; Т.В. Вахонина, Е.А. Вахонина, 2006; Л.Б. Лазебник и соавт., 2006; З.Ш. Магомедова, 2007; В.М. Ериков, А.К. Пунякин, 2008; Н.Л. Русакова и соавт., 2010; М.М. Коноплева, 2011; Р.Г. Фархутдинов и соавт., 2010; А.А. Анашкина и соавт., 2011; Л.Р. Ялалетдинова и соавт., 2011, 2012; Moreno M.I. et al., 2000; Radhakrishnan P. et al., 2006; Bhadauria M. et al., 2007).

В патогенезе многих расстройств важную роль играет оксидативный стресс, развивающийся в результате дисбаланса между оксидантной и антиоксидантной системами. Продукты пчеловодства обладают антиоксидантными свойствами и могут быть рекомендованы в качестве пищевых добавок для профилактики и коррекции нарушений процессов свободнорадикального окисления при патологических состояниях, физических нагрузках и стрессе. (С.П. Галиновский, 2000; В.Г. Макарова и соавт., 2000, 2004; Ю.Л. Баймурзина, 2002; В.А. Быков, Ю.В. Шикова, 2004; Г.В. Гущина, А.В. Жолнин, 2007; Д.С. Громенко и соавт., 2008; Н.В. Макарова и соавт., 2011; Ю.В. Шикова и соавт., 2011; Estrada E. et al., 2004; Kortenska-Kancheva V.D. et al., 2005; Buratti S. et al., 2007; Kancheva V.D., Bankova V.S., 2008; Herken E.N. et al., 2009; Dobre I. et al., 2010; Gülçin T. et al., 2010; Abu-Mellal A. et al., 2012.)

Установлены позитивные влияния пищевых добавок, содержащих маточное молочко и прополис, на облученный организм, и рекомендовано их использование в лечебных целях при рентгенотерапевтических вмешательствах: введение апипрепаратов до облучения более эффективно снижало активность ПОЛ и оказывало защитное действие на параметры системы крови и печень крыс, по сравнению с введением после облучения. Способность апикомпозиций, содержащих маточное молочко и прополис, снижать интенсивность липопероксидации позволяет рекомендовать использование их при заболеваниях в патогенезе которых ключевым звеном является активация перекисного окисления липидов. (Р.М. Воронин, 2003.)

Все вышеизложенное позволяет рассматривать продукты пчеловодства как возможные модельные биологические системы для оценки уровня свободно-радикального окисления, в том числе окислительной модификации белков.

А.В. Епифанова и соавт. (2012) изучали антиокислительную активность (АОА) продуктов пчеловодства, а именно спиртовых экстрактов прополиса и личинок большой восковой моли, а также их водных извлечений из желатиноглицериновых суппозиторий по угнетению хемилюминесценции модельных систем, в которых вызывали генерацию активных форм кислорода и процессы перекисного окисления липидов. Показана преимущественная способность экстрактов прополиса и личинок большой восковой моли, а также их комбинации, взаимодействовать с различными типами радикалов и тушить хемилюминесценцию модельных систем связанных с перекисным окислением липидов и генерацией активных форм кислорода. Предполагается дальнейшая разработка мягких лекарственных форм в виде суппозиторий, мазей, гелей с содержанием в составе различных комбинаций продуктов пчеловодства (маточное молочко, трутневый гомогенизат, экстракт личинок большой восковой моли) с экстрактом прополиса в связи с его высокой антиоксидантной активностью.

Широкий спектр действия и фармакологическая активность продуктов пчеловодства обусловлены наличием сбалансированного сочетания в них важнейших биологически активных соединений. Например, пчелиный расплод (маточные личинки) является ценным фармацевтическим сырьем, содержащим богатый спектр биологически активных компонентов. У гомогената маточных личинок установлено наличие антигипоксического эффекта в условиях свинцовой интоксикации, сравнимого с действием апилака (препарата на основе маточного молочка). Антигипоксическое действие исследованных средств обусловлено активированием аэробного звена биологического окисления и нормализацией функционирования эритроцитов. (С.В. Красовская, 2006.)

Продукт пчеловодства маточное молочко – это секрет, выделяемый глоточными и верхнечелюстными железами пчел. Он служит для вскармливания личинки, а затем самой пчелиной матки. Маточное молочко в настоящее время рассматривается как полигормональный биологический стимулятор благодаря уникальному составу – оно содержит более 100 соединений и микроэлементов, в том числе все витамины группы В, С, Н, РР, фолиевая кислота, незаменимые аминокислоты. (Л.Р. Ялалетдинова и соавт., 2011.)

Пчелиное маточное молочко по своей природе является эмульсией, в составе которой имеются белки, аминокислоты, жирные кислоты, углеводы и липиды, что приводит к образованию суспензий с разнородной высокой агрегативной устойчивостью, где проявляются стабилизирующие свойства всех компонентов молочка. (Л.В. Ошевенский и соавт., 1999.)

Природа вызываемых маточным молочком функциональных сдвигов имеет сложный комплексный характер и определяется не только химическим составом молочка, но и состоянием многоуровневых механизмов регуляции целостного организма. Прежде всего, маточное молочко затрагивает процессы внутриклеточного метаболизма. Это зависит от липотропных свойств его ингредиентов, влияющих на состояние поверхностных мембран и мембраносвязанных ферментов. Это в свою очередь, не может не отражаться на органном уровне. Кроме клеточного уровня, маточное молочко затрагивает и уровень нервной, и гуморальной регуляции, т.е. влияя на целостные, региональные, системные и даже общие для всего организма процессы. Это проявляется в повышении тонуса парасимпатической и симпатической нервной системы, стимуляции симпато-адреналовой системы с соответствующими явлениями усиления неспецифической резистентности, которая проявляется изменением состояния системы гемостаза. Таким образом,

можно говорить, что наблюдаемые эффекты являются результатом суммирования специфических реакций, возникающих на уровне отдельных клеток, и неспецифических, представляющих комплекс рефлекторных и нейрогуморальных физиологических процессов. (М.Н. Иващенко, 2002.)

Проведено исследование действия нативного маточного молочка пчел на некоторые показатели эякулята белых крыс в нормальных условиях и при профилактике острого теплового стресса. Показано стимулирующее и протективное действие маточного молочка на сперматогенез. (Е.В. Крылова и соавт., 2011.)

Изучено влияние апилака и прополиса на некоторые метаболические показатели здоровых животных. Отмечена анаболическая направленность действия исследуемых веществ. (А.Н. Журавлева, Ю.К. Василенко, 2010.)

Помимо отдельных продуктов, для удобства применения, разработаны композиционные смеси, содержащие в своем составе сразу несколько продуктов пчеловодства: апитонус – высококачественный мед (98%) с добавлением нативного маточного молочка (2%); апифитотонус-1 (мед + 2% маточного молочка + 4% пыльцы); апифитотонус-2 (мед + 2% маточного молочка + 20% пыльцы); апитоник (мед + 1% прополиса + 2% маточного молочка + 4% пыльцы). Благодаря своему уникальному составу биологически активные продукты пчеловодства могут применяться в качестве дополнительной поддержки в лечебном питании ослабленных больных. (Е.А. Дубцова, 2009.)

Исследовано влияние ингаляционного средства на основе пчелиного маточного молочка и прополиса («Апингалин») на эндогенную интоксикацию у крыс в условиях моделирования отека легких. Курс ингаляций средством «Апингалин» при моделировании адреналового отека легких у крыс способствовал снижению интенсивности

формирования эндогенной интоксикации, в том числе уменьшению выброса эндогенных токсинов в кровь из ткани легких, снижению активности ПОЛ, восстановлению системы биотранспорта эндогенных токсинов, повышению сорбционной емкости эритроцитов, концентрации альбумина, повышению концентрации общего белка. После ингаляций средством «Апингалин» наблюдалось снижение выраженности эндогенной интоксикации, проявлявшееся уменьшением содержания МСМ в плазме и на эритроцитах, восстановлением функциональной активности печени и почек. (А.А. Анашкина, 2012.)

Вместе с тем механизм лечебного действия продуктов пчеловодства невозможно полностью объяснить вследствие сложности и многообразия их состава (Е.А. Дубцова, 2009). В этом плане остаются актуальными и практически значимыми биохимические исследования по изучению механизмов влияния продуктов пчеловодства на обменные процессы в организме, в том числе на процессы свободнорадикального окисления (ПОЛ, ОМБ) и антиоксидантной защиты.

Одним из аспектов таких исследований может явиться рассмотрение продуктов пчеловодства как модельных биологических систем оценки окислительной модификации белков и величин молекул средней массы, в комплексе с использованием других модельных биологических систем, апробированных ранее для изучения состояния свободнорадикального окисления: например, модельной биологической системой желточных липопротеидов (Г.И. Клебанов и соавт., 1988). Кроме того, может представлять интерес применение модельных биологических систем, содержащих продукты пчеловодства и предусматривающих инкубацию в присутствии крови, для выявления степени их влияния на уровень окислительных процессов (как спонтанного, так и металл-индуцируемого характера).

Показано, что одним из перспективных направлений экспериментального изучения продуктов пчеловодства, в том числе маточного молочка и прополиса, является разработка вопроса об их влиянии на систему крови, прежде всего на состояние ее гомеостатических функций. Кровь, кроме доставки веществ в ткани, выполняет различные гомеостатические функции, поддерживает оптимальные условия для жизнедеятельности клеток, органов, то есть обеспечивает сохранение органного и клеточного гомеостаза. Результаты, полученные при введении «Апилака» в организм, свидетельствуют о способности препарата выступать в качестве биокорректора липидного обмена. Использование апипродуктов в широком интервале доз с применением различных биологических тестов показало высокую физиологическую активность пчелопродуктов на различных уровнях гомеостаза: клеточном, органном, организменном. (М.Н. Иващенко, 2002.)

По данным Р.Р. Фархутдинова, Ю.Л. Баймурзиной (2011), при инкубации препаратов продуктов пчеловодства с кровью, может быть оценено их действие на генерацию АФК фагоцитирующими клетками. В исследованиях, проведенных этими авторами, показано, что из продуктов пчеловодства максимальное антиоксидантное действие на генерацию АФК выявлено у прополиса. Наибольшая способность взаимодействовать с липидными радикалами отмечена у прополиса, пыльцы, апилака. Уникальной способностью природных антиоксидантов является то, что, наряду с АОА, они способны стимулировать образование АФК в фагоцитах, с которыми связана микробицидность клеток крови. Прополис, пыльца и перга стимулировали хемилюминесценцию цельной крови.

Таким образом, анализ данных литературы позволяет предложить следующие основные серии модельных биологических систем для оценки окислительной модификации белков и величин молекул средней массы:

1) изучение исходных параметров анализируемых тестов в желточных липопротеидах, сыворотке крови экспериментальных животных (крыс), продуктах пчеловодства (прополисе, гомогенате трутневого расплода, меде, маточном молочке);

2) определение изменений изучаемых тестов в модельной биологической системе «желточные липопротеиды» при введении сыворотки крови и (или) продуктов пчеловодства.

С позиций биохимического обоснования влияния продуктов пчеловодства на процессы ОМБ в пуле МСМ, модельная биологическая система «желточные липопротеиды» и сыворотка крови могут выступать в качестве средства сравнения. Каждую серию наблюдений необходимо реализовать в условиях и спонтанной, и металл-индуцируемой ОМБ, что позволит характеризовать соотношение этих процессов в исследуемых модельных биологических системах.

Глава 2.

Материал и методы исследования**2.1. Материал исследования.**

Выбор применяемой нами модельной биологической системы оценки уровня окислительной модификации белков и веществ средней молекулярной массы был обусловлен ее способностью реагировать на изменение уровня свободно-радикальных процессов.

В работе были использованы в качестве базовой модельной биологической системы желточные липопротеиды, полученные по методике Г.И. Клебанова и соавт. (1988). В соответствии с указанной методикой, желточные липопротеиды – одна из модельных систем, позволяющая оценить антиоксидантную активность исследуемых веществ и чувствительная к инициации свободно-радикальных процессов ионами Fe^{2+} .

К модельной биологической системе добавляли сыворотку крови белых беспородных крыс (самок и самцов) и продукты пчеловодства – прополис, гомогенат трутневого расплода, мед, маточное молочко (препарат «Апилак»), в виде 30 % водных растворов. Протокол приготовления растворов продуктов пчеловодства для исследования *in vitro* был стандартизирован. Растворы прополиса, гомогената трутневого расплода и препарата «Апилак» готовили по методике, аналогичной предложенной Е.А. Дубцовой (2009).

Продукты пчеловодства, по данным литературы (Ю.Л. Баймурзина, 2002; Л.Р. Ялалетдинова и соавт., 2011), обладают различной степени выраженности антиоксидантной активностью.

Считается, что по уровню белков трутневый расплод идентичен маточному молочку, но выражено отличается от него по показателям

окисляемости. Трутневый расплод содержит меньшее количество ненасыщенных соединений, о чем свидетельствует показатель окисляемости, коррелирующий с меньшим количеством деценовых кислот. (Л.А. Бурмистрова, 1999.) По данным Т.В. Вахониной (1995), в личинках деценовые кислоты содержатся в основном в связанном состоянии, в виде эфиров с миристиновой, пальмитиновой, стеариновой и себадиновой кислотами; их уровень в трутневом расплоде составляет около 42% от количества в маточном молочке.

Прополис может оказывать антикатаболический и антиоксидантный эффекты (Ш.М. Омаров, А.Ш. Омаров, 1995).

Н.И. Белостоцкий и соавт. (2009) отметили наличие у меда, маточного молочка и прополиса общего конечного функционального вектора воздействия на экспериментально вызванный язвенный процесс, а именно репарационного заживляющего вектора, который выражается в ускорении заживления язвенного дефекта. При этом конечный репарационный вектор является для различных исследованных продуктов результирующей различных по составу и интенсивности внутренних процессов, определяемых их функциональным воздействием на различные звенья патогенеза язвенного процесса. Для меда выделяют несколько элементов воздействия: стимуляция эндогенных антиоксидантных систем, общее анаболическое действие, стимуляция цитопротекции. Действие прополиса основано на его противовоспалительных и антиоксидантных свойствах. Маточное молочко обладает антиоксидантными свойствами и способно воздействовать на все виды метаболизма.

Продукты пчеловодства – это биологически активные вещества, содержащие белки, липиды, углеводы, витамины, минеральные вещества, энзимы, гормоны и благодаря своей высокой биологической активности способные влиять на множество функций организма (Е.А. Дубцова, 2009).

Таким образом, применение выбранной модельной биологической системы может служить основой для изучения окислительной модификации белков в комплексе с молекулами средней массы. Изучение биохимических особенностей продуктов пчеловодства по исследуемым тестам может быть перспективно в плане дальнейших разработок фармакологических препаратов и индикаторных тест-систем оценки свободно-радикальных процессов.

В соответствии с поставленной целью и задачами исследования были сформированы серии наблюдений в условиях спонтанного и Fe^{2+} -индуцированного окисления:

- I. в изучаемой модельной биологической системе (желточные липопротеиды), а также в сыворотке крови крыс, продуктах пчеловодства (прополис, гомогенат трутневого расплода, мед, маточное молочко);
- II. в модельной биологической системе с добавлением продуктов пчеловодства или сыворотки крови экспериментальных животных (крысы);
- III. в модельной биологической системе с одновременным добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы).

Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария на обычном рационе питания. Кровь у крыс забиралась из хвостовой вены, с соблюдением необходимых требований к проведению экспериментов.

В каждой серии наблюдений эксперименты проводили в 7 повторностях.

Схема построения серий наблюдений в модельной биологической системе (МБС) в условиях спонтанного и Fe^{2+} -индуцированного окисления

показана на рисунке 1.

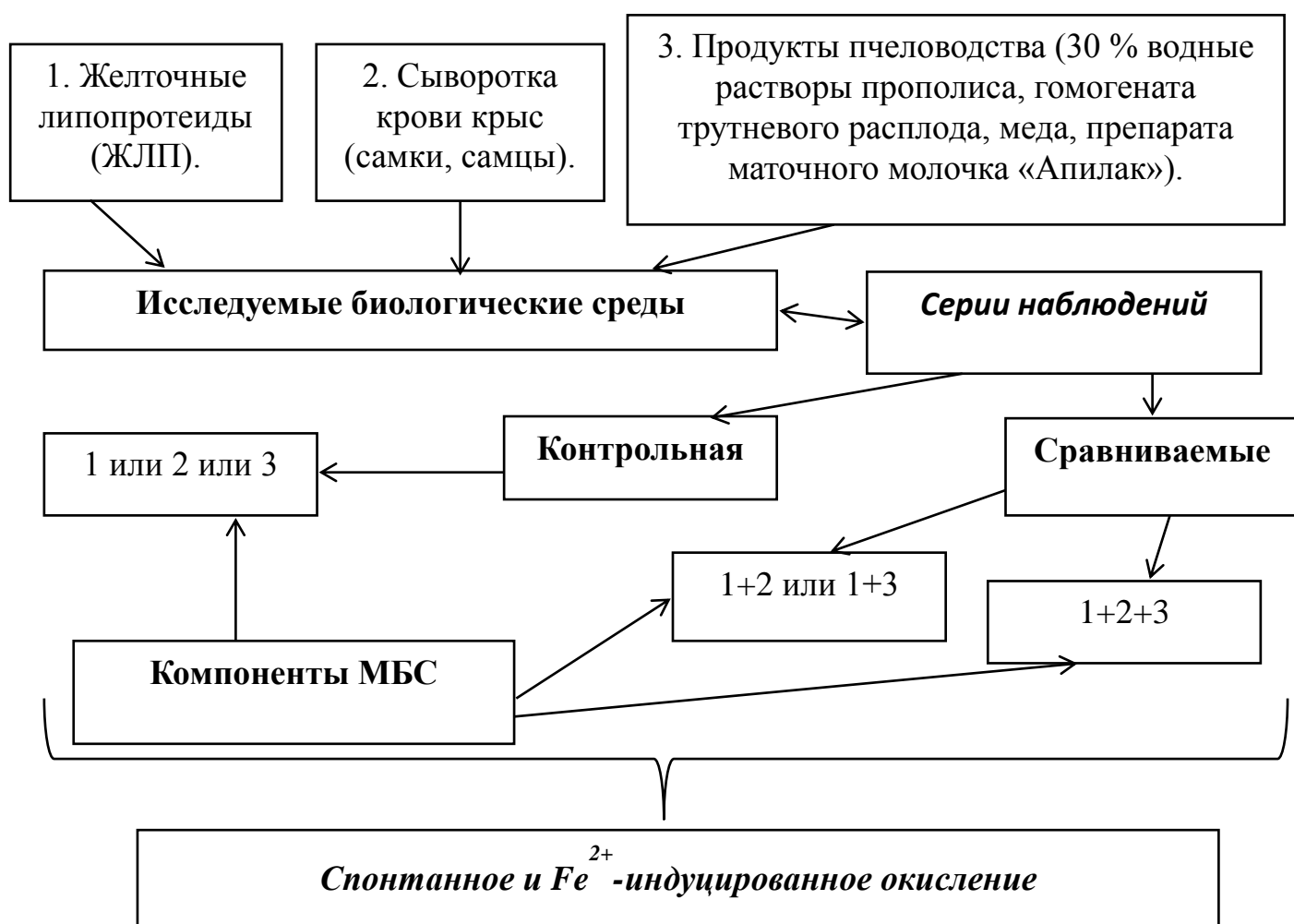


Рисунок 1. Схема построения серий наблюдений в модельной биологической системе (МБС) в условиях спонтанного и Fe^{2+} -индуцированного окисления.

2.2. Методы исследования.

Изучались уровни окислительной модификации белков (ОМБ) в пуле молекул средней массы (МСМ) с помощью разработанного способа (патент на изобретение Российской Федерации № 2525437, в соавторстве).

Спецификой метода, используемого нами, является его нацеленность на увеличение информативности биохимических тестов определения МСМ и ОМБ путем исследования их в комплексе – в одной и той же пробе

и снижение расхода биологического материала (рисунок 2). Т.е. одновременно в пробах производят определение уровня и МСМ, и ОМБ.

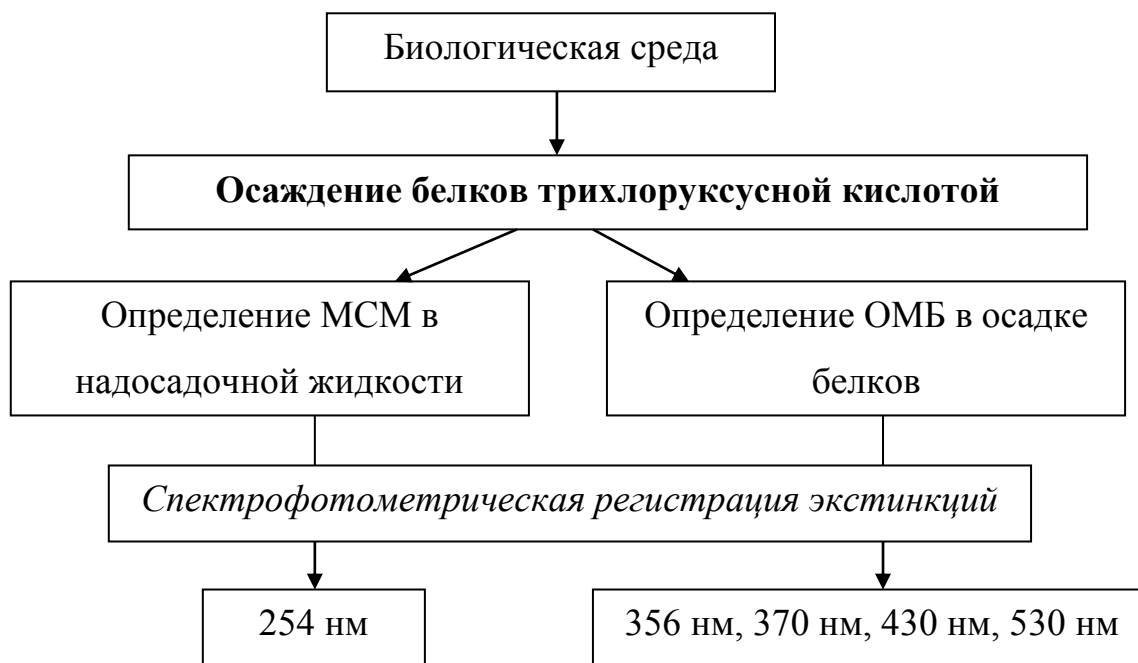


Рисунок 2. Схема метода оценки окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы.

Для проведения измерений экстинкций 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).

Для обработки и интерпретации полученных результатов применены стандартные методы статистического анализа полученных данных с использованием компьютерной программы «Excel»: вариационная статистика для малых выборок с применением t-критерия Стьюдента, корреляционный анализ (С. Глянц, 1998).

