

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

СПОСОБНОСТЬ ЭКСТРАКТА ИКРЫ ОКУНЯ И ЛИОФИЛИЗАТА ОВАРИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ОСЕТРА УСКОРЯТЬ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФИБРОБЛАСТОВ ПОСЛЕ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ

М.В. Михайлова¹, Н.Ф. Беляева¹, Н.И. Козлова¹, К.В. Золотарёв^{1*}, А.Н. Михайлов¹, С.Б. Подушка²

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8; *эл. почта: fireaxe@mail.ru
²ООО “ЧНИОРХ”, Санкт-Петербург

Овариальная жидкость и икра рыб представляют собой ценные источники биологически активных соединений. С целью изучения механизмов старения, а также обнаружения биологически-активных соединений, способных ему препятствовать, производили моделирование данного процесса *in vitro*, инкубируя культуру эмбриональных фибробластов человека с пероксидом водорода. Индуцированное старение оценивали путём окрашивания на β -галактозидазу (SA- β -Gal) при pH 6.0, пролиферацию клеток – оптическим методом. Лиофилизат овариальной жидкости осетра сибирского (*Acipenser baerii*) и экстракт икры окуня обыкновенного (*Perca fluviatilis*) способны усиливать восстановление клеток после индукции их преждевременного старения, вызванного окислительным стрессом. В отличие от экстракта икры окуня и экстрактов из мышечной ткани рыб, высушенная овариальная жидкость оказывала такой эффект без роста пролиферации.

Ключевые слова: фибробласты; преждевременное старение; окислительный стресс; икра рыб; овариальная жидкость рыб

DOI: 10.18097/BMCRM00011

ВВЕДЕНИЕ

Клеточным старением называется явление необратимой остановки пролиферации клеток [1, 2]. Различают репликативное и стресс-индуцированное преждевременное старение (stress-induced premature senescence, SIPS), которые имеют целый ряд общих свойств. Наиболее широко используемым признаком клеточного старения принято считать повышенную активность β -галактозидазы (senescence-associated beta-galactosidase, SA- β -Gal). В норме SA- β -Gal проявляет активность при pH 4.0. При старении клеточной культуры происходит увеличение числа клеток, у которых этот фермент активен при pH 6.0 [3].

Клеточное старение во многом сходно с биологическим старением, происходящим в целом организме, поэтому его моделирование может с успехом использоваться при изучении механизмов процесса, а также обнаружении биологически-активных соединений, способных препятствовать старению [4]. Поскольку окислительный стресс является одним из основных факторов биологического старения, его искусственно организуют у клеточных культур для инициирования SIPS при выдерживании в растворах H₂O₂ с сублетальными концентрациями [5-7].

Ткани растений и животных представляют собой ценные источники биологически-активных соединений. В настоящее время подтверждены данные о том, что растительные экстракты обладают способностью замедлять клеточное старение [5, 8]. Что касается рыб, то имеются сведения об антивозрастном действии экстрактов икры белуги и лосося, полученные на культуре фибробластов человека [9, 10].

Овариальная жидкость образуется у рыб путём фильтрации из плазмы крови, а также в результате секреторной активности эпителия

яичников. Её состав способствует сохранению эмбрионов и продлению периода оплодотворения, как во время естественного нереста, так и при искусственном оплодотворении [11]. Большинство белков, идентифицированных в овариальной жидкости, по-видимому, эволюционно консервативны, поскольку они также наблюдаются и у высших позвоночных [12]. Установлено, что овариальная жидкость содержит полный набор заменимых и незаменимых аминокислот [13]. Кроме того, ряд вителлогенинов в её составе способен ослаблять окислительный стресс путём поглощения свободных радикалов или посредством противомикробной и противовирусной активности [14, 15].

Икра рыб является потенциальным источником низкомолекулярных соединений, улучшающих качество и продолжительность жизни, поскольку содержит витамины, белки, ненасыщенные жирные кислоты и т.д.

