

ки после ингаляции животные выполняли лишь первую часть стереотипа, оставаясь при действии других раздражителей на центральном полке. Ответы, которые удавалось вызвать, отличались от фоновых увеличением всех параметров. Через 3 сут реакция животных фактически не изменилась и характер ее оставался прежним.

У животных другой группы, подвергавшихся длительному 4 мес воздействию дилора в концентрации $0,9 \text{ мг/м}^3$, наблюдалось изменение УРД по наркотическому типу (удлинялся скрытый период, снижалась величина, увеличивалась длительность рефлексорной реакции) с соблюдением силовых отношений. Влияние пестицида было максимальным на втором месяце ингаляции. После четырехмесячного воздействия УРД у крыс приближается к исходным данным, а у кошек нормализуется.

Проведенные исследования позволили установить, что дилор в изучаемых дозах вызывает достоверное изменение функционального состояния центральной и периферической нервной системы и нарушает передачу возбуждения через нервно-мышечный синапс. Повторное поступление препарата в организм животных, ранее перенесших интоксикацию, сопровождается резким расстройством УРД.

Л и т е р а т у р а

1. Зорьева Т. Д. Экспериментальные материалы к токсикологигиенической характеристике дилора. — В кн.: Гигиена применения, токсикология пестицидов и клиника отравлений. М., 1973, с. 244—247.
2. Манько Н. Н., Стефанский К. С., Алехина С. М. Дилор. Материалы по токсикологической и гигиенической оценке новых пестицидов. Тезисы докладов к пленуму Госкомиссии по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками. М., 1974, с. 37—39.

Всесоюзный институт гигиены и токсикологии пестицидов,
полимерных и пластических масс, Киев.

Поступила в редакцию
24.I 1978 г.

УДК 577.13:616.002

Н. А. Дружина, Е. Е. Чеботарев, Т. В. Ковтун

ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ИНДУЦИРОВАННУЮ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ ГЕМОГЛОБИНА

Хемилюминесцентные (ХЛ) методы нашли широкое применение в биологии и медицине. Это обусловлено их высокой чувствительностью, быстротой, большой информативностью и незначительными количествами исследуемых веществ. Благодаря ХЛ методам была установлена важная роль перекисного окисления липидов в норме и при разных патологиях и изучено влияние антиоксидантов на этот процесс [2].

Ранее нами было показано [3], что при смешивании раствора гемоглобина (Нв) с раствором перекиси водорода возникает хемилюминесценция, вероятно, обусловленная так называемыми «активными формами кислорода» — супероксидным анион-радикалом и синглетным кислородом.

Наличие в организме Нв, H_2O_2 , супероксиддисмутаза и других ингибиторов «активных форм кислорода» позволяет считать реакцию гемоглобина с перекисью водорода, сопровождающуюся хемилюминесценцией, моделью процессов, происходящих *in vivo*.

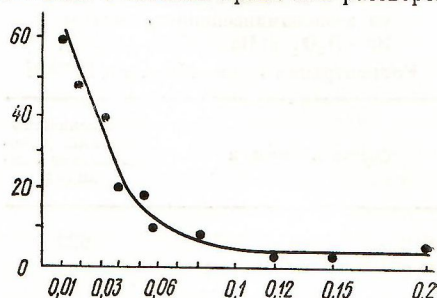
Мы исследовали влияние плазмы крови и ее некоторых компонентов на интенсивность и особенности свечения предложенных нами ХЛ систем: Нв—($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{KOH}$) и Нв— H_2O_2 .

Методика исследований

Опыты проведены на беспородных белых крысах. Для получения плазмы крови животных декапитировали, кровь центрифугировали для отделения форменных элементов. В качестве антикоагулянта использовали гепарин. α - и β -липопротеиды плазмы крови получали по методу Климова и Петровой-Маслаковой [4]. Для получения Нв 0,02 мл цельной крови без гепарина помещали в 5 мл физиологического раствора с последующим центрифугированием. После трехкратного отмывания физиологическим раствором эритроциты гемолизировали 5 мл дистиллированной воды. Раствор гемоглобина очищали от стром центрифугированием, после чего разбавляли его до нужной концентрации. Раствор Нв помещали в кювету установки для измерения сверхслабых свечений, где, в зависимости от опыта, его смешивали с плазмой крови или раствором

Влияние плазмы крови на индуцированную хемилюминесценцию гемоглобина.

Условия опыта: 0,2 мл Нв (10^{-6} М) + n мл плазмы крови + 5 мл ИС; по горизонтали: количество плазмы крови в ХЛ ячейке, мл; по вертикали: I — интенсивность свечения ХЛ системы, %.



липопротеидов (липопротеиды, выделенные из 1 мл плазмы крови, растворяли в 2 мл физиологического раствора). При открытой шторке в кювету вводили 0,9 М раствор перекиси водорода или инициирующую свечение смесь (ИС), содержащую в 1 л 20 ммоль КОН и 9 ммоль H_2O_2 . На самопишущем приборе фиксировали кинетику возникающей в результате этого ХЛ.