Глава 3.

Исследование уровня окислительной модификации белков и молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопротеидов, продуктах пчеловодства как веществах природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотке крови экспериментальных животных (крысы)

3.1. Сравнительная оценка спонтанной окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы.

В проведенном исследовании был применен предложенный нами (Г.К. Рубцов и соавт., 2012) метод оценки окислительной модификации белков (ОМБ) и уровня молекул средней массы (МСМ). Этот метод предполагает выявление уровней окислительной модификации белков различного характера, регистрируемых в исследуемых пробах на длинах волн 356, 370, 430, 530 нм.

Полученные в нашей работе результаты позволили характеризовать отличительные особенности исследованной модельной биологической системы по уровням МСМ и ОМБ.

Уровни МСМ и ОМБ (в единицах оптической плотности) в исследованных биологических средах при спонтанном окислении представлены в таблице 1.

Анализ таблицы 1 показывает, что уровни МСМ в пробе желточных липопротеидов и сыворотке крови крыс (как самцов, так и самок) близки друг к другу.

Сопоставление величин МСМ в продуктах пчеловодства позволило расположить их в порядке убывания значений: маточное молочко (препарат «Апилак»), прополис, мед, гомогенат трутневого расплода.

Таблица 1. Уровни МСМ и ОМБ (в единицах оптической плотности) – спонтанное окисление.

Исследованные биологические среды	МСМ	ОМБ			
		356 нм	370 нм	430 нм	530 нм
Желточные липопротеиды *	0,2± 0,02	1,0±0,02	0,92±0,009	0,6±0,007	0,28±0,04
Прополис**	0,26± 0,015	0,45±0,02	0,3±0,05	0,61± 0,008	0,52±0,005
Гомогенат трутневого расплода**	0,02± 0,001 ****	0,03± 0,0006	0,055±0,001	0,05± 0,001	0,05±0,001
Мед**	0,09± 0,005 ***	1,15±0,025	1,1±0,02	0,64± 0,006****	0,32± 0,009****
Маточное молочко (препарат «Апилак»)**	0,36± 0,01 ***	1,16±0,01	1,05±0,01	0,74± 0,01 ***	0,25± 0,005 ***
Сыворотка крови крыс (самки)	0,18± 0,01	1,1±0,01	1,06±0,03	0,61±0,02	0,2±0,01
Сыворотка крови крыс (самцы)	0,18± 0,007	1,03±0,007	1,03±0,007	0,6±0,02	0,24±0,007

Примечание: * по методике Г.И. Клебанова и соавт. (1988), ** 30 % водные растворы, *** - $p < 0,05$ по отношению к прополису, **** - $p < 0,05$

по отношению к меду.

Величины МСМ в маточном молочке были выше, чем в прополисе, в 1,4 раза ($p < 0,05$). Уровни МСМ в прополисе были больше значения в меде в 2,9 раза, а в меде, по сравнению с гомогенатом трутневого расплода, - выше в 4,5 раза ($p < 0,05$).

Анализ уровней ОМБ различного характера свидетельствует о том, что наиболее показательна их регистрация при длинах волн 430 и 530 нм. В продуктах пчеловодства при спонтанном окислении выявлены следующие отличительные особенности:

1) наиболее показательны уровни ОМБ в пуле МСМ в маточном молочке, меде и прополисе;

2) при длине волны 430 нм по величинам ОМБ их можно расположить в порядке убывания – маточное молочко, мед, прополис (в маточном молочке больше, чем в меде и в прополисе в 1,2 раза, $p < 0,05$);

3) при длине волны 530 нм по убыванию величин ОМБ порядок обратный – прополис, мед, маточное молочко (в прополисе больше, чем в меде и в маточном молочке в 1,6 раза и 2,1 раза соответственно, $p < 0,05$).

Отмечены статистически достоверные корреляционные взаимосвязи уровня МСМ и величин ОМБ ($p < 0,05$):

1) при длине волны 430 нм – в маточном молочке ($r = 0,56$);

2) при длине волны 530 нм – в прополисе ($r = 0,59$), гомогенате трутневого расплода ($r = 0,46$).

Таким образом, проведено сравнительное изучение уровней ОМБ и уровня МСМ в условиях спонтанного окисления. Это позволило установить их характерные отличия по исследуемым биохимическим тестам.

3.2. Сравнительная оценка Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы.

В проведенной нами работе, наряду со спонтанной ОМБ, рассмотрено Fe^{2+} -индуцированное (по методике Г.И. Клебанова и соавт., 1988) ОМБ в пуле МСМ в модельных биологических системах - таблица 2.

В условиях Fe^{2+} -индуцированного окисления уровни МСМ сыворотки крови крыс самок и самцов были выше, по сравнению с пробой желточных липопротеидов, в 1,2 и 1,3 раза соответственно ($p < 0,05$). В продуктах пчеловодства наиболее высокие величины МСМ при Fe^{2+} -индуцированном окислении показали маточное молочко, мед, прополис, которые можно расположить в порядке убывания (в маточном молочке больше, чем в меде и в прополисе в 1,5 раза и 1,8 раза соответственно, $p < 0,05$).

Анализ значений ОМБ в условиях Fe^{2+} -индуцированного окисления, как и при спонтанном окислении, показал наибольшую информативность их регистрации при длинах волн 430 и 530 нм.

Такие продукты пчеловодства, как маточное молочко, мед и прополис характеризовались наибольшими величинами данного теста. При длине волны 430 нм по величинам ОМБ их можно расположить в порядке убывания – маточное молочко, прополис, мед (в маточном молочке больше, чем в прополисе и в меде в 1,3 раза и в 1,4 раза, $p < 0,05$). При длине волны 530 нм по убыванию величин ОМБ – прополис, мед, маточное молочко (в прополисе больше, чем в меде и в маточном молочке в 1,5 раза и 2 раза соответственно, $p < 0,05$).

Выявлены статистически достоверные корреляционные взаимосвязи уровня МСМ и величин ОМБ при Fe^{2+} -индуцированном окислении ($p < 0,05$):

Таблица 2. Уровни МСМ и ОМБ (в единицах оптической плотности) – Fe²⁺-индуцированное окисление.

Исследованные биологические среды	МСМ	ОМБ			
		356 нм	370 нм	430 нм	530 нм
Желточные липопротеиды*	0,57± 0,03	1,02±0,01	0,91±0,02	0,51±0,04	0,28±0,03
Прополис**	0,32± 0,01	0,49±0,008	0,37±0,01	0,67±0,009	0,54±0,01
Гомогенат трутневого расплода**	0,028± 0,001	0,049± 0,001	0,071± 0,001	0,055± 0,001	0,06±0,001
Мед**	0,38± 0,01	1,12± 0,025	1,06±0,02	0,6±0,04	0,35±0,01 ***
Маточное молочко (препарат «Апилак»)**	0,56± 0,01***, ****	1,26± 0,025	1,24± 0,02	0,86± 0,02***, ****	0,27±0,01 ***
Сыворотка крови крыс (самки)	0,68± 0,03□	1,02±0,02	0,99±0,03	0,59±0,01	0,21±0,01
Сыворотка крови крыс (самцы)	0,76± 0,01□	1,15± 0,04	1,01±0,01	0,59±0,03	0,31±0,02

Примечание: * по методике Г.И. Клебанова и соавт. (1988), ** 30 % водные растворы, □ - p<0,05 по отношению к желточным липопротеидам,

*** - $p < 0,05$ по отношению к прополису, **** - $p < 0,05$ по отношению к меду.

1) при длине волны 430 нм – в маточном молочке ($r=0,48$);

2) при длине волны 530 нм – в прополисе ($r=0,71$), гомогенате трутневого расплода ($r=0,51$), маточном молочке ($r=0,6$), сыворотке крови самцов крыс ($r=0,6$).

Таким образом, анализ уровней ОМБ в пуле МСМ ряда модельных биологических систем в условиях Fe^{2+} -индуцированного окисления показал их отличительные по изучаемым биохимическим параметрам.

3.3. Обоснование маркерных параметров для оценки окислительной модификации белков в совокупности с уровнем молекул средней массы.

Для выбора маркерных параметров для оценки окислительной модификации белков в совокупности с уровнем молекул средней массы было необходимо провести анализ чувствительности рассматриваемой модельной биологической системы к инициированию окисления. Нами было выбрано Fe^{2+} -индуцированное окисление по методике Г.И. Клебанова и соавт. (1988).

Общей тенденцией было установлено увеличение значений МСМ при Fe^{2+} -индуцированном окислении, по сравнению со спонтанным окислением, $p < 0,05$ (рисунок 3): в меде – в 4,2 раза; в сыворотке крови крыс самцов и самок – в 4,2 раза и 3,8 раза соответственно; в желточных липопротеидах – в 2,9 раза; в маточном молочке – в 1,6 раза; в прополисе – в 1,2 раза.

Выявлено, что величины ОМБ, регистрируемые при 430 нм (длине волны, проявившей себя как одной из маркерных), наиболее показательны

изменяются в сторону увеличения при Fe^{2+} -индуцированном окислении, по отношению к спонтанному окислению, в маточном молочке – в 1,2 раза $p < 0,05$ (рисунок 4).

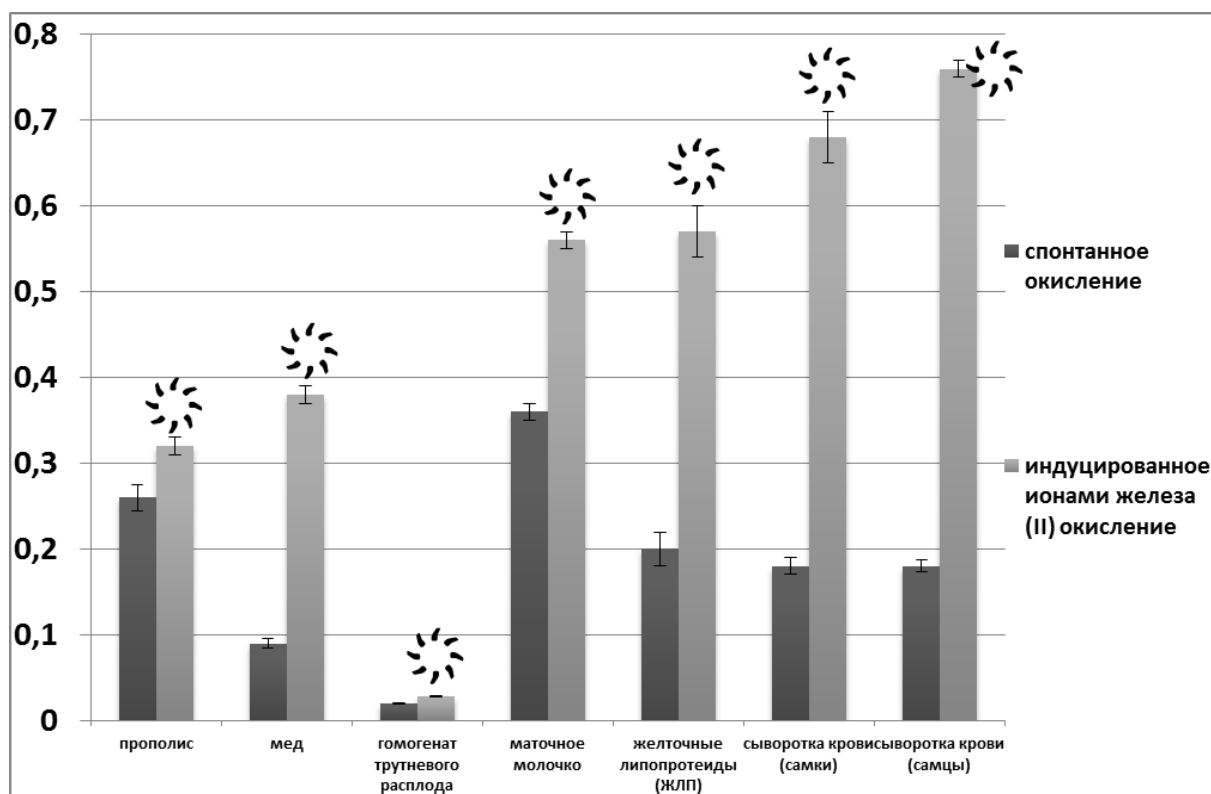


Рисунок 3. Уровни МСМ в модельных биологических системах при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (*, * - $p < 0,05$ по отношению к спонтанному окислению).

Прополис показал статистически значимые отличия при 430 нм: более высокие значения уровней ОМБ в условиях Fe^{2+} -индуцированного окисления, по сравнению со спонтанным окислением, - в 1,1 раза ($p < 0,05$).

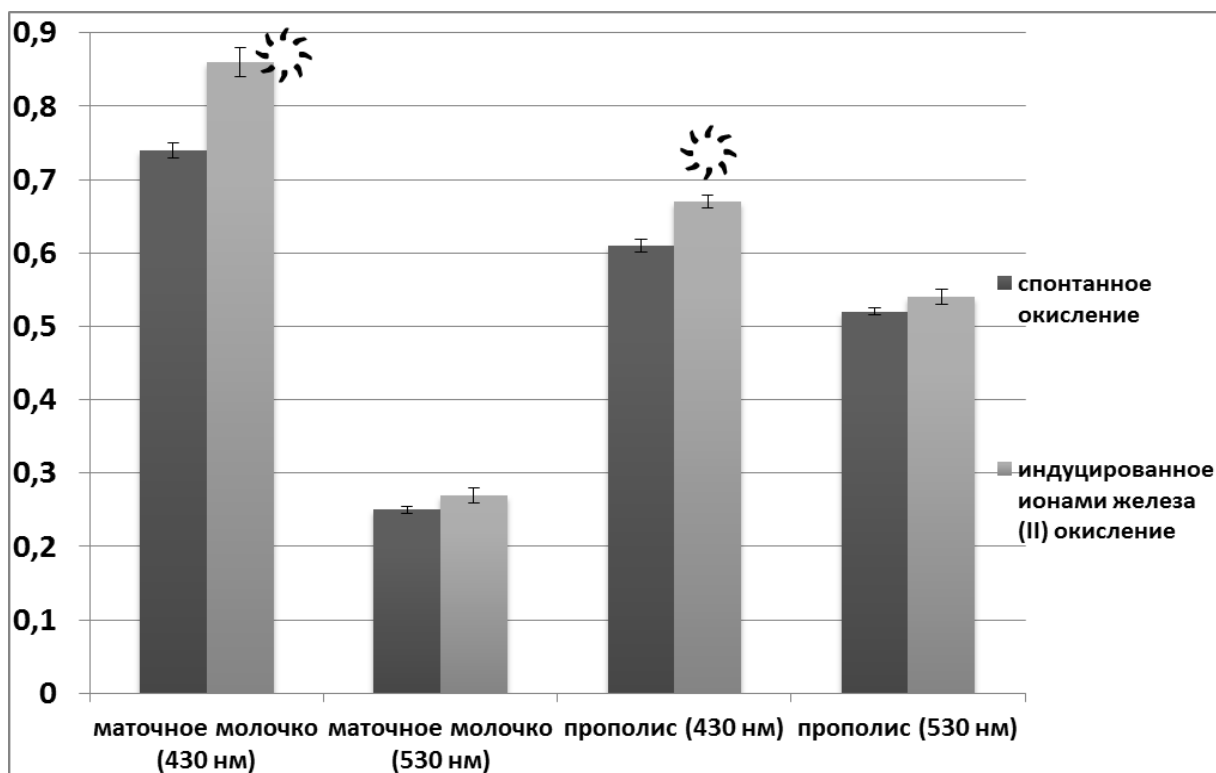


Рисунок 4. Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм и 530 нм, в маточном молочке (препарат «Апилак») и прополисе при спонтанном и Fe²⁺-индуцированном окислении (* - p<0,05 по отношению к спонтанному окислению).

Таким образом, маркерными параметрами для оценки окислительной модификации белков в совокупности с уровнем молекул средней массы могут служить величины, регистрируемые при 430 нм и 530 нм.

Глава 4.

Разработка подходов комплексного использования модельной биологической системы желточных липопротеидов при одновременном добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы) при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении

4.1. Комплексное использование модельной биологической системы для изучения спонтанной окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы.

Биохимическая оценка уровня ОМБ в пуле МСМ в изучаемой модельной биологической системе позволяет выявить маркерные их отличия и определить возможности их комплексного использования. В нашей работе проведены следующие серии наблюдений в условиях спонтанного окисления:

- 1) в желточных липопротеидах (ЖЛП) с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс – таблица 3;
- 2) в желточных липопротеидах с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (самки) – таблица 4;
- 3) в желточных липопротеидах с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (самцы) - таблица 5.

Анализ первой серии наблюдений (рисунок 5) выявил две основные тенденции. У желточных липопротеидов при добавлении прополиса, маточного молочка и сыворотки крови величины МСМ были выше, чем без добавления, а у меда и гомогената трутневого расплода проявилась обратная тенденция.

Таблица 3. Уровни МСМ и ОМБ (в единицах оптической плотности) в желточных липопротеидах (ЖЛП) с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс – спонтанное окисление.

Желточные липопротеиды + продукты пчеловодства или сыворотка крови крыс	МСМ	ОМБ			
		356 нм	370 нм	430 нм	530 нм
Прополис**	0,21± 0,02	1,2± 0,01	1,15±0,01	0,65±0,012	0,37±0,01
Гомогенат трутневого расплода**	0,2± 0,01	1,12± 0,01	0,93±0,02	0,64±0,01	0,22±0,005
Мед**	0,15± 0,01	1,25±0,01	1,22±0,01	0,73±0,02	0,33±0,02
Маточное молочко (препарат «Апилак»)**	0,18± 0,005	1,35± 0,015	1,17±0,01	0,71±0,01	0,31±0,02
Сыворотка крови крыс (самки)	0,06±0, 004	1,14±0,02	1,02±0,008	0,67±0,02	0,35±0,03
Сыворотка крови крыс (самцы)	0,054± 0,002	1,15±0,01	1,14±0,02	0,66±0,016	0,33±0,04

Примечание: ** 30 % водные растворы, □ - $p < 0,05$ по отношению к желточным липопротеидам.

Уровни ОМБ проявили общую тенденцию снижения величин при переходе от 356 нм к 530 нм. Сравнительное их изучение по уровням ОМБ показало наиболее ярко выраженные отличительные особенности при 530 нм – рисунок 6.

Таблица 4. Уровни МСМ и ОМБ (в единицах оптической плотности) в желточных липопроотеидах с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (самки) – спонтанное окисление.

Продукты пчеловодства	МСМ	ОМБ			
		356 нм	370 нм	430 нм	530 нм
Прополис**	0,26± 0,01	1,23±0,01	1,2±0,01	0,79±0,02	0,31±0,015
Гомогенат трутневого расплода**	0,23± 0,005	1,19± 0,009	1,11±0,009	0,62± 0,006	0,22±0,001
Мед**	0,23± 0,01	1,25±0,01	1,19±0,02	0,66±0,01	0,37±0,02
Маточное молочко (препарат «Апилак»)**	0,23± 0,02	1,21± 0,03	1,12±0,01	0,59±0,004	0,23±0,002

Примечание: ** 30 % водные растворы.

Установлено, что при 530 нм уровень ОМБ в присутствии желточных липопроотеидов повышался, за исключением прополиса.

Обнаружены статистически достоверные корреляционные взаимосвязи уровня МСМ и величин ОМБ в желточных липопроотеидах

(ЖЛП) с добавлением продуктов пчеловодства или сыворотки крови крыс ($p < 0,05$):

1) при длине волны 430 нм – при добавлении к ЖЛП сыворотки крови крыс (самок – $r=0,63$, самцов – $r=0,57$);

2) при длине волны 530 нм – при добавлении к ЖЛП гомогената трутневого расплода ($r=0,68$), меда ($r=0,67$), сыворотки крови крыс (самок – $r=0,49$, самцов – $r=0,58$).

Таблица 5. Уровни МСМ и ОМБ (в единицах оптической плотности) в желточных липопроотеидах с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (самцы) – спонтанное окисление.

Продукты пчеловодства	МСМ	ОМБ			
		356 нм	370 нм	430 нм	530 нм
Прополис**	0,29± 0,008	1,23± 0,01	1,18±0,03	0,7±0,05	0,25±0,02
Гомогенат трутневого расплода**	0,23± 0,003	1,23± 0,01	1,09±0,01	0,65±0,02	0,32±0,005
Мед**	0,18± 0,008	1,26± 0,01	1,2±0,01	0,68±0,02	0,23±0,02
Маточное молочко (препарат «Апилак»)**	0,22± 0,004	1,24± 0,001	1,1± 0,007	0,64±0,002	0,23±0,004

Примечание: ** 30 % водные растворы.

Анализ уровней ОМБ в желточных липопроотеидах при добавлении продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс, по сравнению с

модельной биологической системой без добавления сыворотки крови крыс, как и в предыдущей серии наблюдений, показал наиболее ярко выраженные отличительные особенности при 530 нм – рисунок 7. В случае прополиса величины ОМБ были меньше при добавлении сыворотки крови самок и самцов крыс в 1,2 раза и в 1,5 раза соответственно ($p < 0,05$), для маточного молочка – в 1,4 раза ($p < 0,05$).

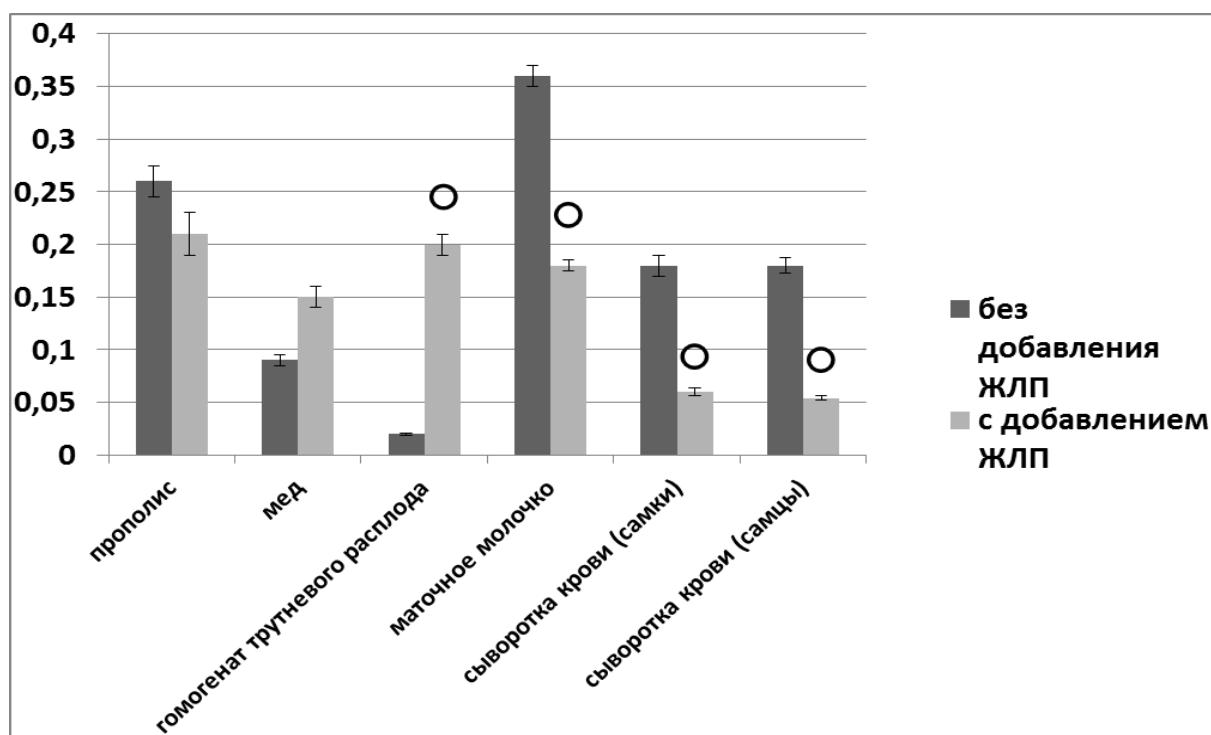


Рисунок 5. Уровни МСМ в желточных липопротеидах с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (○ - $p < 0,05$ по отношению к пробам без добавления ЖЛП).

