

УДК: 577.

## ВЛИЯНИЕ НИТРИТОВ НА КОНФОРМАЦИЮ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА

Корноушенко Ю. В., Авдеев П. А., Игнатенко В. А.

Учреждение образования

«Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины»

г. Гомель, Республика Беларусь

### *Введение*

Нитраты считаются одними из самых опасных химических соединений, так как способны вызвать серьезные нарушения в организме человека. Нитраты присутствуют в питьевой воде во многих удобрениях, которые активно используют в сельском хозяйстве для повышения урожайности культур. По этой причине нитраты в овощах и фруктах часто содержатся в значительной концентрации. Попадая с пищей в организм человека, нитраты в больших количествах, способны вызывать отравления, различные расстройства и хронические заболевания [1].

Сами по себе нитраты для людей не ядовиты, но в организме они превращаются в нитриты, которые и оказывают пагубный эффект. Под действием фермента нитратредуктазы нитраты восстанавливаются до нитритов, которые вступают во взаимодействие с гемоглобином крови, что приводит к окислению в нем двухвалентного железа в трехвалентное. В итоге образуется метгемоглобин, который не переносит кислород. Таким образом, происходит нарушение нормального дыхания клеток. Происходит накопление холестерина, молочной кислоты, значительно снижается количество белка мутагенами [2], дезаминирующими азотистые основания ДНК, а в кислой среде желудка млекопитающих нитриты и аминокислоты дают нитрозосоединения — супермутагены [3].

Задачей данной работы было изучение влияния нитритов на конформационное состояние сывороточного альбумина.

Значение сывороточного альбумина в организме человека очень велико. Важную роль сывороточный альбумин играет в поддержании постоянного онкотического давления плазмы крови, которое удерживает воду внутри кровеносных сосудов. Альбумин обратимо связывает и переносит самые разнообразные низкомолекулярные вещества: метаболиты, среди которых жирные кислоты, желчные пигменты, окись азота, холестерин, металлы как постоянной ( $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ), так и переменной валентности ( $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ) и, наконец, очень многие лекарственные препараты. При связывании лиганда с альбумином химическая и биологическая активность этого лиганда меняется. Многие вещества, токсичные в свободной, несвязанной форме значительно снижают свою активность при связывании с ЧСА [4].

Альбумин вносит значительный вклад в защиту организма от вредного действия свободных радикалов. Это достигается, в частности, связыванием металлов переменной валентности, в результате чего, их радикал образующая активность уменьшается в 100 раз. Кроме этого, в норме молекула альбумина содержит одну восстановленную SH-группу, которая легко окисляется, в том числе в реакциях с участием радикалов [5].

**Цель исследования** — изучить характер конформационных изменений сывороточного альбумина при воздействии на него нитритов в различных концентрациях. **Материалы. и методы**

Объектом исследования являлся бычий сывороточный альбумин (БСА) (SigmaAldrich). Флюоресценцию растворов альбумина исследовали на спектрофлуориметре CM 2203 Solar. Растворы сывороточного альбумина концентрацией  $10^{-5}$  М получали в буфере  $Na_2HPO_4$  с  $pH = 7,68$ , близкой к физиологическому значения  $pH$  крови. Так же, в качестве модельного эксперимента, готовили водный раствор БСА. В две пробирки с сывороточным альбумином, приготовленном в воде и в буфере добавляли различные концентрации нитрита натрия ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  моль/л). На спектрофлуориметре регистрировали значения спектров собственной и зондовой

флуоресценции В. качестве зонда использовали N-фенил-1-амино-8-сульфонафталин (АНС).

Длина волны возбуждения собственной флуоресценции альбумина равнялась 290 нм (регистрация на 340–350 нм). Длина волны возбуждения зондовой флуоресценции равнялась 320 нм (регистрация на 450–480 нм).

### Результаты и обсуждение

В результате проведения экспериментов по теме работы, были получены результаты, отраженные на рисунках 1–4.