Результаты исследований и их обсуждение

Кривая свечения, возникающего при взаимодействии раствора гемоглобина с H_2O_2 , имеет вид острого пика. Поэтому о хемилюминесценции судили по максимальной интенсивности свечения. В табл. 1 представлены результаты влияния плазмы крови на ХЛ систем Нв— H_2O_2 и Нв—(H_2O_2 + КОН). Как в первой, так и во второй ХЛ системах плазма крови является сильным ингибитором хемилюминесценции, но чувствительность ХЛ системы Нв—(H_2O_2 + КОН) значительно выше. Это обусловлено большей интенсивностью свечения данной ХЛ ячейки и исключением из регистрируемой нами хемилюминесценции сверхслабых свечений, возникающих при взаимодействии перекиси водорода с плазмой крови.

Как видно из табл. 1, 0,2 мл плазмы крови — количество, достаточное для 100% ингибирования хемилюминесценции системы Нв—(H_2O_2 + КОН), при взаимодействии с ИС не хемилюминесцирует (в пределах чувствительности установки).

Однако такое же количество плазмы крови при смешивании с перекисью водорода, которой в ХЛ ячейке в 10 раз больше, чем при использовании ИС, приводит к возникновению квантов света, что искажает ингибирование плазмой ХЛ гемоглобина в присутствии H_2O_2 . В связи с этим ХЛ система Нв—(H_2O_2 + КОН) более приемлема для изучения ингибирующего действия плазмы, чем ХЛ ячейка Нв— H_2O_2 .

На рисунке приведена кривая изменения ингибирования свечения в зависимости от количества плазмы в ХЛ системе Нв—(H_2O_2 + КОН). Количество гемоглобина, перекиси водорода и гидрата окиси калия в ячейке в каждом опыте постоянны. Такая же форма кривой описывает ферментативные реакции, протекающие при постоянном содержании субстрата и изменении количества фермента.

Следует отметить, что количество плазмы крови в ячейке влияет не только на интенсивность хемилюминесценции, но и на форму хемилюминограмм. С увеличением количества плазмы крови кривая снижения ХЛ после быстрой вспышки имеет более

плавный наклон, что указывает на участие перекисного окисления липидов плазмы в генерировании квантов света.

Изменение интенсивности хемилюминесценции во времени можно объяснить следующим. Вероятно, супероксидный анион-радикал и синглетный кислород, возникая в результате взаимодействия Нв с H_2O_2 , обуславливают интенсивную вспышку. Затем синглетный кислород, реагируя с липидами плазмы крови, инициирует их перекисное окисление. Синглетный кислород, образующийся при дисмутации супероксидного анион-радикала в 1500 раз активнее взаимодействует с ненасыщенными жирными кислотами, чем кислород в основном состоянии [5].

Таблица 1

Влияние плазмы крови крыс (ПК)
на хемилюминесценцию систем
Нв— H_2O_2 и Нв—(H_2O_2 +КОН).
Концентрация гемоглобина $1 \times 10^{-6} M$

Состав ХЛ ячейки	Интенсивность свечения (отно- сительные еди- ницы)
0,2 мл Нв+5 мл ИС	622
0,2 мл ПК+5 мл ИС	0
0,2 мл Нв+0,2 мл ПК+ +5 мл ИС	2
0,2 мл Нв+0,5 мл 0,9 М H_2O_2	60
0,2 мл ПК+0,5 мл 0,9 М H_2O_2	11
0,2 мл Нв+0,2 мл ПК+ +0,5 мл 0,9 М H_2O_2	14

Таблица 2

Влияние липопротеидов (ЛП) плазмы
крови крыс на хемилюминесценцию
системы Нв—(H_2O_2 +КОН)

Состав ХЛ ячейки	Интенсивность свечения (отно- сительные еди- ницы)
0,2 мл Нв+5 мл ИС	622
0,2 мл Нв+0,2 мл α =ЛП+5 мл ИС	12
0,2 мл Нв+0,2 мл β =ЛП+5 мл ИС	1106

Таким образом, плазма крови проявляет ингибирующие свойства в хемилюминесцентной системе Нв—(H_2O_2 +КОН), что наряду с супероксиддисмутазой, находящейся в ней, может быть связано с липидами.

Известно, что липиды являются сложной системой, и их различные компоненты выполняют множество функций, в том числе и противоположные [1].

В связи с этим нами проведено исследование влияния липопротеидов плазмы на ХЛ системы Нв—(H_2O_2 +КОН). Как следует из табл. 2, β -липиды усиливают хемилюминесценцию, а α -липиды — тормозят. Однако в данном случае не исключено ингибирующее влияние примесей солей, применяющихся при отделении α -липидов.

Таким образом наши данные свидетельствуют о том, что плазма крови является сильным ингибитором хемилюминесценции активных форм кислорода, вероятно, возникающих при взаимодействии гемоглобина с перекисью водорода.

Литература

1. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте.—М.: Наука, 1975.—213 с.
2. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.—М.: Наука, 1972.—252 с.
3. Дружина М. О., Чеботарев С. Ю., Рябова Э. З., Серкіз Я. І. Хемилюмінесценція гемоглобіну індукована перекисом водню.—Укр. біохім. журнал.—1978, т. 50, № 5, с. 596—599.
4. Климов А. Н., Петрова-Маслакова Л. Г. Препаративное выделения α -липидов сыровотки крови методом преципитации.—Лабор. дело 1973, 12, с. 734—737.
5. Мерзляк М. Н., Соболев А. С. Роль супероксидных анион-радикалов и синглетного кислорода в патологии мембран.—В кн.: Биофизика. Итоги науки и техники. М., 1975, 5, 118—165.

Институт проблем онкологии
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
21.VI 1977 г.