

ХАРЬКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

МЕДИЦИНА

СЕГОДНЯ И ЗАВТРА



МЕДИЦИНА

СЬОГОДНІ І ЗАВТРА

2001 №2

КОРЕКЦІЯ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДАЦІЇ В КРОВІ КОМПЛЕКСОМ ПЕПТИДНИХ ФРАГМЕНТІВ ГЕМОГЛОБІНУ В УМОВАХ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Т.М. Запорожець

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

При дії іонізуючого випромінювання у сублетальній дозі на морських свинків відмічено збільшення первинних і вторинних продуктів ПОЛ в крові, зниження перекисної резистентності та підвищення активності супероксиддисмутази еритроцитів. Пептидний комплекс гемоглобіну зменшував рівень накопичення ТБК-активних продуктів у процесі інкубації еритроцитів і тим самим пригнічував розвиток вільнорадикальних реакцій у крові опромінених тварин.

Ключові слова: іонізуюче випромінювання, перекисне окиснення ліпідів, пептидний комплекс гемоглобіну.

Біологічна дія іонізуючих випромінювань полягає у збудженні й іонізації атомів і молекул тканин, що викликає функціональні, анатомічні, метаболічні зміни на молекулярному, клітинному, органному рівнях та на рівні цілісного організму [1]. Стійкість біологічної системи до дії іонізуючого випромінювання залежить від вмісту (і активності) ендогенних радіопротекторів і радіосенсибілізаторів. До ендогенних захисних ресурсів відносять тіоли, біогенні аміни, антиоксиданти організму, до ендогенних радіосенсибілізаторів — продукти ліпопероксидації (продукти перекисного окиснення ліпідів в біологічних мембранах, клітинних органодах, перекиси РНК, ДНК). Більшість протипроменевих препаратів підвищують ендогенний фон радіорезистентності, але мають токсичну дію та обмежений термін використання.

Останнім часом велика увага приділяється протипроменевим препаратам природного походження: цитокінам (γ -інтерферону, фактору некрозу пухлин, ІЛ-1, КСФ), треофам, лейкотрінам [2].

Враховуючи здатність отриманого нами комплексу пептидних фрагментів гемоглобіну впливати на процеси проліферації і диференціювання [3], ми вирішили оцінити радіотерапевтичний ефект цього комплексу в умовах екстракорпорального опромінювання тварин жорсткими γ -променями. Комплекс був отриманий за власною методикою шляхом ферментативного гідролізу гемоглобіну. Речовина мала позитивну біуретову реакцію з максимумом спектра поглинання в УФ-області 200–210 нм.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 26 морських свинках обох статей масою 400–420 г, розподілених на три групи: 1-а — інтактні (10), 2-а — контрольні тварини (7), що підлягали одноразовому тотальному γ -опромінюванню в дозі 4,5 Гр з внутрішньом'язовим введенням 0,2 мл 0,9 %-ого апірогенного розчину натрію хлориду протягом 7 діб; та 3-я — дослідних тварини (10), яким після одноразового тотального опромінювання в дозі 4,5 Гр вводили внутрішньом'язово пептидний комплекс гемоглобіну в дозі 1 мг/кг протягом 7 діб. Дослідження проводили на 8-у добу після опромінювання.

Визначали показники, що характеризують перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ): кінетику накопичення продуктів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою (концентрація ТБК-активних продуктів) [4], спонтанний гемоліз еритроцитів

[5], дієнові кон'югати [6], активність антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази (СОД) [7], каталази [8]; церулоплазмину [9], вміст ліпопротеїдів низької густини [10].

Отриманий цифровий матеріал статистично обробили з використанням критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення. Основним показником впливу екстракорпорального опромінювання і радіопротекторного ефекту пептидного комплексу гемоглобіну є смертність піддослідних. Так, у контрольній групі загинуло 25 % тварин, тоді як у дослідній — 12 %.

Вивчення рівня ПОЛ і антиоксидантної забезпеченості у тварин (таблиця), які перенесли тотальне опромінювання у дозі 4,5 Гр, виявило зниження перекисної резистентності еритроцитів на 58 % ($p < 0,01$), зростання вмісту дієнових кон'югат у сироватці крові на 27 % ($p < 0,05$) порівняно з інтактною групою. У тварин контрольної групи була підвищеною концентрація вторинних продуктів ПОЛ як до, так і після інкубації еритроцитів в умовах залізоаскорбатного буфера. Збільшення у 5 разів ($p < 0,01$) приросту продуктів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою, також вказувало на активацію процесів ПОЛ у крові. Ці процеси проходили при підвищенні активності СОД еритроцитів на 74,4 % ($p < 0,01$) без зміни каталазного індексу еритроцитів і концентрації церулоплазмину у сироватці крові.

Зростання інтенсивності ПОЛ у крові сублетально опромінених особин слід розглядати як природний результат появи в опромінену організмі численних вільних радикалів і перекисів, які мають каталітичну активність і стимулюють процес ПОЛ [11]. У свою чергу, збільшення вмісту активних форм кисню (АФК) у клітині призводить до зміни фосфорилування за тирозином цілого спектра білків, що може опосередковувати дію АФК на різні системи, які передають сигнали [12].

