A 03.00.04
B-18

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ
ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Հ.ԲՈՒՆԻԱԹՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ ՀԱՍՄԻԿ ՌԱԶՄԻԿԻ

ԿԱԹՆԱՍՈՒՆՆԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ԵՎ ԱՅԼ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ՕՔՍԻԴԱՏԻՎ ՎՆԱՍՄԱՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄՆԵՐԸ ԵՎ ՊԱՇՏՊԱՆԻՉ ԳՈՐԾՈՆՆԵՐԸ ՀԻՊՈ- ԵՎ ՀԻՊԵՐԳԼԻԿԵՄԻԱՅԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Գ.00.04 - Կենսաքիմիա
մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների
թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

Երևան - 2003

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ им. Г.Х.БУНЯТЯНА

ВАРДАНЯН АСМИК РАЗМИКОВНА

МЕХАНИЗМЫ ОКСИДАТИВНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ КРОВИ И ДРУГИХ ТКАНЕЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ЗАЩИТНЫЕ ФАКТОРЫ ПРИ ГИПО - И ГИПЕРГЛИКЕМИИ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности
03.00.04 – Биохимия

Ереван – 2003

© National Library of Armenia OCR by Portmind

Ատենախոսության թեման հաստատված է ՀՀ ԳԱԱ Հ.Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտում
Գիտական ղեկավար՝ կենսաբանական գիտությունների դոկտոր Մ. Ա. Սիմոնյան
Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Գ.Ա. Գևորգյան
կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Լ. Հ. Նավասարդյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ Երևանի Միխթար Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարան

Պաշտպանությունը կայանալու է 2008թ. հունիսի 9-ին, ժամը 15⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտին կից 042 մասնագիտական խորհրդում (375014, Երևան 14, Պ. Սևակի 5/1)
Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Հ.Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գրադարանում:
Սեղմագիրն առաքված է 2008թ. մայիսի 9-ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
կենսաբանական գիտությունների թեկնածու, դոցենտ Հ. Լ. Հայրապետյան

Тема диссертации утверждена в Институте биохимии им. Г.Х.Бунятяна НАН РА
Научный руководитель: доктор биологических наук М. А. Симонян

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор Г. А. Геворкян
доктор биологических наук, профессор Л. А. Навасардян

Ведущая организация: Ереванский государственный медицинский университет имени Мхитара Гераци

Защита диссертации состоится: 9-ого июня 2008г. в 15⁰⁰ ч. на заседании специализированного совета 042 при Институте биохимии им. Г.Х.Бунятяна НАН РА (375014, Ереван 14, ул. П.Севака 5/1).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биохимии НАН РА им. Г.Х.Бунятяна

Автореферат разослан: 9-ого мая 2008г.

Ученый секретарь специализированного совета,
кандидат биологических наук, доцент Р. Л. Айрапетян

© National Library of Armenia

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Механизмы оксидативного повреждения биосистем (мембраны клеток, белки-ферменты, ДНК и др.) при инсулин-зависимом диабете (диабет типа 1) и инсулин-независимом диабете (диабет типа 2) в основном мало отличаются и связаны с характерным нарушением метаболизма глюкозы и инсулина на фоне соответственного изменения физиологического баланса между регуляторными системами активных форм кислорода (АФК). [Min Y. et al., 2005; Pari L. et al., 2004; Shin M.J. et al., 2005; Kajanachumpol S. et al.,1997; Atalay M. et al., 1997].

При аллоксан–индуцированном и стрептозотоцин-индуцированном диабетах, при гипогликемии в тканях крыс и других млекопитающих наблюдается снижение суммарной антиоксидантной активности и повышение уровня конечного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) - малонового диальдегида (МДА). [Cross C.E. et al. 1987, Heikkila R.E. et al. 1976, Tiedge M., et al., 1997]. Причем оксидативное повреждение компонентов крови и β-клеток поджелудочной железы, является ключевым фактором патогенеза аллоксан–индуцированного диабета (АИД) и стрептозотоцин-индуцированного диабета (СИД). Токсический эффект аллоксана на β-клетки поджелудочной железы связывается с окислением –SH группы, ингибированием глюкокиназы, стимулированием продуцирования этими клетками АФК и нарушением внутриклеточного кальциевого гомеостаза. С другой стороны, при СИД наблюдается повреждение ДНК путем ее алкилирования и активации поли-АДР-рибозилирования [Cross C.E., et al.1987, Miyata T. et al. 1999, Krieger-B.H. 1992].

АФК (H_2O_2, $O_2^{\cdot}$, $HO^{\cdot}$, $NO^{\cdot}$, $ROO^{\cdot}$, $ONOO^-$ и др.) являются активными интермедиатами аэробных метаболических процессов [Fridovich I., 1995]. При различных патологических состояниях и заболеваниях, включая диабет различного характера, наблюдаются характерные нарушения эндогенных уровней АФК и в подавляющем большинстве случаев происходит повышение уровня последних. Из-за высокой реакционноспособности АФК при накоплении превращаются в токсические для различных биосистем агенты, вызывая оксидативное повреждение и в итоге оксидативный стресс [Congy F., 1995, Blochina O. et.al., 2003]. Очевидно, роль антиоксидантной защитной системы и при гипо- и гипергликемии, при которых на фоне повышения или снижения уровня глюкозы наблюдается также определенное денатурирование карбогитратов, жиров, снижение уровня инсулина, повышение степени глюкозилирования различных белков (в первую очередь трансферрина) и накопление сорбитола в тканях [Brownlee M., 1991]. Диабет - это хроническое и практически неизлечимое заболевание, но для смягчения выше приведенных отрицательных эффектов используются соединения различного характера, в основном обладающие антирадикальным действием (вит. B, C, E, а также Cu, Zn, Se, тиамин, α-липоевая кислота, морин и др.) [Dakshinamurti K. et al., 1969, al-Zuhair et.al., 1998, Heitzer T., 2001, Skyrme-Jones R.A., 2000, Eckhert C.D. et al., 1985, Vorhaus M.G., 1935, Bartošikova L., et al., 2000]. Антистрессорным эффектом

обладают и препараты ВАС-167, богатый пролином полипептид (БПП-1) и ДСИП [Арутюнян В.С. и др., 1998, Казарян П.А., 2002, Sahakyan R. et al., 2005, Odin V.I. et al., 2004, Tallroth G. et al., 1992, Galoyan A. A., 2004], которые широко используются и при диабете.

Основными системами продуцирования супероксидного радикала и его производных (их называют прооксидантными системами) являются НАДРН-зависимые оксидазы, для которых цитохромы b_{558} различной модификации являются ключевыми компонентами и локализованы в мембранах и иногда во внутриклеточных формированиях клеток плазмы, а также в сыворотке крови и в эритроцитарных мембранах [Lutter R. et al., 1986, Wallach T. M. et al., 1996, Симонян М. А. и др., 1995, Mollace V. et al., 2003]. Причем анти- и прооксидантные системы (металлопротеины) находятся в физиологическом равновесии и его малейшее нарушение приводит к накоплению АФК и в итоге к оксидативному стрессу различных биосистем [Mollace V. et al., 2003].