Задачей настоящего исследования было выявить возможность влияния экстрактов икры некоторых видов рыб, а также лиофилизата овариальной жидкости на стресс-индуцированное клеточное старение и/или его последствия. В качестве модели была использована культура эмбриональных фибробластов человека, в которой преждевременное старение индуцировали инкубацией клеток с H₂O₂.

МЕТОДИКА

Исследуемые образцы

В работе были использованы овариальная жидкость сибирского осетра (*Acipenser baerii*), а также водные экстракты, полученные из икры щуки (*Esox lucius*), судака (*Sander lucioperca*), окуня (*Perca fluviatilis*), горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*).



Использовали как нативную овариальную жидкость, так и пастеризованную путём нагревания до $61 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 2 ч. Осадок из жидкости удаляли центрифугированием при 6000 g в течение 15 мин, после чего её лиофилизировали. Содержание белка в образцах лиофилизата определяли микробиуретовым методом после растворения в фосфатно-солевом буфере (PBS) [16].

Процедура получения экстрактов икры:

- образец замороженной икры (около 60-80 г) раздавливали в ступке;
- полученную массу заливали экстрагентом – дистиллированной водой комнатной температуры в объёме (мл), в 3 раза численно превышающем навеску икры в граммах, и гомогенизировали 10-15 с в блендере при скорости вращения ножей 8000 об/мин;
- из блендера смесь переносили в стеклянный стакан для экстракции, которую проводили 30 мин при комнатной температуре и периодически перемешивали;
- экстракционную смесь переливали в центрифужные пробирки; пробирки уравнивали и центрифугировали при ускорении около 6000 g в течение 15 мин;
- надосадочную жидкость фильтровали от жира через 4 слоя марли;
- фильтрат лиофилизировали и хранили при -18°C в герметично закрытых сосудах во избежание гидратации.

Содержание белка в лиофилизированных экстрактах определяли микробиуретовым методом после растворения в фосфатно-солевом буфере аналогично образцам лиофилизата.

Культура клеток

В работе использовали клетки ЛЭЧ-Т, полученные из лёгочной ткани 10-недельного эмбриона человека мужского пола. Клетки получены из ФГБУ “Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи” Минздрава РФ. Клетки прошли контрольное обследование в полном объёме, включая определение туморогенности методом колониеобразования в мягком агаре, они чувствительны к широкому кругу вирусов, активно продуцировали интерферон. Клетки культивировали в среде DMEM с 10% FBS в 5% CO_2 при температуре 37°C .

Индукция клеточного старения [17] и оценка влияния образцов на процесс:

- клетки высевали в лунки 24-луночных культуральных планшетов;
- клетки отмывали от среды при помощи PBS и помещали в 50 мкМ водный раствор H_2O_2 на 1 ч;
- затем клетки отмывали от среды 3 раза при помощи PBS;
- клетки помещали в среду (DMEM с 10% FBS) на 4 ч;
- после этого клетки помещали в PBS с добавлением тестируемых образцов (концентрация белка 0,5 мг/мл),

раствор которых предварительно подвергали стерилизующей фильтрации;

- после инкубации клеток в этом растворе при 37°C в течение 24 ч, клетки отмывали при помощи PBS;
- окрашивание клеток на β -галактозидазу (SA- β -Gal) при pH 6,0 проводили согласно инструкции к Senescence β -Galactosidase Staining Kit #9860 (“Cell Signaling Technology”, США);
- клеточное старение оценивали под микроскопом (при увеличении в 200 раз) по доле клеток с синим окрашиванием среди общего числа клеток в каждой лунке планшета [17];
- результаты выражали в виде отношения доли окрашенных клеток после инкубации с образцом к доле окрашенных клеток, обработанных H_2O_2 без последующего добавления образца.

