

ОЦІНКА БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ КОМПЛЕКСУ СПЕЦІАЛЬНИХ РЕЧОВИН МІНЕРАЛЬНО-РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ В УМОВАХ ДІЇ МАЛИХ ДОЗ ІНКОРПОРОВАНОГО ІЗОТОПУ ЦЕЗІЮ-137

Резюме. В експерименті на лабораторних щурах була проведена оцінка біологічної дії спеціального комплексу харчових домішок, виготовлених фірмою Mineral Resources International (США), в умовах довготривалого надходження радіонуклідної контамінанти ізотопу цезію-137 (1200 Бк щоденно) і хронічного стресу. Досліджувався вплив комплексу, що вивчався на накопичення та елімінацію цезію-137, рівень гормональної активності, процеси перекисного окислення ліпідів у тканинах гіпоталамусу, сім'яників, наднирників, підшлункової залози, в печінці і легелях. Крім того, вивчався морфофункціональний стан ендокринних органів.

Було встановлено, що спеціальні харчові домішки мінерально-рослинного походження сприяють зменшенню всмоктування або підсилюють елімінацію ізотопу цезію-137, визначена їх регулююча дія на процеси перекисного окислення ліпідів у мембранах клітин сім'яників, печінки, щитовидної та підшлункової залоз і, особливо, в наднирниках. При цьому попередження розвитку грубих дистрофічно-деструктивних змін в мікроциркуляторному судинному руслі і клітинах ендокринних органів, за даними гістологічних та електронномікроскопічних досліджень, підтвердило радіопротективні якості комплексу нутрієнтів.

Таким чином, експериментальне дослідження комплексу харчових домішок у складі A Special Ukrainian Adult Herb & Mineral Nutritional Supplement, Stress-X, CellEnergy визначило його радіопротективну дію, а також мембраностабілізуючі властивості (заресстрований в Україні, сертифікат № Д 000128).

Ключові слова: радіопротектори, харчові домішки, цезій-137, внутрішнє опромінення, перекисне окислення ліпідів.

Буковинська державна медична академія, Чернівці

Інститут експериментальної радіології АМН України, Київ

УДК 616.153.96-074

І. Ф. Мешишен

МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ОКИСЛЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ПЛАЗМИ (СИРОВАТКИ) КРОВІ

Кафедра медичної хімії (зав.-проф. І. Ф. Мешишен)
Буковинської державної медичної академії

Ключові слова: окислювальна модифікація білків плазми (сироватки) крові, метод її визначення.

Резюме. Окислювальну модифікацію білків плазми (сироватки) крові визначали за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином. Утворені гідрозони мають характерний спектр поглинання.

У результаті одноелектронного відновлення молекулярного кисню в кожній клітині людського організму утворюються активні форми кисню (АФК). Ці короткоживучі молекули (окрім пероксиду водню) беруть участь в обміні білків, ліпідів, вуглеводів, нуклеїнових кислот, в синтезі простагландинів, лейкотрієнів, тромбоксанів, в регуляції проникливості клітинної мембрани, в механізмі фагоцитозу (1).

Нині нагромаджені багаточисельні дані, що стосуються вивчення механізму пероксидного окислення ліпідів клітинних мембран, його ролі в діяльності клітини за умов фізіологічної норми і в патогенезі різноманітних захворювань. Разом з тим, з кожним роком зростає кількість наукової інформації про те, що АФК можуть викликати окислювальне руйнування і зміни (модифікацію) не тільки ліпідів, але й білків і нуклеїнових кислот. Що стосується механізму окислювальної модифікації білків (ОМБ), яка має місце в органах і тканинах людини при окислювальному стресі, то нині він практично не вивчений. Це обумовлено, в першу чергу, відсутністю методів, які би давали надійну об'єктивну інформацію про стан ОМБ.