В связи с открытием новых изоформ цитохрома цит b_{558} из сыворотки крови и эритрицитарных мембран (ЭМ) и определением их биологической роли как НАДРН-зависимых супероксид-продуцирующих и меттемоглобин (метHb)-восстанавливающих систем [Симонян Г. М. и др., 2003, Симонян М.А. и др., 1995], становится актуальным определение на молекулярно-биохимическом уровне механизмов воздействия инсулина, аллоксана, ДСИП, ВАС-167, БПП-1 и фракции из огородных улиток Helix с антиоксидантной активностью (ФАА) на уровень и активность как известных металлопротеинов антиоксидантной активности (МАА), так и новых типов металлопротеинов прооксидантной активности (МПА), в число которых включается и $O_2^{\cdot}$ продуцирующий липопротеин сыворотки - супрол [Симонян М.А. и др., 1996] как in vitro, так и in vivo при гипо- и гипергликемии крыс (АИД продолжительностью 1.5-2 месяца). Это позволяет расширить и по-новому оценить имеющиеся знания по определению патогенетических механизмов диабета в связи с характерным нарушением метаболизма АФК, а также эффективности и целесообразности применения данных регулирующих систем.

Цель и задачи исследования

Целью данного исследования является определение молекулярно-биохимических механизмов оксидативного повреждения компонентов крови и других тканей крыс (в первую очередь металлопротеинов) при гипер- и гипогликемии in vitro и in vivo в отсутствие и под воздействием соединения ВАС-167, БПП-1, ДСИП и ФАА. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Усвоение метода одновременного получения количественного и качественного определения МАА и МПА крови и других органов крыс, а также ФАА из белкового железа огородных улиток.
2. Определение непосредственного воздействия аллоксана и инсулина на уровень и активность МАА и МПА in vitro и ex vivo (на кровь).
3. Определение характерных изменений уровня и активности МАА и МПА при инсулин-индуцированной гипогликемии крыс.

4. Определение характерных изменений уровня и активности МАА и МПА в крови крыс при аллоксан-индуцированном диабете в отсутствие и под влиянием экзогенно введенного ДСИП, БПП-1, ВАС-167 и ФАА.

Научная новизна работы

1. Из белкового железа огородной улитки Helix получена белковая фракция с высокой антиоксидантной активностью, которая оказывает положительный эффект в течение сравнительно длинных сроков АИД (1.5-2 мес.).
2. Аллоксан и D-глюкоза снижают НАДРН-зависимую $O_2^{\cdot}$ -продуцирующую активность и повышают меттемоглобин (метHb)-восстанавливающую активность цит b_{558}III ЭМ, со снижением степени рилизинга этого гемопротеина из ЭМ in vitro. Механизм такого эффекта аллоксана и D-глюкозы связывают с небольшой СОД-миметической активностью аллоксана и $HO^{\cdot}$-улавливающей активностью D-глюкозы.
3. Инсулин стимулирует НАДРН-зависимую $O_2^{\cdot}$-продуцирующую и повышает метHb-восстанавливающую активности цит b_{558}III ЭМ в гомогенной и гетерогенной фазах, а также снижает $O_2^{\cdot}$-продуцирующую активность супрола in vitro, оказывая тем самым положительный эффект регулирования кислородного гомеостаза и стабильности эритроцитов.
4. При инсулин-зависимой гипогликемии происходит нарушение физиологического равновесия между МАА и МПА в крови и других тканях крыс, а экзогенно введенный БПП-1 оказывает определенный регулирующий эффект.
5. В крови больных инсулин-зависимым диабетом наблюдается снижение уровня МАА и повышение уровня МПА с характерным фоном оксидативного стресса.
6. Механизмы токсического эффекта аллоксана in vivo, ex vivo и in vitro несколько отличаются и связаны с денатурацией ТФ, ЦП, каталазы и супрола.
7. При АИД положительный антистрессорный эффект оказывают ДСИП, соединение ВАС-167 и ФАА.

Научно-практическое значение работы

Научно-практическое значение работы заключается в следующем.

1. Комплексно определены механизмы оксидативного повреждения металлопротеиновых компонентов крови и других тканей, ассоциированных с характерными и качественными изменениями МАА и МПА при гипо- и гипергликемии в эксперименте и клинике. Эти данные могут быть использованы в аналитических работах с кровью диабетиков типа 1 и 2 в клинике, в качестве чувствительных маркеров диагностики и эффективности лечения.
2. Аллоксан обладает небольшой СОД-миметической активностью, а D-глюкоза улавливает $HO^{\cdot}$ радикалы, проявляя этим способность подавления процесса рилизинга цит b_{558} из ЭМ со снижением уровня $O_2^{\cdot}$ продуцирующими супролом и цит b_{558}, оказывая этим стабилизирующий эффект на супрол и ЭМ in vitro. Эти данные могут быть использованы для корректирования молекулярно-биохимических механизмов воздействия аллоксана и глюкозы.

© National Library of Armenia

3. Инсулин стимулирует НАДРН-зависимую $O_2^{\cdot-}$-продуцирующую и метHb-восстанавливающую активности цит b_{558}III. Эти данные могут быть использованы в клинике для расширенного определения механизмов действия инсулина и подчеркивают важность этого гормона для стимулирования иммунной защиты организма и кислородного гомеостаза.
4. Из-за определенного регулирования уровня МАА и МПА при гипо- и гипергликемии препараты БПП-1, ДСИП, ВАС-167 и ФАА могут быть предложены для предклинического испытания как факторы регулирования не только уровня глюкозы но и метаболизма АФК.

Апробация работы. Некоторые аспекты работы были представлены на научной сессии Академии медицинских наук (Ереван, 2003). Работа была апробирована на заседании Ученого совета Института биохимии им. Г.Х.Бунятяна НАН РА (2007).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 работ.

Объем работы. Диссертационная работа состоит из списка использованных сокращений, 3-х глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, который включает 202 источника. Диссертация изложена на 108 страницах и включает 8 рисунков и 11 таблиц.

Место выполнения работы. Работа выполнена в лаборатории "Метаболизм активного кислорода" Института биохимии им. Г.Х.Бунятяна НАН РА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для получения металлопротеинов (МП) крови и других тканей были использованы целлюлозы различных типов: DE-52, КМ-52, ("Whatman" Англия), и сефадексы DEAE A-50, G-75, G-100 и G-150 ("Pharmacia", Швеция).