Исследование пролиферации клеток

Клетки (5×10^3 /лунка) засевали в 96-луночные планшеты по три параллели для каждой группы. На следующий день клетки обрабатывали так же, как и для оценки старения. После инкубации в течение 96 ч в среде клетки окрашивали красителем Crystal violet и измеряют оптическую плотность при 570 нм. Результаты выражали в виде отношения оптической плотности после инкубации с образцом к оптической плотности клеток, обработанных перекисью водорода без последующего добавления образца.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение активности SA- β -Gal в клетках основано на появлении в цитоплазме характерных синих гранул после инкубации клеток с субстратом X-Gal при pH 6.0. После воздействия H_2O_2 отмечено значительное увеличение интенсивности и числа SA- β -Gal-позитивных клеток (рис. 1). Доля окрашенных на β -галактозидазу клеток в контроле (без обработки H_2O_2) варьировала от 5 до 13% от общего числа клеток, а после воздействия H_2O_2 число таких клеток возрастало до 60-70%.

Преинкубация клеток с исследуемыми образцами до индукции клеточного старения (обработка H_2O_2) не влияла на число SA- β -Gal-позитивных клеток, поэтому в ходе эксперимента оценивали способность фибробластов преодолеть последствия SIPS в присутствии исследуемых образцов. Как видно из данных, представленных на рисунке 2А, это свойство в наивысшей степени проявила овариальная жидкость, причём её пастеризация на данный эффект не повлияла. Что касается экстрактов икры, то достоверно таким действием обладал только экстракт икры окуны.

На рисунке 2В приведены результаты измерения пролиферации фибробластов через 96 ч после обработки клеток H_2O_2 . Наблюдаемое усиление пролиферации при действии экстрактов из икры может быть связано с действием на клетки, подобным факторам роста. Ранее было показано,

