

ДОСЛІДЖЕННЯ НЕОДНОРІДНОСТІ ГЕМОГЛОБІНУ ОПРОМІНЕНИХ ТВАРИН

М. Ф. Стародуб

Відділ радіобіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Ще в 1897 р. Х. Бор [7] допускав наявність у крові тварин кількох гемоглобінів з різним рівнем кисневої місткості. Незважаючи на це до недавнього часу гемоглобін вважали специфічним і гомогенним для даного індивідуума білком. Тільки в останні роки [2, 11] доведено, що гемоглобін більшості представників тваринного світу є неоднорідним.

Встановлення гетерогенної природи гемоглобіну стало можливим завдяки використанню комплексу методів, що характеризують їх фізико-хімічні властивості. Проте, питання про гетерогенність гемоглобіну щурів (однієї з найпоширеніших лабораторних тварин), незважаючи на велику актуальність, остаточно не з'ясоване. Наявні літературні дані значною мірою суперечливі. Деякі автори вказують, що щурячий гемоглобін являє собою однорідний білок [9, 12], інші вважають його гетерогенним [3, 4, 8, 10].

Завданням нашої роботи було дослідження гетерогенної природи гемоглобіну щурів та її зміни під впливом швидких нейтронів і рентгенівського проміння.

Вивчення цих закономірностей, на нашу думку, допоможе пролити світло на механізм ураження гемоглобіну при опроміненні.

Методика досліджень

Білих щурів-самців опромінювали рентгенівськими променями та швидкими нейтронами у біологічно еквівалентних абсолютно летальних дозах ($LD = 100$), що дає можливість порівняти вплив обох видів випромінювання на молекулу гемоглобіну.

Опромінення проводили рентгенівськими променями на апараті РУМ-11 (напруга 180 кВ, сила струму 15 мА, фільтри 0,5 Cu + 1,0 Al, потужність дози 33 р/хв); швидкими нейтронами — в горизонтальному каналі атомного реактора типу ВВР-М (при потужності реактора 9–10 мВт, гамма-фоні 10–15%).

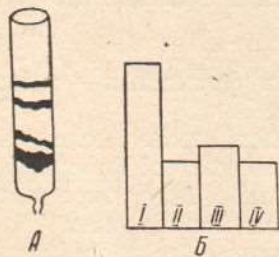
Кристалічні препарати гемоглобіну одержували звичайним методом. Фракціонування здійснювали з допомогою колоночної хроматографії з окисом алюмінію [1] на першу, восьму та 12-у доби в динаміці променевої хвороби.

Концентрацію гемоглобіну визначали фотометрично у смузі Соре (416 мкм), а також спектрофотометрично (попередньо окисленого препарату) при довжині хвилі 630 мкм.

Результати досліджень та їх обговорення

Дані, одержані за наведеною методикою, свідчать про гетерогенність гемоглобіну неопромінених щурів. Гемоглобін щурів в наших умовах розділяється на чотири окремі фракції, різні у кількісному відношенні. Перша фракція найбільша і становить 44%, друга фракція — 17%, а третя і четверта складають відповідно 21,9 та 17% (див. рисунок і табл. 1).

Опромінення тварин рентгеном та швид-



Зовнішнє зображення розміщення фракцій гемоглобіну в динаміці дослідів (А) і схематичне уявлення про кількісне співвідношення фракцій гемоглобіну (Б) неопромінених щурів.

кими нейтронами в біологічно еквівалентних дозах викликає кількісний перерозподіл білка між фракціями гемоглобіну.

Так, в динаміці променевої хвороби, викликаной рентгенівським випроміненням, відбувається зменшення першої фракції, яке досягає максимального значення на 12-у добу. У цей час вона становить лише 4,2% (при 44% в нормі). Друга та третя фракції на протилежність першій збільшуються (табл. 1). Якщо до восьмої доби спостерігається помітний кількісний приріст другої фракції і незначне збільшення третьої, то в більш пізні строки загибелі тварин картина змінюється. Різке зростання на 12-у добу третьої фракції вказує на порушення фракційного співвідношення білка не тільки між I та II фракціями, але й між ними та наступними. Зміни четвертої фракції мало виражені.