Для определения супероксиддисмутазной и супероксидпродуцирующей активности белков были использованы нитротетразолевый синий (НТС), феназинметасульфат (ФМС), $НАДРНа_2$ или $НАДРНа_4$ ("Sigma"). При определении каталазной активности были использованы перекись водорода, перманганат калия, дитионит натрия (для восстановления цит b_{558}). Для приготовления калий фосфатного и натрий ацетатного буфера были использованы двухзамещенный фосфат калия, соляная кислота, трихлоруксусная кислота, ацетат натрия и уксусная кислота (все эти реактивы российского производства с маркой "чисто для анализа"). Для индуцирования гипергликемии или диабета у крыс был использован аллоксан фирмы "Sigma". Аллоксан использовали и для in vitro исследований. Инсулин (человеческий) российского производства использовали для индуцирования у крыс гипогликемии и для опытов in vitro. Была использована кровь 540 белых половозрелых крыс, донорская кровь (по 15 мл) 18 мужчин (42-54 лет) и кровь больных с инсулин-зависимым диабетом (по 12 мл) 11 мужчин в возрасте 54-65 лет и с давностью заболевания 4-5 лет (из Гюмрийской поликлиники им. Международного Красного креста для совместных исследований).

Стерилизованный БПП-1 в физиологическом растворе был представлен академиком А. А. Галояном, а соединение ВАС-167 в виде порошка было представлено академиком А. А. Аветисян.

Используемый ДСИП - производства фирмы "Sigma". Ферригемоглобин получали из эритроцитов человека и крыс. Название остальных химикатов будут приведены в дальнейшем

изложении работы. При получении белков были использованы центрифуги К-70, К-24 (Германия), микроцентрифуга типа 320а (Польша). Для ионообменной хроматографии и гель фильтрации белковых фракций были использованы стеклянные колонки с фильтрами различных размеров (3×20, 2×25, 1×20 и 2×95 см).

Использованные методы

Для получения и очистки МП крови применялся биотехнологический способ [Симонян М. А., Симонян Г. М., 1997], без применения детергента [Симонян М. А. и др., 2001] для солюбилизации ЭМ цит b_{558} с использованием методов ионообменной хроматографии на целлюлозах DE-52, КМ-52, сефалекс DEAE A-50 и гель-фильтрации на сефадексах G-75, G-100 и G-150.

Супероксиддисмутазную (СОД) активность белковых фракции и $O_2^{\cdot}$ -продуцирующей активности супрола и цит b_{558}III определяли методом нитротетразолиевого синего (НТС), рассчитав проценты ингибирования или прироста образования формазана (при 560 нм) при восстановлении НТС супероксидными радикалами в присутствии СОД, супрола и цит b_{558} III соответственно.

Каталазную активность фракции определяли перманганометрическим методом.

МетHb-восстанавливающую активность цит b_{558}III определяли кинетическим методом, путем измерения снижения плотности максимального оптического поглощения ферриHb [Fe (+3)-Hb] при 565 нм в присутствии определенного количества цит b_{558}III.

Чистота белков определяется диск-гель электрофорезом по общеизвестному методу Мауара.

Количество малонового диальдегида (МДА) и белков в гомогенатах тканей определяли спектральным методом.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние аллоксана на физико-химические свойства металлопротеинов крови in vitro

Аллоксан (5×10^{-3} М) вызывал подавление на 50% $O_2^{\cdot}$-продуцирующей активности супрола человека при 60-70 мин инкубировании, при 20° (рис. 1). Это связывается с окислением НАДРН группы в составе супрола. Аллоксан (2×10^{-2} М) обратимо (до 70%) восстанавливает Cu^{2+} в активном центре ЦП (рис.2) и смещает максимальное оптическое поглощение ТФ от 470 нм к 485 нм (рис 3). Аллоксан подавляет (до 20%) активность каталазы, но не инактивирует Cu,Zn-СОД и не изменяет свойства изоформ цит b_{558} I-VI. Сам аллоксан имеет до 0,5 % СОД-миметическую активность.

© National Library of Armenia

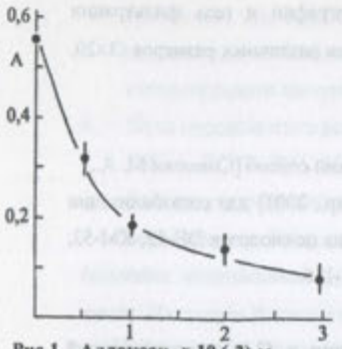


Рис.1 Аллоксан x 10 (-2) м

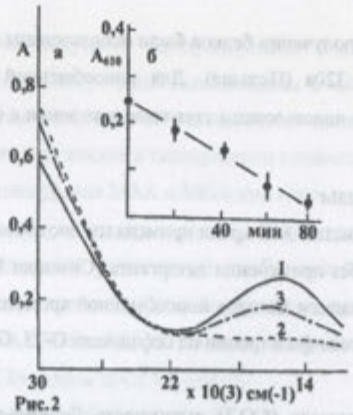


Рис.2

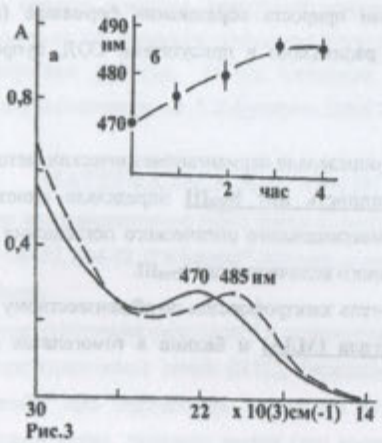


Рис.3

Рис.1 Интенсивность плотности максимального оптического поглощения формазана (560 нм) под воздействием аллоксана. Формазан образуется при восстановлении нитротетразолиевого синего супероксидными радикалами, генерированными супролом (10^{-3} М) в присутствии аллоксана (время инкубации 60 мин при 20°, pH раствора 9.0).

Рис.2 Воздействие аллоксана (2×10^{-2} М) на интенсивность плотности поглощения ЦП (при 610 нм) при 20° (pH раствора 7.4): а - оптические спектры поглощения ЦП в отсутствии аллоксана (1) после инкубирования ЦП с аллоксаном в течение 2.5 ч (2). После аэрации или удаления аллоксана происходит реокисление меди в активном центре ЦП с соответственным повышением интенсивности плотности оптического поглощения при 610 нм (3); б – кинетическая кривая падения интенсивности поглощения ЦП (при 610 нм) под воздействием 2×10^{-2}М аллоксана (pH раствора 7.4).

Рис.3 Изменение максимума оптического поглощения ТФ под воздействием 2×10^{-2} М аллоксана, время инкубации 3 ч при 20° и pH 7.4: а - оптический спектр поглощения нативного ТФ (——) и после воздействия аллоксана (-------); б-кинетическая кривая изменения максимального оптического поглощения ТФ под воздействием аллоксана в приведенных условиях.

Таким образом, механизмы воздействия аллоксана in vivo и in vitro несколько отличаются и связаны не только с нарушением функции инсулин – индуцирующих β–клеток островков Лангерганса поджелудочной железы in vivo, но и с непосредственным нарушением функции некоторых ключевых МП (супрол, ЦП, ТФ и каталаза).

