

УДК 577

## ВПЛИВ НАНОСТРУКТУРОВАНОГО ДИОКСИДУ ЦЕРІУ НА ОКИСНУ МОДИФІКАЦІЮ БІЛКІВ КРОВІ В УМОВАХ ЇЇ ЗБЕРІГАННЯ

<sup>1</sup> Шелюк О.В., <sup>1</sup> Мороз М.М., <sup>1</sup> Гостєва Ю.В., <sup>1</sup> Собко В.М., <sup>1</sup> Нурищенко Н.Є., <sup>1</sup> Цейслер Ю.В., <sup>2</sup> Співак М.Я., <sup>2</sup> Жолобак Н.М., <sup>1</sup> Мартинюк В.С.

<sup>1</sup> Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна  
e-mail: shelyuk\_olga@ukr.net

<sup>2</sup> Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України, Київ, Україна

Надійшла до редакції 09.10.2014

**Актуальність.** На цей час наночастинки диоксиду церію розглядаються як неорганічний антиоксидант, що здатний ефективно захищати живі системи від окисного стресу. З іншого боку існує певний масив даних щодо прооксидантних властивостей цього наноструктурованого матеріалу. У зв'язку з цим досліджено вплив наночастинок диоксиду церію у концентрації  $10^{-3}$  М (в перерахунку на диоксид церію) на показники окисної модифікації білків плазми крові та еритроцитарних білків в процесі зберігання крові.

**Методи.** Дослідження проводили на цитратній крові білих безпородних щурів. Отриману кров було поділено на три групи: перша – контрольна, друга група до якої додавали стабілізуючий розчин (цитрат амонію  $10^{-3}$  М), а також третя група крові з колоїдним розчином диоксиду церію ( $10^{-3}$  М в перерахунку на  $\text{CeO}_2$ ), стабілізованим цитратом амонію. Зібрану та розподілену на групи кров зберігали в холодильнику при  $4^\circ\text{C}$  протягом 8 діб. Окисну модифікацію білків визначали спектрофотометричним методом по кількісному вмісту продуктів реакції альдегідних і кетонних груп з 2,4-динітрофенілгідразинном.

**Результати.** Показано, що наночастинки диоксиду церію у достатньо високій концентрації  $10^{-3}$  М спричиняють посилення окиснення білків плазми і еритроцитів в цільній крові в процесі її зберігання. Найбільші ефекти прооксидантної дії цієї наноструктурованої речовини спостерігаються одразу після додавання диоксиду церію. Зроблено припущення, що наноструктурований диоксид церію може виступати в якості окисно-відновного буферу, який в окисному середовищі працює як антиоксидант, а у відновлювальному середовищі – як прооксидант. Певну біологічну активність демонструє стабілізатор колоїдного стану наноструктурованого диоксиду церію – цитрат амонію. Ймовірно, що біологічна дія пов'язана з регуляторним впливом цієї речовини на активність окремих ферментативних ланок антиоксидантної системи крові.

**Ключові слова:** наночастинки диоксиду церію, окисна модифікація білків, кров.

### ВСТУП

Сучасний стрімкий розвиток виробництва наноматеріалів ставить питання, з одного боку, про їх біологічну активність і безпечність для здоров'я людини, а з іншого, - про можливість використання в медицині, зокрема в якості фармакологічних, антисептичних і антибактеріальних препаратів. Останнім часом диоксид церію привертає увагу як неорганічний антиоксидант, що здатний ефективно захищати живі системи від окисного стресу [1, 2]. Аналіз літературних даних показує, що основний механізм впливу наночастинок диоксиду церію пов'язаний з їх здатністю контролювати концентрацію активних форм кисню (АФК), які відіграють важливу роль у механізмах вільнорадикального пошкодження біологічних молекул і АФК-залежній системі внутрішньоклітинної регуляції.

Варто відмітити, що не дивлячись на певний масив експериментальних даних, які свідчать про антиоксидантні властивості диоксиду церію, питання його використання все ще є дискусійними, тому що молекулярні і клітинні механізми антиоксидантного впливу цього наноматеріалу вивчені недостатньо.