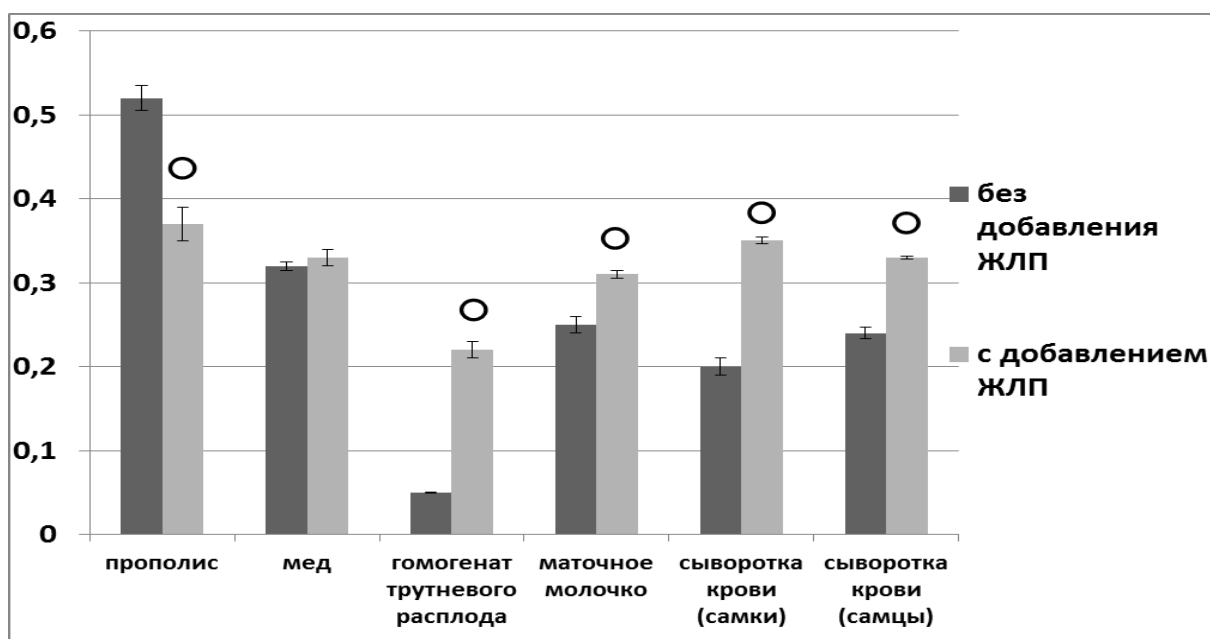


Рисунок 6. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в желточных липопротеидах с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс

(○ - $p < 0,05$ по отношению к пробам без добавления ЖЛП).

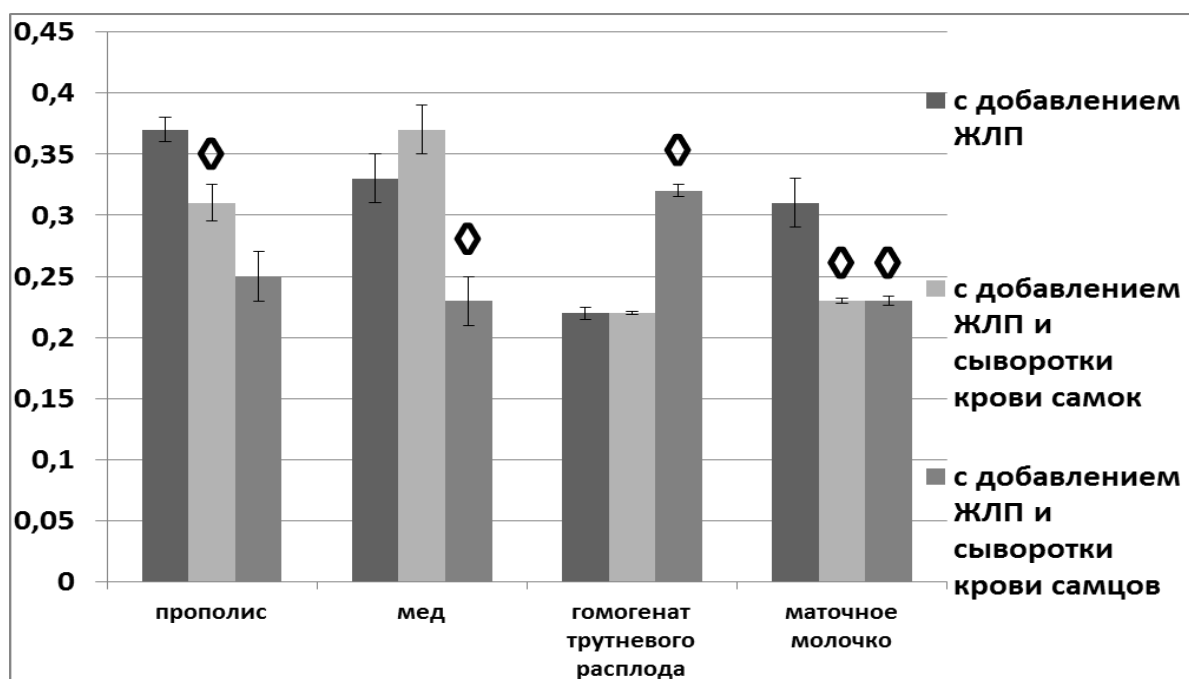


Рисунок 7. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в желточных липопротеидах при добавлении продуктов пчеловодства и сыворотки крови

(◇ - $p < 0,05$ по отношению к пробам с добавлением ЖЛП).

Выявлены статистически достоверные корреляционные взаимосвязи уровня МСМ и величин ОМБ в желточных липопротеидах (ЖЛП) с одновременным добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс ($p < 0,05$):

1) при добавлении сыворотки крови самок крыс – в ЖЛП с прополисом (при 430 нм – $r=0,49$, при 530 нм – $r=0,69$), в ЖЛП с гомогенатом трутневого расплода (при 430 нм – $r=0,56$, при 530 нм – $r=0,58$);

2) при добавлении сыворотки крови самцов крыс – в ЖЛП с прополисом (при 430 нм – $r=0,45$), в ЖЛП с гомогенатом трутневого расплода (при 430 нм – $r=0,62$, при 530 нм – $r=0,6$), в ЖЛП с медом (при 530 нм – $r=0,91$), в ЖЛП с маточным молочком (при 430 нм – $r=0,76$, при 530 нм – $r=0,8$).

Таким образом, возможно комплексное использование модельных биологических систем для изучения спонтанной окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы. Одним из эффективных вариантов такого использования может служить модельная биологическая система маточного молочка с добавлением желточных липопротеидов, а также с добавлением сыворотки крови крыс.

4.2. Комплексное использование модельной биологической системы для изучения Fe^{2+} -индуцированной окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы.

Серии наблюдений для изучения индуцированной окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы были аналогичны сериям наблюдений в случае спонтанного окисления: с добавлением к желточным липопротеидам продуктов пчеловодства, а также продуктов

пчеловодства и сыворотки крови крыс (самок или самцов).

Уровни МСМ и ОМБ в модельной биологической системе (МБС) с добавлением желточных липопротеидов при Fe^{2+} -индуцированном окислении представлены в таблице 6. Анализ полученных результатов (рисунок 8) выявил две основные тенденции. У прополиса и гомогената трутневого расплода при добавлении желточных липопротеидов величины МСМ были выше, чем без добавления желточных липопротеидов, а у меда и сыворотки крови проявилась обратная тенденция. Например, для меда уровень МСМ без добавления желточных липопротеидов, по сравнению с добавлением желточных липопротеидов, был больше в 1,4 раза ($p < 0,05$).

Уровни ОМБ в модельных биологических системах с добавлением желточных липопротеидов 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 модельными биологическими системами без добавления желточных липопротеидов, показало наиболее ярко выраженные отличительные особенности при 530 нм – рисунок 9.

Установлено, что при 530 нм уровень ОМБ в пуле МСМ при добавлении желточных липопротеидов повышался во всех модельных биологических системах, за исключением прополиса – имело место уменьшение значений при добавлении желточных липопротеидов в 1,3 раза ($p < 0,05$).

Установлены статистически достоверные корреляционные взаимосвязи уровня МСМ и величин ОМБ в желточных липопротеидах (ЖЛП) с добавлением продуктов пчеловодства или сыворотки крови крыс при Fe^{2+} -индуцированном окислении ($p < 0,05$):

1) при длине волны 430 нм – при добавлении к ЖЛП гомогената трутневого расплода ($r = 0,78$), сыворотки крови самок крыс ($r = 0,87$);

Таблица 6. Уровни МСМ и ОМБ (в единицах оптической плотности) в желточных липопротеидах (ЖЛП) с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс – Fe²⁺-индуцированное окисление.

Желточные липопротеиды + продукты пчеловодства или сыворотка крови	МСМ	ОМБ			
		356 нм	370 нм	430 нм	530 нм
Прополис**	0,69± 0,03	1,2±0,02	1,15±0,01	0,68±0,02	0,41±0,03
Гомогенат трутневого расплода**	0,54± 0,015	1,34± 0,02	1,13±0,007	0,74±0,01	0,46±0,008
Мед**	0,54± 0,02	1,34±0,02	1,2±0,01	0,73±0,02	0,46±0,03
Маточное молочко (препарат «Апилак»)**	0,56± 0,02	1,13± 0,02	0,99±0,01	0,63±0,03	0,23±0,02
Сыворотка крови крыс (самки)	0,54± 0,015	1,23±0,01	1,32±0,01	0,77±0,02	0,32±0,02
Сыворотка крови крыс (самцы)	0,54± 0,03	1,33±0,03	1,24±0,03	0,77±0,03	0,44±0,03

Примечание: ** 30 % водные растворы.

2) при длине волны 530 нм – при добавлении к ЖЛП гомогената трутневого расплода ($r=0,81$), меда ($r=0,58$).

Уровни МСМ и ОМБ в модельных биологических системах (МБС) с добавлением желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс самок и самцов при Fe^{2+} -индуцированном окислении даны в таблицах 7 и 8 соответственно.

Таблица 7. Уровни МСМ и ОМБ (в единицах оптической плотности) в желточных липопротеидах с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (самки) – Fe^{2+} -индуцированное окисление.

Продукты пчеловодства	МСМ	ОМБ			
		356 нм	370 нм	430 нм	530 нм
Прополис**	0,45± 0,01	1,27±0,02	1,22±0,01	0,8±0,01	0,52±0,03
Гомогенат трутневого расплода**	0,43± 0,002	1,36± 0,007	1,12±0,009	0,78±0,005	0,43±0,005
Мед**	0,43± 0,007	1,36± 0,015	1,28±0,02	0,74±0,015	0,44±0,03
Маточное молочко (препарат «Апилак»)**	0,41± 0,006	1,35± 0,01	1,22±0,005	0,74±0,003	0,33±0,003

Примечание: ** 30 % водные растворы.

Анализ уровней ОМБ с добавлением желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс, по сравнению с пробами без добавления

сыворотки крови крыс, как и в предыдущей серии наблюдений, а также при спонтанном окислении, показал наиболее ярко выраженные отличительные особенности при 530 нм – рисунок 10. В случае 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 ($p < 0,05$).

Таблица 8. Уровни МСМ и ОМБ (в единицах оптической плотности) в желточных липопротеидах с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (самцы) – Fe^{2+} -индуцированное окисление.

Продукты пчеловодства	МСМ	ОМБ			
		356 нм	370 нм	430 нм	530 нм
Прополис**	0,46± 0,02	1,26± 0,015	1,23±0,01	0,8±0,02	0,5±0,02
Гомогенат трутневого расплода**	0,46± 0,004	1,35± 0,007	1,13±0,01	0,8± 0,007	0,45±0,002
Мед**	0,38± 0,02	1,36± 0,02	1,22±0,02	0,79±0,02	0,35±0,02
Маточное молочко (препарат «Апилак»)**	0,45± 0,007	1,36± 0,01	1,3±0,01	0,75±0,007	0,37±0,006

Примечание: ** 30 % водные растворы.

Выявлены статистически достоверные корреляционные взаимосвязи уровня МСМ и величин ОМБ в желточных липопротеидах (ЖЛП) с

одновременным добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при Fe^{2+} -индуцированном окислении ($p < 0,05$):

1) при добавлении сыворотки крови самок крыс – в ЖЛП с гомогенатом трутневого расплода (при 430 нм – $r=0,67$, при 530 нм – $r=0,78$), в ЖЛП с маточным молочком (при 430 нм – $r=0,63$, при 530 нм – $r=0,67$);

2) при добавлении сыворотки крови самцов крыс – в ЖЛП с прополисом (при 530 нм – $r=0,49$), в ЖЛП с гомогенатом трутневого расплода (при 430 нм – $r=0,79$, при 530 нм – $r=0,66$), в ЖЛП с маточным молочком (при 430 нм – $r=0,64$, при 530 нм – $r=0,78$).

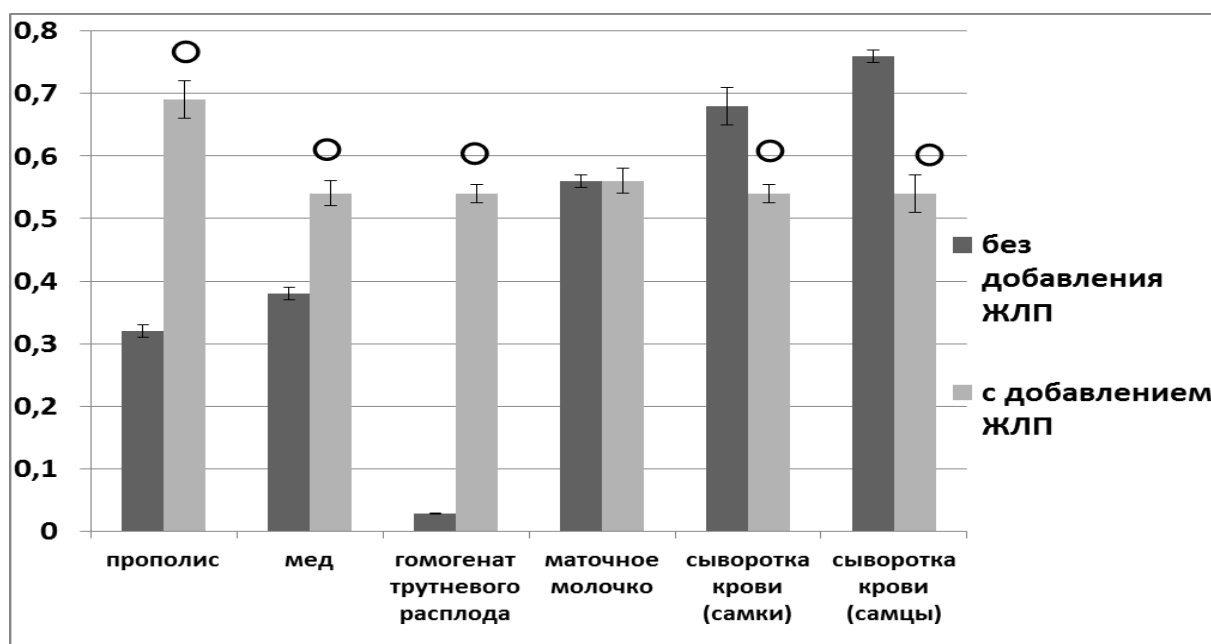


Рисунок 8. Уровни МСМ в желточных липопротеидах с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при Fe^{2+} -индуцированном окислении

(○ - $p < 0,05$ по отношению к пробам без добавления ЖЛП).

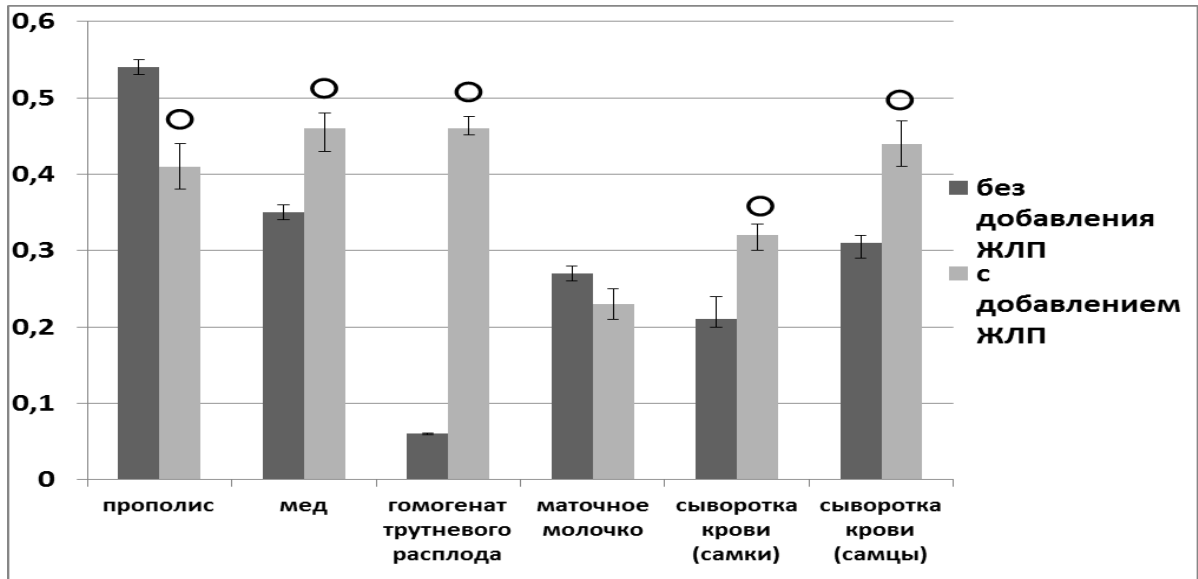


Рисунок 9. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в желточных липопротеидах с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при Fe^{2+} -индуцированном окислении (○ - $p < 0,05$ по отношению к пробам без добавления ЖЛП).

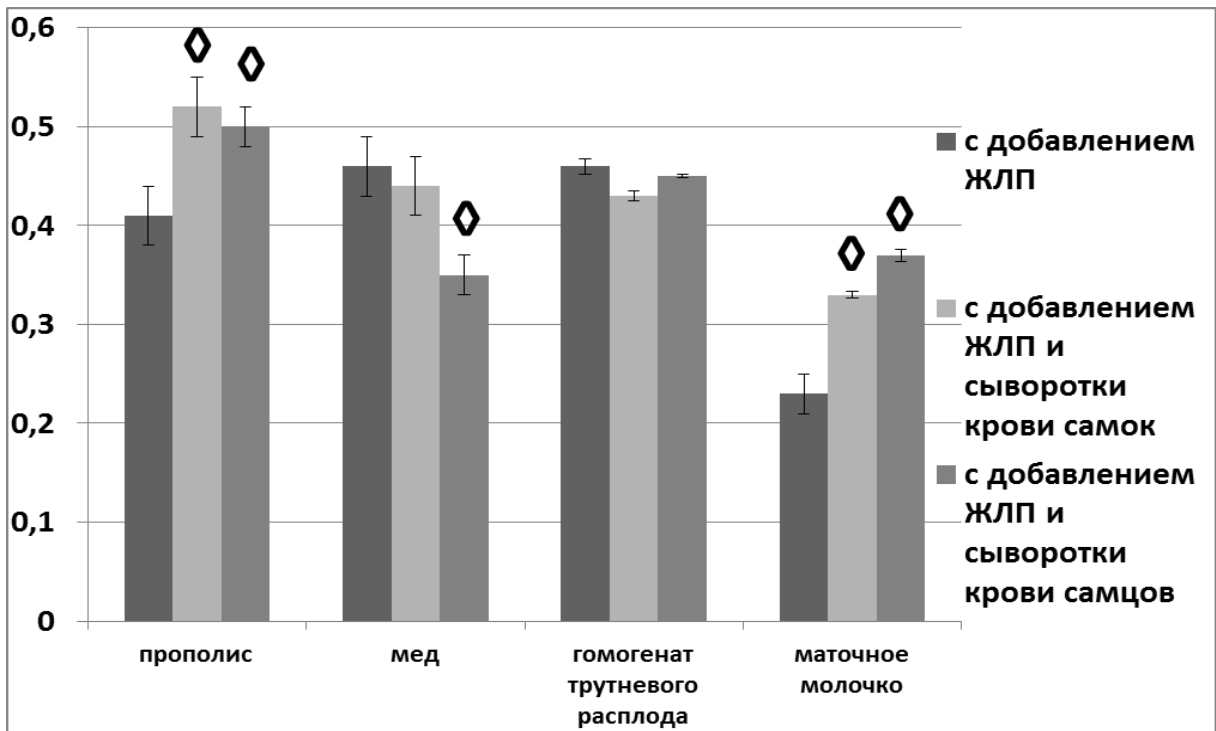


Рисунок 10. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в желточных липопротеидах с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при Fe^{2+} -индуцированном окислении (◇ - $p < 0,05$ по отношению к пробам с добавлением ЖЛП).

Таким образом, представляется перспективным использование модельной биологической системы для изучения Fe^{2+} -индуцированной окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы.

4.3. Обоснование комплексного применения маркерных параметров оценки уровня спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, коррелирующих с уровнем молекул средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеидов.