Влияние аллоксана и D-глюкозы на супероксид-продуцирующую и метгемоглобин-восстанавливающую активности цитохрома b_{558}III in vitro

Определяются молекулярно-биохимические механизмы воздействия аллоксана (2×10^{-3}) мг/мл и глюкозы (3×10^{-2}) мг/мл на метHb-восстанавливающую активность цит b_{558}III, а также на степень рилизинга последнего из ЭМ. Время инкубирования аллоксана и D-глюкозы с цит b_{558} составлял 96 ч при 4°. Аллоксан (интактный) обладает 0,5% СОД миметической активностью in vitro (определяется тремя методами: НТС, Кумасси бриллиантовым синим (КБС) и ЭПР-спектроскопическим). Аллоксан путем улавливания $O_2^{\cdot}$ подавляет процесс обесцвечивания КБС этими радикалами (рис.4). Наоборот, D-глюкоза стимулирует обесцвечивание КБС из-за увеличения стационарной концентрации $O_2^{\cdot}$ в этой системе (H_2O_2, при pH >9). Глюкоза, являясь скавенджером $HO^{\cdot}$ радикалов, а аллоксан – скавенджером $O_2^{\cdot}$, несколько подавляет процесс рилизинга цит b_{558}III из ЭМ в гомогенную фазу (рис. 5). $O_2^{\cdot}$ и $HO^{\cdot}$ инициируют цепным механизмом перекисное окисление фосфолипидных остатков биомембран, включая и ЭМ, вызывая рилизинг (отщепление) цит b_{558} из ЭМ. Аллоксан и D-глюкоза не инактивируют цит b_{558} в процессе продуктирования $O_2^{\cdot}$, они только улавливают $O_2^{\cdot}$ in vitro (особенно аллоксан) (рис.6). Глюкоза и особенно аллоксан играют стимулирующую роль при восстановлении метHb цитохромом b_{558}III (рис.7). Не исключается роль глюкозы и аллоксана как переносчиков электрона от ФАД к $NO^{\bullet}$ в составе цит b_{558}III и далее к Fe^{+3} метHb, превращая его в ферроHb.

© National Library of Armenia

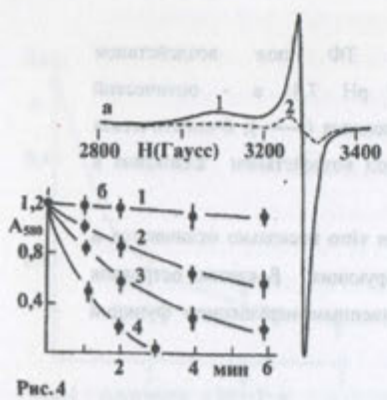


Рис.4

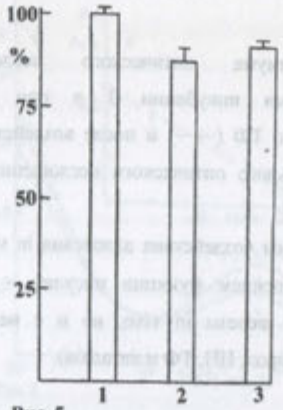
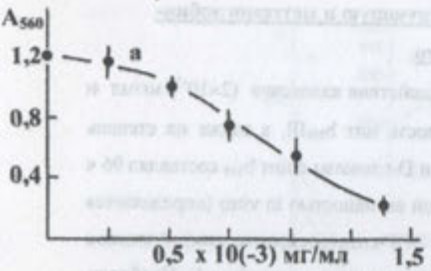
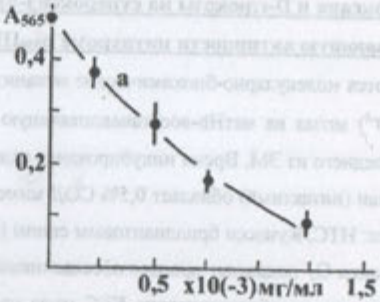


Рис. 5





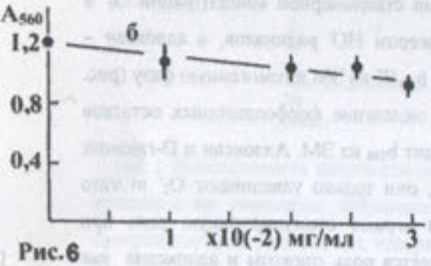


Рис.6

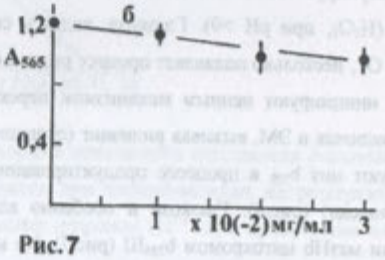


Рис.7

Рис.4. а - ЭПР спектр $O_2^{\cdot-}$, продуцируемых при расщепленный 10^{-3} М H_2O_2 при pH 8 (1), то же самое в присутствии 2×10^{-3} мг/мл аллоксана (2). Интегральная интенсивность ЭПР сепктра $O_2^{\cdot-}$ (в относительных единицах) увеличивается около 3-х раз в присутствии 3×10^{-2} мг/мл глюкозы. b - кинетические кривые снижения плотности максимального оптического поглощения КБС (при 580нм) под воздействием $O_2^{\cdot-}$, продуцируемых при расщеплении 10^{-3}М H_2O_2 при pH 8 в присутствии 2×10^{-3} мг/мл (1) и 10^{-3} мг/мл аллоксана (2), в отсутствие последнего (3) и под воздействием 3×10^{-2} мг/мл D-глюкозы (4).

Рис.5. Уровень отщепленного из ЭМ цит b_{558}III (1), в присутствии 2×10^{-3} мг/мл аллоксана (2) и 3×10^{-2} мг/мл D-глюкозы (3).

Рис.6. Подавление образования формазана (при 560нм) в присутствии аллоксана (а) и D-глюкозы (б). Время инкубации реакционной смеси 10 мин при 25^0.

Рис.7.Снижение плотности максимального оптического поглощения альфа- полосы метHb (при 565 нм) под воздействием цит b_{558}III в присутствии аллоксана (а) и D-глюкозы (б). Время инкубации реакционной смеси 6 ч при 30^0.

Таким образом, стимулирование аллоксаном и глюкозой процесса восстановления метHb цитохромом b_{558}III положительное явление. С другой стороны, токсический эффект аллоксана in vivo обычно проявляется через 3-4 суток, а в течение этого времени аллоксан расщепляется. Именно продукты расщепления аллоксана in vivo оказывают повреждающий эффект.

Влияние инсулина на супероксид-продуцирующую активность супрола, цитохрома b_{558}III и его меттемоглобин-восстанавливающую активность in vitro

Под влиянием человеческого инсулина (0,2, 0,4, и 0,8 ед) наблюдается увеличение NADPH – зависимой $O_2^{\cdot-}$ -продуцирующей и метHb – восстанавливающей активности цит b_{558}III как в гомогенной, так и в гетерогенной фазах (в ЭМ) с одновременным подавлением $O_2^{\cdot-}$ -продуцирующей активности супрола (время инкубирования цит b_{558}III и супрола с инсулином составляло 30 мин при 20^0) (таблица 1).