До найважливіших регуляторних систем клітини, які беруть участь у адаптаційних процесах і регуляції метаболічних шляхів, належить прооксидантно-антиоксидантна система, яка підтримує нормальне функціонування клітини [3]. Загальновідомо, що в умовах окисного стресу переважають процеси нерегульованої модифікації білків, що можуть призвести до втрати їх біологічної активності. Традиційно значну увагу дослідників привертає вивчення окисної модифікації (деструкції) білків (ОМБ) в умовах розвитку вільнорадикальних патологій в тканинах [4]. Окиснення амінокислот у складі білків призводить до їх структурних змін, які

проявляються агрегацією, фрагментацією, а також підвищеною чутливістю до протеолізу. Відомо, що окисна деструкція білків є одним з перших показників пошкодження тканини. Рівень альдегідних і карбонільних груп, що утворюються при вільнорадикальному окисненні амінокислотних радикалів, є головним маркером окисної модифікації білків [5, 6].

З огляду на те, що кров є тією системою, на якій позначаються наслідки впливу тих чи інших захворювань, факторів довкілля, фармакологічних препаратів і різноманітних ксенобіотиків, актуальним є вивчення структурних особливостей і функцій компонентів периферичної крові за дії на них досліджуваних чинників, зокрема наноструктурованого діоксиду церію. Унікальними у цьому плані є еритроцити та їхній основний білок – гемоглобін. Еритроцити як об'єкт дослідження цікаві тим, що вони відіграють важливу роль у транспорті  $O_2$ ,  $CO_2$  та продуктів перетворення  $NO$  [7]. Саме тому метою нашого дослідження було вивчити вплив діоксиду церію на показники окисної деструкції білків плазми крові та еритроцитарних білків в процесі зберігання крові.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на крові білих безпородних щурів (вага 160 г,  $n = 15$ ), яких утримували на стандартному раціоні віварію. Експерименти проводили згідно з національними «Загальними етичними принципами проведення експериментів на тваринах», ухваленими Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями Міжнародної конвенції щодо роботи з тваринами.

В експериментах використовували цільну кров, забір якої проводили з додаванням 3,8 % цитрату натрію (кінцеве розведення цитрат натрію : цільна кров = 1:9). Отриману кров було поділено на три групи: перша – контрольна, друга група до якої додавали стабілізуючий розчин (цитрат амонію  $10^{-3}$  М), а також третя група крові з колоїдним розчином діоксиду церію ( $10^{-3}$  М в перерахунку на  $SeO_2$ ), стабілізованим цитратом амонію. Зібрану та розподілену на групи кров зберігали в холодильнику при  $4^\circ C$  протягом 8 діб. Фізичні властивості наночастинок діоксиду церію, які використовували в даному дослідженні, наведені в [8, 9].

Для отримання плазми та гемолізату еритроцитів цитратну кров центрифугували при 3000 об/хв. протягом 5 хв. Плазму крові перед аналізом розводили 0,154 М розчином NaCl у співвідношенні 1:10. Еритроцити тричі промивали 0,145 М розчином NaCl центрифугуючи при 3000 об/хв протягом 10 хв. Далі здійснювали

гіпотонічний лізис отриманих еритроцитів холодною дистильованою водою у співвідношенні 1:20. Через 15 хв інкубації гемолізату в холодильнику його центрифугували протягом 20 хв з метою осадження тіней еритроцитів. Для аналізу використовували супернатант. Паралельно в плазмі та гемолізаті визначали вміст білка спектрофотометричним методом, що необхідно для подальших розрахунків.