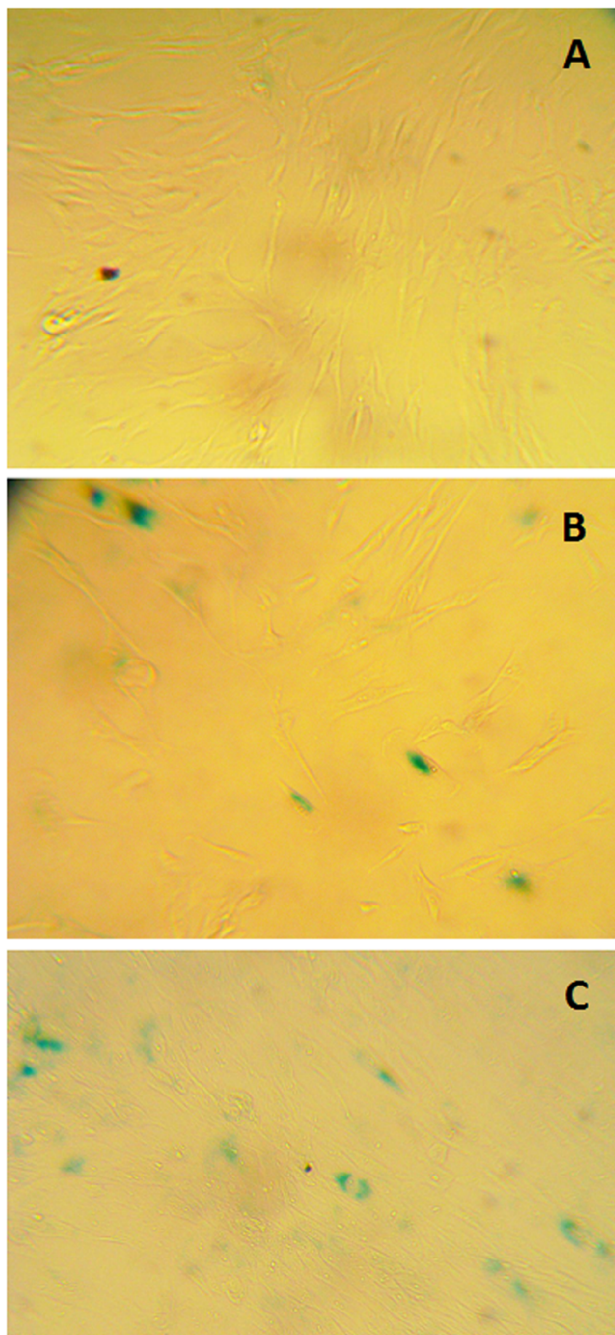


Рисунок 1. Действие высушенной пастеризованной овариальной жидкости ленского осетра на старение клеток ЛЭЧ-Т, индуцированное H_2O_2 (окраска на SA- β -Gal): А - клетки без обработки H_2O_2 , В - клетки после инкубации с образцом в течение 24 ч после индукции клеточного старения (обработка 50 мкМ H_2O_2 в течение 1 ч) - опыт, С - клетки после обработки 50 мкМ H_2O_2 в течение 1 ч - контроль.

что экстракты мышц щуки (*Esox lucius*), стерляди (*Acipenser ruthenus*), горбуши (*Oncorhynchus gorbusha*) ускоряют способность эмбриональных фибробластов человека восстанавливаться после SIPS, вызванного сублетальной концентрацией H_2O_2 [18]. При этом, в отличие от мышечных экстрактов и экстракта икры окуня, лиофилизат овариальной жидкости не вызывал усиления пролиферации при снижении

активности β -галактозидазы, то есть культура клеток преодолевала последствия окислительного стресса и SIPS не за счёт увеличения их количества, а за счёт улучшения их общего состояния.

Универсальной схемы развития клеточного старения нет, и его механизм зависит, прежде всего, от стрессового фактора и используемой клеточной линии. Ниже рассмотрены вызываемые действием H_2O_2 изменения, которые могут повлиять на жизнеспособность фибробластов и привести к индукции клеточного старения. Так, на культуре клеток IMR-90 (фибробласты лёгкого эмбриона человека) было установлено, что сразу же после обработки клеток раствором H_2O_2 с сублетальной концентрацией происходит дефосфорилирование белка ретинобластомы (pRb), что сопровождается активизацией биосинтеза белков p53, p21 и p16. Кроме того, pRb участвует в индукции морфологических изменений, инициированных действием перекиси водорода [6]. При этом индукция p16 совпадала с увеличением активности SA- β -gal [7]. Считается, что p53 и p21^{CIP1/WAF1} играют важную роль в инициации клеточного старения, а p16^{INK4a} передаёт сигналы, приводящие к необратимой остановке пролиферации [19].

В клеточной культуре наблюдается неоднородность ответа на сублетальное стрессовое воздействие: некоторые клетки могут восстанавливаться и повторно входить в клеточный цикл, тогда как у других клеток остановка пролиферации необратима, и проявляется фенотип клеточного старения. В зависимости от типа клеток, условий культивирования и стрессовых воздействий для предотвращения старения необходима инактивация либо p53-p21-pRb-, либо p16-pRb-зависимых путей по отдельности или обоих сигнальных путей, а также ключевых сигнальных белков MAP-киназного каскада: ERK1/2, p38, JNK и Akt/ПКВ, которые также активируются в фибробластах под действием окислительного стресса.