Одним из оптимальных вариантов практического применения изучаемой модельной биологической системы для анализа изучаемых тестов выявлено добавление маточного молочка. Уровни МСМ в маточном молочке в присутствии желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении представлены на рисунке 11. При добавлении сыворотки крови крыс, как самок, так и самцов, уровень МСМ меньше в случае Fe^{2+} -индуцированного окисления, по отношению к модельной биологической системе «желточные липопротеиды + маточное молочко», - в 1,4 раза и 1,2 раза соответственно ($p < 0,05$).

Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм и 530 нм, в маточном молочке с добавлением желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении показаны на рисунках 12 и 13 соответственно.

Тенденции изменений уровней ОМБ, регистрируемых при 430 нм и 530 нм, в модельных биологических системах «желточные липопротеиды + маточное молочко + сыворотка крови», по сравнению к модельной биологической системе «желточные липопротеиды + маточное молочко», обратны тенденциям изменений уровня МСМ – величины ОМБ

возрастают. При добавлении сыворотки крови крыс, как самок, так и самцов, уровень ОМБ больше в случае Fe^{2+} -индуцированного окисления, при 430 нм - в 1,2 раза, при 530 нм – в 1,4 раза и 1,6 раза соответственно ($p < 0,05$).

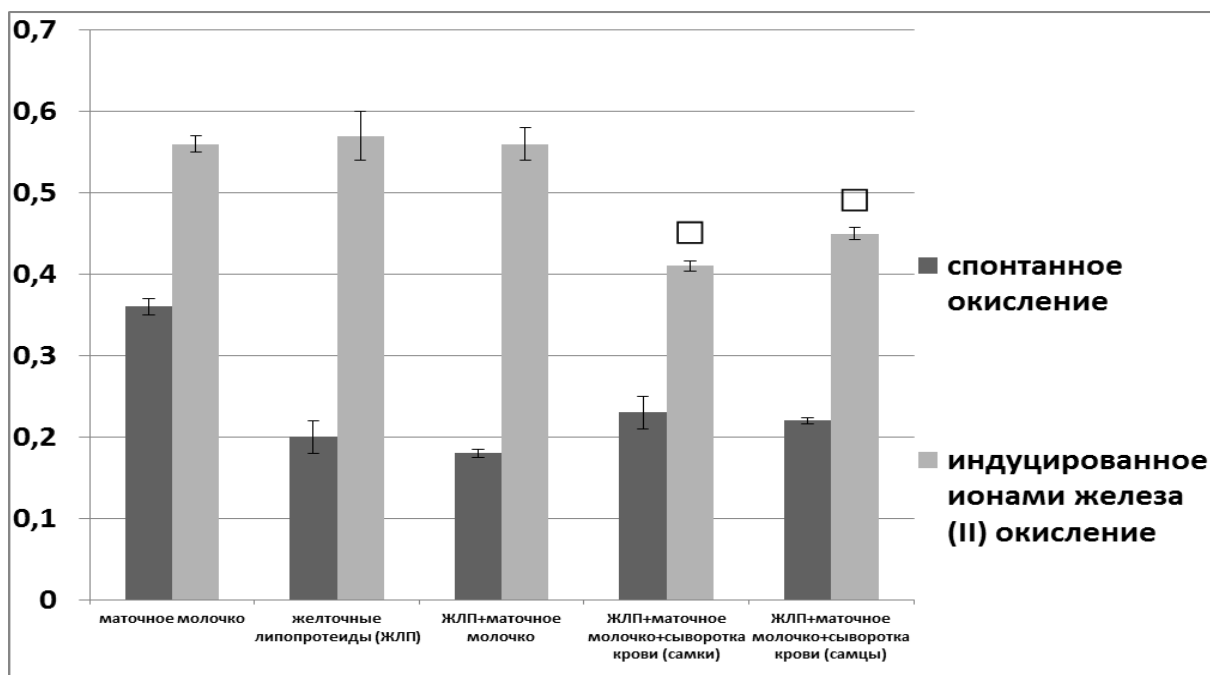


Рисунок 11. Уровни МСМ в маточном молочке в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (\square - $p < 0,05$ по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Уровни МСМ в прополисе с добавлением желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении представлены на рисунке 14. При добавлении сыворотки крови крыс, как самок, так и самцов, уровень МСМ меньше в случае Fe^{2+} -индуцированного окисления, по отношению к модельной биологической системе «желточные липопротеиды + прополис», - в 1,5 раза ($p < 0,05$).

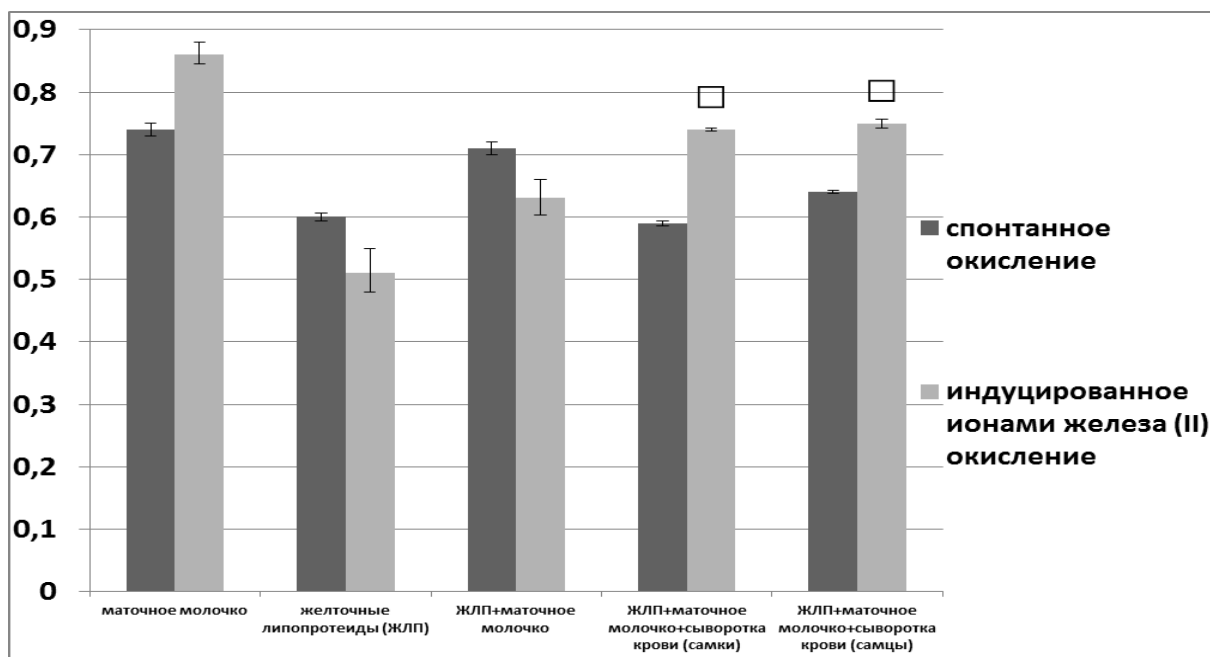


Рисунок 12. Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм, в маточном молочке в присутствии в пробе желточных липопропротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (\square - $p < 0,05$ по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

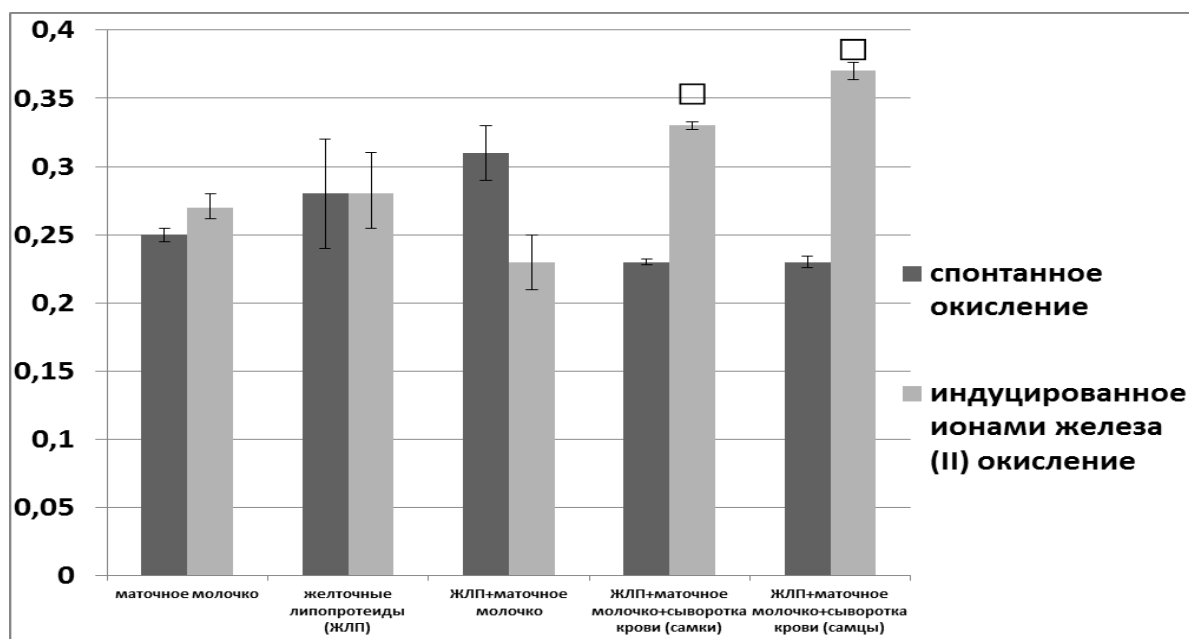


Рисунок 13. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в маточном молочке в присутствии в пробе желточных липопропротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (\square - $p < 0,05$ по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм и 530 нм, в прополисе с добавлением желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении показаны на рисунках 15 и 16 соответственно. При добавлении сыворотки крови крыс, как самок, так и самцов, уровень ОМБ больше в случае Fe^{2+} -индуцированного окисления, при 430 нм - в 1,01 раза и 1,1 раза, при 530 нм – в 1,7 раза и 2 раза соответственно ($p < 0,05$).

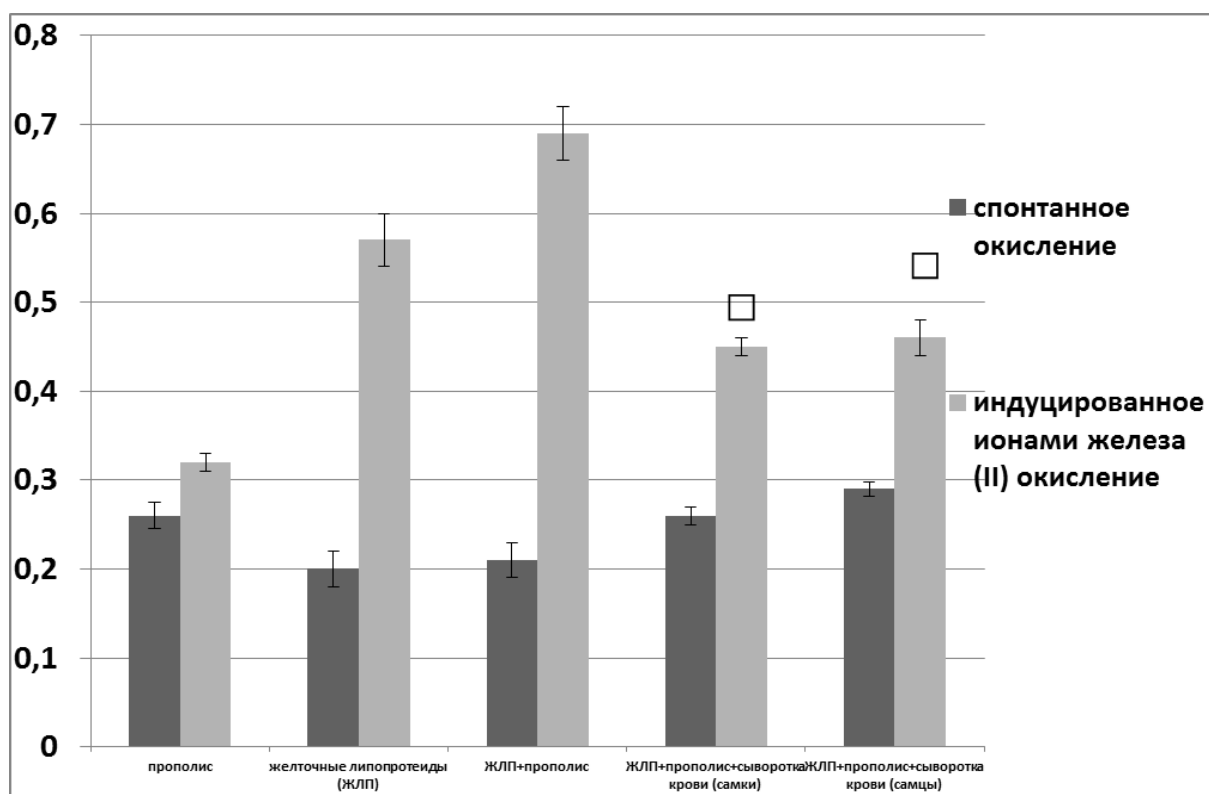


Рисунок 14. Уровни МСМ в прополисе в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (□ - $p < 0,05$ по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Выявленные тенденции уровней МСМ и ОМБ в модельной биологической системе «желточные липопротеиды + сыворотка крови +

прополис» аналогичны таковым тенденциям в модельной биологической системе «желточные липопротеиды + сыворотка крови + маточное молочко», по сравнению с модельной биологической системой «желточные липопротеиды + прополис».

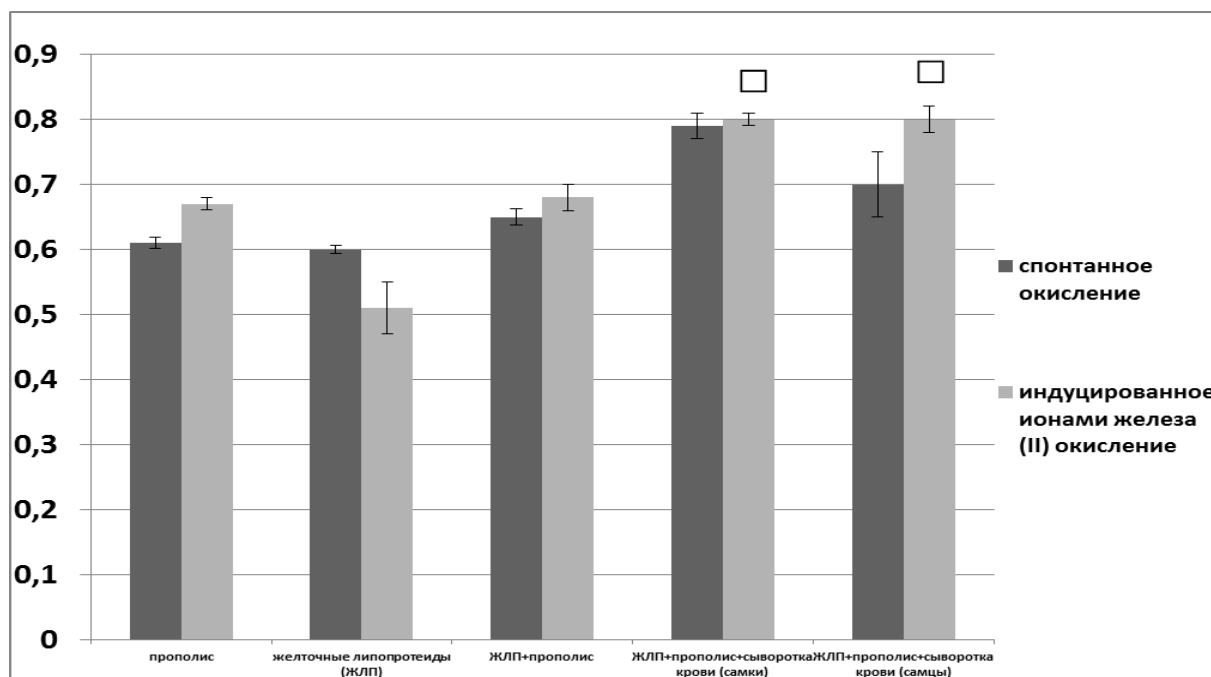


Рисунок 15. Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм, в прополисе в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (\square - $p < 0,05$ по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Уровни МСМ в меде с добавлением желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении представлены на рисунке 17. Как и в случае маточного молочка и прополиса, при добавлении сыворотки крови крыс, как самок, так и самцов, уровень МСМ меньше в случае Fe^{2+} -индуцированного окисления, по отношению к модельной биологической системе «желточные липопротеиды + мед», - в 1,3 раза и 1,4 раза соответственно ($p < 0,05$).

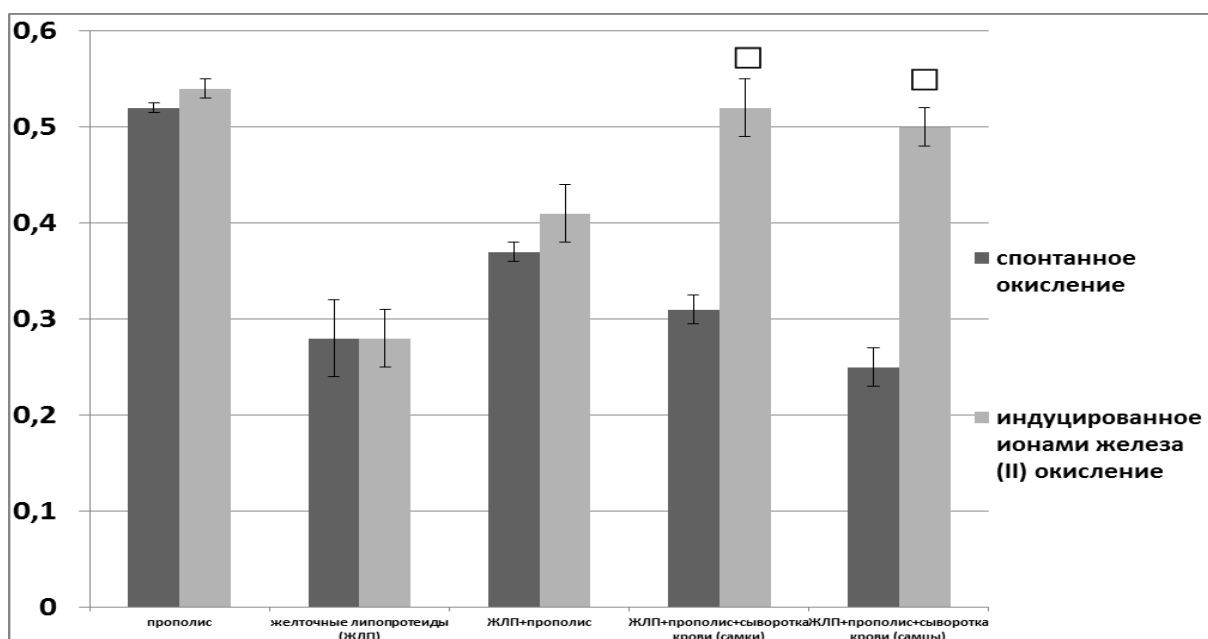


Рисунок 16. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в прополисе в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (\square - $p < 0,05$ по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм и 530 нм, в меде с добавлением желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении показаны на рисунках 18 и 19 соответственно. При добавлении сыворотки крови самок и самцов крыс уровень ОМБ больше в случае Fe^{2+} -индуцированного окисления при 430 нм - в 1,1 раза и 1,2 раза, при 530 нм – при добавлении сыворотки крови самцов крыс в 1,5 раза ($p < 0,05$).

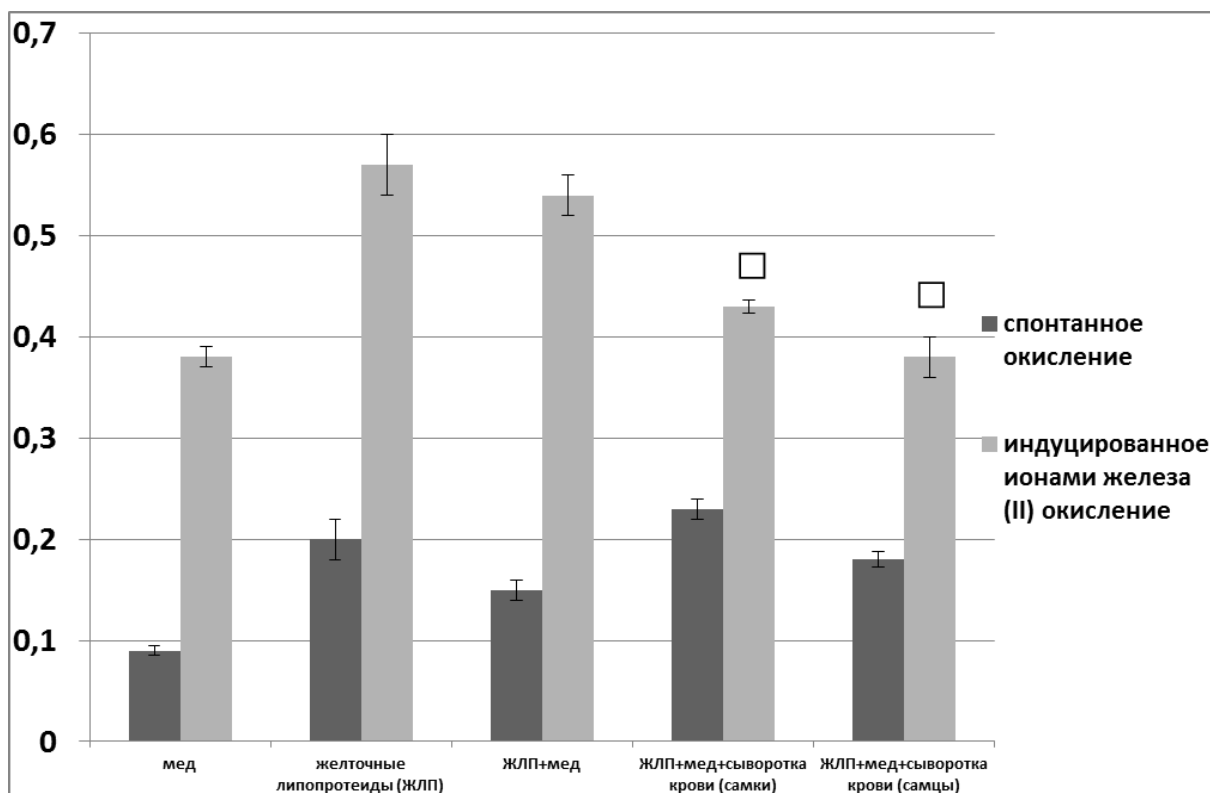


Рисунок 17. Уровни МСМ в меде в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (\square - $p < 0,05$ по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Выявленные тенденции уровней МСМ и ОМБ в модельной биологической системе «желточные липопротеиды + сыворотка крови + мед», по отношению к модельной биологической системе «желточные липопротеиды + мед», схожи с таковыми тенденциями в аналогичной модельной биологической системе с использованием маточного молочка и прополиса.