Визначення окисної модифікації білків плазми крові та білків гемолізату проводили за методом [6, 10] у власній модифікації. Даний метод заснований на реакції взаємодії окиснених амінокислотних залишків білків з 2,4-динітрофенілгідразином (2,4-ДНФГ) та утворенням при цьому похідних 2,4-динітрофенілгідразону [11]. При окисненні білків можуть утворюватися альдегідні та кетонні групи амінокислотних залишків, які взаємодіють з 2,4-ДНФГ. Відомо, що окислення залишків лізину та аргініну буде приводити до утворення альдегідних похідних, тоді як при окисненні гістидину виникають кето-похідні [12]. Ступінь окисної модифікації білків визначали в паралельних пробах протягом 8 днів зберігання, а саме на 1, 3, 6 та 8 день. Для кожного варіанту дослідження готували свій контроль. Альдегідні і кето-похідні реєстрували за допомогою спектрофотометра СФ-26 на довжинах хвиль 370 нм та 430 нм відповідно. Ступінь окисної модифікації білків виражали в мкМ 2,4-ДНФГ на 1 г білку, використовуючи коефіцієнт молекулярної екстинкції для 2,4-ДНФГ ідразонів  $22000 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ . Вміст карбонільних груп (ступінь окисної модифікації) обчислювали за формулою:

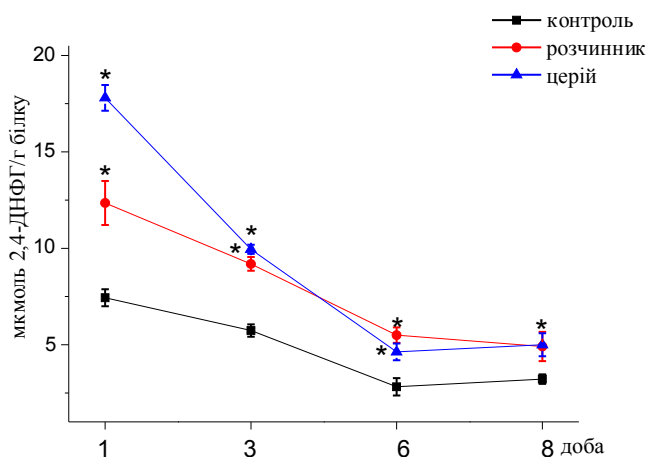
$$A = V_{\text{пр}} \Delta D R / \epsilon C_B V_{\text{розв}}, \text{ мкмоль/г білку,}$$

де  $V_{\text{пр}}$  – об'єм проби,  $\Delta D$  – оптична густина,  $R$  – коефіцієнт розведення,  $\epsilon$  - коефіцієнт молекулярної екстинкції,  $C_B$  – концентрація,  $V_{\text{розв}}$  – об'єм розведеного білку в пробі.

Статистичну обробку результатів експериментів проводили в програмі Origin 8.0 (OriginLab Corporation, США). Результати досліджень обробляли статистично з обчисленням середніх арифметичних величин ( $M$ ), стандартної похибки ( $m$ ). Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обраховували коефіцієнт Стьюдента. За вірогідну вважали різницю середніх величин при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рисунку 1 показано вміст альдегідних груп білків плазми крові щурів, які визначали по утворенню 2,4-ДНФГ ідразонів на довжині хвилі 370 нм. Найбільший вміст альдегідних груп в білках плазми крові був зареєстрований на початку



**Рис. 1.** Динаміка вмісту альдегідних похідних амінокислотних радикалів у складі білків плазми крові щурів в процесі зберігання крові при 4°C.

*Примітки:* \* - достовірні відміни порівняно з контролем.

експерименту в перший день. В процесі зберігання крові цей показник достовірно знижувався протягом 6 діб, після чого залишався практично незмінним до кінця терміну спостереження.

Ймовірно, така загальна динаміка цього показника у всіх експериментальних зразках крові пов'язана з тим, що в процесі зберігання крові альдегідні групи поступово хімічно реагують з речовинами, що містять аміногрупи, утворюючи Шифові основи або інші продукти конденсації і подальшого окиснення.