Таблиця 1
Гетерогенність гемоглобіну щурів, опромінених рентгенівськими променями
(у процентному співвідношенні фракцій)

№ фракцій	До опромінення	Доба після опромінення		
		I	8	12
I	44,0±1,87	31,3±2,84	20,9±1,65	4,19±1,96
II	17,1±1,59	25,8±1,59	35,4±4,70	37,2±3,35
III	21,9±1,35	26,1±1,90	27,7±2,44	44,4±1,07
IV	17,1±1,66	17,8±1,31	15,6±2,21	14,1±1,90

Нейтронне опромінення викликає зрушення фракційного складу гемоглобіну, подібні за характером до тих, які ми спостерігаємо при рентгенівському опроміненні. Проте ступінь та глибина ураження різні (табл. 2). I фракція на 12-у добу настільки зменшується, що при даних умовах проведення досліду відокремити її від наступних практично неможливо. Більш глибокі зміни під впливом швидких нейтронів помітні в II та IV фракціях. У III фракції, в порівнянні з рентгенівським промінням, статистично вірогідних відхилень не відзначено.

Таблиця 2
Гетерогенність гемоглобіну щурів, опромінених швидкими нейтронами
(у процентному співвідношенні фракцій)

№ фракцій	До опромінення	Доба після опромінення		
		1	8	12
I	44,0±1,87	26,5±2,66	18,9±4,54	0,00
II	17,1±1,59	30,4±2,57	43,3±4,00	48,3±3,06
III	21,9±1,35	24,7±2,90	23,7±2,81	41,6±3,21
IV	17,1±1,66	18,6±3,06	13,8±3,08	10,1±0,65

Отже, фракціонування гемоглобіну в період променевої хвороби вказує, що при дії радіації найбільше уражується I фракція, що дає можливість вважати її найбільш радіочутливою.

У початковий період променевого ураження вміст білка перерозподіляється головним чином між першими двома фракціями — зміни першої та одночасне збільшення другої.

Розвиток променевої хвороби зумовлює дальші зміни молекули гемоглобіну, що проявляється в різкому збільшенні третьої фракції.

Такий кількісний перерозподіл гемоглобіну між його окремими компонентами, на нашу думку, слід пояснити променево-хімічним ураженням структури глобіну. Тим більше, що, як відомо, гетерогенність гемоглобіну зумовлена своєрідністю будови його білкової частини, а за даними Сухомлинова та ін. [5, 6], дія іонізуючого випромінення викликає ушкодження первинної структури глобіну.

Порушення структури в свою чергу є причиною появи змінених характерних фізико-хімічних властивостей гемоглобіну, беручи до уваги також заряд молекули та її величину. Оскільки заряд та величина молекули є визначальними при розподілі гемоглобіну в наших умовах, то зрушення фракційного складу гемоглобіну при опроміненні, можливо, й викликані зміною цих властивостей.

Різна глибина ураження молекули гемоглобіну рентгенівськими променями та швидкими нейтронами, очевидно, зумовлена специфікою в їх дії на тваринний організм.

Висновки

1. Гемоглобін щурів розділяється за нашими даними на чотири фракції.
2. Опромінення викликає глибокі зрушення фракційного складу гемоглобіну.
3. Нейтронне випромінювання зумовлює більш глибокі порушення в порівнянні з рентгенівськими променями.

Література

1. Дворникова П. Д., Володина Т. Т.— Молекулярные основы жизненных процессов, «Наукова думка», 1966, 227.
2. Матвеева И. М., Оппель В. В.— Биохимия, 1962, 5, 836.
3. Пивторак П. П.— В сб.: Регуляция дыхания в норме и патол., Куйбышев, 1968, 23.
4. Сиротинин Н. Н., Антоненко В. Т.— В сб.: Регуляция дыхания в норме и патол., Куйбышев, 1968, 224.
5. Сухомлинов Б. Ф., Меренов В. В.— ДАН УРСР, 1962, 5, 624.
6. Сухомлинов Б. Ф., Пакош М. П., Корбач Я. П., Маковецкий М. И.— В сб.: Биофизика и радиобиология, «Наукова думка», 1966, 110.
7. Bohr C.— Ann. Phys., Chem., 1898, 62, 644.
8. Broden Z., Tobisku J.— Life Sci., 1964, 3, 22, 77.
9. Fine J., Uriel J., Taure J.— Bull. Soc. Chim. Biol., 1956, 38, 649.
10. Haurowitz F., Hardin R., Dicks M.— J. Phys., Chem., 1954, 58, 103.
11. Itano H.— Adv. Protein Chem., 1957, 12, 215.
12. Sydenstricker V., Oliver R., Chandler B., Sydenstricker O.— Proc. Soc. Exp. Biol., N. Y., 1956, 93, 396.

Надійшла до редакції
28.VIII 1968 р.