Общее сходство всех графиков — это падение интенсивности собственной и зондовой флуоресценции при концентрации нитрита натрия  $10^{-1}$  моль/л, затем при снижении концентрации соли интенсивность флуоресценции возрастает. Данный факт может быть обусловлен либо процессами тушения либо процессами, приводящими к конформационным изменениям в белке, под действием нитрита натрия. В пользу последнего предположения свидетельствует факт о сдвиге спектров собственной флуоресценции, причем в короткую сторону. Коротковолновый сдвиг может говорить о погружении поверхностного триптофанила БСА внутрь глобулы, следовательно, происходит изменение конформации белка. Интересной особенностью является одинаковый характер хода кривых, но при этом с разнящимися значениями интенсивности флуоресценции. Различие в значениях интенсивности обусловлены средой, в которой находится БСА. Так в водной среде значение интенсивности как зондовой, так и собственной флуоресценции (рисунки 1, 3) ниже таковой в фосфатном буфере (рисунки 2, 4). Данный факт может объясняться наличием большего количества структурированной воды в фосфатном буфере, что намного снижает процессы тушения триптофановой флуоресценции молекулами воды.

Снижение зондовой флуоресценции при добавлении нитрита натрия может свидетельствовать о взаимодействии нитрит-ионов либо продуктов диспропорционирования азотистой кислоты с центрами посадки для зонда. В доказательство данного предположения был проведен эксперимент по влиянию нитрита натрия на флуоресценцию зонда АНС, свободного от белка. В результате интенсивность флуоресценции не изменялась, что свидетельствует об отсутствии химического взаимодействия зонда с нитритом натрия.

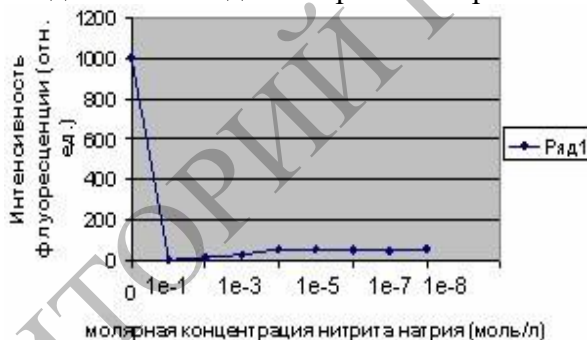


Рисунок 1 — Собственная флуоресценция в водном растворе



Рисунок 2 — Собственная флуоресценция БСА в фосфатном буфере



Рисунок 3 — Зондовая флуоресценция БСА в водном растворе      Рисунок 4 — Зондовая флуоресценция БСА в фосфатном буфере

**Выводы и заключение**

В результате проведения экспериментов по влиянию нитрита натрия на конформацию БСА и анализа данных можно заключить, что нитрит натрия влияет на конформационное состояние белковой глобулы, приводя его к перестройкам.

Авторы предполагают, что изменение конформации БСА происходит не только за счет действия самих нитритов-ионов на белковую глобулу, но и опосредованно — через продукты его диспропорционирования действия нитритов, равные физиологической концентрации.

Также предполагается, что нитрит натрия химически взаимодействует за центры связывания с зондом, что может уменьшать лиганд связывающую способность БСА.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине / под ред. Ю. А. Грызунова, Г. Е. Добрецова. — М.: ИРИУС, 1994. — 226 с.
2. Березов, Т. Т. Биологическая химия: учебник / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 1998. — 704 с.
3. Биохимия человека / Р. Мари [и др.]. — М.: Мир, 1993. — С. 256–273.
4. Кольман, Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем; пер. с нем. — М.: Мир, 2000. — 469 с.
5. Луйк, А. И. Сывороточный альбумин и биотранспорт ядов / А. И. Луйк, В. Д. Лукьянчук. — М.: Медицина, 1984. — С. 12–29.