Разнообразие биохимических каскадов, участвующих в развитии и поддержании фенотипа клеточного старения, предполагает множество мишеней в действии агентов, препятствующих старению. Так, рапамицин – ингибитор киназы mTOR – предотвращает переход обратимой остановки пролиферации к p21^{CIP1/WAF1}-зависимому клеточному старению, как в опухолевых, так и в нормальных клетках [20, 21]. Содержащийся в коже и косточках красного винограда ресвератрол в концентрациях, ингибирующих mTOR, также тормозит клеточное старение [22]. Исследования, проведённые *in vitro* и *in vivo*, показывают, что соединения, содержащиеся в растениях (полифенолы, флавоноиды, терпеноиды, витамины), способны активировать редокс-чувствительную Nrf2-сигнальную систему, которая усиливает экспрессию антиоксидантных генов и, тем самым, улучшает защиту от окислительного старения [2]. Например, активаторы Nrf2 обнаружены в экстрактах брокколи [8]. Широко используемый в традиционной китайской медицине камфорный гриб (*Antrodia cinnamomea*) содержит тритерпеноиды, способные препятствовать

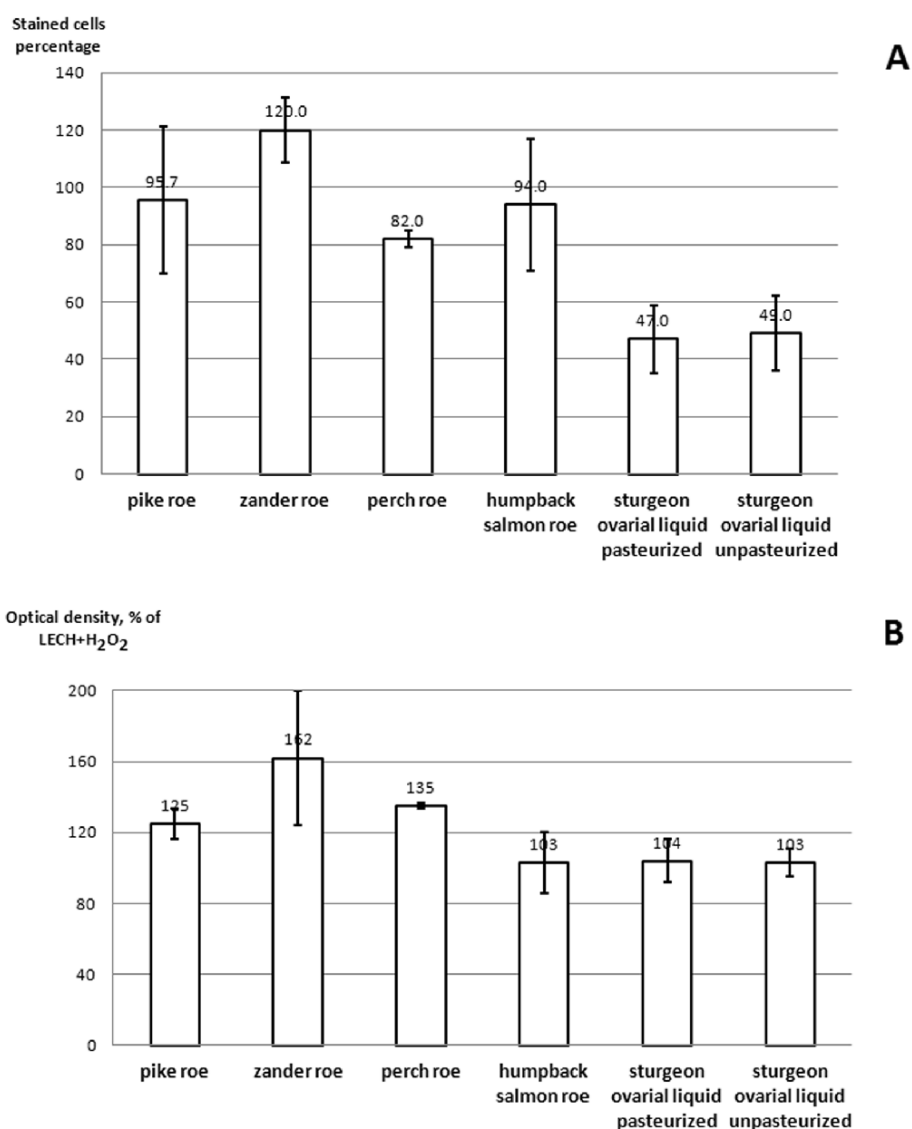


Рисунок 2. Действие высушенной овариальной жидкости ленского осетра и экстрактов из икры рыб различных видов на старение (А) (доля SA-β-Gal-позитивных клеток) и пролиферацию (В) клеток ЛЭЧ-Т. А - для индукции SIPS клетки обрабатывали 50 мкМ H₂O₂ в течение 1 ч и через 24 ч окрашивали на β-Gal. Результат выражен в виде отношения доли окрашенных клеток после инкубации с образцом к доле окрашенных клеток, обработанных H₂O₂ без последующего добавления образца. Б - пролиферацию клеток оценивали через 96 ч после индукции SIPS, используя Crystal violet. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение из трёх независимых экспериментов. Различия считали статистически значимыми при p<0.05.