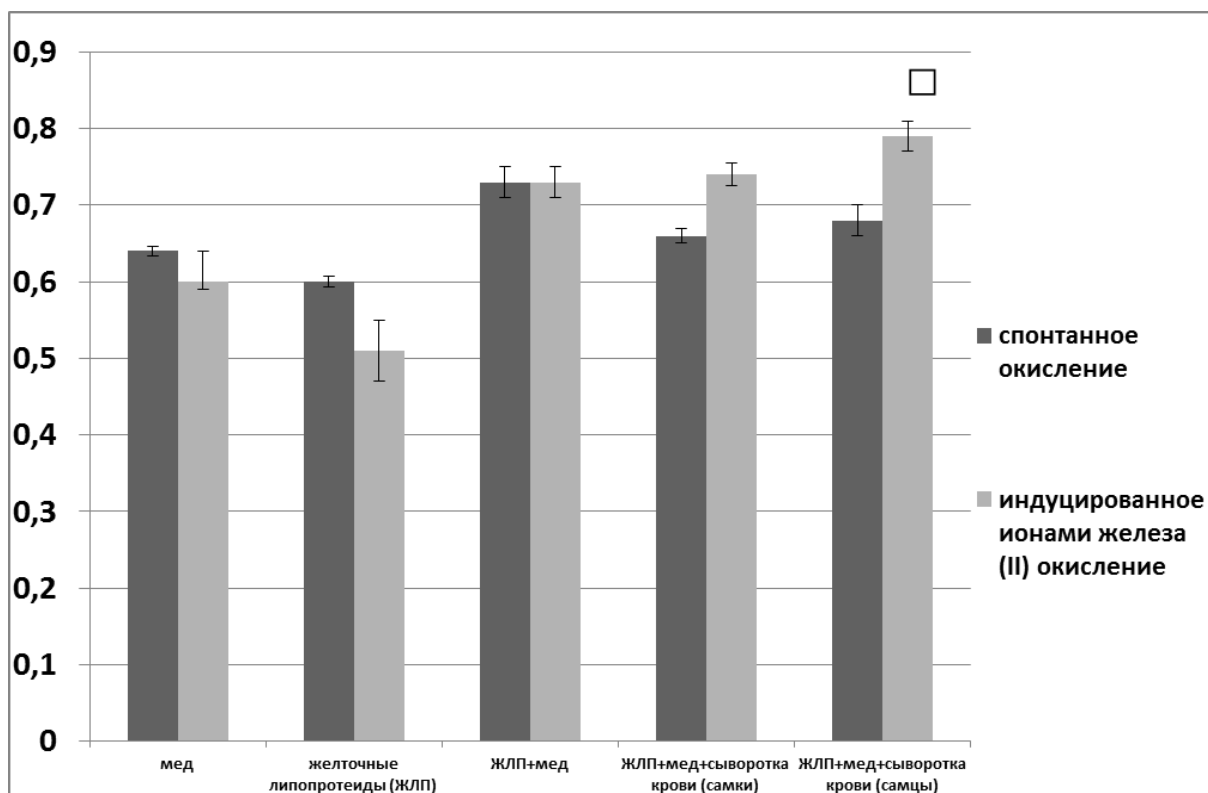


Рисунок 18. Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм, в меде в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (\square - $p < 0,05$ по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Уровни МСМ в гомогенате трутневого расплода с добавлением желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении представлены на рисунке 20. Как и в случае маточного молочка, прополиса и меда, при добавлении сыворотки крови крыс, как самок, так и самцов, уровень МСМ меньше в случае Fe^{2+} -индуцированного окисления, по отношению к модельной биологической системе «желточные липопротеиды + гомогенат трутневого расплода», - в 1,2 раза ($p < 0,05$).

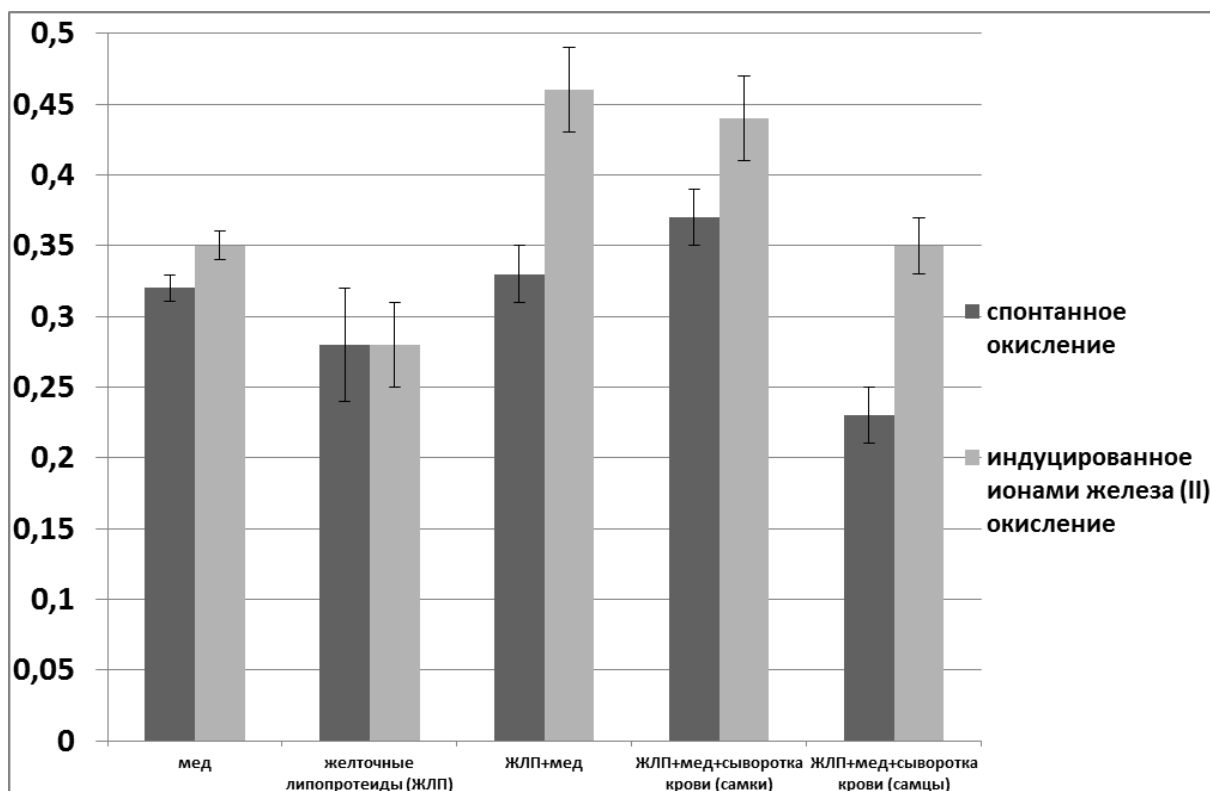


Рисунок 19. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в меде в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (□ - $p < 0,05$ по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм и 530 нм, в гомогенате трутневого расплода с добавлением желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении показаны на рисунках 21 и 22 соответственно. При добавлении сыворотки крови крыс - и самок, и самцов - уровень ОМБ больше в случае Fe^{2+} -индуцированного окисления, при 430 нм - в 1,3 раза и 1,2 раза соответственно, при 530 нм – в 2 раза при добавлении сыворотки крови самок крыс ($p < 0,05$).

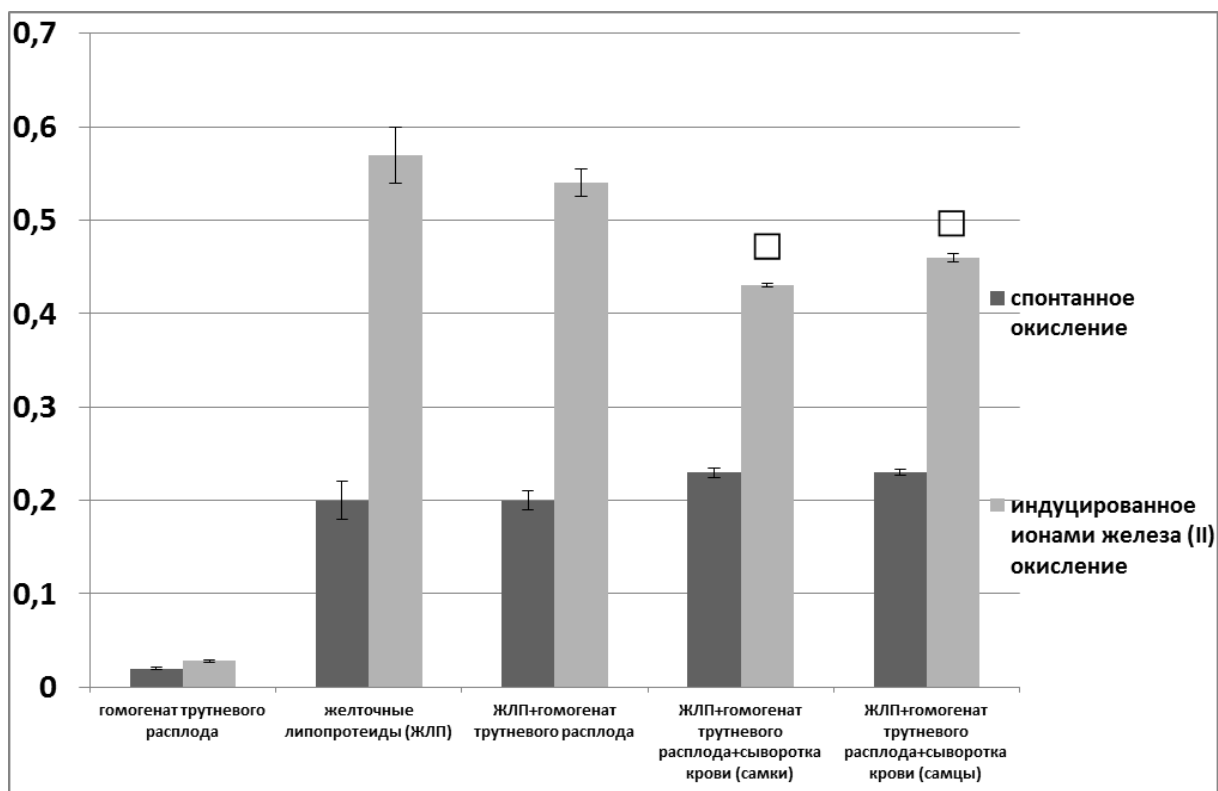


Рисунок 20. Уровни МСМ в гомогенате трутневого расплода в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe²⁺-индуцированном окислении (□ - p<0,05 по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Выявленные тенденции уровней МСМ и ОМБ в модельной биологической системе «желточные липопротеиды + сыворотка крови + гомогенат трутневого расплода», по отношению к модельной биологической системе «желточные липопротеиды + гомогенат трутневого расплода», схожи с таковыми тенденциями в аналогичной модельной биологической системе с использованием маточного молочка, прополиса и меда.

Таким образом, проведено обоснование маркерных параметров оценки уровня спонтанной и Fe²⁺-иницированной окислительной модификации белков, коррелирующих с уровнем молекул средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеидов.

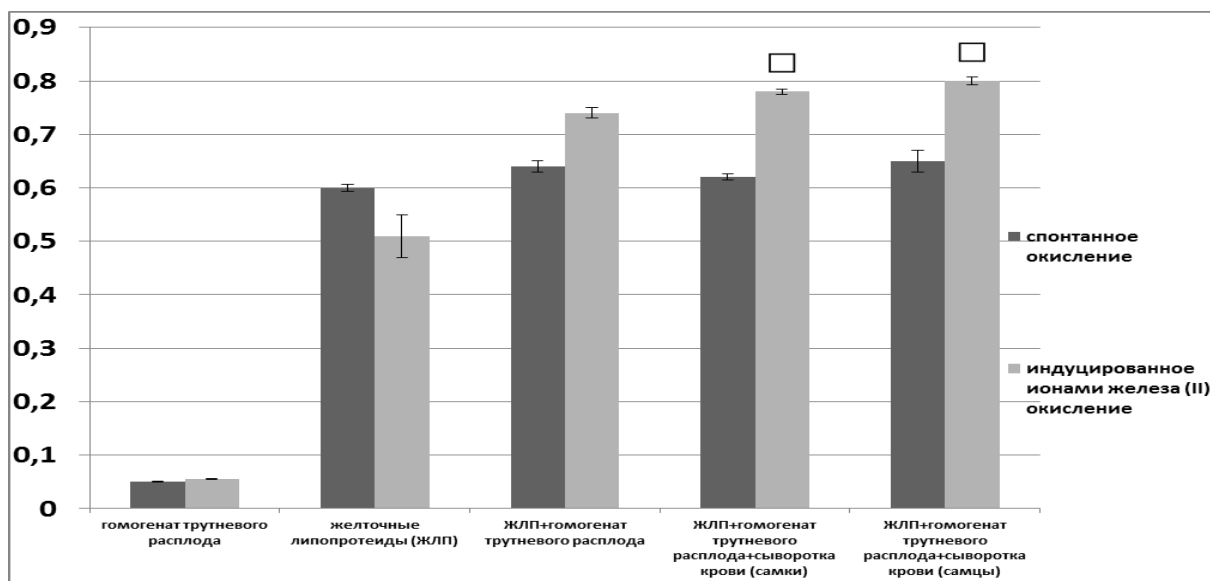


Рисунок 21. Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм, в гомогенате трутневого расплода в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe²⁺-индуцированном окислении (□ - p < 0,05 по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

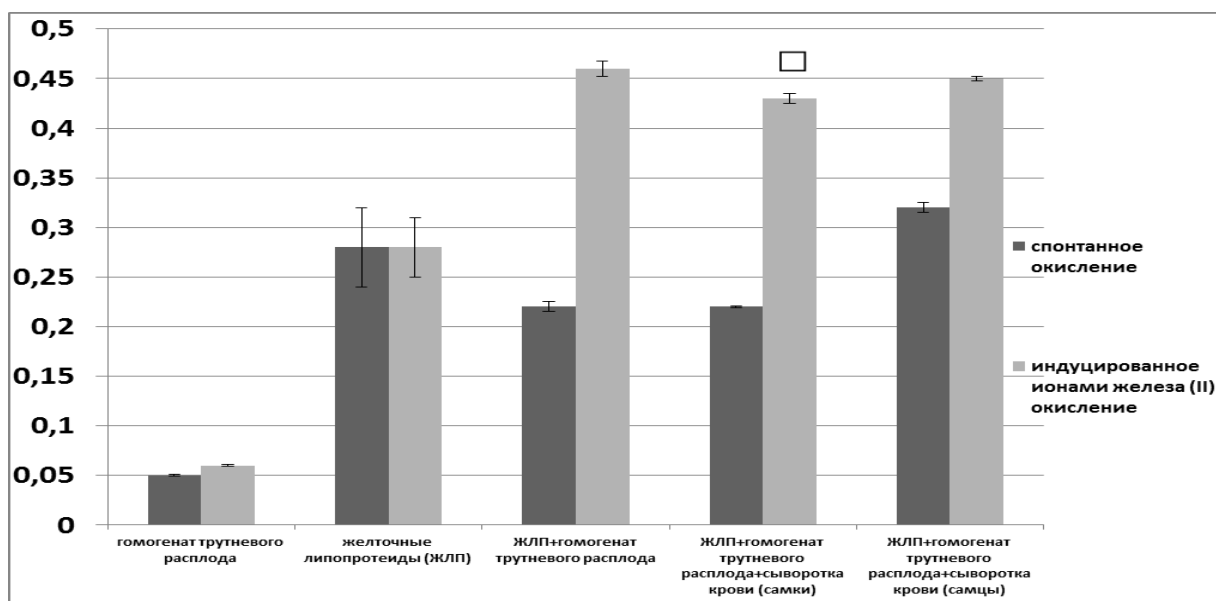


Рисунок 22. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в гомогенате трутневого расплода в присутствии в пробе желточных липопротеидов и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe²⁺-индуцированном окислении (□ - p < 0,05 по отношению к МБС, содержащей ЖЛП и продукт пчеловодства).

Обсуждение результатов

Молекулы средней массы (МСМ) считаются универсальным биохимическим маркером, отражающим уровень патологического белкового метаболизма и коррелирующим с основными клинико-лабораторными прогностическими критериями метаболических нарушений при эндогенной интоксикации.

Согласно данным литературы (А.И. Карпищенко и соавт., 2002), молекулы средней массы (МСМ) включают в себя вещества низкой и средней молекулярных масс (содержат катаболический и анаболический пулы) и олигопептиды (содержат регуляторные и нерегуляторные пептиды), имеющие молекулярную массу менее 10 кДа. МСМ как критерии и маркеры эндогенной интоксикации адекватно отражают, с одной стороны, метаболические сдвиги, с другой – интенсивность белкового катаболизма, являющегося основным источником среднемолекулярных эндогенных токсинов.

В комплексе клинико-биохимических проявлений метаболического ответа организм на эндотоксикоз одними из маркерных могут служить изменения уровней свободно-радикального окисления и молекул средней массы (Е.В. Карякина, С.В. Белова, 2004; Т.В. Копытова и соавт., 2009; Г.К. Рубцов и соавт., 2012; Н.В. Безручко и соавт., 2011-2013).

Развивающаяся в результате эндогенной интоксикации перестройка обменных процессов, возможные перенапряжение адаптации и срыв работы компенсаторных механизмов могут приводить к структурно-метаболическим нарушениям и поддержанию эндотоксикоза. Оценку выраженности эндогенной интоксикации, в комплексе с клинико-лабораторными тестами, позволяет провести анализ уровня свободно-радикальных процессов, одним из параметров которых служат показатели окислительной модификации белков (ОМБ).

Показатели ОМБ считаются одними из маркерных биохимических тестов, отражающих состояние окислительного метаболизма и коррелирующих с клиническими проявлениями многих заболеваний (С.В. Ковругина, 2000; И.А. Бондарь, 2002; Ю.И. Рагино и соавт., 2006; Т.В. Жаворонок и соавт., 2007; О.В. Занозина и соавт., 2009, 2010; Л.Е. Муравлева и соавт., 2010; Р.Н. Белоногов и соавт., 2009-2011; И.И. Евсюкова и соавт., 2011; М.А. Фомина и соавт., 2011; Т.П. Генинг и соавт., 2012; Е.Н. Разнатовская, 2012; Abu-Zidan F.M. et al., 2002; Beal M.F., 2002; Dalle-Donne I. et al., 2003; Dietrich-Muszalska A., Olas B., 2009; Madian A.G., Regnier F.E., 2010; Wang Q. et al., 2010; Garcia-Garcia A. et al., 2012).

В нашей работе применена модельная биологическая система желточных липопропротеидов, на которой исследованы уровни окислительной модификации белков и молекул средней массы по запатентованному способу (патент на изобретение Российской Федерации № 2525437, в соавторстве).

Комплексная оценка величин МСМ и уровней ОМБ при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении проведена:

1) в модельной биологической системе желточных липопропротеидов с добавлением и без добавления сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (уровень МСМ показан на рисунке 23);

2) в модельной биологической системе желточных липопропротеидов с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства (уровень МСМ показан на рисунке 24);

3) в модельной биологической системе желточных липопропротеидов с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (уровень МСМ показан на рисунке 25).

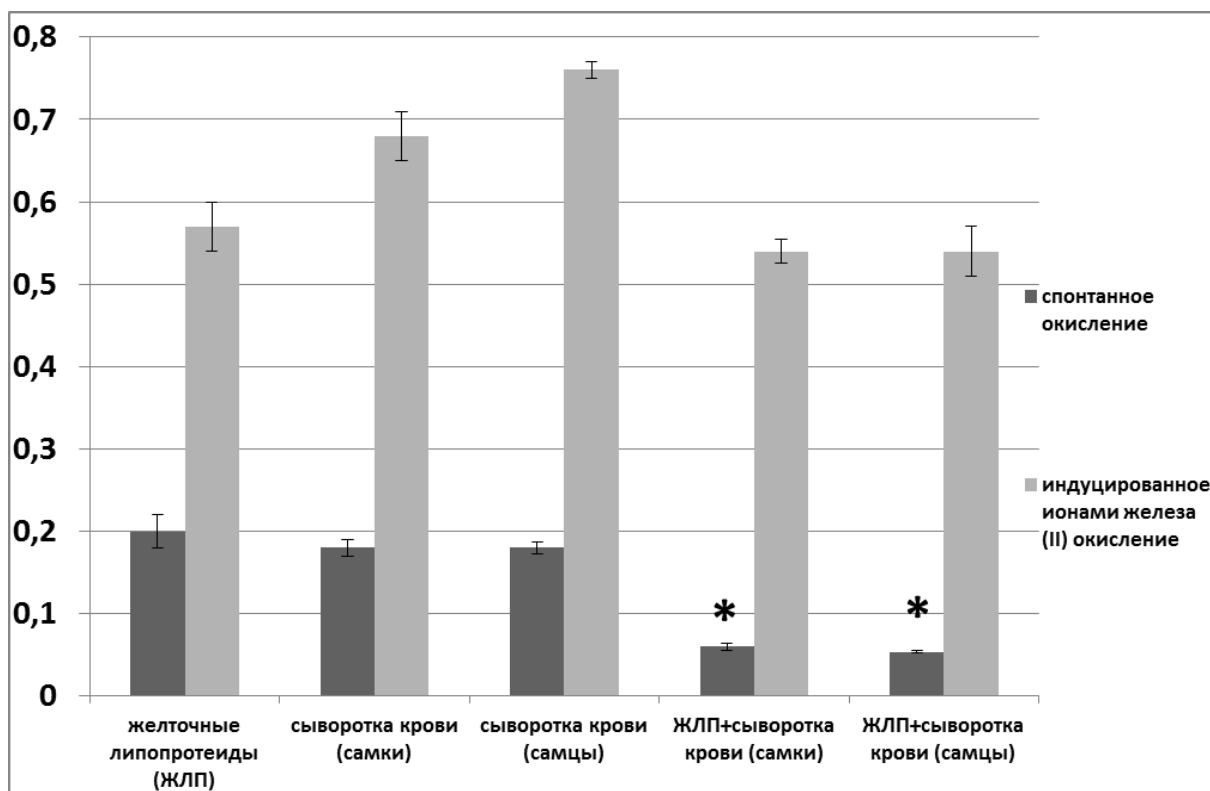


Рисунок 23. Уровни МСМ в модельной биологической системе желточных липопротеидов (ЖЛП) с добавлением и без добавления сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (* - $p < 0,05$ по отношению к желточным липопротеидам).

В первом и втором случаях была установлена общая тенденция увеличения уровня МСМ при Fe^{2+} -индуцированном окислении, по сравнению со спонтанным окислением. Анализ уровней МСМ в модельной биологической системе желточных липопротеидов с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении показал аналогичные тенденции.