Таблица 1

Относительные изменения (%) активностей МП под воздействием инсулина по сравнению с 100%-ными контрольными показателями (показатели в отсутствие инсулина) (P<0,05, n=12)

Активность МП	Единица инсулина		
	0,2	0,4	0,8
$O_2^{\cdot-}$-продуцирующая активность цит b_{558}III в гомогенной фазе	+12.1±0.2	+29.5±4.6	+40.4±3.3
$O_2^{\cdot-}$-продуцирующая активность цит b_{558}III в гетерогенной фазе	+8.1±0.03	+22.5±3.1	+31.7±2.4
МетHb-восстанавл. активн. цит b_{558}III в гомогенной фазе	+34.5±3.0 P<0,03	+57.3±5.1 P<0,03	+87.4±6.5 P<0,03
МетHb-восстанавл. активн. цит b_{558}III в гетерогенной фазе	+21.5±2.0 P<0,03	+34.7±2.5 P<0,03	+43.5±1.2 P<0,03
$O_2^{\cdot-}$-продуцирующая активность супрола	-11.8±1.1	-19.0±2.3	-27.3±3.2

Этим путем, наряду с регулированием уровня глюкозы, инсулин возможно играет иммунностимулирующую роль и активирует кислородный гомеостаз.

© National Library of Armenia

Антиоксидантные и прооксидантные металлопротеины крови крыс при аллоксановом диабете

АИД у белых крыс вызывали внутрибрюшинным введением животным 140 мг/кг веса аллоксана. На 7-е сутки крыс декапитировали и из крови получали МАА с определением их уровня. Наблюдается однонаправленность изменений уровня ряда МПА (цит b_5, b_{558}III, b_{558}IV, b'_{558}IV и супрол) и МАА (каталаза, ЦП и ТФ), содержание которых возрастает в среднем от 20 до 70%. Этой закономерности не подчиняются цит b_{558}I, b_{558}II, а также $O_2^{\cdot-}$ -продуцирующая активность супрола и активность Cu,Zn-СОД, которые снижаются (20-25%). Увеличение уровня МПА и МАА является фактором индуцирования оксидативного повреждения крови (табл. 2).

Таблица 2

Относительное изменение (%) уровней и активностей МПА и МАА крови крыс при 7-дневном АИД по сравнению с 100%-ными контрольными показателями (P<0,05, n=8)

Металлопротеины	Содержание металлопротеинов крови(%)
Цитохром b_5	+65.2±2.2
Сумма цитохромов b_{558}I и b_{558}II	-21.2±1.1
Цит b_{558}III	+52.3±2.4
Цит b_{558}IV	+67.2±3.2 P<0,03
Цит b'_{558}IV	+71.4±4.3
Супрол	+55.6±2.9
$O_2^{\cdot}$-продуцирующая активность супрола	-23.2±1.2
Церулоплазмин	+52.4±2.5 P<0,03
Трансферрин	+48.1±2.3 P<0,01
Cu, Zn-СОД	-25.1±1.3
Каталаза	+20.3±1.2

Источниками продуцирования $O_2^{\cdot}$ при 7-дневном АИД могут быть цит b_{558} ЭМ, как компоненты НАДРН-оксидазы, глюкоза, которая стимулирует образование $O_2^{\cdot}$ при расщеплении H_2O_2, аллоксан, вернее, продукты его расщепления и, наконец, ионы Fe(2+), которые также приводят к генерации $O_2^{\cdot}$ (HO$^{\cdot}$) из H_2O_2. Образующиеся $O_2^{\cdot}$ индуцируют снижение стабильности супрола путем повышения ПОЛ фосфолипидов этого липопротеина и при АИД. Понижение уровня сывороточных цит b_{558} связывается с увеличенным их расходованием при противодействии с H_2O_2 в сыворотке крови.

Таким образом, оксидативный стресс крыс на начальных этапах АИД обусловлен недостаточным (соответственным) повышением уровня МАА, что дает основу для использования антиоксидантотерапии при АИД.

Сдвиги эндогенных уровней металлопротеинов - регуляторов метаболизма активных форм кислорода в крови больных при инсулин-зависимом диабете (диабет типа 1)

При инсулин-зависимом диабете (ИЗД) уровень МАА и МПА подвергается изменению различной степени (табл.3). Если при 21-дневном АИД при росте уровня $O_2^{\cdot-}$ -продуцирующего цит b_{558}III организм вырабатывает соответственное повышение уровня МАА, то у больных ИЗД адаптационные механизмы организма фактически не в силах повысить суммарный уровень ключевых МАА. Это, по-видимому, связано с давностью заболевания у исследованных больных – диабетиков (табл. 3). Приведенные количественные характеристики оксидативного стресса (изменения АС и ПС), связанные с изменениями эндогенных уровней МАА и МПА – регуляторов метаболизма АФК, дают основание для применения при ИЗД препаратов антиоксидантной активности (витамины Е,С, орготеин, СОД-миметические комплексы).

Таблица 3

Относительные изменения (%) эндогенных уровней МАА и МПА крови (по сравнению с показателями донорской крови, которые принимаются за 100%) у больных при ИЗД (P<0,05, n=8)

Металлопротеины	%
Церулоплазмин	+19,1±3,2
Трансферрин	-52,2±8,4 (P<0,04)
Cu, Zn-СОД	-14,2±1,9
Каталаза	-93,1±11,4 (P<0,02)
Цит b_{558}	Нет изменений
Цит b_{558}III	-56,2±8,9 (P<0,02)
Цитохром b_{558}IV	+14,3±2,5
Супрол	-16,4±2,5
$O_2^{\cdot}$-продуцирующая активность супрола	+26,3±4,1

Можно предполагать, что приведенные факторы играют немаловажную роль в патогенезе ИЗД и осложняют или практически сводят к минимуму эффективность общепринятого лечения этого заболевания.