Звертає увагу той факт, що додавання в кров розчину цитрату амонію в кінцевій концентрації  $10^{-3}$  М, який використовується в якості стабілізатора в колоїдних розчинах наночастинок диоксиду церію, є прооксидантним фактором, що тривалий час стимулює окиснення білкових молекул (рис.1). У той же час додавання в кров диоксиду церію в концентрації  $10^{-3}$  М суттєво збільшує рівень окисної модифікації білків приблизно в 2.5 рази (рис. 1), однак в процесі зберігання крові прооксидантна дія диоксиду церію практично зникає, при цьому спостерігається залишкова прооксидантна дія стабілізатора – цитрату амонію, про що свідчить достовірно більш високий рівень вмісту альдегідних груп в білках плазми крові (рис. 1). Особливості початкового і кінцевого стану окисної модифікації білків плазми крові за показником рівня альдегідних груп в процесі зберігання крові добре видно з таблиці 1.

**Таблиця 1**

**Показники окисної модифікації білків плазми крові щурів**

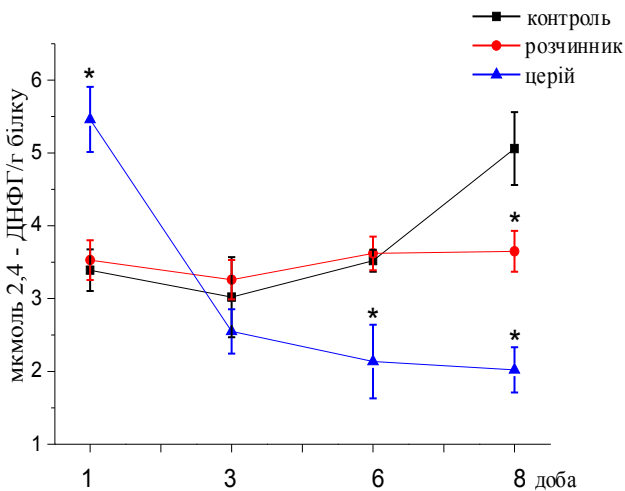
Показник	контроль (n=10)	стабілізуючий розчин (n=10)	диоксид церію (n=10)
Вміст альдегідних похідних, $A_{370}$ мкмоль/г білку (1 день)	7,44±0,44	12,35±1,14	17,80±0,67
Вміст альдегідних похідних, $A_{370}$ мкмоль/г білку (8 день)	3,22±0,25 P<0,05	4,91±0,76 P<0,05	5,00±0,60 P<0,05

P – ступінь достовірності різниць середніх відносно 1-го дня вимірювань.

Аналіз динаміки вмісту кетонних похідних амінокислотних радикалів, що визначаються по оптичній густині 2,4-ДНФГгідразонів на довжині хвилі 430 нм, в білках плазми крові щурів показує їх поступове накопичення в процесі зберігання крові в контрольних зразках. Це свідчить про те, що в процесі зберігання крові відбувається повільне спонтанне вільнорадикальне окиснення білків, при якому альдегідні похідні, що утворюються вільнорадикальному окисненні в першу чергу, піддаються більш глибокому окисненню і їх кількість зменшується (рис.1), а кетонні похідні залишаються і поступово накопичуються (рис. 2). Цитрат амонію практично не впливає на процес накопичення кетонних похідних амінокислотних радикалів в плазмі крові протягом тижня. Однак ця речовина пригнічує накопичення кетонних похідних при подальшому зберіганні крові.

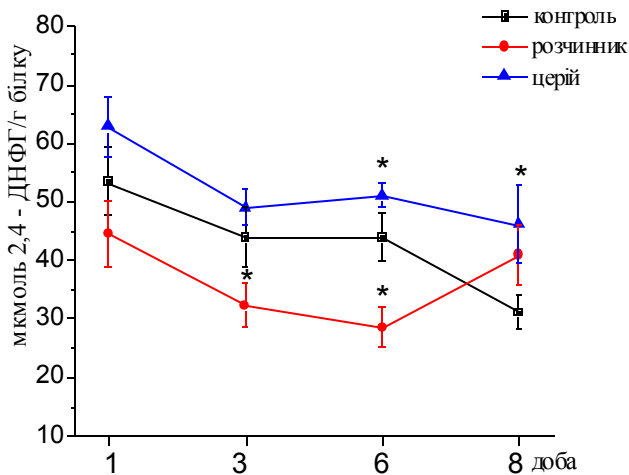
Додавання диоксиду церію в кров в концентрації  $10^{-3}$  М відразу призводить до

