

УДК 613.155:537.623

Е.Н.Блинова (4 курс, каф. ФХОМ), Л.А.Шарова, д.б.н., с.н.с. (ВМедА)

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ АЭРОИОНОВ

В ходе жизнедеятельности аэробного организма образуются так называемые активные формы кислорода (АФК), являющиеся токсичными промежуточными продуктами восстановления кислорода. Первым в ряду таких форм стоит супероксидный анион радикал O_2^- , и, согласно концепциям современной свободнорадикальной патологии, повреждающее действие кислорода обусловлено не столько супероксидом, сколько продуктами дальнейших его преобразований – перекисью водорода, гидроксильным радикалом, а также синглетным кислородом и радикалами, образующимися при распаде гидроперекисей липидов.

Существует единое мнение о том, что появление АФК в норме должно контролироваться специальными ферментами антиоксидантной защиты, способными их нейтрализовать, а при недостаточной активности данной ферментной системы АФК вызывают каскад свободнорадикальных процессов, приводящих, в том числе, и к гибели клетки. Однако при всем при этом существуют убедительные доказательства благоприятного биологического воздействия отрицательных аэроионов на организм человека и животных, основным компонентом которых является супероксид O_2^- .

Вопрос благоприятного биологического воздействия отрицательных аэроионов (ОАИ), несмотря на почти столетнюю историю его исследования, до сих пор остается дискуссионным и, прежде всего, в связи с тем, что довольно трудно в разных экспериментальных условиях создать определенную концентрацию ОАИ и воздействовать на организм подопытного животного определенными дозами ОАИ. Данное расхождение в составе и концентрации ионизированного воздуха в различных работах, а, следовательно, и в полученных результатах, заставляет искать зависимость биологического эффекта ОАИ от их концентрации.

С учетом всего вышеизложенного цель данной работы заключалась в изучении влияния больших концентраций ОАИ в ранние сроки после воздействия на активность ферментов антиоксидантной защиты – каталазы и пероксидазы, а также на чувствительность эритроцитов к перекисному гемолизу.

ОАИ генерировались электроэффлювиальной люстрой Чижевского, которая позволяет получать супероксид O_2^- , а также его водные кластеры без примесей озона и положительных аэроионов.

В качестве экспериментальных животных использовались крысы, которые в течение 30 минут находились в поле действия электроэффлювиальной люстры. Доза, которой подвергались облучаемые животные, составила 140 тыс. электр./см³.

Каталаза, представляющая собой тетрамер-гемопроtein, осуществляет распад H_2O_2 с образованием молекулярного кислорода и воды. Кроме того, она выступает в качестве основного резервуара связывания НАДФ*Н в эритроцитах, необходимого для функционирования системы глутатионпероксидаза-глутатионредуктаза. Принцип метода определения активности фермента основан на скорости утилизации перекиси водорода в реакционной смеси, в которую вносится биологический материал, в данном случае кровь крыс, содержащая данный фермент. Об интенсивности утилизации перекиси судят по снижению экстинкции при длине волны 260 нм, при которой перекись водорода имеет максимум поглощения.

Было показано, что до воздействия ОАИ активность каталазы составляла $31,3 \cdot 10^3$ ммоль/мин*л, через тридцатиминутный срок после облучения крыс аэроонами, активность фермента снизилась в 2,3 раза, что вероятно связано с истощением запаса фермента при больших концентрациях перекиси водорода, а с течением времени, при распаде перекиси водорода, наблюдалось возрастание активности каталазы в 1,7 раза и вернулось на нормальный уровень только через сутки после облучения.

Другой фермент антиоксидантной защиты – пероксидаза – локализуется преимущественно в специфической зернистости цитоплазмы гранулоцитов и катализирует превращение перекиси водорода в гипохлорит. Пероксидазная активность регистрируется при более низких концентрациях перекиси водорода, нежели каталазная активность. Для количественного определения данного фермента был использован метод Грэхема-Кнолля. Принцип этого метода основан на окислении в присутствии пероксидазы одного из компонентов реакционной смеси – бензидина в оксibenзидин. Последний становится хорошо виден в виде ярких гранул в световом микроскопе. Результаты представляют в зависимости от количества клеток с окрашенной зернистостью на определенной площади мазка крови.

До воздействия ОАИ количество клеток с окрашенной зернистостью на 1 кв. см. составляло 5 – 10 шт., через 30 мин после воздействия аэроонов это число увеличилось до 120 - 130 клеток и максимально возросло через сутки после облучения и составило 410 – 420 клеток.

Для определения чувствительности эритроцитов к перекисному гемолизу был использован метод, основанный на определении в супернатантах экстинкции внеэритроцитарного гемоглобина, поступающего в среду в результате инициации перекисного окисления липидов в мембранах клеток крови.

Полученные данные указывают на увеличение степени гемолиза в эритроцитах в тридцатиминутный срок после облучения в 1,4 раза по сравнению с фоновым значением, что говорит о выраженном повреждении эритроцитарной мембраны. А спустя 2 часа и в течение последующих суток этот показатель, напротив, снижен, что свидетельствует о восстановлении в эритроцитах активности антиоксидантной защиты от повреждения клеток свободными радикалами.

Таким образом, приведенные исследования активности ферментов антиоксидантной системы свидетельствуют о наличии определенной динамики изменения изучаемых показателей.

1. Минимальная активность изучаемых ферментов и чувствительность эритроцитов к воздействию перекисей обнаружена в ранние сроки (30 мин) после облучения отрицательными аэроонами.

2. Максимальная активность фермента каталазы выявлена спустя 2 часа, а пероксидазы спустя 24 часа после воздействия аэроонов, что объясняется существующей иерархией в работе данных ферментов.

3. Обнаружена обратная корреляция между активностью фермента каталазы и чувствительностью эритроцитов к перекисному гемолизу (коэффициент корреляции равен - 0,9, $p < 0,05$).

Полученные данные по изучению активности ферментов антиоксидантной защиты организма подопытных животных свидетельствуют о наличии признаков оксидативного стресса, развивающегося после облучения животных большими концентрациями ОАИ