© National Library of Armenia

Регулирование дельтасон-индуцирующим пептидом эндогенных уровней металлопротеинов и глюкозы в крови крыс при аллоксановом диабете

Дельтасон-индуцирующий пептид (ДСИП) обладает антистрессорным эффектом и как адаптоген может быть использован при АИД. Опыты проводили на белых половозрелых крысах. В первую опытную группу /ОГ-1/ вошли животные, которым внутрибрюшинно вводили аллоксан в дозе 140мг/кг. В ОГ-2 и ОГ-3 вошли животные, получившие внутрибрюшинно ДСИП /по 12 мкг/100 г/ за час до введения и через 3 дня после введения аллоксана. На 7-е сутки крыс декапитировали и забирали кровь. При семидневном АИД оксидативный стресс сопровождается характерным изменением уровней МПА и МАА (табл. 4)

Таблица 4

Влияние профилактического /за 1 час/ и лечебного /спустя 3 суток/ введения ДСИП на металлопротеины крови крыс при семидневном аллоксановом диабете /контрольные показатели приняты за 100%, p<0,05, n=8/

Металлопротеины	ОГ-1	ОГ-2	ОГ-3
Цит b_5	+65,2±2,2 p<0,03	+22,5±1,4 p<0,03	-41,3±1,4 p<0,03
Сумма цитохромов b_{558}I и b_{558}II	-21,2±1,1	-11,3±1,2	-16,1±0,9
Цит b_{558}III	+52,3±2,4	+8,4±0,8	+40,2±2,1
Цит b_{558}IV	+67,2±3,2 p<0,01	+21,3±1,7 p<0,01	+53,4±3,1 p<0,01
Супрол	+55,6±2,9	+12,4±1,3	+50,1±1,3
$O_2^{\cdot-}$-продуцирующая активность супрола	-23,2±1,2 p<0,01	+12,4±1,4 p<0,01	-18,1±1,3 p<0,01
Ферроксидазная активность ЦП	-15,8±1,9	-9,2±0,5	-21,3±0,8
ЦП	+52,4±2,5	+16,2±1,2	+31,3±1,8
ТФ	+48,1±2,3 p<0,001	+12,3±0,9 p<0,001	+28,5±1,6 p<0,001
СОД	-25,1±1,3	+10,4±1,2	-17,5±0,7
Каталаза	+20,3±1,2	+11,1±0,7	-18,7±1,4

Анализируя полученные результаты, можно заметить, что характерные изменения уровня и активности МАА и МПА индуцируют соответственный фон оксидативного повреждения крови при АИД. Введение ДСИП животным оказывает определенное адаптогенное, антистрессорное действие, особенно при его профилактическом введении (ОГ-2), которое выражается как в нормализации уровня глюкозы 45,7±3,5% против 190,8±14,2% в ОГ-1, так и в приближении к контрольным показателям уровня и активности МПА и МАА.

Влияние БПП-1 на содержание металлопротеинов и малонового диальдегида в тканях крыс при инсулин-индуцированной гипогликемии

Изучено влияние БПП-1 на содержание МАА и МПА крови, а также МДА в крови и других тканях белых крыс при инсулин-индуцированной гипогликемии (ИИГ) по сравнению с контрольными показателями на фоне снижения суммарного уровня МПА (цитохромы b_5, b_{558}III, b_{558}IV и супрол), за исключением сывороточных цитохромов b_{558}I и b_{558}II (табл. 5),

Таблица 5

Изменения уровней МАА, МПА и МДА (%) в тканях крыс на фоне инсулиновой гипогликемии и под воздействием БПП-1 по сравнению с 100% контрольными показателями **(P<0,05, n=8)**

Металлопротеины	ОГ-1	ОГ-2
Показатели крови		
Цит b_5,	-43.2 ± 3.9.	-43.5 ± 3.3
Цит b_{558}I, b_{558}II,	+133.4±11.3 P<0.02	+90.9 ± 8.3
Цит b_{558}III, b_{558}IV,	+5.5±1.6	-15.3 ± 1.5
Супрол	-55.6±4.6 P<0.04	-40.2 ± 3.6
$O_2^{\cdot-}$-продуцирующая активность супрола	-15.0±1.1	-14.1 ± 2.3
Церулоплазмин	-37.5 ± 3.2	-38.0 ± 4.0
Трансферрин	+20.0 ± 2.8	нет изменений
Cu,Zn-СОД	+30.1 ± 2.9	-34.4 ± 3.3
Каталаза	-27.1±8.1 P<0.04	-58.9 ± 5.1
Показатели печени		
Cu,Zn-СОД	+8.3±0.4	+13.6 ± 1.2
Каталаза	-3.6 ± 0.2	-56.6 ± 4.4
Цит С	-41.2 ± 3.0	нет изменений
МДА	-44.5 ± 2.8	-69.5 ±7.3 P<0.03
Показатели сердца		
Cu,Zn-СОД	+31.6±3.1	+73.5 ±8.1 P<0.02
Каталаза	нет изменений	нет изменений
Цит С	-12.3 ± 0.5	-16.1 ± 1.8
МДА	-73.1 ± 6.7 P<0.02	-84.6 ± 6.1
Показатели мозга		
Cu,Zn-СОД	-9.7 ± 0.2	-3.8 ± 0.3
Каталаза	+149.4±16.1 P<0.02	нет изменений
Цит С	+22.0 ± 1.4	-50.0 ± 7.7
МДА	+5.2 ± 0.2	+11.6 ± 1.2

© National Library of Armenia

наблюдается определенное повышение уровня ТФ, Cu,Zn-СОД и снижение уровня ЦП и каталазы в крови крыс при ИИГ (ОГ-1). В других тканях направленность изменений МАА и МПА, а также МДА в большинстве сохраняется под воздействием БПП-1 (ОГ-2). В отдельных случаях, регулируя уровень МПА и МАА и МДА, БПП-1 проявляет антистрессорную роль при ИИГ (ОГ-2).

Получение из белкового железа огородной улитки Helix фракции с антиоксидантной активностью и ее воздействие на эндогенный уровень металлопротеинов крови крыс при АИД

Из белковой железы огородной улитки Helix получена белковая антиоксидантная фракция (ФАА) (300 мл, с 3300 ед/г СОД-активнотью и 25 ег/г каталазной активностью). Эта фракция была использована как эффективное средство при "смягчении" отрицательных эффектов АИД в сравнительно продолжительных сроках (до 2 мес.) Животные были подразделены на опытные группы: ОГ-1 с 15-дневным АИД. АИД с трехкратным введением ФАА (по 1мл) через каждые 3 дня (ОГ-2) и АИД с семикратным введением ФАА (ОГ-3). После 12-дневного прерывания подачи ФАА животным ОГ-2 возобновили подачу ФАА еще 4 раза /ОГ-4/. Как показано в табл. 6, в приведенном режиме ФАА оказывает антистрессорный эффект при АИД, регулируя уровни МАА и МПА в длительные сроки АИД

Таблица 6

Относительные изменения (%) эндогенного уровня и активности МАА и МПА в ОГ 1-4 по сравнению с 100%-ными контрольными показателями **(P<0,05, n=8)**