помітного зростання рівню кето-похідних амінокислот в білках плазми крові, що додатково свідчить про окисдаційний характер впливу наночастинок диоксиду церію на білки плазми. Подальше зберігання крові у присутності наночастинок диоксиду церію супроводжується двократним зменшенням концентрації кетонних похідних амінокислот. Зменшення кількості кетонних груп можна, ймовірно, пов'язано з тим, що окисна модифікація білків призводить до утворення білкових агрегатів. В реакції утворення ковалентних міжмолекулярних зшивок приймають участь як альдегідні, так і кетонні хімічні групи, що утворились внаслідок окисної модифікації амінокислотних залишків.



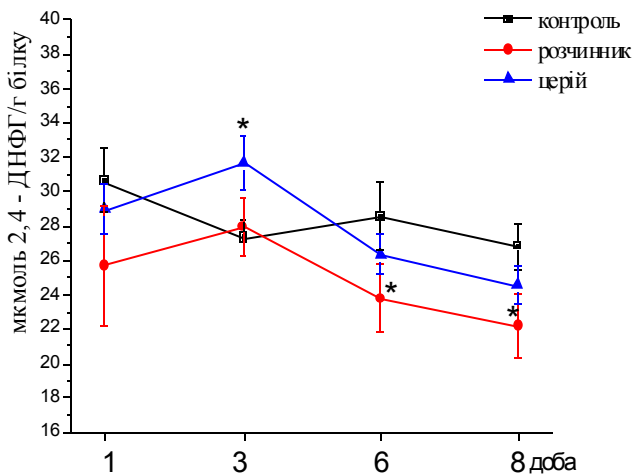
**Рис. 2.** Динаміка вмісту кето-похідних амінокислотних радикалів у складі білків плазми крові щурів в процесі зберігання крові при 4°C.

Примітки: \* - достовірні відмінні порівняно з контролем.



**Рис. 3.** Динаміка вмісту альдегідних похідних амінокислотних радикалів у складі білків еритроцитів щурів в процесі зберігання крові при 4°C.

Примітки: \* - достовірні відмінні порівняно з контролем.



**Рис. 4.** Динаміка вмісту кето-похідних амінокислотних радикалів у складі білків еритроцитів щурів в процесі зберігання крові при 4°C.

Примітки: \* - достовірні відмінні порівняно з контролем.

Аналіз динаміки вмісту альдегідних і кетонних похідних амінокислотних радикалів в білках цитоплазми еритроцитів показує їх поступове зниження в процесі зберігання крові як в контрольних, так і у дослідних зразках (рис. 3 і 4). Причина зниження рівню альдегідних похідних, ймовірно, є такою ж самою, як і в плазмі крові, а саме в процесі зберігання крові альдегідні групи поступово реагують з речовинами, що містять аміногрупи, утворюючи Шифові основи або інші продукти конденсації і подальшого окиснення. Таке зниження добре демонструють контрольні зразки (рис. 3). Водночас з цим, при додаванні цитрату амонію маємо незначне підвищення рівню альдегідних похідних при тривалому зберіганні крові протягом 8 днів, причому впродовж попередньої доби рівень альдегідних похідних був достовірно нижчим контрольних значень (рис. 3). Діоксид церію в концентрації  $10^{-3}$  М спричинив зростання цього показника протягом всього терміну зберігання крові, що свідчить в цілому про його тривалу прооксидантну дію в еритроцитах при такій високій концентрації цього наноматеріалу.

Динаміка вмісту кетонних похідних амінокислотних радикалів в білках цитоплазми еритроцитів показує загальну тенденцію до зниження цього показника в процесі зберігання крові як в контрольних, так і у дослідних зразках (рис. 4). Але суттєвого впливу діоксиду церію і стабілізуючої речовини цитрату амонію на цей показник, порівняно з контрольними зразками, не спостерігається.