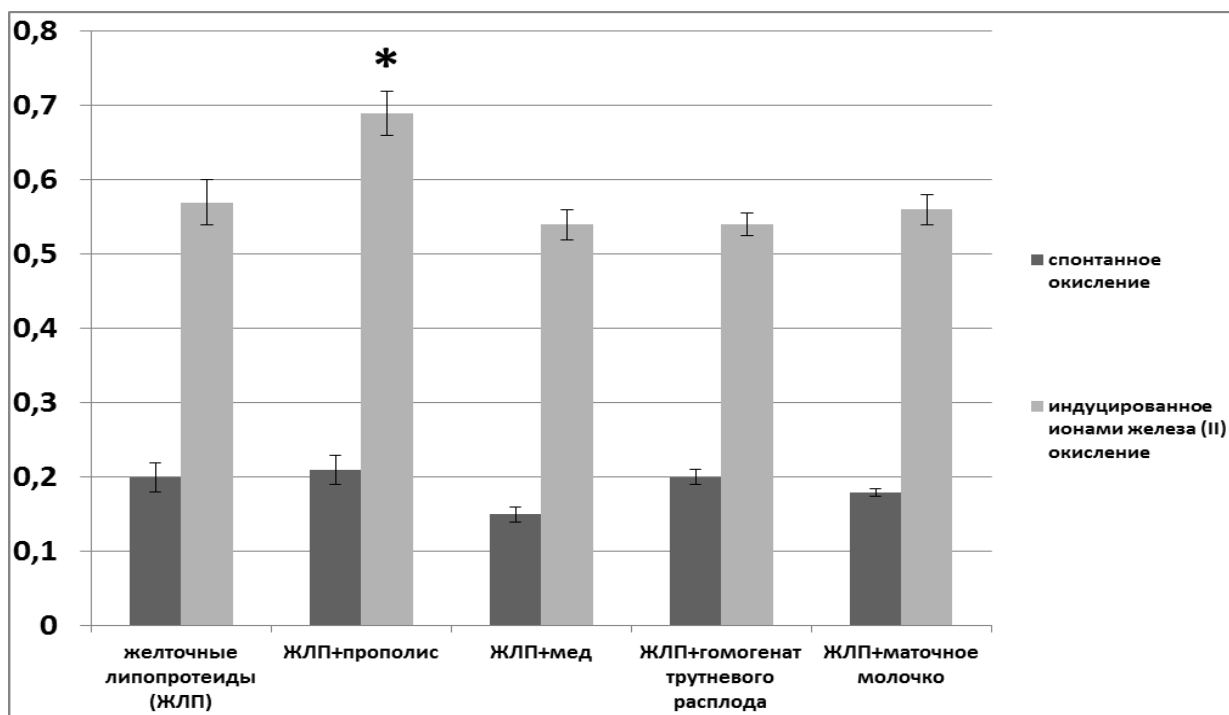


Рисунок 24. Уровни МСМ в модельной биологической системе желточных липопротеидов (ЖЛП) с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства при спонтанном и Fe²⁺-индуцированном окислении (* - p<0,05 по отношению к желточным липопротеидам).

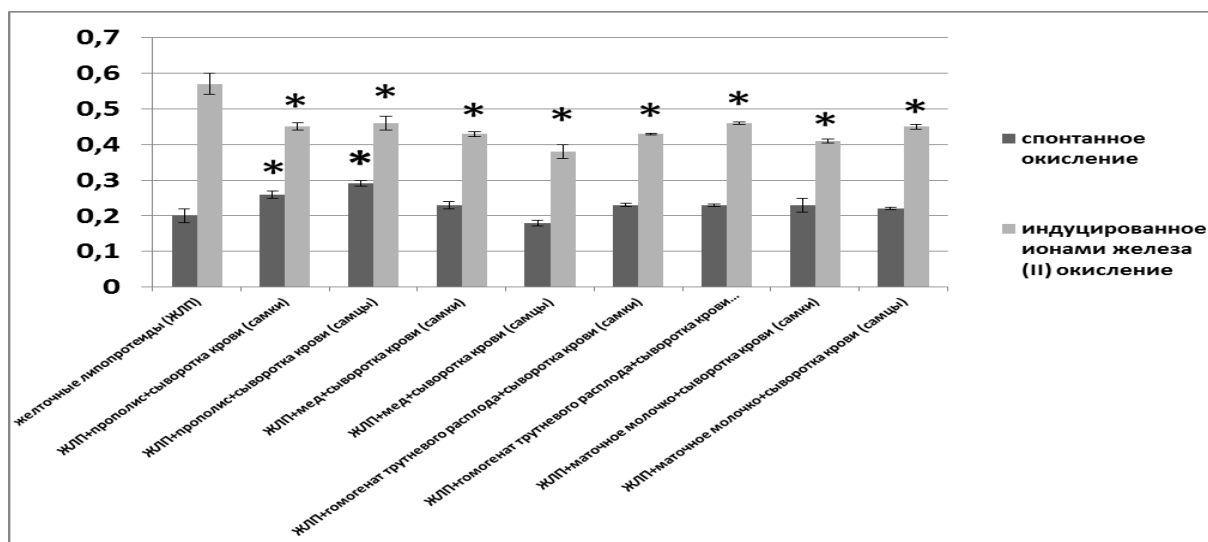


Рисунок 25. Уровни МСМ в модельной биологической системе желточных липопротеидов (ЖЛП) с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe²⁺-индуцированном окислении (* - p<0,05 по отношению к желточным липопротеидам).

При использовании модельной биологической системы «желточные липопротеиды + сыворотка крови» выявлено, что уровень МСМ в ней меньше, чем в сыворотке крови самок и самцов ($p < 0,05$): при спонтанном окислении – в 3 раза и в 3,3 раза соответственно; при Fe^{2+} -индуцированном окислении – в 1,3 раза и 1,4 раза соответственно.

Уровень ОМБ, регистрируемый при 430 нм, рассмотрен аналогично анализу величин МСМ:

1) в модельной биологической системе желточных липопротеидов с добавлением и без добавления сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (рисунок 26);

2) в модельной биологической системе желточных липопротеидов с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства (рисунок 27);

3) в модельной биологической системе желточных липопротеидов с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (рисунок 28).

В первом и втором случаях была установлена общая тенденция увеличения уровня ОМБ, регистрируемой при 430 нм, в условиях Fe^{2+} -индуцированного окисления, по сравнению со спонтанным окислением, при добавлении к желточным липопротеидам сыворотки крови или продуктов пчеловодства. Анализ уровней ОМБ, регистрируемой при 430 нм, в модельной биологической системе с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (третья серия наблюдений) показал аналогичные тенденции, за исключением модельной биологической системы «желточные липопротеиды + мед + сыворотка крови (самцы)».

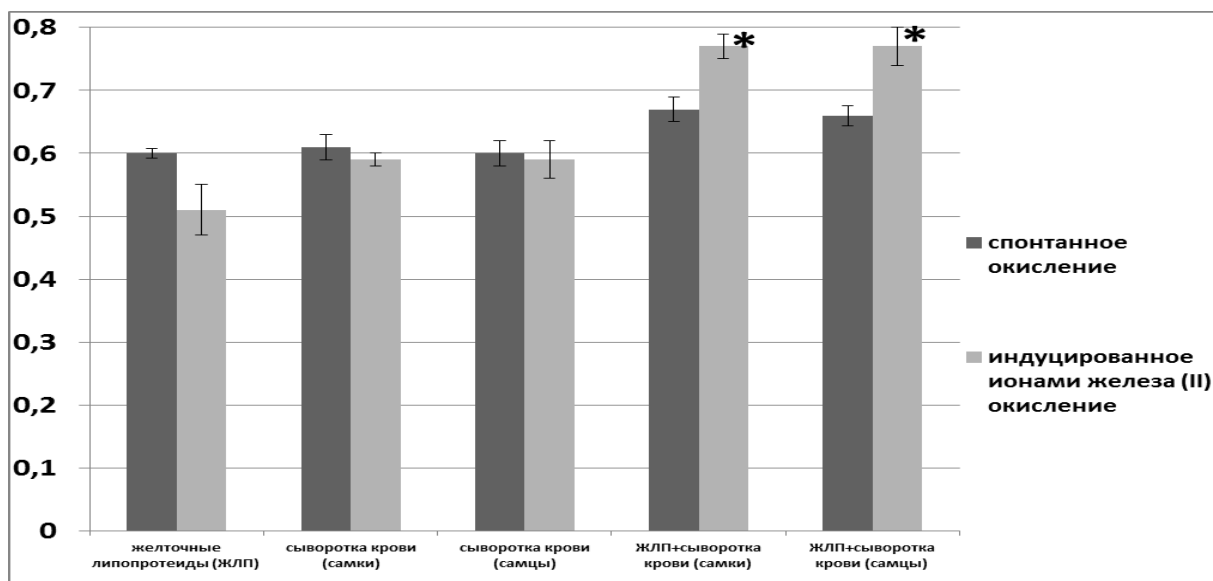


Рисунок 26. Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм, в модельной биологической системе желточных липопротеидов (ЖЛП) с добавлением и без добавления сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe²⁺-индуцированном окислении

(* - p<0,05 по отношению к желточным липопротеидам).

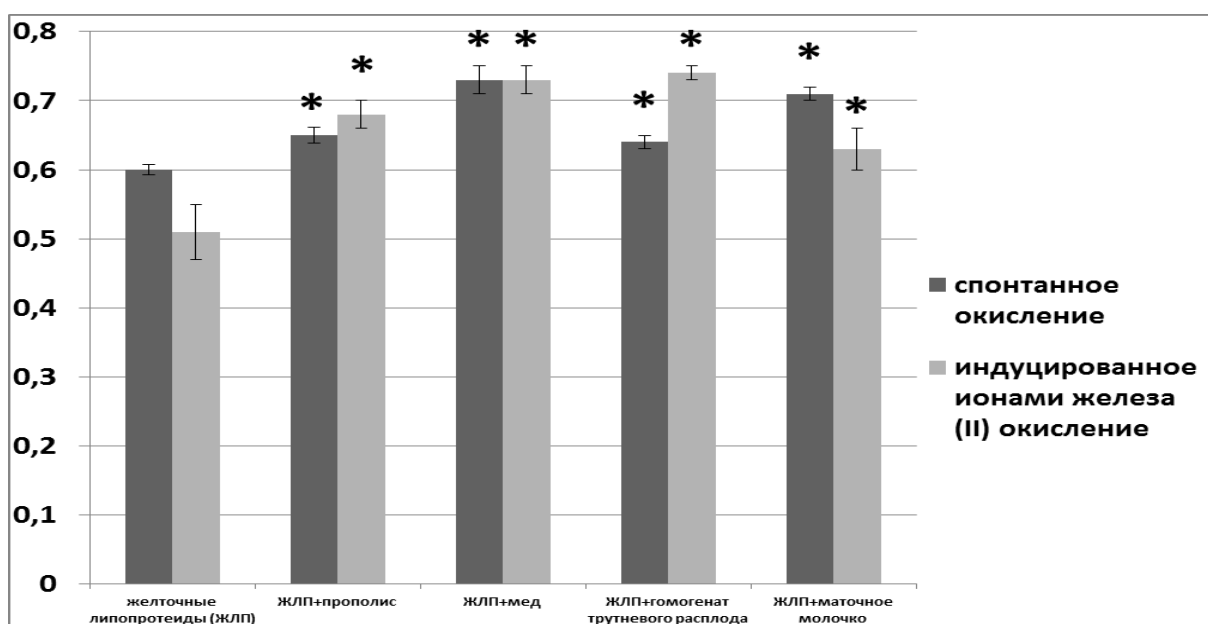


Рисунок 27. Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм, в модельной биологической системе желточных липопротеидов (ЖЛП) с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства при спонтанном и Fe²⁺-индуцированном окислении

(* - p<0,05 по отношению к желточным липопротеидам).

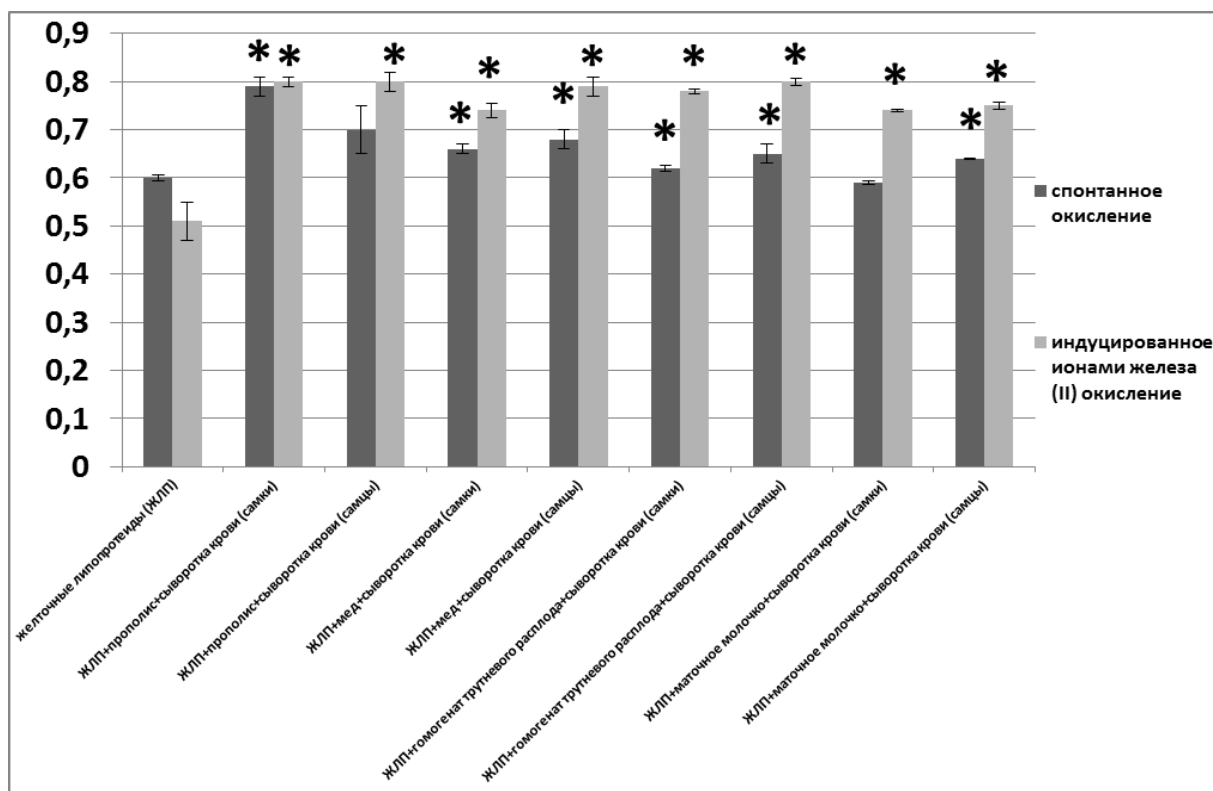


Рисунок 28. Уровни ОМБ, регистрируемые при 430 нм, в модельной биологической системе желточных липопротеидов (ЖЛП) с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (* - $p < 0,05$ по отношению к желточным липопротеидам).

При использовании модельной биологической системы «желточные липопротеиды + сыворотка крови» выявлено, что уровень ОМБ, регистрируемый при 430 нм, в ней выше, чем в сыворотке крови самок и самцов: при спонтанном окислении – в 1,1 раза; при Fe^{2+} -индуцированном окислении – в 1,3 раза ($p < 0,05$).

Уровень ОМБ, регистрируемый при 530 нм, рассмотрен аналогично анализу значений МСМ и величин ОМБ, определяемых при 430 нм:

1) в модельной биологической системе желточных липопротеидов с добавлением и без добавления сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (рисунок 29);

2) в модельной биологической системе желточных липопротеидов с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства (рисунок 30);

3) в модельной биологической системе желточных липопротеидов с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс (рисунок 31).

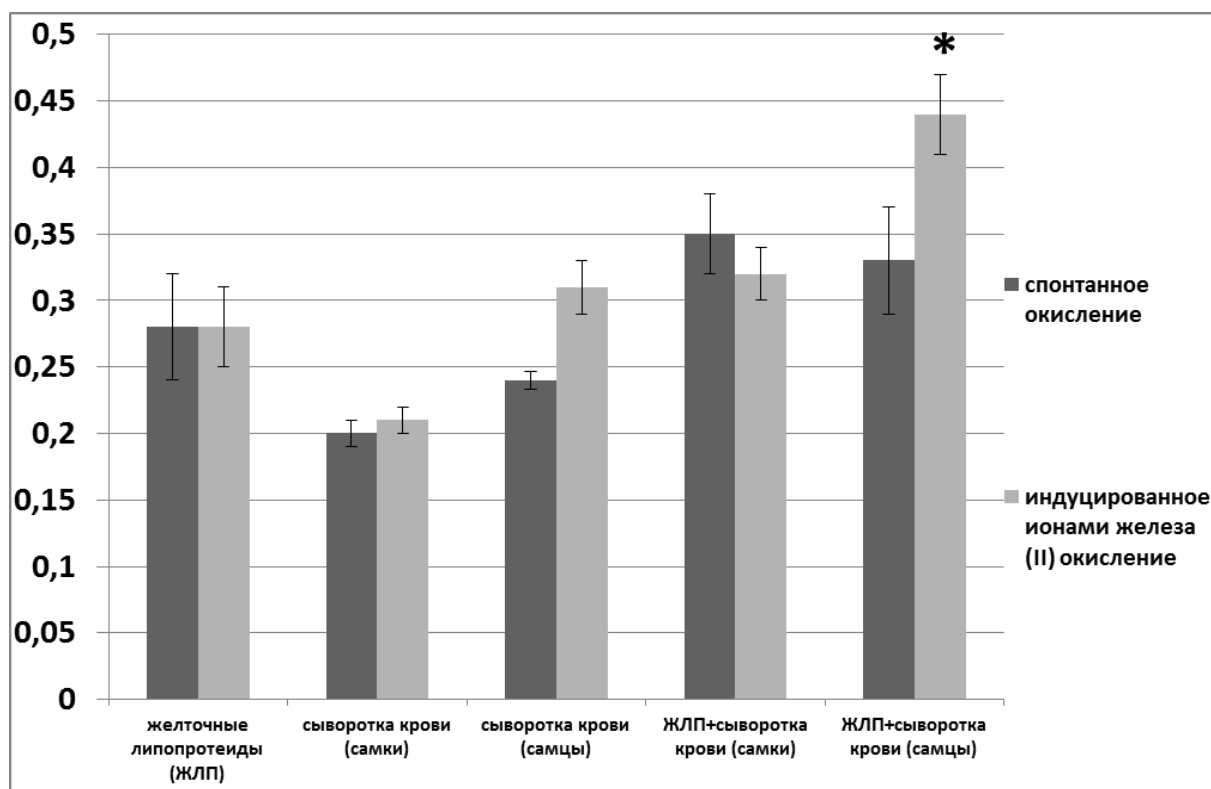


Рисунок 29. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в модельной биологической системе желточных липопротеидов (ЖЛП) с добавлением и без добавления сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении

(* - $p < 0,05$ по отношению к желточным липопротеидам).

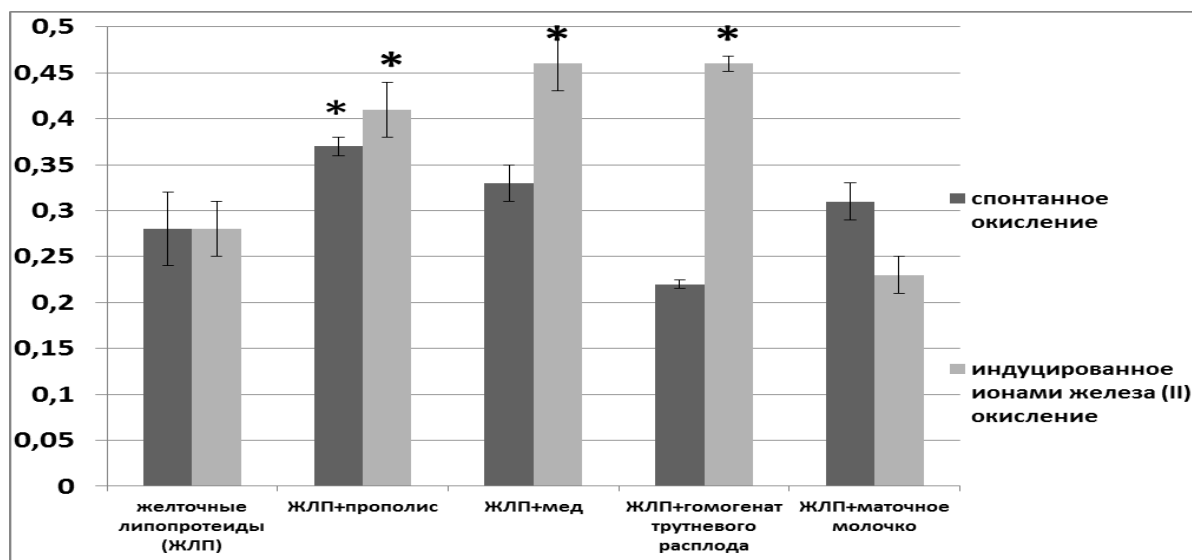


Рисунок 30. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в модельной биологической системе желточных липопротеидов (ЖЛП) с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении

(* - $p < 0,05$ по отношению к желточным липопротеидам).

