

Исследование антиоксидантной активности криопротекторов методом хемилюминесценции

И.В. Говор¹, Ю.С. Якименко²

¹НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины, г. Харьков

²Институт терапии им. Л.Т. Малой АМН Украины, г. Харьков

Study of Cryoprotectant Antioxidant Activity by Chemiluminescence Method

I.V. Govor¹, Yu.S. Yakimenko²

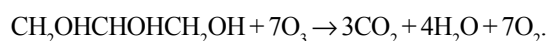
¹Institute for Single Crystals of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

²L.T. Malaya Institute of Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Известно, что глубокое замораживание сопровождается активацией процессов окислительного повреждения в живых системах, что, помимо эффектов механического повреждения и других механизмов криповреждения клеток, приводит к дополнительному снижению их сохранности при криоконсервировании [L.K. Thomson *et al.*, 2009; C. Tatone *et al.*, 2010]. Снижение уровня окислительных повреждений путем модификации криозащитной среды может быть одним из способов повышения криорезистентности биологических объектов [K. Katerogu, 2012]. Целью данной работы было исследование антиоксидантного действия криопротекторов ДМСО и глицерина по отношению к плазме крови человека. Выбор плазмы крови в качестве исследуемого биологического объекта связан с более простым ее поведением при замораживании по сравнению с клетками – картина не осложняется таким явлением, как лизис клеток. Использовали метод люминол-зависимой хемилюминесценции при введении в систему озона как одной из активных форм кислорода (АФК).

В раствор люминола с концентрацией 5×10^{-5} М вводили озонированный физиологический раствор и регистрировали светосумму (площадь под кривой вспышки люминесценции). Светосумма вспышки уменьшается при введении в раствор люминола плазмы крови, что объясняется нейтрализацией части АФК антиоксидантными системами плазмы. Добавление криопротекторов, глицерина и ДМСО приводит к дополнительному снижению светосуммы вспышки хемилюминесценции. Следовательно, в присутствии криозащитных веществ происходит дополнительная нейтрализация АФК.

Известно, что озон разлагает одно- и многоатомные спирты до воды и углекислого газа. Например, окисление глицерина озоном происходит по следующей реакции:



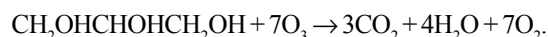
Другие криопротекторы также подвергаются глубокой деструкции под действием озона и других активных форм кислорода. При реакциях с озоном получаются озониды, причем озон присоединяется по месту двойной связи. Озониды, как правило, неустойчивы и легко разлагаются водой.

Таким образом, экспериментально показано, что криопротекторы глицерин и ДМСО оказывают антиоксидантное действие по отношению к плазме крови. Полученные результаты указывают на то, что антиоксидантное действие криопротекторов требует дальнейшего изучения с целью практического применения в криобиологии.

It is known that deep freezing is accompanied by activation of oxidative damage in living systems, that together with mechanical damage and other mechanisms of cell cryodamage induces additional decrease in their integrity following cryopreservation [L.K. Thomson *et al.*, 2009; C. Tatone *et al.*, 2010]. The decreased level of oxidative damage provided by modified cryoprotective medium can be one of the ways to raise bioobject cryoresistance [K. Katerogu, 2012]. The research aim was to study antioxidant effect of cryoprotectants DMSO and glycerol on human blood plasma. The selection of blood plasma as the investigated biological object was pre-conditioned by its simple behaviour during freeze-thawing if compared with the cells, and the observing is not complicated with such a phenomenon as cell lysis. We used the method of luminol dependent chemiluminescence and introduction of ozone into the system as one of reactive oxygen species (ROS).

Luminol solution of 5×10^{-5} M concentration was supplemented by ozonized physiological saline and the light sum was assessed (area under curve of luminescence burst). Light sum of burst decreased after introducing blood plasma into luminol solution, that could be explained by partial neutralization of ROS by plasma antioxidant systems. Introduction of cryoprotectants DMSO and glycerol caused an additional decrease in light sum of chemiluminescence burst. Therefore an additional neutralization of ROS occurred in the presence of cryoprotective substances.

Ozone is known to decompose mono- and polyatomic alcohols to water and carbon dioxide. For instance, oxidation of glycerol by ozone occurs as follows:



Other cryoprotectants are also exposed to deep destruction under effect of ozone and other reactive oxygen species. The reactions with ozone result in appearance of ozonides after binding of ozone to the double linkage site. Most ozonides are non-stable and easily dissociated by water.

Thus, the experiments shown that cryoprotectants glycerol and DMSO have antioxidant effect on blood plasma. The obtained results indicate that antioxidant effect of cryoprotectants requires the further studying aimed to practical application of these properties in cryobiology.