МП, активность	ОГ-1*	ОГ-2*	ОГ-3**	ОГ-4***
Цит b_5	+37.1±3.6	-14.3±2.2	+41.2±4.0	+21.3±2.3
Цит b_{558}I,II	-23.4±1.9 P<0,03	-77.0±4.3 P<0,03	-43.3±2.8 P<0,03	-10.2±0.8 P<0,03
Цит b_{558}III,	-36.5±3.1	-42.3±3.4	-16.3±1.4	+7.3±0.5
Цит b_{558}IV,	-40.0±3.9	-28.7±2.4	-15.0±1.2	+10.2±1.1
$O_2^{\cdot}$-продуц. активн. цит b_{558}III,	+28.1±2.2 P<0,01	+35.2±2.9 P<0,01	+18.1±3.0 P<0,01	+14.0±2.1 P<0,01
МетHb-восстанавливающая активность цит b_{558}III	+23.5±1.3	+26.1±2.1	+29.3±4.0	+32.2±4.4
Супрол	+9.5±2.0	-15.8±1.7	-5.5±0.4	+2.3±0.2
$O_2^{\cdot}$-продуцирующая активность супрола	+60.2±4.9 P<0,03	-80.0±5.1 P<0,03	+171.0±21.4 P<0,03	+12.3±1.1 P<0,03
ЦП	-44.5±4.2	-41.3±3.5	-33.4±2.1	-10.1±1.2
ТФ	+4.7±0.2	-56.0±3.1	-28.6±3.5	+8.4±1.0
Cu,Zn-СОД	+10.0±0.3	-12.3±1.6	-16.6±2.2	+4.5±0.8
каталаза	-45.7±2.4	-2.9±0.3	-19.8±2.0	+12.2±1.5

Влияние соединения ВАС-167 на уровень эндогенных металлопротеинов крови крыс при аллоксановом диабете

Соединение ВАС-167 (производное 4-бутанолида) обладает около 3% СОД-миметической активностью и оказывает высокое противодействие перекиси водорода. Эти свойства дают основание для использования ВАС-167 в качестве регулятора метаболизма АФК при АИД. Белые половозрелые крысы были подразделены на следующие группы (по 16 крыс в каждой): интактные (К), 15-дневные АИД (опытная группа 1, ОГ-1), АИД с трехкратным введением ВАС-167 (1мл, 5мк/кг) через каждые 3 дня (ОГ-2). При 15-дневном АИД МАА и МПА крови претерпевают не только характерные количественные, но и качественные изменения (табл. 7).

Таблица 7

Относительное изменение (%) уровня и активности МАА и МПА в ОГ-1 и ОГ-2 по сравнению с 100%-ными контрольными показателями **(P<0,05, n=8)**

МП и активность	ОГ-1	ОГ-2
Цит b_5	+37.1±3.6	+13.9±2.1
Сумма цит b_{558}I + b_{558}II	-23.4±1.9	-15.3±1.3
Цит b_{558}III	-35.6±3.1	-21.5±2.0
Цит b_{558}IV	-40.0±3.9 P<0,03	+4.1±0.8 P<0,03
$O_2^{\cdot}$ – продуцирующая активность цит b_{558}III	+28.1±2.2	+20.3±2.2
МетHb-восстанавливающая активность цит b_{558}III	+23.5±1.8	+12.3±1.1
Супрол	+19.5±2.0	+21.3±3.1
$O_2^{\cdot}$-продуцирующая активность супрола	+60.2±4.9 P<0,03	+10.1±0.5 P<0,03
ЦП	-44.5±4.2	-13.1±1.9
ТФ	+4.7±0.2	+11.2±0.4
Cu, Zn-СОД	+10.4±0.3	+18.4±2.3
Каталаза	-45.7±2.4 P<0,01	-38.4±4.1 P<0,01

Наблюдается повышение эндогенного уровня цит b_5 (ОГ-1) в цитозоле эритроцитов, что может быть результатом потери животными подвижности (гипокинезия). Снижение уровня изоформ сывороточных цит b_{558}I и цит b_{558}II при АИД также связано с увеличением уровня перекиси водорода в крови (перекись водорода необратимо деградирует цит b_{558}I-IV). Снижение уровня цит b_{558}III ЭМ компенсируется некоторым повышением НАДРН-зависимой супероксидпродуцирующей и метHb-

© National Library of Armenia

восстанавливающей активностей этого гемопротеина. При АИД существенно снижается стабильность супрола. Снижается и уровень ЦП (белка острой фазы). Наблюдается изменение суммарного уровня МАА и МПА (антиоксидантный и прооксидантный статусы – АС и ПС) (табл.8).

В ОГ-2 под воздействием внутрибрюшинно введенного соединения ВАС-167 в большинстве случаев наблюдается приближение к контрольным показателям уровня и активности МАА и МПА. Однако под воздействием ВАС-167 наблюдается существенное снижение уровня каталазы, что препятствует полному регулированию эндогенных уровней МП крови.

Таблица 8

Относительное изменение (%) АС и ПС сыворотки крови и эритроцитов в ОГ-1 и ОГ-2 по сравнению с 100%-ными контрольными показателями **(P<0.05, n=8)**

Компоненты крови	ОГ-1		ОГ-2	
	АС	ПС	АС	ПС
Сыворотка	-39.8±2.7	+79.7±5.1	-1.9±0.2	+31.4±2.3
Эритроциты	-25.7± 2.4	-33.8±2.7	-20.0±1.4	-4.5±0.6

Таким образом, ВАС-167 играет антистрессорную роль при АИД, однако необходимо совместно с ВАС-167 использовать препараты с каталазамиметической активностью, для возможного повышения эффективности ВАС-167.

Выводы

1. Антидиабетический эффект полученной биотехнологическим методом высокоактивной антиоксидантной фракции из белкового железа огородных улиток Helix проявляется в продленных сроках (до двух месяцев) АИД.

2. Механизмы воздействия аллоксана in vitro и in vivo несколько отличаются и связаны с характерным изменением уровня и активности ключевых МАА и МПА.

3. Механизмы воздействия аллоксана (гипергликемия) обусловлены своеобразным изменением анти- и прооксидантного статуса крови и других тканей с характерным фоном оксидативного повреждения.

4. Положительное воздействие инсулина связано со стимулированием иммунной системы путем повышения HADPH-зависимой O_2^--продуцирующей активности цит b_{558}, а также улучшением кислородного гомеостаза путем повышения метHb-восстанавливающей активности цит b_{558}III.

5. Регулирующий эффект БПП-1 при инсулин-индуцированной гипогликемии связан с повышением уровня и активности некоторых ключевых МАА и МПА (цит b_{558} сыворотки, ТФ, СОД и каталазы).

6. Антидиабетический эффект соединения ВАС-167 обусловлен его СОД-миметической активностью на фоне определенного снижения стрессорного состояния организма животных.

7. Положительное воздействие ДСИП при АИД обусловлено стимуляцией адаптационных систем организма, направленных на улучшение анти- и прооксидантного статуса крови.

8. Полученные данные дают научную основу для предклинического испытания приведенных защитных систем (ФАА, ВАС-167, ДСИП) и при диабете типа 1 и 2 и могут быть использованы как чувствительные биомаркеры оценки эффективности терапии и диагностики этого заболевания.

