

Биология

УДК 544.77+544.723.2

ИЗУЧЕНИЕ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ СЫВОРОТКИ КРОВИ
БОЛЬНЫХ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Յ. Ա. ՅԱԿԱՐՅԱՆ*

Кафедра биофизики ЕГУ, Армения

Изучена интенсивность хемилюминесценции сыворотки крови больных периодической болезнью (ПБ) с помощью различных методов хемилюминесцентного анализа – спонтанной и индуцированной фото- или электрохемилюминесценции (СХЛ, ФХЛ и ЭХЛ).

Показано, что параллельно с повышением температуры опытных образцов растет интенсивность СХЛ. Однако кинетика интенсивности ФХЛ и ЭХЛ имеет характер экспоненциального уменьшения. Интенсивность хемилюминесценции сыворотки крови больных ПБ значительно выше по сравнению с уровнем хемилюминесценции здоровых людей (доноров) и эта разница заметно увеличивается во время приступа.

Ключевые слова: хемилюминесценция, фотохемилюминесценция, электрохемилюминесценция, антиоксидант, фотоэлектронный множитель, свободные радикалы, сыворотка крови.

Для исследования проблемы значимости свободнорадикальных окислительных процессов многими авторами проводились медико-биологические исследования с использованием разных биологических сред и при наличии различных патологических процессов [1–3]. Предположения о возможной роли свободных радикалов и антиоксидантов при возникновении и развитии ряда заболеваний является следствием гипотезы о том, что действие различных физико-химических агентов связано с образованием в организме свободных радикалов, взаимодействие которых с важнейшими компонентами клетки может индуцировать патологические процессы [4–6].

На данном этапе для решения этих вопросов большое распространение в научно-исследовательских лабораториях и клинической практике получил метод хемилюминесценции (ХЛ) как для изучения патологических процессов, так и для создания биофизических прогностических и диагностических дополнительных тестов [4, 6–8]. Установлена зависимость интенсивности ХЛ сыворотки и (или) плазмы крови от хирургических вмешательств и наличия таких заболеваний как атеросклероз, злокачественные процессы, язвенные и воспалительные болезни различной природы. Выявлена целесообразность

* E-mail: zaquare@mail.ru

использования показателей ХЛ и при контроле за эффективностью стационарного лечения больных. Однозначно показано, что ХЛ биологических объектов обусловлена свободнорадикальным (СР) перекисным окислением липидов и липидсодержащих структур [5, 9, 10]. Задачей настоящего исследования было изучение ХЛ крови больных периодической болезнью (ПБ).

Материал и метод исследования. Материалом для исследования служили образцы донорской крови (контроль) и крови больных различного возраста и на разных стадиях заболевания. Сыворотку крови получали общепринятым путем и использовали в свежем состоянии. Для выполнения данной работы исследовали 29 донорских и 27 экспериментальных образцов крови.

Регистрацию ХЛ проводили на собранной нами квантометрической установке с применением новых, разработанных нами электронных узлов и усилительных схем [11]. В качестве детектора слабых световых потоков применяли высокочувствительный малозумный фотоэлектронный умножитель (ФЭУ-140), работающий в режиме постоянного охлаждения водопроводной водой для снижения уровня тепловых шумов фотокатода ФЭУ. Поддержание заданной температуры исследуемых образцов в измерительной ячейке с точностью $\pm 3^{\circ}\text{C}$ осуществляли системой с автоматическим электронным управлением. Для изучения спонтанной ХЛ (СХЛ) образцы сыворотки крови (по 2,5 мл) помещали в оптическую кювету перед фотокатодом ФЭУ и термостатировали для получения необходимого режима температуры.

Для изучения фотохемилюминесценции (ФХЛ) образцы сыворотки с открытой поверхностью облучали широким спектром УФ-света лампой ПРК-4 в течение 1 мин на расстоянии 5 см от центра источника. Облученные образцы перемещали в измерительную ячейку полуавтоматическим способом с дальнейшей регистрацией ФХЛ. За это время температура исследуемого образца снижалась до 39°C . Электрохемилюминесценцию (ЭХЛ) сыворотки крови исследовали с применением платиновых электродов в 0,1 М растворе КСl при постоянном напряжении в 10 В и силе тока 10 А. После установления стационарного уровня ЭХЛ в ячейку добавляли 0,2 мл исследуемого образца сыворотки, разбавленной раствором КСl (1 : 50).