З літературних даних відомо, що окисна модифікація протеїнів пов'язана з їх денатурацією, зміною гідрофобності та підвищеною протеолітичною чутливістю. Денатурація та гідрофобність збільшуються саме на початкових стадіях окисної деструкції білків та розглядається як «сигнал» для внутрішньоклітинного протеолізу окиснених протеїнів [13, 14]. В результаті окисної модифікації збільшується кількість гідрофобних залишків на поверхні глобул, що і викликає утворення білкових конгломератів [15]. В літературі достатньо детально описано структурно-функціональні властивості компонентів крові в нормі та за деяких патологічних станів, що супроводжуються зростанням процесів вільно радикального окиснення [7]. Ґрунтуючись на даних літератури, можна припустити, що саме процеси агрегації білків внаслідок їх окисної модифікації і є головною причиною зменшення альдегідних і кетонних похідних в білках плазми крові і білках цитоплазми еритроцитів. В процесі зберігання крові альдегідні групи, що спонтанно утворюються при вільно радикальному пошкодженні білків, поступово реагують з аміногрупами

амінокислотних залишків, утворюючи міжмолекулярні ковалентні зшивки. Утворення агрегатів, ймовірно, призводить до певного «екранування» кетонних груп, які уварюються при подальшому окисненні амінокислотних залишків.

Додавання наночастинок діоксиду церію у достатньо високій концентрації  $10^{-3}$  М спричиняє посилення окисних процесів. Причому найбільші ефекти прооксидантної дії цієї наноструктурованої речовини спостерігаються одразу після додавання діоксиду церію, тобто в перший день спостережень. Відомо, що наночастинок діоксиду церію можуть виступати як в ролі про- так і антиоксидантів [16-18]. Таким чином наоструктурований діоксид церію варто розглядати як окисно-відновний буфер, який в окисному середовищі працює як антиоксидант, а у відновлювальному середовищі – як прооксидант. В нашому експерименті цільна кров виступає як відновлювальне середовище, у зв'язку з чим ми спостерігаємо прооксидантну дію цього наноструктурованого матеріалу на білки плазми крові і білки цитоплазми еритроцитів. Грунтуючись на такому уявленні про окисно-відновні буферні властивості діоксиду церію, стає ясним механізм його антиоксидантних ефектів у дослідженнях, в яких додатково штучно ініціювали процес вільно радикального окиснення [19].

Неочікуваним результатом наших досліджень є певна біологічна активність цитрату амонію, який використовується для стабілізації колоїдного стану наночастинок діоксиду церію. Зокрема ця речовина в концентрації  $10^{-3}$  М також демонструє певні прооксидантні або антиоксидантні властивості, які, ймовірно, за все, пов'язані з регуляторним впливом цієї речовини на активність окремих ферментативних ланок антиоксидантної системи крові.

## ВИСНОВКИ

Отже, результати дослідження свідчать про те, що наночастинок діоксиду церію у концентрації  $10^{-3}$  М спричиняють посилення окиснення білків плазми і еритроцитів в цільній крові в процесі її зберігання. Найбільші ефекти прооксидантної дії цієї наноструктурованої речовини спостерігаються відразу після додавання діоксиду церію.

## Література

1. *Иванов В.К., Щербаков А.Б., Усатенко А.В.* Структурно-чувствительные свойства и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия // *Успехи химии.* - 2009. - Т. 78, № 9. - С. 924–937.