Зниження перекисної резистентності мембран еритроцитів у нашому досліді підтвердило уявлення, що мембрани найбільш чутливі до дії окисного стресу, що зумовлено високою радіочутливістю фосfolіпідів — основного структурного елемента біологічних мембран. Паралельно з цим у опромінених тварин зростала активність СОД еритроцитів, тоді як каталазний індекс залишався незмінним. Відомо, що величина активності СОД залежить від рівня O_2 , який виступає по

Показники ПОЛ і стану антиоксидантної забезпеченості крові морських свинок при променевому ураженні під впливом пептидних фрагментів гемоглобіну ($M \pm m$)

Показник	Тварини		
	інтактні	контрольні	дослідні
СГЕ, %	3,39±0,18	1,97±0,11**	2,80±0,73
Дієнові кон'югати, мкмоль/л	22,47±1,16	28,47±1,07**	26,16±2,00
Концентрація ТБК-активних продуктів, мкмоль/л	4,51±0,64	6,96±0,62*	6,61±1,69
Концентрація ТБК-активних продуктів після інкубації, мкмоль/л	5,45±0,66	9,48±0,31**	10,58±1,37**
Накопичення МДА за час інкубації, мкмоль/л	0,77±0,05	4,57±0,21**	2,95±1,00*
Активність СОД, %	0,90±0,14	1,57±0,07**	1,09±0,12**
Активність каталази, індекс	2,08±0,03	1,91±0,16	1,43±0,17
Концентрація церулоплазміну, мг/л	65,72±1,79	64,38±10,27	60,17±9,01

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ — вірогідність відмінностей показників між інтактною і контрольною та контрольною і дослідною групами тварин.

відношенню до фермента як фактор, здатний індукувати і активувати його [13].

Внутрішньом'язове введення пептидного комплексу гемоглобіну підвищувало перекисну резистентність еритроцитів на 42,1 % ($p < 0,05$). У той же час препарат вірогідно не впливав на рівень первинних продуктів ПОЛ, але зменшував рівень накопичення ТБК-активних продуктів у процесі

1,5-год інкубації. Активність СОД еритроцитів наближалась до такої інтактних тварин.

Отже, комплекс пептидних фрагментів гемоглобіну підвищує функціональну надійність окремих ланок гомеостазу (ПОЛ, антиоксидантний захист), можливо, через стабілізацію мембран еритроцитів і зниження здатності нейтрофілів утворювати кисень.

Список літератури

1. Sancho P., Cuenllas E., Gaitan S. et al. Transferrin binding of bone marrow cells and metabolic activity of erythrocytes after 5 Gy irradiation. *Biosci.Repts.* 1992; 12, 1: 29–36.
2. Neta R., Douches S., Oppenheim J.J. Interleukin is a radioprotector. *J. Immunol.* 1986; 136: 2483–2385.
3. Запорожець Т.М. Вплив пептидних фрагментів гемоглобіну на морфофункціональні показники периферичної крові за умов фенілгідразинової анемії. *Вісн. пробл. біол. і мед.* 1999; 1–2: 23–26.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
5. Спиричев В.Б. Матусис И.И., Бронштейн Л.М. Витамин Е. Эксперим. витаминол. Минск: Наука и техника, 1979: 18–57.
6. Воскресенский О.Н., Туманов В.А. Ангиопротекторы. К.: Здоров'я, 1982. 111 с.
7. Брусев О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина. *Бюл. exper. биол. и мед.* 1976; 1: 33–35.
8. Архипова О.Г. Методы исследования в профпатологии. М.: Медицина, 1988. 207 с.
9. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. (Пособие для врачей-лаборантов). Минск: Беларусь, 1976. 311 с.
10. Климов А.Н., Никульчева Л.Г. Липопротеиды, дислипидопротеидемии и атеросклероз. Л.: Медицина, 1984. 166 с.
11. Барабова В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. К.: Наукова думка, 1991. 256 с.
12. Arends M.J., Morris R.G., Willie A.N. Apoptosis: The role of the endonuclease. *Amer. J. Pathol.* 1991; 32: 23–254.
13. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса. Физиология и патология ПОЛ, гемостаза и иммуногенеза: Тез. докл. конф. молодых ученых. Полтава, 1992: 120–155.

КОРРЕКЦИЯ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ В КРОВИ КОМПЛЕКСОМ ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ ГЕМОГЛОБИНА В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Т.Н. Запорожец

При действии ионизирующего излучения в сублетальной дозе на морских свинок отмечено возрастание первичных и вторичных продуктов ПОЛ в крови, снижение перекисной резистентности и увеличение активности супероксиддисмутазы эритроцитов. Пептидный комплекс гемоглобина уменьшал уровень накопления ТБК-активных продуктов в процессе инкубации эритроцитов, тем самым тормозя развитие свободнорадикальных реакций в крови у облученных животных.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, перекисное окисление липидов, пептидный комплекс гемоглобина.

PEROXIDATION PROCESSES CORRECTION BY THE COMPLEX OF HAEMOGLOBIN PEPTIDE FRAGMENTS UNDER IONIZING RADIATION ACTION CONDITIONS

Т.Н. Запорожцетс

During the ionizing radiation action in guinea-pigs in a sublethal dose we found the peroxidative lipid oxidation primary and secondary products increasing in blood, the erythrocytes peroxidative resistance decreasing and erythrocytes superoxidisedismutase activity increasing. The peptide haemoglobin complex reduced thiobarbituric acid (TBA)-active products accumulation level during the erythrocytes incubation and thus inhibited the free-radicals reactions development in the irradiated animals blood.

Key words: ionizing radiation, peroxidative lipid oxidation, haemoglobin peptide complex.

Поступила 24.10.2000