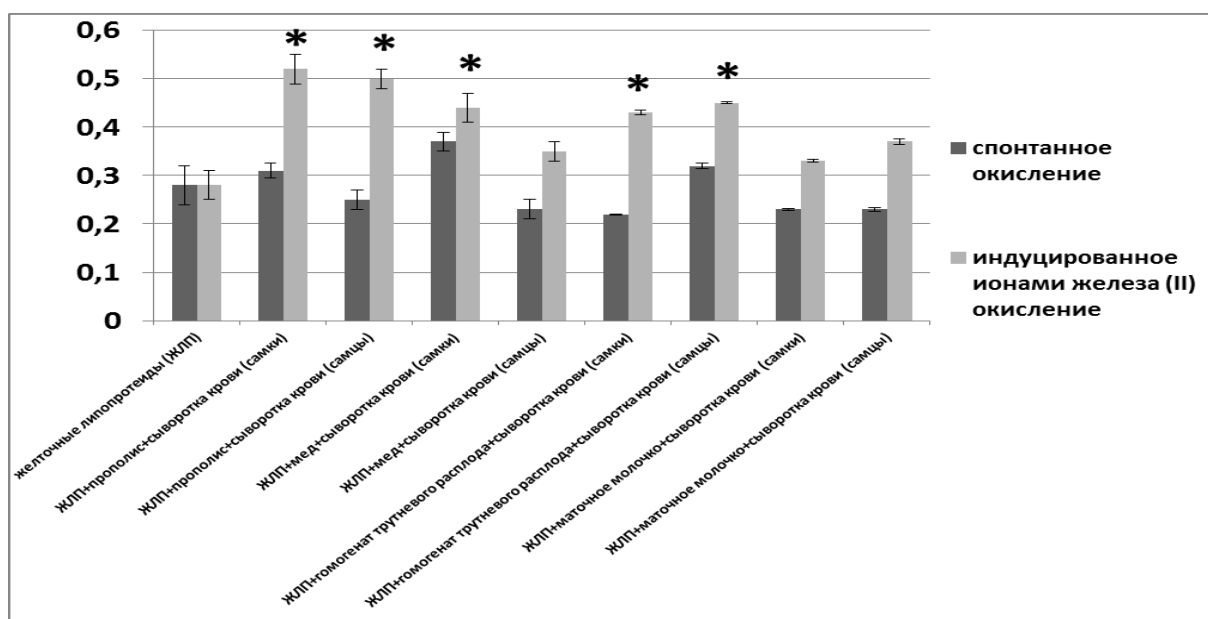


Рисунок 31. Уровни ОМБ, регистрируемые при 530 нм, в модельной биологической системе желточных липопротеидов (ЖЛП) с добавлением и без добавления продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении

(* - $p < 0,05$ по отношению к желточным липопротеидам).

В первом и втором случаях была установлена общая тенденция увеличения уровня ОМБ, регистрируемой при 530 нм, в условиях Fe^{2+} -индуцированного окисления, по сравнению со спонтанным окислением, при добавлении к желточным липопротеидам сыворотки крови или продуктов пчеловодства. Исключение составила модельная биологическая система «желточные липопротеиды + маточное молочко», у которой не были обнаружены статистически значимые отличия по величине изучаемого теста от его значений в желточных липопротеидах.

Анализ уровней ОМБ, регистрируемой при 530 нм, в модельной биологической системе желточных липопротеидов с добавлением продуктов пчеловодства и сыворотки крови крыс при спонтанном и Fe^{2+} -индуцированном окислении (третья серия наблюдений) показал аналогичные тенденции.

Таким образом, изучены биохимические характеристики модельной биологической системы желточных липопротеидов путем сравнительной оценки в условиях спонтанной и инициированной ОМБ и уровня МСМ для обоснования возможного их комплексного использования. Установлена чувствительность анализируемой модельной биологической системы к условиям Fe^{2+} -индуцированного окисления, что проявилось изменением уровней анализируемых тестов, по сравнению со спонтанным окислением.

Выводы

1. При Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, по сравнению со спонтанным окислением, уровни молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопропротеидов, продуктах пчеловодства как веществах природного происхождения, обладающие антиоксидантным действием, и сыворотке крови экспериментальных животных (крысы) проявили тенденцию увеличения значений.
2. Спонтанная и Fe^{2+} -инициированная окислительная модификация белков и уровни молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопропротеидов при добавлении к ней продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы) показали следующие тенденции:
 - 2.1. увеличение уровня ОМБ, регистрируемой при 430 нм, в условиях Fe^{2+} -индуцированного окисления, по сравнению со спонтанным окислением, при добавлении к желточным липопропротеидам сыворотки крови или продуктов пчеловодства;
 - 2.2. при 530 нм – аналогично, за исключением модельной биологической системы желточных липопропротеидов с добавлением маточного молочка;
 - 2.3. при использовании модельной биологической системы желточных липопропротеидов с добавлением сыворотки крови выявлено, что уровень МСМ в ней меньше, чем в сыворотке крови самок и самцов ($p < 0,05$): при спонтанном окислении – в 3 раза и в 3,3 раза соответственно; при Fe^{2+} -индуцированном окислении – в 1,3 раза и 1,4 раза соответственно.

3. Спонтанная и Fe^{2+} -инициированная окислительная модификация белков и уровней молекул средней массы на модельной биологической системе желточных липопротеидов при одновременном добавлении продуктов пчеловодства как веществ природного происхождения, обладающих антиоксидантным действием, и сыворотки крови экспериментальных животных (крысы) проявили аналогичные тенденции.

Выявлены возможности комплексного использования маркерных параметров оценки уровня спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, коррелирующих с уровнем молекул средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеидов.

Практические рекомендации

1. Модельная биологическая система желточных липопротеидов позволяет оценить уровень ОМБ в пуле МСМ при комплексном их анализе на 430 нм и 530 нм.
2. Особенности изученной модельной биологической системы по уровням ОМБ различного характера могут служить биохимическими тестами, отличающими их реакционную способность в условиях спонтанного и Fe^{2+} -индуцированного окисления.
3. Комплексное использование оценки уровня спонтанной и Fe^{2+} -инициированной окислительной модификации белков, коррелирующих с уровнем молекул средней массы, на модельной биологической системе желточных липопротеидов может быть информативно для характеристики величин 2,4-динитрофенилгидразонов как маркерных биохимических тестов, отличающих спонтанное и Fe^{2+} -индуцированное окисление.

Список литературы

1. Абаленихина Ю.В., Фомина М.А., Чурилов Г.И., Иванычева Ю.Н. Окислительная модификация белков тимуса крыс под влиянием меди в ультрадисперсной форме// *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 11. – С. 1315-1319.
2. Алабовский В.В., Василенко Д.В., Маслов А.И., Текунова Н.А. Сопоставление среднемолекулярных пептидов в плазме и сыворотке крови// *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2005. – № 2. – С. 21-25.
3. Анашкина А.А., Копылова С.В., Крылов В.Н. Влияние апингалина на белки и фосфолипиды крови крыс при моделировании отека легких// *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. – 2011. – № 2 (2). – С. 169-173.
4. Анашкина А.А. Влияние ингаляции пчелиного маточного молочка и прополиса на эндогенную интоксикацию при экспериментальном отеке легких у крыс: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Нижний Новгород, 2012. – 23 с.
5. Артемьева С.С., Близнецова Г.Н., Мухаммед З.Д. Окислительная модификация белков и генерация супероксиданиона при ожоговом стрессе у крыс// 9-я Международная Пущинская школа - конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века». – Пущино-на-Оке, 2002. – С. 56.
6. Афанасьева А.Н. Сравнительная оценка уровня эндогенной интоксикации у лиц разных возрастных групп// *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2004. - № 6. – С. 11-13.
7. Баймурзина Ю.Л. Влияние продуктов пчеловодства на процессы свободнорадикального окисления в норме и экстремальных условиях: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Уфа, 2002. – 30 с.
8. Безручко Н.В., Васильков В.Г., Келина Н.Ю., Осинькин Д.В., Николашин В.А. Доказательные критерии биохимической оценки выраженности эндотоксикоза у больных с абдоминальной патологией в

раннем послеоперационном периоде// Вестник интенсивной терапии. – 2005. - № 5. – С. 202-205.

9. Безручко Н.В., Келина Н.Ю., Васильков В.Г. Способ клинико-биохимической оценки тяжести эндогенной интоксикации: методическое пособие. – Пенза: Издательство ПГПУ, 2008. - 36 с.

10. Безручко Н.В., Келина Н.Ю., Васильков В.Г., Шикунова Л.Г. К вопросу о доказательном изучении эндотоксикоза при неотложной абдоминальной патологии// Вестник интенсивной терапии. - 2008. - № 5. - С. 120-122.

11. Безручко Н.В. Критерии выраженности эндотоксикоза при неотложной абдоминальной патологии: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – Москва, 2009. – 45 с.

12. Безручко Н.В., Келина Н.Ю., Васильков В.Г., Рубцов Г.К., Осинькин Д.В. Биохимические аспекты эндогенной интоксикации организма человека при холецистите// Материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии». – Курск: КГМУ, 2011. – С. 139-141.

13. Безручко Н.В., Васильков В.Г., Рубцов Г.К., Генгин М.Т., Дивеева Е.Ю., Широкина А.А., Кривченкова Е.В. Биохимическая оценка эндотоксикоза при холецистите по соотношению уровней составляющих пула молекул средней массы в крови и моче// Известия ПГПУ им. В.Г. Белинского. Естественные науки. - 2012. - № 29. – С. 12-16.

14. Безручко Н.В., Рубцов Г.К., Анопин К.Д., Кривченкова Е.В. Клинико-биохимические перспективы разработки неинвазивных методов оценки эндогенной интоксикации, значение показателей мочи и слюны// Технологии живых систем. – 2013. – № 1. – С. 47-52.

15. Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Дыхно Ю.А., Лапешин П.В., Кудряшова Е.В., Савченко А.А. Окислительная модификация белков и липидов

плазмы крови больных раком легкого// Сибирский онкологический журнал. – 2009. – № 4. – С. 48-51.

16.Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Лапешин П.В., Иванова Ю.Р., Шевцова А.О., Покровский А.А. Изменение содержания продуктов окислительной модификации белков и липидов в опухолевой ткани на разных стадиях рака легкого// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – № 5. – С. 562-563.

17.Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Дыхно Ю.А. Окислительная модификация белков и липидов плазмы крови при различных гистологических типах рака легкого// Сибирское медицинское обозрение. – 2009. – № 5. – С. 42-45.

18.Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Дыхно Ю.А. Особенности окислительной модификации белков и липидов в ткани опухоли в зависимости от гистологического варианта рака легкого// Сибирское медицинское обозрение. – 2010. – № 6. – С. 31-34.

19.Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Савченко А.А. Изменение содержания продуктов окисления белков в плазме крови больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от стадии заболевания// Сибирский медицинский журнал. – 2011. – № 2. – С. 44-46.

20.Белостоцкий Н.И., Касьяненко В.И., Дубцова Е.А., Лазебник Л.Б. Влияние меда, маточного молочка и прополиса на темпы заживления экспериментальных ацетатных язв желудка у крыс// Клиническая и экспериментальная гастроэнтерология. – 2009. - № 6. – С. 46-50.

21.Бондаренко Т.И., Сорокина И.А., Майборода Е.А., Дурканаева О.А., Кутилин Д.С., Михалева И.И. Влияние пептида, индуцирующего дельта-сон, на окислительную модификацию белков в тканях и крови крыс при физиологическом старении организма// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – № 3. – С. 350-354.

- 22.Бондарь И.А. Окислительная модификация белков при диабетических микроангиопатиях: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – Новосибирск, 2002. – 40 с.
- 23.Бурмистрова Л.А. Физико-химический анализ и биохимическая оценка биологической активности трутневого расплода: Дисс. ... канд. биол. наук. – Рязань, 1999. – 173 с.
- 24.Быков В.А., Шикова Ю.В. Изучение антиокислительной активности оксиметилурацила, дибунола и экстракта прополиса в опытах *in vitro*// Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2004. – № 2. – С. 172-174.
- 25.Васильков В.Г., Келина Н.Ю., Шикунова Л.Г., Безручко Н.В., Чернова Т.В. Составляющие доказательной клинико-биохимической оценки как комплекс прогностических параметров выраженности эндотоксикоза// III съезд анестезиологов и реаниматологов северо-запада России: сборник докладов и тезисов. – Санкт-Петербург, 2005. – С. 69.
- 26.Вахонина Т.В. Пчелиная аптека. - СПб.: Лениздат, 1995. - 240 с.
- 27.Вахонина Т.В., Вахонина Е.А. Прополис: химический состав и свойства. – Рыбное: НИИП, 2006. – 48 с.
- 28.Ведунова М.В., Сазанов А.И., Конторщикова К.Н. Влияние низких терапевтических доз озона на уровень окислительной модификации белков// Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2010. – № 2. – С. 504-507.
- 29.Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах// Соровский образовательный журнал. Биология. – 2000. - № 12. – С. 13-19.
- 30.Волчегорский И.А., Малиновская Н.В., Шумелёва О.В., Шемяков С.Е. Динамика содержания продуктов пол и окислительной модификации белков в головном мозге на этапах постнатального развития человека// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – № 8. – С. 159-166.

- 31.Воронин Р.М. Влияние некоторых апикомпозиций на активность перекисного окисления липидов и параметры системы крови при воздействии острого ионизирующего излучения: Дисс. ... канд. мед. наук. – Рязань, 2003. – 138 с.
- 32.Габитова Д.М., Рыжикова В.О., Рыжикова М.А. Влияние антиоксидантных веществ на процессы свободно-радикального окисления// Башкирский химический журнал. – 2006. – Т. 13. - № 4. – С. 120-121.
- 33.Галиновский С.П. Антиоксидантная терапия продуктами пчеловодства// Апитерапия сегодня: Материалы VII научно-практической конференции по апитерапии. – Рыбное, 2000. – С. 161-163.
- 34.Генинг Т.П., Арсланова Д.Р., Абакумова Т.В., Антонеева И.И., Сидоренко Е.Г., Генинг С.О. Окислительная модификация белков и липидов в неоплазме и асцитической жидкости при экспериментальном раке яичников// Ульяновский медико-биологический журнал. – 2012. – № 1. – С. 72-75.
- 35.Глянц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
- 36.Громенко Д.С., Громенко Ю.Ю., Галимов Ш.Н., Фархутдинов Р.Р., Мухамедзянов Р.М. Воздействие биофлавоноидов прополиса на процессы липопероксидации в гонадах крыс при интоксикации полихлорированными бифенилами// Вопросы питания. – 2008. – № 6. – С. 9-13.
- 37.Грызунов Ю.А., Закс И.О., Мороз В.В., Добрецов Г.Е., Комарова М.Н., Мещеряков Г.Н. Сывороточный альбумин: свойства, функции и их оценка при критических состояниях// Анестезиология и реаниматология. – 2004. – № 6. – С. 68-75.
- 38.Гущина Г.В., Жолнин А.В. Влияние меда, полученного с применением биологически активной добавки люцевита, на физическую

работоспособность спортсменов и уровень свободных радикалов// Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2007. – № 16. – С. 75-76.

39.Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения// Вопросы медицинской химии. – 1995. – № 1. – С. 24-26.

40.Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. Жизнь и смерть, созидание и разрушение. – СПб: Медицинская пресса, 2006. – 400 с.

41.Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В. Свободнорадикальные процессы при старении, нейродегенеративных заболеваниях и других патологических состояниях// Биомедицинская химия. – 2007. – № 4. – С. 351-372.

42.Дубровская М.Д., Кличханов Н.К., Исмаилова Ж.Г. Влияние искусственной гипотермии на степень окислительной модификации белков плазмы крови сусликов// Вестник Дагестанского государственного университета. – 2004. – № 4. – С. 72-74.

43.Дубцова Е.А. Состав, биологические свойства меда, пыльцы и маточного молочка и возможность их применения в лечебном питании// Клиническая и экспериментальная гастроэнтерология. – 2009. - № 3. – С. 36-41.

44.Дубцова Е.А. Клинико-экспериментальное обоснование применения продуктов пчеловодства в комплексной терапии некоторых заболеваний органов пищеварения: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. – Москва, 2009. – 38 с.

45.Евсюкова И.И., Ковальчук-Ковалевская О.В., Вьюшина А.В., Ордян Н.Э. Окислительная модификация белков у здоровых доношенных новорожденных детей и их матерей при различных способах родоразрешения// Журнал акушерства и женских болезней. – 2011. – № 4. – С. 32-36.

46. Емельянов С.И., Брискин Б.С., Демидов Д.А., Костюченко М.В., Демидова Д.И. Хирургический эндотоксикоз как проблема клинической гастроэнтерологии// Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2010. - № 7. – С. 67-73.
47. Епифанова А.В., Нэвис да Силва А.Г., Петрова В.В., Баймурзина Ю.Л. Определение антиоксидантной активности продуктов пчеловодства в составе мягких лекарственных форм// Вопросы теоретической и практической медицины: материалы 77-й Российской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной 80-летию БГМУ. – 2012. – Т.1. – С. 222.
48. Ериков В.М., Пунякин А.К. Влияние биологически активных продуктов пчеловодства на некоторые показатели минерального обмена у спортсменов// Вестник Рязанского государственного университета им. С.А. Есенина. – 2008. - № 1. – С. 139-151.
49. Жаворонок Т.В., Степовая Е.А., Петина Г.В., Стариков Ю.В., Рязанцева Н.В., Агеева Т.С. Оценка процессов окислительной модификации белков нейтрофилов и эритроцитов в условиях окислительного стресса// Фундаментальные исследования. – 2007. – № 12. – С. 383-384.
50. Журавлева А.Н., Василенко Ю.К. Изучение метаболической активности апилака и прополиса// Фармация. – 2010. – № 2. – С. 45-48.
51. Зайцев В.Г. Модельные системы перекисного окисления липидов и их применение для оценки антиоксидантного действия лекарственных препаратов: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Волгоград, 2001. – 23 с.
52. Зайцев В.Г. Модельные системы перекисного окисления липидов и их применение для оценки антиоксидантного действия лекарственных препаратов: Дисс. ... канд. биол. наук. – Волгоград, 2001. – 139 с.
53. Зайцев В.Г., Островский О.В. Маркеры окислительного повреждения и состояния антиоксидантной системы для использования в клинической лабораторной диагностике// Клиническая лабораторная диагностика. –

2008. – № 9. – С. 61.

54. Занозина О.В., Боровков Н.Н., Щербатюк Т.Г. Окисленные модифицированные белки в генезе атеросклероза при сахарном диабете 2-го типа// Современные технологии в медицине. – 2009. – № 2. – С. 72-75.

55. Занозина О.В., Щербатюк Т.Г., Боровков Н.Н. Окислительная модификация белков в плазме крови больных сахарным диабетом типа 2 в зависимости от степени компенсации углеводного обмена и длительности заболевания// Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. – 2010. – № 1. – С. 113-118.

56. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. – М.: МАИК, Наука/Интерпериодика, 2001. – 343 с.

57. Иващенко М.Н. Гомеостатические функции крови в условиях воздействия пчелиного маточного молочка и прополиса на организм: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Н. Новгород, 2002. – 20 с.

58. Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы)// Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. - № 3. – С. 3-8.

59. Келина Н.Ю., Безручко Н.В. Расчетные индексы соотношения антиоксидантной и оксидантной активности крови в оценке тяжести эндотоксикоза при неотложной абдоминальной патологии// Материалы XV Международной конференции и дискуссионного научного клуба «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии». – 2007. - С. 270-272.

60. Келина Н.Ю., Безручко Н.В., Рубцов Г.К. Биохимические проявления эндотоксикоза: методические аспекты изучения и оценки, прогностическая значимость (аналитический обзор)// Вестник Тюменского государственного университета (серия медико-биологические науки). – 2012. – № 6. – С. 143-147.

- 61.Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Комаров О.С., Владимиров Ю.А. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов// Лабораторное дело. – 1988. – № 5. – С. 59-62.
- 62.Ковругина С.В. Окислительная модификация белков и антиоксидантная система плазмы крови у пожилых людей с сосудистой деменцией: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Санкт-Петербург, 2000. – 21 с.
- 63.Козинец Г.И., Высоцкий В.В., Погорелов В.М., Оприщенко С.А., Захаров В.В. Кровь и лекарства. – М.: Практическая медицина, 2008. – 272 с.
- 64.Коноплева М.М. Продукты жизнедеятельности медоносной пчелы. Сообщение 1// Вестник фармации. – 2011. – № 1. – С. 76-86.
- 65.Коноплева М.М. Продукты жизнедеятельности медоносной пчелы. Сообщение 2// Вестник фармации. – 2011. – № 4. – С. 82-94.
- 66.Копытова Т.В. Молекулы средней массы как субстрат эндогенной интоксикации при тяжелых дерматозах// Успехи современного естествознания. – 2006. – № 9. – С. 7-10.
- 67.Копытова Т.В., Дмитриева О.Н., Химкина Л.И., Пантелеева Г.А. Окислительная модификация белков и олигопептидов у больных хроническими дерматозами с синдромом эндогенной интоксикации// Фундаментальные исследования. – 2009. – № 6. – С. 25-29.
- 68.Кравцова Е.Ю., Мартынова Г.А., Кравцов Ю.И. Корреляция клинических показателей и окислительной модификации белков при ишемическом инсульте у лиц трудоспособного возраста// Международный неврологический журнал. – 2011. – № 8. – С. 27-31.
- 69.Кравцова Е.Ю., Соснин Д.Ю., Мартынова Г.А. Окислительная модификация белков как биохимический маркер прогноза ишемического инсульта// Медицинский альманах. – 2012. – № 2. – С. 95-97.

- 70.Красовская С.В. Изучение эффективности маточных личинок пчел в сравнении с маточным молочком у животных с гемической гипоксией// Вестник ВГУ. Серия «Химия. Биология. Фармация». – 2006. - № 2. – С. 291-293.
- 71.Крылова Е.В., Потемкина Т.Е., Корягин А.С., Нестеров Г.Д. Профилактическое действие маточного молочка пчел на показатели сперматогенеза крыс при остром тепловом стрессе// Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия «Биология». – 2011. - № 6 (1). – С. 138-143.
- 72.Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Горохов А.Г., Рунович А.А. Комплекс методов оценки степени тяжести эндогенной интоксикации// Фундаментальные исследования. – 2004. – № 2. – 169-170.
- 73.Кулакова К.В., Щербатюк Т.Г., Давыденко Д.В., Клинцева Е.С., Макушева М.А. Динамика окислительной модификации белков и особенностей структуропостроения плазмы крови животных с лимфосаркомой Плисса// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – № 12. – С. 746-749.
- 74.Кулмагамбетов И.Р., Муравлева Л.Е., Койков В.В. Окислительная модификация белков в крови крыс при интоксикации несимметричным диметилгидразином// Медицина труда и промышленная экология. – 2009. – № 9. – С. 45-48.
- 75.Кчибеков Э.А. Комплексная диагностика и прогнозирование осложнений острых воспалительных заболеваний органов брюшной полости: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. – Астрахань, 2011. – 48 с.
- 76.Лазебник Л.Б., Дубцова Е.А., Касьяненко В.И., Комиссаренко И.А. Состав и некоторые биологические эффекты прополиса// Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2006. – № 2. – С. 112-117.

- 77.Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. – М., 2001. – 78 с.
- 78.Ланкин В.З., Тихазе А.К., Капелько В.И., Шепелькова Г.С., Шумаев К.Б., Панасенко О.М., Коновалова Г.Г., Беленков Ю.Н. Механизмы окислительной модификации липопротеидов низкой плотности при окислительном и карбонильном стрессах// Биохимия. – 2007. – № 10. – С. 1330-1341.
- 79.Лобанов С.А., Черепанов Н.С., Султанов И.Х. Особенности процессов окислительной модификации белков и содержание молекул средней массы при длительной гиподинамии// Вестник Челябинского государственного педагогического университета. – 2011. – № 5. – С. 373-382.
- 80.Любимов А.В. Молекулярные механизмы антигипоксического действия апипрепаратов: Автореф. дис. ... канд. мед наук. – Рязань, 2002. – 21 с.
- 81.Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Активированные кислородные метаболиты в монооксигеназных реакциях// Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2005. – № 4. – С. 7-12.
- 82.Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент (обзор)// Биохимия. – 2006. – № 9. – С. 1183-1198.
- 83.Магомедова З.Ш. Прополис и маточное молочко в комплексной терапии сахарного диабета первого типа: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Махачкала, 2007. – 19 с.
- 84.Макарова В.Г., Якушева Е.Н., Киселева В.А. Влияние продуктов пчеловодства на перекисное окисление липидов// Материалы Международной научной конференции «Пчеловодство – XXI век». – М., 2000. – С. 68-70.

