

І. І. Заморський

ВПЛИВ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ ЗА РІЗНОЇ ДОВЖИНИ ФОТОПЕРІОДУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ПЛАЗМИ КРОВІ ЩУРІВ

Кафедра патологічної фізіології і медичної фізики (зав. – проф. В. Ф. Мислицький)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Досліджено дію гострої гіпобаричної гіпоксії за різної довжини фотоперіоду на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків плазми крові ювенільних самців білих щурів. Встановлено, що за гострої гіпоксії умови постійної темряви зменшують інтенсивність білкової пероксидації в плазмі крові щурів.

Ключові слова: фотоперіод, гостра гіпобарична гіпоксія, окиснювальна модифікація білків.

Вступ. Сучасна наука володіє ґрунтовними знаннями щодо ролі пероксидного окиснення ліпідів у патогенезі гіпоксичного пошкодження клітин [5,7,1]. Проте вільні радикали атакують не тільки ліпіди, а й інші макромолекули клітинних структур [12]. Окремі науковці вважають, що білки плазматичних мембран більш вразливі до дії активних кисневих метаболітів, ніж ліпіди [9], а об'єм вільнорадикального пошкодження білків за деяких патологічних станів може досягати 50–70% від усієї кількості клітинного білка [4]. Тому дослідження вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків сприяють ранньому визначенню пошкодження органів і тканин за окисного стресу [4,14]. Однак рівень білкової пероксидації за гострої гіпоксії досліджено недостатньо.

Мета дослідження. Вивчити вплив гострої гіпобаричної гіпоксії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у плазмі крові щурів. Враховуючи, що інтенсивність ліпідної пероксидації за гострої гіпоксії залежить від умов освітлення [1,2], таке дослідження було здійснено за різної тривалості фотоперіоду.

Матеріали і методи. Експерименти проведені на 49 статевонезрілих самцях безпородних білих щурів масою 65-75 г, які досягали на момент закінчення досліджень ювенільного віку 5,5-6,0 тижнів. За тиждень до початку дослідів визначали чутливість щурів до гіпоксії [8] і в подальшому використовували лише середньостійких тварин. Для моделювання фотоперіодичних змін в організмі тварин упродовж одного тижня застосовували три різні режими освітлення. Перша група щурів (n=17) знаходилася за умов звичайної зміни світлової і темної фаз доби у весняно-літній період року. При цьому співвідношення світлової і темної фаз доби в середньому дорівнювало 16 год : 8 год. Друга група (n=17) піддавалася дії постійного штучного освітлення упродовж доби. Третя група (n=15) утримувалася у постійній цілодобовій темряві. Доступ до тварин останньої групи здійснювали тільки при слабкому в 2 лк червоному світлі.

Гостру гіпоксичну гіпобаричну гіпоксію моделювали в модифікованій проточній барокамері шляхом імітації підйому щурів на висоту 12000 м зі швидкістю 50 м/с. На “висотному плаго” щурів витримували до моменту другого агонального вдиху, після чого здійснювали “спуск” на попередню нульову висоту, відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин. Евтаназію щурів виконували в світловий період доби шляхом декапітації через 30 хв після припинення дії гострої гіпоксії. Кров тварин збирали у попередньо оброблені ЕДТА центрифужні пробірки та центрифугували 15 хв при 600 g. Отриману плазму заморожували і зберігали до проведення подальших досліджень при -20°C . Продукти білкової пероксидації визначали за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином за методом І.Ф. Мешишена [3]. Аліфатичні альдегід- і кетон-динітрофенілгідразони основного характеру реєстрували при 430 нм, а нейтрального – при 370 нм і розраховували у нмоль 2,4-динітрофенілгідразонів на г білка плазми крові [9,13]. Вміст білка визначали за методом Лоурі–Фоліна [10]. Отримані дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою пакету програм “STATISTICA 5.0” з використанням для оцінки вірогідності різниць окремих груп даних параметричного (t Стьюдента) та непараметричних (Вілкоксона, U Манна-Уїтні) критеріїв, а також дисперсійного аналізу “ANOVA”.

Результати дослідження та їх обговорення. Дані, які наведені в таблиці, свідчать, що за постійного освітлення інтенсивність білкової пероксидації залишалась на досить високому рівні порівняно з показниками за звичайного освітлення та постійної темряви. Постійна темрява сприяла зменшенню інтенсивності окиснювальної модифікації білків у плазмі крові. Вміст продуктів білкової пероксидації основного характеру зменшувався в середньому на 18% у порівнянні з контрольними даними за звичайного освітлення, а відносно величин за постійного освітлення – на 24%. При цьому зареєстровано зменшення вмісту продуктів білкової пероксидації саме основного характеру, тобто тих речовин, які утворюються з білків, що містять основні амінокислоти. Ці амінокислоти, зокрема гістидин, є найвразливішими для дії вільних радикалів [6]. Отже, зменшення вмісту таких продуктів є свідченням зниження інтенсивності утворення вільних радикалів за умов постійної темряви.

За окисного стресу, що викликали гострою гіпоксією [5,12], фотоперіодичні зміни у вільнорадикальному окисненні білків були більш інтенсивними. При цьому найвищі рівні вмісту цих продуктів зареєстровані за умов постійного освітлення, а найнижчі – за постійної темряви. Так, за звичайного освітлення вміст продуктів окиснювальної модифікації білків як нейтрального, так і основного характерів збільшувався на 29% і 32% щодо даних відповідного контролю. За постійного світла вміст продуктів окиснювальної модифікації білків після гострої гіпоксії вірогідно не змінювався, залишаючись на достатньо високих рівнях у порівнянні з іншими умовами освітлення.

