

УДК 612.014.464:576.311.347.612.111.7

ВЛИЯНИЕ ОЗОНА НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МИТОХОНДРИЙ ТРОМБОЦИТОВ

Е.В. Кондратьева, Е.Г. Лобанова,

Владивостокский филиал ФГБУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения

Кондратьева Елена Викторовна – e-mail: isachenko1@yandex.ru

Целью исследования явилось изучение влияния озона на мембранный потенциал митохондрий (МПМ) тромбоцитов. Для исследований были взяты образцы венозной крови у 16 добровольцев. Кровь отбирали 4 раза: до воздействия озоном, сразу после введения озона, через 3 часа и 6 часов после введения озона. Озон вводили внутривенно капельно в виде озонированного раствора в объеме 200 мл, в концентрации 6 мг/л. Митохондриальный мембранный потенциал определяли в тромбоцитах с использованием красителя сафранина-О. Показатель МПМ рассчитывали согласно уравнению Нернста. Полученные результаты исследования свидетельствуют, что озон влияет на митохондриальный мембранный потенциал. Воздействие озона на митохондрии тромбоцитов заключается в модуляции электролитного обмена, активного транспорта ионов через биологические мембраны.

Ключевые слова: озон, мембранный потенциал, митохондрии.

The purpose of the research was to study the ozone effect on the membrane potential of thrombocyte mitochondria (MPM). Venous blood samples were taken from 16 volunteers for testing. Blood was drawn 4 times as follows: before exposure to ozone, immediately after ozone injection, 3 and 6 hours later the ozone introduction. Ozone was administered intravenously drop-by-drop as 200 ml ozonated saline solution with concentration of 6 mg/l. Mitochondrial membrane potential was determined in thrombocytes by using Safranin-O stain. MPM was calculated by Nernst equation. Findings of the investigation testify that ozone exerts an influence on mitochondrial membrane potential. The ozone effect on thrombocyte mitochondria consists in electrolyte metabolism modulation, active transport of ions via biological membranes.

Key words: ozone, membrane potential, mitochondria.

В настоящее время биологические эффекты озона подвергаются тщательному и всестороннему изучению [1, 2, 3]. В частности, показано его мембранотропное, антибактериальное и противовирусное действие. В то же время мало данных о действии озона на мембраны клетки и митохондрии. Известно, что адекватное обеспечение клетки кислородом является основным условием сохранения ее жизнеспособности. Нарушение дыхания на уровне клетки связано с изменением мембранного потенциала митохондрий (МПМ), который отражает регуляцию транспорта ионов в направлении отдельных потоков субстратов и метаболитов. Митохондриальный мембранный потенциал не имеет постоянного значения. Он может изменяться под воздействием многих внутриклеточных биохимических процессов, а также внешних раздражителей [4, 5]. Кроме того, мембранный потенциал митохондрий является полифункциональным регулятором активности локализованных в мембране белков-ферментов, показателем гормонального эффекта на уровне клетки. Определение МПМ – один из наиболее адекватных методов исследования функционального и энергетического состояния живой клетки. В этом плане представляет интерес изучение действия озона на МПМ.

Целью исследования явилось изучение влияния озона на мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов.

Материалы и методы

Для исследований были взяты образцы венозной крови у 16 добровольцев. Кровь отбирали 4 раза: до воздействия озоном, сразу после введения озона, через 3 часа и 6 часов

после введения озона. Озон вводили внутривенно капельно в виде озонированного раствора в объеме 200 мл, в концентрации 6 мг/л. Озонированную смесь готовили на аппарате «Медозонс-БМ», (Нижний Новгород, Россия), использовали 0,9% физиологический раствор NaCl. Митохондриальный мембранный потенциал определяли в тромбоцитах с использованием красителя сафранина-О [6]. Измерения МПМ проводили в плоскодонных 96-луночных планшетах объемом 400 мкл на спектрофотометре Bio-tek Power Wave (США) при длинах волн 523 и 555 нм. Показатель МПМ рассчитывали согласно уравнению Нернста [7].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistica (версия 6.0).

Результаты и их обсуждение

В результате исследования было выявлено, что величина мембранного потенциала до воздействия озоном составила $182 \pm 0,04$ мВ. Сразу после стимуляции озоном наблюдалось увеличение митохондриального мембранного потенциала в среднем на 17%, что составило $211 \pm 0,03$ мВ ($p < 0,05$). Действие озона на митохондрии в этом случае можно расценивать как ответную реакцию клетки на возбуждение. Величина мембранного потенциала митохондрий через 3 часа после воздействия озоном снижалась в среднем на 10% и составила $165 \pm 0,09$ мВ, что достоверно не отличалось от исходного уровня до стимуляции, но имело достоверное различие со значениями после введения озона ($p < 0,01$). Через 6 часов после введения озона митохондриальный мембранный потенциал восстановился и составил $180 \pm 0,03$ мВ.

Заключение

Полученные результаты исследования свидетельствуют, что озон влияет на митохондриальный мембранный потенциал. Воздействие озона на митохондрии тромбоцитов заключается в модуляции электролитного обмена, активного транспорта ионов через биологические мембраны. Следовательно, озон влияет на дыхание клетки, тем самым способствуя улучшению структурно-функционального состояния клетки. Данное исследование раскрывает новые механизмы влияния озона на внутриклеточном уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виткина Т.И., Хмелева Е.В., Антонюк М.В., Новгородцев А.Д. Влияние медицинского озона на иммунометаболический статус больных хроническим бронхитом и артериальной гипертензией. Бюллетень СО РАМН. 2011. № 40. С. 81-86.
2. Хмелева Е.В., Виткина Т.И., Антонюк М.В. Использование фотомодификации крови в оптимизации озонотерапии при восстановительном лече-

нии пациентов с хроническим бронхитом и артериальной гипертензией. Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2012. № 5. С. 25-29.

3. Виткина Т.И., Кытикова О.Ю. Эффективность иммунокоррекции медицинским озоном при вялотекущих гнойных воспалительных процессах мягких тканей у больных пожилого и старческого возраста. Медицинская иммунология. 2008. Т. 10. № 2-3. С. 277-282.

4. Бурджанадзе Г., Менабде К., Гавашелидзе М. и др. Функциональное состояние митохондриальной поры головного мозга белых крыс в условиях длительного эмоционального стресса. Journal of stress physiology & biochemistry. 2011. Vol. 7. № 4. С. 89-96.

5. Крестинина О.В., Круглов А.Г., Грачев Д.Е. и др. Возрастные изменения функций митохондрий при Ca²⁺-индуцируемом открытии поры. Биологические мембраны. 2010. Т. 27. № 2. С. 177-183.

6. Akerman K.E.O., Wikstrom M.K.F. Safranine as a probe of the mitochondrial membrane potential. FEBS Lett. 1976. Vol. 68. P. 191-197.

7. Ehrenberg B., Montana V., Wei M.-D., Wuskell J.P., Loew L.M. Membrane potential can be determined in individual cells from the Nernstian distribution of cationic dyes. Biophys. J. 1988. Vol. 53. P. 785-794.