- 85.Макарова В.Г., Узбекова Д.Г., Рябков А.Н., Романов Б.К. Продукты пчеловодства: биологические и фармакологические свойства, клиническое применение. – Рязань, 2000. – 127 с.
- 86.Макарова В.Г., Киселева В.А., Рябков А.Н. Оценка антиоксидантных свойств и действия нативного маточного молочка, пыльцевой обножки и женьшеня при экспериментальной свободно-радикальной патологии печени// Апитерапия сегодня. – Рыбное, 2004. – С. 28-32.
- 87.Макарова Н.В., Лиманова В.С., Бординова В.П. Антиоксидантные вещества различных сортов меда// Известия вузов. Пищевая технология. – 2011. – № 1. – С. 18-20.
- 88.Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме// Эфферентная терапия. – 2000. – № 4. – С. 3-14.
- 89.Мальцева Е.Л. Мембраны и ферменты как мишени действия модуляторов систем вторичных посредников: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – Москва, 2011. – 72 с.
- 90.Матвеев С.Б., Федорова Н.В., Годков М.А. Интегральная оценка эндогенной интоксикации при неотложных состояниях// Медицина критических состояний. – 2009. – Т. 6. – № 6. – С. 26-31.
- 91.Матвеев С.Б., Федорова Н.В., Годков М.А. Оценка эндогенной интоксикации по показателям среднемолекулярных пептидов при неотложных состояниях// Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 5. – С. 16-18.
- 92.Медведев Ю.В., Толстой А.Д. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма. – М.: ООО «Терра – Календер и Промоушн», 2000. – 232 с.
- 93.Медицинские лабораторные технологии и диагностика. Справочник/ Под редакцией профессора А.И. Карпищенко. – Санкт-Петербург: Интермедика, 2002. – Том 1 - 408 стр., том 2. – 600 стр.

- 94.Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. – М.: «Слово», 2006. – 553 с.
- 95.Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
- 96.Микашинович З.И., Ишонина О.Г., Олемпиева Е.В. Биохимические механизмы развития окислительного стресса у пациентов с сахарным диабетом// Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – № 2. – С. 70-73.
- 97.Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Ключев Д.А., Бакенова Р.А., Култанов Б.Ж., Танкибаева Н.А., Койков В.В., Омарова Г.А. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования// Фундаментальные исследования. – 2010. – № 1. – С. 74-78.
- 98.Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Танкибаева Н.А., Ключев Д.А. Окислительная модификация белков эритроцитов крови больных хронической болезнью почек до и после диализа// Международный журнал экспериментального образования. – 2010. – № 11. – С. 98-98.
- 99.Начкина Э.И. Системные цитотоксические поражения при эндотоксикозе и их коррекция препаратами метаболического типа действия: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. – Саранск, 2011. – 42 с.
100. Обухова Л.М. Роль протеинов в формировании структурного макропортрета плазмы крови при интоксикации организма: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – Нижний Новгород, 2010. – 49 с.
101. Омаров Ш.М., Омаров А.Ш. Апитерапия как раздел современной фармакотерапии// Апитерапия сегодня: Тезисы докладов IV научно-практической конференции по апитерапии. - Рыбное, 1995. - С. 64-67.

102. Ошевенский Л.В., Горелая С.В., Сокольский С.С. К технологии препарата апингалин// Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 1999. – № 1. – С. 88-91.
103. Пасечник И.Н. Механизмы повреждающего действия активированных форм кислорода на биологические структуры у больных в критических состояниях// Вестник интенсивной терапии. – 2001. - № 4. – С. 3-9.
104. Пасечник И.Н., Азизов Ю.М., Крылов В.В., Бугровская О.И., Анищук Э.Б. Роль окислительной модификации белков в диагностике окислительного стресса// Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. - № 9. – С. 13.
105. Пасечник И.Н. Окислительный стресс и критические состояния у хирургических больных// Вестник интенсивной терапии. – 2004. – № 3. – С. 27-31.
106. Плотникова О.М., Корепин А.М., Матвеев Н.Н., Лунева С.Н. Маркеры эндогенной интоксикации в крови лабораторных мышей при интоксикации различными дозами метилфосфоната// Вестник ЧГПУ. – 2011. – № 2. – С. 346-353.
107. Подопригорова В.Г. Оксидативный стресс и язвенная болезнь. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2004. – 176 с.
108. Рагино Ю.И., Баум В.А., Полонская Я.В., Воевода М.И., Никитин Ю.П. Атеросклероз и окислительные процессы. Новые способы оценки окислительной модификации белков// Бюллетень СО РАМН. – 2006. – № 4. – С. 67-73.
109. Разнатовская Е.Н. Изменение процессов окислительной модификации белков у больных химиорезистентным туберкулезом легких//
Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2012. – № 2. – С. 39-42.

110. Рубцов Г.К., Безручко Н.В., Васильков В.Г. Корреляционные взаимосвязи показателей окислительного стресса и параметров оценки эндотоксикоза при холецистите// Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии: материалы восьмой международной крымской конференции. – Судак, Крым, Украина: ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ. – 2012. – С. 62.
111. 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 Российской Федерации № 2012153044, приоритет от 7.12.2012, решение о выдаче патента от 14.04.2014.
112. Рубцов Г.К., Безручко Н.В., Садовникова Д.Г., Козлова Г.А., Анопин К.Д. Клинико-биохимическое значение комплексного изучения молекул средней массы и окислительной модификации белков для оценки эндотоксикоза// Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. - № 2. – С. 41-47.
113. Русакова Н.Л., Лавров А.Н., Копылова С.В., Крылов В.Н. Физиологические аспекты применения продуктов пчеловодства в гинекологии при воспалительных заболеваниях// Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2010. - № 1. – С. 126-130.
114. Рябов Г.А., Азизов Ю.М., Дорохов С.И., Кулабухов В.В., Титова И.А., Пасечник И.Н., Бражник Т.Б., Рыбинцев В.Ю. Окислительная модификация белков плазмы крови у больных в критических состояниях// Анестезиология и реаниматология. – 2000. - № 2. – С. 72-75.
115. Рязанцева Л.Т. Ферменты-антиоксиданты: структурно-функциональные свойства и роль в регулировании метаболических

процессов// Вестник Воронежского государственного технического университета. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 126-129.

116. Соломаха А.А. Современные теоретические аспекты эндогенной интоксикации// Вестник новых медицинских технологий. – 2006. – Т. XIII, № 4. – 21-23.

117. Соломаха А.А., Никольский В.И., Горбаченко В.И., Белова О.Ю. Нейросетевая диагностика синдрома эндогенной интоксикации// Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2009. – Т. 8. – № 2. – С. 536-540.

118. Справочник по лабораторным методам исследования/ Под ред. Л.А. Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – 736 с.

119. Степовая Е.А., Петина Г.В., Жаворонок Т.В., Рязанцева Н.В., Иванов В.В., Агеева Т.С., Тетенев Ф.Ф., Безменова М.А. Функциональные свойства и окислительная модификация белков нейтрофилов и плазмы крови при внебольничной пневмонии// Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 3. – С. 18-21.

120. Степовая Е.А., Жаворонок Т.В., Петина Г.В., Рязанцева Н.В., Иванов В.В., Тетенев Ф.Ф., Агеева Т.С., Новицкий В.В. Участие тиолдисульфидной системы в регуляции окислительной модификации белков в нейтрофилах при окислительном стрессе// Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2010. – № 5. – С. 64-69.

121. Толочко З.С., Спиридонов В.К. Влияние капсаицина на окислительную модификацию белков плазмы крови и артериальное давление у крыс, потреблявших фруктозу// Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – № 3. – С. 3-6.

122. Фархутдинов Р.Г., Кудоярова Г.Р., Туктарова Ю.В., Веселов С.Ю. Твердофазный иммуноферментный анализ содержания фитогормонов в нектаре, пыльце и в меде// Вестник БГАУ. – 2010. – № 4. – С. 9-14.

123. Фархутдинов Р.Р., Баймурзина Ю.Л. Использование натуральных антиоксидантов, входящих в состав продуктов пчеловодства, для профилактики оксидативного стресса при физических нагрузках// Медицина для спорта: Материалы I Всероссийского конгресса (с международным участием). – Москва. – 2011. – С. 459-462.
124. Фомина М.А., Шумская Е.И., Фомина Н.В. Окислительная модификация белков плазмы крови при тромбофлебитах// Астраханский медицинский журнал. – 2011. – № 2. – С. 234-235.
125. Фролова М.Ю. Возможности метода определения карбонильных групп белков сыворотки крови для оценки состояния «окислительного стресса» в клинической практике: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2003. – 25 с.
126. Халдун О., Лакал А., Бекшоков К.С., Кличханов Н.К. Окислительная модификация белков плазмы крови ожоговых больных// Вестник Дагестанского государственного университета. – 2012. – № 1. – С. 128-132.
127. Хисматуллина Н.З. Апитерапия. – Пермь: Мобиле, 2005. – 285 с.
128. Хужахметова Л.К., Сентюрова Л.Г. Влияние α -токоферола-ацетата и циклоферона на окислительную модификацию белков у стрессированных крыс// Астраханский медицинский журнал. – 2011. – № 2. – С. 237-238.
129. Черепанов Н.С. Влияние длительной гиподинамии на динамику свободно-радикального окисления липидов, белков и содержание гликозаминогликанов в полушариях мозжечка крыс: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Челябинск, 2013. – 22 с.
130. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах// Успехи современного естествознания. – 2006. – № 7. – С. 29-36.
131. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем// Успехи современного естествознания. – 2006. –

№ 7. – С. 37-41.

132. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н., Афанасьева Г.В. Возможности эффективного использования антиоксидантов и антигипоксантов в экспериментальной и клинической медицине// Успехи современного естествознания. – 2006. – № 8. – С. 18-25.

133. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н., Афанасьева Г.В. Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободнорадикального окисления в условиях патологии// Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 6. – С. 21-26.

134. Чистяков В.А. Биохимические механизмы неспецифической защиты клетки от окислительного стресса: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – Ростов-на-Дону, 2011. – 44 с.

135. Шикова Ю.В., Баймурзина Ю.Л., Лиходед В.А., Фархутдинов Р.Р., Епифанова А.В., Кадырова З.Р., Бахтиярова С.Б., Зарипов Р.А. Антиоксидантные свойства экстракта личинок большой восковой моли и экстракта прополиса// Медицинский альманах. – 2011. – № 2. – С. 151-152.

136. Шварев Е.Г., Оводенко Д.Л., Дикарева Л.В., Шварев Г.Е. Клиническая оценка содержания карбонильных групп белков в биологических жидкостях больных опухолями яичников// Астраханский медицинский журнал. – 2011. – № 2. – С. 238-240.

137. Шумаев К.Б. Роль динитрозильных комплексов железа в защите биомолекул и клеточных структур от окислительного, нитрозильного и карбонильного стрессов: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – Москва, 2010. – 50 с.

138. Эсаулова Т.Э. Молекулы средней массы как показатель интоксикоза у работников Астраханского газового комплекса и критерий эффективности проводимых лечебно-оздоровительных мероприятий// Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. XVI, № 1. – С. 50-51.

139. Ялалетдинова Л.Р., Муталов А.Г., Ишемгулов А.М. Использование

- продуктов пчеловодства с лечебной и профилактической целью// Медицинский вестник Башкортостана. – 2011 . – Том 6, № 5. – С. 160-162.
140. Ялалетдинова Л.Р., Муталов А.Г., Ишемгулов А.М. Применение маточного молочка и гречишного меда у детей с анемией// Медицинский вестник Башкортостана. – 2012 . – Том 7, № 5. – С. 60-64.
141. Abu-Mellal A., Koolaji N., Tran V.H., Duke C.C., Duke R.K. Prenylated cinnamate and stilbenes from kangaroo island propolis and their antioxidant activity// *Phytochemistry*. – 2012. – Vol. 77. – P. 251-259.
142. Abu-Zidan F.M., Plank L.D., Windsor J.A. Proteolysis in severe sepsis is related to oxidation of plasma protein// *Eur. J. Surg.* – 2002. – Vol. 168. – P. 119-123.
143. Beal M.F. Oxidatively modified proteins in aging and disease// *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 32. – P. 797-803.
144. Bhadauria M., Nirala S.K., Shukla S. Duration-dependent hepatoprotective effects of Propolis extract against carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats// *Adv. Ther.* – 2007. – Vol. 24. – P. 1136-1137.
145. Boscia F., Grattagliano I., Vendemiale G., Micelli-Ferrari T., Altomare E. Protein oxidation and lens opacity in humans// *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2000. – Vol. 41. – P. 2461-2465.
146. Buratti S., Benedetti S., Cosio M.S. Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis// *Talanta*. – 2007. – Vol. 71. – № 3. – P. 1387-1392.
147. Burlakova E.B., Zhizhina G.P., Gurevich S.M., Fatkullina L.D., Kozachenko A.I., Nagler L.G., Zavarykina T.M., Kashcheev V.V. Biomarkers of oxidative stress features in patients with tumors of the upper airways// *Oxidation Communications*. – 2011. – Vol. 34. – № 2. – P. 415-426.
148. Cederberg J., Basu S., Eriksson U.J. Increased rate of lipid peroxidation and protein carbonylation in experimental diabetic pregnancy// *Diabetologia*. – 2001. – Vol. 44. – № 6. – P. 766-774.

149. Chen S.S., Chang L.S., Wei Y.H. Oxidative damage to proteins and decrease of antioxidant capacity in patients with varicocele// *Free Radic. Biol. Med.* 2001. – Vol. 30. – P. 1328-1334.
150. Chevion M., Berenshtein E., Stadman E.R. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage// *Free Radic. Res.* – 2000. – Vol. 33. – P. 99-108.
151. Choi J., Malakowsky C.A., Talent J.M., Conrad C.C., Gracy R.W. Identification of oxidized plasma proteins in Alzheimer's disease// *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2002. – Vol. 293. – P.1566-1570.
152. Conrad C.C., Marshall P.L., Talent J.M., Malakowsky C.A., Choi J., Gracy R.W. Oxidized proteins in Alzheimer's plasma// *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2000. – Vol. 275. – P. 678-681.
153. Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress// *Clinica Chimica Acta.* – 2003. – № 329. – P. 23-38.
154. Dean J.T. Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury// *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 32. – P. 303-308.
155. Deminice R., Payão P.O., Jordão A.A., Sicchieri T. Blood and salivary oxidative stress biomarkers following an acute session of resistance exercise in humans// *International Journal of Sports Medicine.* – 2010. – Vol. 31. – № 9. – P. 599-603.
156. Dietrich-Muszalska A., Olas B. Modifications of blood platelet proteins of patients with schizophrenia// *Platelets.* – 2009. – Vol. 20. – № 2. – C. 90-96.
157. Dobre I., Gadei G., Patrascu L., Elisei A.M., Segal R. The antioxidant activity of selected Romanian honeys// *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI: Food Technology.* – 2010. – Vol. 34. – № 2. – P. 67-73.
158. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function// *Physiol. Rev.* – 2001. – Vol. 82. – P. 47-95.
159. Ermak G., Davies K.J. Calcium and oxidative stress: from cell signaling

- to cell death// *Mol. Immunol.* – 2002. – Vol. 38. – P. 713-721.
160. Estrada E., Quincoces J.A., Patlewicz G. Creating molecular diversity from antioxidants in Brazilian propolis. Combination of tops-mode qsar and virtual structure generation// *Molecular Diversity.* – 2004. – Vol. 8. – № 1. – P. 21-33.
161. Garcia-Garcia A., Rodriguez-Rocha H., Madayiputhiya N., Franco R., Pappa A., Panayiotidis M.I. Biomarkers of protein oxidation in human disease// *Current Molecular Medicine.* – 2012. – Vol. 12. – № 6. – P. 681-697.
162. Griffiths H.R. Antioxidant and protein oxidation// *Free Radic. Res.* – 2000. – Vol. 33. – P. 47-58.
163. Gülçin T., Şehitoğlu M.H., Bursal E., Bilsel M., Gören A.C. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey// *Food and Chemical Toxicology.* – 2010. – Vol. 48. – № 8-9. – P. 2227-2238.
164. Gutteridge J.M., Halliwell B. Free radicals and antioxidant in the year 2000. A historical look to the future// *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 899. – P. 136-147.
165. Herken E.N., Erel O., Guzel S., Celik H., Ibanoglu S. Total antioxidant, phenolic compounds, and total oxidant status of certified and uncertified turkey's honeys// *International Journal of Food Properties.* – 2009. – Vol. 12. – № 3. – P. 461-468.
166. Kancheva V.D., Bankova V.S. Chain-breaking antioxidant of two new chalcones from propolis of el Salvador in homogeneous and micellar media// *Bulgarian Chemical Communications.* – 2008. – Vol. 40. – № 4. – P. 546-555.
167. Korolainen M.A., Goldsteins G., Alafuzoff I., Koistinaho J., Pirttila T. Proteomic analysis of protein oxidation in Alzheimer's disease brain// *Electrophoresis.* – 2002. – Vol. 23. – P. 3428-3433.
168. Kortenska-Kancheva V.D., Bankova V.S., Popova M.P. Antioxidant capacity of new chalcones from propolis of el Salvador during methyl linoleate

oxidation in micellar solutions// Oxidation Communications. – 2005. – Vol. 28. – № 3. – P. 525-535.

169. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Kukharchuk V.V., Konovalova G.G., Kaminsky A.I., Shumaev K.B., Belenkov Y.N., Pisarenko O.I. Antioxidants decrease the intensification of low density lipoprotein in vivo peroxidation during therapy with statins// Molecular and Cellular Biochemistry. – 2003. – Vol. 249. – P. 129-140.

170. Levine R.L., Wehr N., Williams J.A., Stadtman E.R., Shacter E. Determination of carbonyl groups in oxidized proteins// Methods Mol. Biol. – 2000. – Vol. 99. – P. 15-24.

171. Levine R.L., Stadtman E.R. Oxidative modification of proteins during aging// Exp. Gerontol. – 2001. – Vol. 36. – № 9. – P. 1495-1502.

172. Lim P.S., Cheng Y.M., Wei Y.H. Increase in oxidative damage to lipids and proteins in skeletal muscle of uremic patients// Free Radic. Res. – 2002. – Vol. 36. – № 3. – P. 295-301.

173. Madian A.G., Regnier F.E. Proteomic identification of carbonylated proteins and their oxidation sites// Journal of Proteome Research. – 2010. – Vol. 9. – № 8. – P. 3766-3780.

174. Mal'tseva E.L. Lipid peroxidation microviscosity and adenylate cyclase activity in plasma membranes after injection of antioxidant// Book of abstracts 44th Intern. Conf. on Biosciences of Lipids. Keble College. Oxford. UK. – 2003. – P. 17.

175. Mal'tseva E.L., Pal'mina N.P., Burlakova E.V. LPO products inhibit PKC activity: kinetic analysis// Book of abstracts 8th Intern. Congress on Phospholipids. Vienna. Austria. – 2002. – P. 47.

176. Mirzaei H., Regnier F.E., Baena B., Barbas C. Identification of oxidized proteins in rat plasma using avidin chromatography and tandem mass spectrometry// Proteomics. – 2008. – Vol. 8. – № 7. – P. 1516-1527.

177. Moreno M.I., Isla M.I., Sampietro A.R., Vattuone M.A. Comparison of

the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina// *J. Ethnopharmacol.* – 2000. – Vol. 71, № 1-2. – P. 109-114.

178. Niki E. Lipid peroxidation products as oxidative stress biomarkers// *BioFactors* (Oxford, England). – 2008. – Vol. 34. – № 2. – P. 171-180.

179. Ostdal H., Davies M.J., Andersen H.J. Reaction between protein radicals and other biomolecules// *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 33. – P. 201-209.

180. Parihar A., Parihar M.S., Milner S., Bhat S. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury// *Buvs.* – 2008. – Vol. 34. – P. 6-17.

181. Peng J., Jones G.L., Watson K. Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements// *Free Radical Biology & Medicine.* – 2000. – Vol. 28. – № 11. – P. 1598-1606.

182. Radhakrishnan P., Palaniyandi S., Dechen C., Dhanapal S. Therapeutic effect of paclitaxel and propolis on lipid peroxidation and antioxidant system in 7,12 dimethyl benz(a)anthracene-induced breast cancer in female Sprague Dawley rats// *Life Sciences.* – 2006. – Vol. 78. – P. 2820-2825.

183. Rahman I., Biswas S.K. Non-invasive biomarkers of oxidative stress: reproducibility and methodological issues// *Redox Report.* – 2004. – Vol. 9. – № 3. – P. 125-143.

184. Ray S.D., Lam T.S., Rotollo J.A., Phadke S., Patel C., Dontabhaktuni A., Mohammad S., Lee H., Strika S., Dobrogowska A., Bruculeri C., Chou A., Patel R., Manolas T., Stohs S. Oxidative stress in the master operator of drug and chemically induced programmed and unprogrammed cell death: Implications of natural antioxidants in vivo// *Biofactors.* – 2004. – Vol. 21. – P. 223-232.

185. Requena J.R., Chao C.C., Levine R.L., Stadtman E.R. Glutamic and amino adipic semialdehydes are the main carbonyl products of metal-catalyzed oxidation of proteins// *Proc. Nat. Acad. Sei. USA.* – 2001. – Vol. 98. – № 1. – P. 69-74.

186. Rytter E., Basu S., Vessby B., Johansson C., Möller L., Sjödin A.,

Åkesson B. Biomarkers of oxidative stress in overweight men are not influenced by a combination of antioxidants// *Free Radical Research*. – 2010. – Vol. 44. – № 5. – P. 522-528.

187. Stadman E.R., Levine R.L. Protein Oxidation// *Ann. New York Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 889. – P. 191-208.

188. Wang Q., Zhao X., He S., Liu Y., An M., Ji J. Differential proteomics analysis of specific carbonylated proteins in the temporal cortex of aged rats: the deterioration of antioxidant system// *Neurochemical Research*. – 2010. – Vol. 35. – № 1. – P. 13-21.

189. Zs.-Nagy I. On the true role of free radicals in living state, aging and degenerative disorders// *Ann. NY Acad. Sci.* – 2001. – Vol. 928. – P. 187-199.