преждевременному старению фибробластов, активируя Nrf2-зависимые антиоксидантные гены и усиливая экспрессию SIRT-1 (NAD⁺-зависимую гистондеацетилазу), которая взаимодействует также с рядом молекул, включая p53 и FoxO1 [2]. Экспрессию SIRT-1 усиливают и не содержащие спирт экстракты красного вина, которые защищают клетки эндотелия от индуцированного окислительным стрессом старения на 26-40% [23]. Водные экстракты листьев, цветов и корней одуванчика (*Taraxacum officinale*) тормозили стресс-индуцированное старение фибробластов кожи человека, вызванного перекисью водорода, на 62%, 73% и 40%, соответственно. При этом защитное действие экстракта одуванчика не зависело от того, был ли он добавлен до или после H₂O₂ [24]. Используемый

в китайской медицине водный экстракт шести растений (Kangen-kagyu) защищал фибробласты от стресс-индуцированного старения, как в условиях преинкубации, так и при добавлении после H₂O₂. Однако количественной оценки ингибирования клеточного старения авторы не приводят [5]. В то же время, широко используемый в косметологии экстракт центеллы (*Centella asiatica*), добавленный к фибробластам человека, до индукции старения H₂O₂ уменьшал число клеток, окрашенных на SA-β-gal, лишь на 21%, а добавленный после обработки H₂O₂ вообще не влиял на число SA-β-gal-позитивных клеток [25]. В отличие от растительных экстрактов, исследованные в настоящей работе образцы оказывали защитное действие от клеточного старения только после индукции окислительного стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам данной работы установлено, что биологически-активные соединения, присутствующие в экстракте икры окуня, а также в лиофилизате овариальной жидкости осетра сибирского, способны усиливать восстановление клеток после индукции их преждевременного старения, вызванного окислительным стрессом. Согласно данным наших предыдущих исследований [18], в экстракте из икры и в мышечных экстрактах присутствуют факторы роста клеток (поскольку восстановление после старения сопровождалось ростом пролиферации). Лиофилизат овариальной жидкости давал такой эффект без роста пролиферации, поэтому послестрессовое восстановление клеток было вызвано не увеличением их количества, а улучшением их состояния.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы.