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных опытов по изучению температурной зависимости СХЛ сыворотки крови больных ПБ показали, что интенсивность СХЛ усиливается с возрастанием температуры со средним значением коэффициента Вант-Гоффа 1,6, что указывает на неферментативную природу СХЛ (рис. 1).

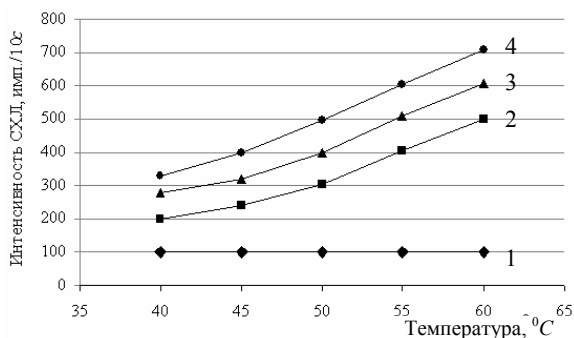


Рис. 1. Зависимость интенсивности СХЛ сыворотки крови от температуры:

- 1 – фон установки;
- 2 – контроль;
- 3 – больные ПБ вне приступа;
- 4 – больные ПБ в приступе.

Из рис. 1 видно, что уровень СХЛ сыворотки крови больных ПБ вне приступа значительно ниже (кр. 3), чем больных, находящихся в приступе (кр. 4), но выше контрольных образцов (кр. 2).

Аналогичные выводы можно сделать по данным, полученным нами при изучении ФХЛ сыворотки крови (рис. 2, а).

Основным результатом этих экспериментов можно считать то, что и в этом случае уровень ФХЛ сыворотки крови больных ПБ выше (кр. 3, 4) контроля (кр. 2) и заметно выше у больных в период приступа (кр. 4). Однако во всех случаях кинетические кривые почти идентичны и имеют экспоненциальный характер, что указывает на наличие единой природы исследуемого процесса перекисного окисления липидов и липопротеинов сыворотки, поскольку, возможно, белки липопротеинов в процессах ФХЛ играют роль эмиттеров свечения.

Сыворотка крови контрольных и экспериментальных образцов исследовалась также методом индуцированной ЭХЛ (рис. 2, б). В этом случае также интенсивность свечения сыворотки заметно выше в момент приступа по сравнению с ЭХЛ вне приступа и контроля.

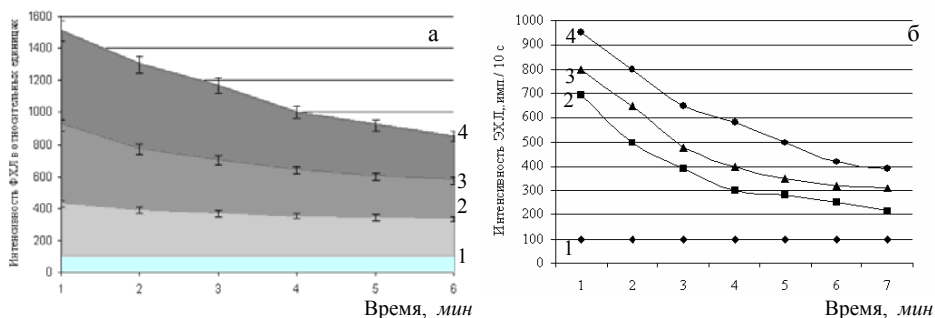


Рис. 2. Кинетические кривые: а) ФХЛ сыворотки крови; б) ЭХЛ сыворотки крови. 1 – фон установки; 2 – контроль; 3 – больные ПБ вне приступа; 4 – в приступе. Значения стандартной ошибки приведенных данных на рисунках а и б одинаковые.

На основании этих данных можно предположить, что уровень биоантиоксидантов в сыворотке крови больных ПБ заметно снижен и еще больше снижается в период приступа болезни. Анализируя полученные данные можно заключить: все исследуемые критерии (СХЛ, ФХЛ и ЭХЛ) являются отражением процессов в организме больного, протекающих при развитии приступа ПБ по СР механизму.