2. *-Celardo I., Pedersen J.Z., Traversa E., Ghibelli L.* Pharmacological potential of cerium oxide nanoparticles // *Nanoscale.* – 2011. – №3. – P. 1411-1420.
3. *Меньщикова Е.Б.* Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Фирма «Слово», 2006. – 556 с.
4. *Дубинина Е.Е., Коновалов П.В., Солитернова И.Б. и др.* Окислительная модификация белков плазмы крови у пожилых людей с сосудистой деменцией// *Український біохімічний журнал.* – 2001. – Т. 73, №1. – С. 125–129.
5. *Лисицина Т.А., Васильева И.М., Дурнев А.Д. и др.*// *Докл. РАН.* – 1999. – Т. 365, №2. – С. 263–266.
6. *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. Т. 41, вып. 1. – С. 24–26.
7. *Васильева Е.М.* Биохимические особенности эритроцита. Влияние патологии // *Биомедицинская химия.* – 2005. – Т. 51, вып. 2. – С. 118–126.
8. *Щербаков А.Б., Жолобак Н.М., Иванов В.К., Третьяков Ю.Д., Спивак Н.Я.* Наноматериалы на основе диоксида церия: свойства и перспективы использования в биологии и медицине // *Биотехнология.* – 2011. – Т. 4, №1. – С. 9–28.
9. *Шекунова Т.О., Гиль Д.О., Иванова О.С., Иванов В.К., Третьяков Ю.Д.* Синтез, биологическая и фотокаталитическая активность золь диоксида церия, стабилизированных цитрат-ионом // *Наносистемы: физика, химия, математика.* – 2013. – Т. 4, № 1. – С. 83-89.
10. *Мещишен І.Ф.* Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // *Бук. мед. вісник.* – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 156–158.
11. *Levine R.L.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins / R.L. Levine, D. Garland, C.N. Oliver // *Methods Enzymology.*-1990. – Vol.186. – P. 464–478.
12. *Луцак В. И.* Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма // *Биохимия.* – 2007. – Т. 42, №4. – С. 398-409.
13. *Davies K. J. A., Lin S. W.* Oxidatively denatured proteins are degraded by an ATP-independent pathway in *Escherichia coli*. // *Free Radic. Biol. Med.* – 1988. – 5, N 4. – P. 225–236.
14. *Dunlop R.A., Rodgers K.J., Dean R.T.* Recent developments in the intracellular degradation of oxidized proteins // *Free Radical Biol. Med.* – 2002, 33, N 7. – P. 894–906.
15. *Davies K.J., Delsignore M.E.* Protein damage and degradation by oxygen radicals. III. Modification of secondary and tertiary structure // *J. Biol Chem.* - 1987, 262. – P. 9908–9913.
16. *Auffan M., Rose J., Orsiere T., De Meo M., Thill A., Zeyons O., Proux O., Masion A., Chaurand P., Spalla O., Botta A., Wiesner M., Bottero J.-Y.* CeO<sub>2</sub> nanoparticles induce DNA damage towards human dermal fibroblasts in vitro // *Nanotoxicology.* – 2009. – Vol. 3, N 2. – P. 161–171.
17. *Salik Hussain, Faris Al-Nsour, Annette B. Rice, Jamie Marshburn, Brenda Yingling, Zhaoxia Ji, Jeffrey I. Zink,*

- Nigel J. Walker, Stavros Garantziotis* Cerium Dioxide Nanoparticles Induce Apoptosis and Autophagy in Human Peripheral Blood Monocytes // ACSNANO. – 2012. – Vol.6, N 7. – P.5820–5829.
18. Niu J., Wang Kolattukudy K. Cerium Oxide Nanoparticles Inhibits Oxidative Stress and Nuclear Factor-B Activation in H9c2 Cardiomyocytes Exposed to Cigarette Smoke Extract // The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics. – 2011. – Vol.338, N 1. – P. 53–61.
19. Colon J., Herrera L., Smith J., Protection from radiation-induced pneumonitis using cerium oxide nanoparticles // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine. – 2009.- Vol. 5. – P. 225–231.

#### EFFECT OF CERIUM DIOXIDE NANOPARTICLES ON OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE BLOOD DURING ITS STORAGE

Shelyuk O.V., Moroz M.M., N, Gosteva Yu.V., Sobko V.M., Nurischenko N.E., Tseysler Yu.V., Spivak N.Ya., Zholobak N.M., Martynyuk V.S.