ЛИТЕРАТУРА

- Campisi, J. (2013) Aging, cellular senescence, and cancer. *Annual Review of Physiology*, 75, 685–705. DOI: 10.1146/annurev-physiol-030212-183653
- Senthil, K.K., Gokila, V.M., Mau, J.L., Lin, C.C., Chu, F.H., Wei C.C., Liao, V.H., Wang, S.Y. (2016) A steroid like phytochemical Antcin M is an anti-aging reagent that eliminates hyperglycemia-accelerated premature senescence in dermal fibroblasts by direct activation of Nrf2 and SIRT-1. *Oncotarget*, 7(39), 62836–62861. DOI: 10.18632/oncotarget.11229
- Dimri, G.P., Lee, X., Basile, G., Acosta, M., Scott, G., Roskelley, C., Medrano, E.E., Linskens, M., Rubelj, I., Pereira-Smith, O., Peacocke, M., Campisi, J. (1995) A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(20), 9363–9367.
- Van Deursen, J.M. (2014) The role of senescent cells in ageing. *Nature*, 509(7501), 439–446. DOI: 10.1038/nature13193
- Cho, E.J., Okamoto, T., Yokozawa, T. (2008) Therapeutic efficacy of Kangen-karyu against H₂O₂-induced premature senescence. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(11), 1537–1544. DOI: 10.1211/jpp/60.11.0016
- Chen, Q.M., Tu, V.C., Catania, J., Burton, M., Toussaint, O., Dilley, T. (2000) Involvement of Rb family proteins, focal adhesion proteins and protein synthesis in senescent morphogenesis induced by hydrogen peroxide. *Journal of Cell Science*, 113, 4087–4097.
- Chen, J.H., Stoerber, K., Kingsbury, S., Ozanne, S.E., Williams, G.H., Hales, C.N. (2004) Loss of proliferative capacity and induction of senescence in oxidatively stressed human fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 279(47), 49439–49446. DOI: 10.1074/jbc.M409153200
- Argyropoulou, A., Aligiannis, N., Trougakos, I.P., Skaltsounis, A.L. (2013) Natural compounds with anti-ageing activity. *Natural Product Reports*, 30(11), 1412–1437. DOI: 10.1039/c3np70031c
- Marotta, F., Polimeni, A., Solimene, U., Lorenzetti, A., Minelli, E., Jain, S., Rastmanesh, R., Sedriep, S., Soresi, V. (2012) Beneficial modulation from a high-purity caviar-derived homogenate on chronological skin aging. *Rejuvenation Research*, 15(2), 174–177. DOI: 10.1089/rej.2011.1274
- Yoshino, A., Polouliakh, N., Meguro, A., Takeuchi, M., Kawagoe, T., Mizuki, N. (2016) Chum salmon egg extracts induce upregulation of collagen type I and exert antioxidative effects on human dermal fibroblast cultures. *Clinical Interventions in Aging*, 11, 1159–1168. DOI: 10.2147/CIA.S102092
- Lahnsteiner, F., Weismann, T., Patzner, R.A. (1995) Composition of the ovarian fluid in 4 salmonid species: *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo trutta flaccustris*, *Saivelinus alpinus* and *Hucho hucho*. *Reproduction Nutrition Development*, 35, 465–474. DOI: 10.1051/rnd:19950501
- Nynca, J., Arnold, G.J., Fröhlich, T., Ciereszko, A. (2015) Shotgun proteomics of rainbow trout ovarian fluid. *Reproduction, Fertility and Development*, 27(3), 504–512. DOI: 10.1071/RD13224
- Sytova, M.V., Kharenko, E.N. (2007) Ovarian liquid of sturgeon fishes - perspective raw material for receiving of biologically active substances. *Rybprom*, (3), 41–43.
- Seehuus, S.C., Norberg, K., Gimsa, U., Krekling, T., Amdam, G.V. (2006) Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(4), 962–967. DOI: 10.1073/pnas.0502681103
- Garcia, J., Munro, E.S., Monte, M.M., Fourrier, M.C., Whitelaw, J., Smail, D.A., Ellis, A.E. (2010) Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) serum vitellogenin neutralises infectivity of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV). *Fish and Shellfish Immunology*, 29(2), 293–297. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.04.010
- Itzhaki, R.F., Gill, D.M. (1964) A micro-biuret method for estimating proteins. *Analytical Biochemistry*, 9(4), 401–410. DOI: 10.1016/0003-2697(64)90200-3
- Wang, Z., Wei, D., Xiao, H. (2013) Methods of cellular senescence induction using oxidative stress. *Methods in Molecular Biology*, 1048, 135–144. DOI: 10.1007/978-1-62703-556-9_11
- Mikhailova, M.V., Belyaeva, N.F., Kozlova, N.I., Zolotarev, K.V., Mikhailov, A.N., Berman, A.E., Archakov, A.I. (2017) Protective action of fish muscle extracts against cellular senescence induced by oxidative stress. *Biomeditsinskaya Khimiya*, 63(4), 351–355. DOI: 10.18097/PBMC20176304351
- Simboeck, E., Di Croce, L. (2013) p16INK4a in cellular senescence. *Aging*, 5(8), 590–601. DOI: 10.18632/aging.100592
- Demidenko, Z.N., Zubova, S.G., Bukreeva, E.I., Pospelov, V.A., Pospelova, T.V., Blagosklonny, M.V. (2009) Rapamycin decelerates cellular senescence. *Cell Cycle*, 8(12), 1888–1895. DOI: 10.4161/cc.8.12.8606
- Blagosklonny, M.V. (2012) Cell cycle arrest is not yet senescence, which is not just cell cycle arrest: terminology for TOR-driven aging. *Aging*, 4(3), 159–165. DOI: 10.18632/aging.100443
- Demidenko, Z.N., Blagosklonny, M.V. (2009) At concentrations that inhibit mTOR, resveratrol suppresses cellular senescence. *Cell Cycle*, 8(12), 1901–1904. DOI: 10.4161/cc.8.12.8810
- Botden, I.P., Oeseburg, H., Durik, M., Leijten, F.P., Van Vark-Van Der Zee, L.C., Musterd-Bhaggoe, U.M., Garrelts, I.M., Seynhaeve, A.L., Langendonk, J.G., Sijbrands, E.J., Danser, A.H., Roks, A.J. (2012) Red wine extract protects against oxidative-stress-induced endothelial senescence. *Clinical Science*, 123(8), 499–507. DOI: 10.1042/CS20110679