© National Library of Armenia

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Варданян А.Р., Геворкян Д.М., Агаджанов М.И., Симонян М.А. Антиоксидантные и прооксидантные металлопротеины крови крыс при аллоксановом диабете. // Мед.наука Армении, 1999. Т.XXXIX. №2. С.38-42.
2. Варданян А.Р., Геворкян Д.М., Агаджанов М.И., Симонян М.А. Регулирование дельтасон-индуцирующим пептидом эндогенных уровней металлопротеинов и глюкозы в крови крыс при аллоксановом диабете. // Мед.наука Армении, 2000. Т.XL. №2. С.20-22.
3. Варданян А.Р., Симонян Р.М., Геворкян Д.М., Симонян М.А. Сдвиги эндогенных уровней металлопротеинов - регуляторов метаболизма активных форм кислорода в крови больных при инсулинзависимом диабете (диабет типа 1). // Мед. наука Армении, 2002. Т.XLII. №3. С.7-9.
4. Варданян А.Р. Влияние аллоксана на физико-химические свойства металлопротеинов крови in vitro. – Докл. НАН РА, 2003. Т.103. №1. С.62-67.
5. Варданян А.Р., Симонян Р.М., Бабаян М.А., Геворкян Д.М., Симонян М.А. Влияние галармина (БПП-1) на содержание металлопротеинов и малонового диальдегида в тканях крыс при инсулин-индуцированной гипогликемии. //Ж. Нейрохимия, 2004. Т.21. №4. С.298-292.
6. Варданян А.Р., Симонян Г.М., Симонян Р.М., Симонян М.А. Влияние инсулина на супероксид-продуцирующую активность супрола, цитохрома b_{558}III и его меттемоглобин-восстанавливающую активность in vitro. // Вестник МАНЕБ Санкт-Петербург, 2005. Т.10. №6. С.230-232.
7. Варданян А.Р., Симонян Р.М., Бабаян М.А., Аракелян Л.Н., Симонян М.А. Влияние аллоксана и D-глюкозы на супероксид-продуцирующую и меттемоглобин-восстанавливающую активности цитохрома b_{558}III in vitro. //Ж. Вопросы теоретической и клинической медицины, 2006. Т. 9. №1. С.37-39 .
8. Варданян А.Р., Симонян Г.М., Карагезян К.Г., Симонян М.А. Получение из белкового железа огородной улитки Helix фракции с антиоксидантной активностью и ее воздействие на эндогенный уровень металлопротеинов крови крыс при аллоксановом диабете. - Докл. НАН РА, 2006. Т.106. №3. С.273-279.
9. Варданян А.Р., Арутюнян В.С., Аветисян А.А., Симонян М.А. Влияние соединения ВАС-167 на уровень эндогенных металлопротеинов крови крыс при аллоксановом диабете. - Докл. НАН РА, 2006. Т.106. №2. С.177-182.

Список сокращений

АИД – аллоксан-индуцированный диабет
АС – антиоксидантный статус
АФК – активные формы кислорода
БПП – богатый пролином полипептид
ДСИП – дельтасон-индуцирующий пептид
ИЗД – инсулин-зависимый диабет
ИИГ – инсулин-индуцированная гипогликемия
КБС – кумасси бриллиантовый синий
МАА – металлопротеины антиоксидантной активности
МДА – малоновый диальдегид
МПА – металлопротеины прооксидантной активности
метHb – меттемоглобин (Fe^{+3}-Hb)
НТС – нитротетразолиевый синий
ОГ – опытная группа
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПС – прооксидантный статус
СОД – супероксиддисмутаза
Супрол – супероксид-продуцирующий липопротеин
ТФ – трансферрин
ФАА – фракция с антиоксидантной активностью
Ферри Hb – ферригемоглобин (Fe^{+3}-Hb)
Ферро Hb – феррогемоглобин (Fe^{+2}-Hb)
ЦП – церулоплазмин
ЭМ – эритроцитарные мембраны
ЭПР – электронный парамагнитный резонанс

© National Library of Armenia

Կաթնասունների արյան և այլ հյուսվածքների օքսիդատիվ վնասման մեխանիզմները և պաշտպանիչ գործոնները հիպո- և հիպերգլիկեմիայի ժամանակ

Ամփոփում

Համալիր կերպով որոշվել են սպիտակ առնետների արյան և այլ հյուսվածքներում, ինչպես նաև մարդու արյան հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների (ՀԱՄ) և պրոօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների (ՊԱՄ) քանակական և որակական տեղաշարժերը ինսուլինով հարուցված հիպոգլիկեմիայի և ալոքսանով հարուցված հիպերգլիկեմիայի (ալոքսանային շաքարախտ և տիպ 1 շաքարախտ) ժամանակ, ինչպես նաև ինսուլինի, ալոքսանի և D-գլյուկոզայի անմիջական ազդեցության մոլեկուլային- կենսաքիմիական մեխանիզմները ՀԱՄ-երի և ՊԱՄ-երի վրա in vitro:

Ալոքսանի ազդեցության մեխանիզմները in vivo (շաքարախտ) և in vitro հիմնականում նման են և համադրվում են ՀԱՄ-երի և ՊԱՄ-երի մակարդակների և ակտիվությունների բնութագրական փոփոխման հետ, հարուցելով արյան հակաօքսիդանտային և պրոօքսիդանտային կարգավիճակների փոփոխում և համապատասխան օքսիդատիվ վնասում:

Ինսուլինը in vitro խթանում է ցիտոքրոմ b_{558}III –ի ՆԱԴՊՀ-կախյալ O_2^--ի գոյացման և մետհեմոգլոբինի (մետHb)-վերականգնման ակտիվությունները, ինչը հիմք է տալիս ենթադրելու օրգանիզմի իմունային համակարգի և թքվածնային հոմեոստազի կարգավորման գործընթացում այդ հորմոնի հնարավոր մասնակցության մասին: D-գլյուկոզան էական ազդեցություն չի թողնում ՀԱՄ-երի և ՊԱՄ-երի վրա in vitro:

Ինսուլինով հարուցված հիպոգլիկեմիայի ժամանակ առկա հակա- և պրոօքսիդանտային կարգավիճակների որոշակի դրական տեղաշարժեր են տեղի ունենում ՊԴՊ-1-ի ազդեցության ներքո, իսկ ալոքսանով հարուցված շաքարախտի ժամանակ հակասթրեսային դեր են ցուցաբերում դելտա-քուն հարուցող պեպտիդը, ՎԱՍ-167-ը (բութանոլիդի ածանցյալ), ինչպես նաև բարձր հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված ֆրակցիան, ստացված պարտեզային Helix խխունջների սպիտակուցային գեղձից՝ երկամսյա շաքարախտի ժամանակ:

Ստացված տվյալները հանդիսանում են ակտիվ թքվածնի նյութափոխանակության խախտման նոր մոլեկուլային-կենսաքիմիական մեխանիզմներ և ախտորոշիչ չափանիշներ հիպո- և հիպերգլիկեմիայի դեպքում:

5.05.2014

© National Library of Armenia

© National Library of Armenia