Поступила 22.03.2012

ЛИТЕРАТУРА

1. Ланкин В.З. Свободнорадикальное окисление биомембран и липопротеинов при атеросклерозе: причины и следствия. 2 Съезд Биохим. общ-ва РАН. М., 1997, с. 76–77.
2. Тунян М.Ю., Лалаян Б.К., Закарян З.А., Лалаян К.Б., Закарян А.Е. // Глобус науки, 2007, с. 39–44.
3. Узункичян А.А., Мириджанян М.М., Асатрян А.Р., Закарян А.Е., Погосян Г.А., Закарян З.А. // Медицинский вестник Эребуни, 2009, № 4 (40), с. 43–46.
4. Серкиз Я.И., Чеботарев Е.Е., Барабой В.А. и др. Хемиллюминесценция крови в экспериментальной и клинической онкологии. Киев: Наукова думка, 1984.

5. **Костюк В.А.** Свободнорадикальные процессы в клетке: особенности повреждающего действия и механизмы защиты. 8 Съезд Белорусского физиолог. общ-ва им. И.П. Павлова. Минск, 1991, с. 60.
6. **Kuzmenko A.I., Morozova R.P., Nikolenko I.A., Donchenko G.V.** Monitoring of the Freeradical Oxidation Injury by the Chemiluminescence. Jablonski Centennial Cont. Luminescence and Photophys. Book of Abstr., Torun, 1998, p. 172.
7. **Арутюнян В.М., Григорян Е.Г., Акопян Г.С., Закарян А.Е.** и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гинекологии, колопроктологии, 1996, т. 6, с. 196.
8. **Закарян А.Е., Назаретян А.Е., Акопян Г.С.** // Экспериментальная и клиническая медицина, 1993, № 1–2, с. 66–69.
9. **Закарян А.Е., Погосян Г.А.** и др. // Мед. наука Армении, 2002, т. 42, № 4, с. 55–58.
10. **Закарян А.Е., Элбакян В.Л., Айвазян Н.М., Погосян Г.А., Закарян Н.А., Сеферян Т.Е., Трчунян А.А.** Основы метода хемилюминесцентного анализа и программное обеспечение LabVIEW для автом. регистрации и матем. обработки данных. Международная научно-практ. конф. “Образовательные, научные и инж. приложения в среде LabVIEW и технологии National Instruments”, 17–18 ноября 2006 г. М., с. 429–432.
11. **Погосян Г.А., Тунян М.Ю., Лалаян Б.К., Лалаян К.В., Закарян А.Е.** // Стоматология, 2008, т. 87, № 6, с. 72–75.

Չ. Ա. ՉԱԲԱՐՅԱՆ

ՊԵՐԵՆՈՂԻԿ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ՇԻՃՈՒԿԻ ՔԻՄԼՅՈՒՄԻՆԵՍՅԵՆՏՄԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ամփոփում

Ուսումնասիրվել է պերիոդիկ հիվանդների արյան շիճուկի քիմիումինեսցենտումը վերլուծության տարբեր մեթոդներով՝ սպոնտան, ֆոտո- և էլեկտրաինդուցման եղանակներով:

Փորձերում ցույց է տրված, որ փորձնական նմուշի ջերմաստիճանի բարձրացմանը զուգընթաց աճում է սպոնտան քիմիումինեսցենտման ինտենսիվությունը: Իսկ ֆոտո- և էլեկտրաքիմիումինեսցենտման կինետիկան բոլոր փորձարարական նմուշների դեպքում ունի էքսպոնենցիալ նվազման բնույթ: Պերիոդիկ հիվանդների արյան շիճուկի քիմիումինեսցենտման ինտենսիվությունը նկատելիորեն բարձր է առողջ մարդկանց արյան շիճուկի լուսարձակման համեմատ և այդ տարբերությունն առավել մեծանում է հիվանդի նուպայի ժամանակ:

Z. A. ZAQARYAN

STUDY OF BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH MEDITERRANEAN FEVER BY CHEMILUMINESCENCE

Summary

Blood serum of people with Mediterranean Fever was investigated by the methods of spontaneous and enhanced chemiluminescent analysis (photo- and electroinduced chemiluminescence (ChL)). Data have shown that the intensity of spontaneous ChL in the probes goes up by increasing the temperature, while the kinetics of free radical processes in course of photo and electro enhanced ChL, on the contrary, decreases exponentially. The intensity of blood serum ChL of people with Mediterranean Fever is remarkably higher comparing with the blood serum ChL level of control group and it is increasing even more during the crisis.