24. Yang, Y., Li, S. (2015) Dandelion Extracts Protect Human Skin Fibroblasts from UVB Damage and Cellular Senescence. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 619560. DOI: 10.1155/2015/619560
25. Kim, Y.J., Cha, H.J., Nam, K.H., Yoon, Y., Lee, H., An, S. (2011) *Centella asiatica* extracts modulate hydrogen peroxide-induced senescence in human dermal fibroblasts. *Experimental Dermatology*, 20(12), 998–1003. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2011.01388.x

Поступила: 18. 04. 2018.
Принята к публикации: 06. 06. 2018.

THE SURGEON OVARIAN LIQUID AND THE PERCH ROE EXTRACT ARE ABLE TO ENHANCE THE RECOVERY OF THE FIBROBLASTS AFTER THEIR STRESS-INDUCED PREMATURE SENESCENCE

M.V. Mikhailova¹, N.F. Belyaeva¹, N.I. Kozlova¹, K.V. Zolotarev^{1*}, A.N. Mikhailov¹, S.B. Podushka²

¹Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; e-mail: fireaxe@mail.ru
²“ChNIORH LLC”, St. Petersburg, Russia

Ovarian liquid and fish roe are valuable sources of biologically active compounds. In order to study mechanisms of aging and also to search for biologically active compounds capable of inhibiting aging, we have modelled premature senescence in human embryonic fibroblasts by incubating of cells with H₂O₂. Cell senescence was assessed by staining for β-galactosidase (SA-β-Gal) at pH 6.0; cell proliferation was further evaluated by the optical method. The dried ovarian liquid of the Siberian sturgeon and the extract of the perch roe were able to enhance recovery of the cells after induction of their premature senescence caused by oxidative stress. In contrast to the extract from perch roe and the extracts from fish muscle, dried ovarian fluid gave such an effect without the growth of proliferation.

Key words: fibroblasts; premature senescence; oxidative stress; fish roe; fish ovarian liquid

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was performed within the framework of the Program of Fundamental Scientific Research of the State Academies of Sciences of Russia for 2013-2020.