Існуючий метод визначення ОМБ (2) на практиці, за нашими даними, не дає стабільних результатів. Нами пропонується метод визначення ступеня окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові, який дає відтворені результати.

Принцип методу. В процесі окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові в радикалах залишків аліфатичних амінокислот утворюються альдегідні й кетонні групи. Останні взаємодіють з 2,4 — динітрофенілгідразинном, з утворенням 2,4 — динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання. Альдегідо- і кетонпохідні нейтрального характеру реєструються при 370 нм, а основного характеру — при 430 нм. На основі молярного коефіцієнту екстинкції ($2,1 \cdot 10^4 \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) знаходять вміст фенілгідразонів при 370 нм. Отже, про ступінь ОМБ судять по кількості утворених альдегідних і кетонних груп.

Хід виконання. Для дослідження використовували плазму крові донорів. У центрифужні пробірки (обов'язково паралельні проби) вносять 0,8 мл 0,85%-ного розчину NaCl, 0,2 мл плазми крові, 1 мл 1 М 2,4-динітрофенілгідразину, розчиненого в 2 М соляній кислоті і 1 мл 10%-ної трихлороцтової кислоти (ТХО). В контрольні проби замість 2,4-динітрофенілгідразину додають 1 мл 2 М соляної кислоти. Пробірки інкубують 1 год при 37 С, а далі центрифугують 10 хв при 3000 об/хв. Одержаний осад промивають тричі 5%-ною (по 5 мл), кожний раз старанно ресуспендуючи осад скляною паличкою. До одержаного осаду додають 5 мл 8 М розчину сечовини, витримують 5 хв у кип'ячій водянній бані до повного розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєструють на фотоелектроклориметрі КФК-3 при 370 і 430 нм проти контролю. Паралельно проводиться визначення в плазмі крові вмісту білка біуретовим методом.

Розрахунки. Проведене нами визначення вмісту 2,4-динітрофенілгідразонів у плазмі крові 12 донорів при 370 нм (альдегідо- і кетонпохідні нейтрального характеру) дало середню величину оптичної густини 0,432. Виходячи з того, що для аналізу взято 0,2 мл плазми крові й вміст білка складав 68 г/л (68 мг/мл плазми крові), вміст 2,4-динітрофенілгідразонів в 1 мл плазми буде складати $0,432 \cdot 5 = 2,16$ одиниць оптичної густини (о. о. г.), або 31,76 о. о. г. на 1 г білка. Оптична густина при 430 нм (альдегідо- і кетонпохідні основного характеру) складала в середньому 0,265. За вищезазначеними даними, вміст 2,4-динітрофенілгідразонів буде таким: 1,325 о. о. г. /мл плазми крові і 19,48 о. о. г. /г білка. Використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції ($2,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) розраховуємо вміст фенілгідразонів в ммоль/г білка при 370 нм, виходячи із співвідношення:

1 ммоль/г відповідає 21 о. о. г.

χ ————— 31,76 о.о.г.

$\chi = 1,5$ ммоль/г,

або за формулою: ммоль/г білка = $10^3 E/21 \times C$, де С — вміст білка в 0,2 мл плазми крові.

Література. 1. Мещишен І. Ф., Пішак В. П. Обмін речовин у людини. - Чернівці: Медінститут, 1995. - 193 с. 2. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения // Дубинина Е. Е., Бурмистров С. О., Ходов Д. А., Порогов И. Г. // Вопросы мед. химии. - 1995. - Т. 41, № 1. - С. 24-26.

METHOD FOR ESTIMATION OF OXIDATIVE MODIFICATION OF BLOOD SERUM PROTEIN

I. F. Meshchishen

Abstract. A rate of protein oxidative destruction may be estimated for the reaction of the resultant carbonyl derivatives of amino acids reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine. The procedure for estimation of 2,4-dinitrophenylhydrazones was modified for clinical application.

Key words: blood serum protein oxidative modification, method of its investigation.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi).