**Relevance.** Currently ceria nanoparticles are seen as inorganic antioxidants capable of effectively protecting living systems from oxidative stress. On the other hand there is a certain amount of data indicating the prooxidant properties of this nanostructured material. Therefore we investigated the effect of ceria nanoparticles at a concentration of  $10^{-3}$  M (in terms of cerium dioxide) on the oxidative modification of plasma proteins and proteins in erythrocytes during the storage of blood.

**Methods.** Citrated blood albino rats was used in this study. The obtained blood was divided into three groups: first - control group, second group - a stabilizing solution ( $10^{-3}$  M ammonium citrate), and a third group of blood - colloidal citrate-stabilized ceria solution ( $10^{-3}$  M in terms of CeO<sub>2</sub>). The collected blood was stored in a refrigerator at 4 ° C for 8 days. Oxidative modification of proteins were determined by spectrophotometry to quantify the content of the reaction products of aldehyde and ketone groups with 2,4-dinitrophenylhydrazine (2,4-DNPH).

**Results.** It was shown that ceria nanoparticle in high concentration of  $10^{-3}$  M leads to enhanced oxidation of plasma proteins and red blood cells in whole blood during its storage. The greatest prooxidant effect of this nanostructured material are observed immediately after the addition of cerium dioxide to blood. We supposed that nanostructured ceria dioxide can act as a redox buffer, which operates in an oxidizing media as an antioxidant, and in reduction media - as prooxidants. Stabilizer of colloidal state nanostructured ceria - ammonium citrate can influence on the oxidative modification of proteins. Most likely such biological effect of ammonium citrate is due to its regulatory effect on the activity of several enzymatic antioxidant components in blood.

**Key words:** cerium dioxide nanoparticles, oxidative modification of proteins, blood.

#### ВЛИЯНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО ДИОКСИДА ЦЕРИЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ЕЕ ХРАНЕНИЯ

Шелюк А.В., Мороз М.Н., Гостева Ю.В., Собко В.М., Нурищенко Н.Е., Цейслер Ю.В., Співак М.Я., Жолобак Н.М., Мартинюк В.С.

**Актуальность.** В настоящее время наночастицы диоксида церия рассматривают как неорганический антиоксидант, способный эффективно защищать живые системы от окислительного стресса. С другой стороны существует определенный массив данных по прооксидантным свойствам этого наноструктурированного материала. В связи с этим исследовано влияние наночастиц диоксида церия в концентрации  $10^{-3}$  М (в пересчете на диоксид церия) на показатели окислительной модификации белков плазмы крови и эритроцитарных белков в процессе хранения крови.

**Методы.** Исследования проводили на цитратной крови белых беспородных крыс. Полученная кровь была разделена на три группы: первая - контрольная, вторая группа в которую добавляли стабилизирующий раствор (цитрат аммония  $10^{-3}$  М), а также третья группа крови с коллоидным раствором диоксида церия ( $10^{-3}$  М в конечной концентрации в пересчете на CeO<sub>2</sub>), стабилизированным цитратом аммония. Собранную и разделенную на группы кровь хранили в холодильнике при 4° С в течение 8 суток. Окислительное модификацию белков определяли спектрофотометрическим методом по количественному содержанию продуктов реакции альдегидных и кетонных групп с 2,4-динитрофенилгидразином.

**Результаты.** Показано, что наночастицы диоксида церия в достаточно высокой концентрации  $10^{-3}$  М вызывают усиление окисления белков плазмы и эритроцитов в цельной крови в процессе ее хранения. Наибольшие эффекты прооксидантного действия этого наноструктурированного материала наблюдаются сразу после добавления диоксида церия. Сделано предположение, что наноструктурированный диоксид церия может выступать в качестве окислительно-восстановительного буфера, который в окислительной среде работает как антиоксидант, а в восстановительной среде - как прооксидант. Определенную биологическую активность демонстрирует стабилизатор коллоидного состояния наноструктурированного диоксида церия - цитрат аммония. Вероятно, что биологическое действие связано с регуляторным воздействием этого вещества на активность отдельных ферментативных звеньев антиоксидантной системы крови.

**Ключевые слова:** наночастицы диоксида церия, окислительная модификация белков, кровь.