Після постійної темряви вміст продуктів основного характеру зростав на 19% у порівнянні з даними контролю, однак залишався нижчим, ніж після гіпоксії за інших умов освітлення – відносно даних за звичайного освітлення на 26%, а щодо показників за постійного освітлення – на 22%. При цьому вміст продуктів нейтрального характеру був нижчим на 23% і 19%, ніж після дії гострої гіпоксії відповідно за звичайного і постійного освітлення. Отже, умови постійної темряви помітно зменшували інтенсивність вільнорадикального

Вплив різної довжини світлового періоду за умов гострої гіпобаричної гіпоксії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків плазми крові ювенільних щурів ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови освітлення	Характер впливу	Продукти нейтрального характеру	Продукти основного характеру
		(ммоль 2,4-динітрофенілгідразонів на г білка)	
Звичайне освітлення	Контроль	2,02±0,095	1,08±0,052
	Гіпоксія	2,60±0,205*	1,43±0,121*
Постійне освітлення	Контроль	2,13±0,183	1,17±0,096
	Гіпоксія	2,48±0,138	1,36±0,112
Постійна темрява	Контроль	1,76±0,120	0,89±0,066 ^{†‡}
	Гіпоксія	2,00±0,151 ^{††‡‡}	1,06±0,015* ^{††‡‡}

Примітки: * зміни вірогідні щодо контрольних показників за тих же умов освітлення, $p < 0,05$;

† зміни вірогідні в порівнянні з контрольними показниками за звичайних умов освітлення, $p < 0,05$;

‡ зміни вірогідні порівняно з контрольними показниками за постійного освітлення, $p < 0,05$;

†† зміни вірогідні відносно показників у тварин після гіпоксії за звичайного освітлення, $p < 0,05$;

††† зміни вірогідні щодо даних у тварин після гіпоксії за постійного освітлення, $p < 0,05$.

окиснення білків у плазмі крові ювенільних щурів.

Висновки. Постійна темрява зменшує інтенсивність окиснювальної модифікації білків плазми крові, особливо за окисного стресу, що створює гостра гіпоксія.

Література. 1. *Заморський І. І.* Фотоперіодичні зміни інтенсивності пероксидного окислення ліпідів в сім'яних щурів за гострої гіпоксії // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 3-4. – С. 103–109. 2. *Заморський І. І., Мецишен І. Ф., Плиак В. П.* Фотоперіодичні зміни системи глутатіону мозку за гострої гіпоксії // Укр. біохім. журн. – 1998. – Т. 70, № 6. – С. 69–75. 3. *Мецишен І. Ф.* Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 156–158. 4. *Мецишен І. Ф., Польовий В. П.* Механізм окиснювальної модифікації білків // Бук. мед. вісник. – 1999. – Т. 3, № 1. – С. 196–205. 5. *Особливості механізмів інтенсифікації перексидного окислення ліпідів у тканинах щурів при гіпоксії різного типу / Маньковська І. М., Середенко М. М., Нагнибіда Н. М. та ін. // Физиол. журн. – 1993. – Т. 39, № 4. – С. 25–33. 6. *Арчаков А. И., Мохосоев И. М.* Модификация белков активным кислородом и их распад // Биохимия. – 1989. – Т. 54, вып. 2. – С. 179–186. 7. *Барабой В. А., Сутковой Д. А.* Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Под общ. ред. Ю. А. Зозули. – К.: Наук. думка, 1997. – 420 с. 8. *Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности / Березовский В. А., Бойко К. А., Клименко К. С. и др. / Под общ. ред. В. А. Березовского. – К.: Наук. думка, 1978. – 216 с. 9. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Дубинина Е. Е., Бурмистров С. О., Ходов Д. А., Поротов И. Г. // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41, вып. 1. – С. 24–26. 10. *Справочник биохимика / Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. / Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544 с. 11. Effects of hypobaric hypoxia on antioxidant enzymes in rats / Nakanishi I., Tajima F., Nakamura A. et al. // J. Physiol. – 1995. – Vol. 489, N3. – P. 869–876. 12. *Jaeschke H.* Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue-injury // Proc. Soc. Experim. Biol. and Med. – 1995. – Vol. 209, N 2. – P. 104–111. 13. *Mickel H. S., Oliver C. N., Starke-Reed P. E.* Protein oxidation and myelinolysis occur in brain following rapid correction of hyponatremia // Biochem. Biophys. Res. Com. – 1990. – Vol. 172, N 1. – P. 92–97. 14. *Rojas V. C., Grenfell G. A., Hicks J. J.* Participation of oxygen-free radicals in the oxido-reduction of proteins // Arch. Med. Res. – 1996. – Vol. 27, N 1. – P. 1–6.***

**ACUTE HYPOXIA EFFECT ON OXIDATIVE MODIFICATION
INTENSITY OF RATS' BLOOD PLASMA PROTEINS UNDER
VARYING DURATION OF PHOTOPERIOD**

I. I. Zamorskyi

Abstract. The effect of acute hypobaric hypoxia under a varying duration of the photoperiod on the content of products of the oxidative modification of blood plasma proteins of juvenile male albino rats was investigated. It was established that permanent darkness conditions under acute hypoxia reduced the intensity of protein peroxidation in rats' blood plasma.

Key words: photoperiod, acute hypobaric hypoxia, oxidative modification of proteins.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)
