(ознакомительный фрагмент)

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ БИОХИМИИ»

УДК 577.334; 539.12.04:577.3; 621.039.553.5

БЫШНЕВА Людмила Николаевна

АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ХРУСТАЛИКА В УСЛОВИЯХ УФ-ОБЛУЧЕНИЯ И ЕЕ МОДИФИКАЦИЯ МЕЛАНИНОМ И КВЕРЦЕТИНОМ

03.00.04. – биохимия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Гродно, 2006

Работа выполнена на кафедре биохимии
Белорусского государственного университета

Научный руководитель:

кандидат биологических наук, доцент **Сенчук В.В.**,
Белорусский государственный университет, кафедра биохимии биологического факультета

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор **Буко В.У.**,
ГНУ «Институт биохимии НАН Беларуси», лаборатория экспериментальной гепатологии

доктор биологических наук, профессор **Морозкина Т.С.**,
УО «Белорусский государственный медицинский университет», кафедра биологической химии

Оппонирующая организация:

УО «Витебский государственный университет им. П.М.Машерова»

Защита состоится «14» апреля 2006 года в 15 часов на заседании Совета по защите диссертаций Д 01.30.01 при ГНУ «Институт биохимии НАН Беларуси», 230017, г. Гродно, бульвар Ленинского комсомола, 50, тел (0152) 33-41-61.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ «Институт биохимии НАН Беларуси».

Автореферат разослан «13» марта 2006 года

Ученый секретарь
Совета по защите диссертаций,
доктор биологических наук **П.С. Пронько**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

Актуальность темы диссертации. Известно, что УФ-излучение способствует активации окислительных процессов в хрусталике, индукции активных форм кислорода и окислительному повреждению структурных компонентов хрусталиковой линзы [Дсев, А.И. и др., 1999, Davies, M.J., 2001, Aquilina, J.A., 2002]. Защитную функцию от свободно-радикальных соединений выполняет антиоксидантная система (АОС), которая представлена как ферментативными, так и неферментативными компонентами. К моменту начала диссертационной работы имеющиеся в научной литературе данные о состоянии АОС хрусталика в условиях УФ-облучения были немногочисленны, сведения об активностях антиоксидантных ферментов носили отрывочный характер [Malik, A., 1995, Reddy, G.B., et.al., 2001, Anwar M.N. et.al., 2001, Wegener A. and et.al., 2002]. В связи с использованием различных доз облучения и моделей развития УФ-индуцированной катаракты литературные данные трудно сопоставимы и не дают четкого представления о восстановительном потенциале, фоторезистентности отдельных ее компонентов и ключевых механизмах фотоповреждения. Вместе с тем сложность и неоднородность АОС обуславливает необходимость ее комплексного исслсдования.

В настоящей работе впервые был использован системный подход к изучению воздействия УФ-излучения in vitro на ферментативную и неферментативную антиоксидантную защиту хрусталика бычьего глаза. Учитывая, что спектр действия представляет собой зависимость величины биологического эффекта от длины волны УФ-диапазона, в настоящей работе было изучено действие УФ-излучения спектров С, (В+А) и А. Актуальность настоящих исследований определяется установлением факта различной дозовой зависимости фотоповреждения отдельных компонентов антиоксидантной защиты хрусталика и возможных механизмов ее УФ-повреждения in vitro.

Известно, что сахарный диабет часто сопровождается увеличением уровня полиолов в хрусталиковой линзе, развитием диабетической катаракты [Мальцев Э.В., 1988, Oimomi M. et.al., 1988]. Изучение воздействия УФ-излучения на антиоксидантую систему хрусталика в условиях повышенных концентраций D-глюкозы, D-галактозы и D-сорбита, вовлеченных в патобиохимический процесс катарактогенеза, представляет несомненный интерес.

По подсчетам специалистов, задержка развития катаракты на 10 лет

Список сокращений, принятых в тексте автореферата: УФ-С, УФ-В, УФ-А – ультрафиолетовое излучение спектров С (λ=100-280 нм), В (λ=280-315 нм) и А (λ=315-420 нм). АОС – антиоксидантная система, GSH – восстановленный глутатион, GSSG - окисленный глутатион, ГР – глутатионредуктаза, ГП – глутатионпероксидаза, ОР - НАДФН-зависимая окислительно-восстановительнаяактивность, не связанная с активностью ГР, СОД – супероксиддисмутаза, ОАОА – общая антиоксидантная активность, ПОЛ – перекисное окисление липидов, МДА – малоновый диальгегид, ТБК – 2-тиобарбитуровая кислота.

уменьшает необходимость проведения операций по удалению катарактального хрусталика почти в 2 раза, что увеличивает трудоспособный возраст и качество жизни пожилых людей, а также дает значительную экономию бюджетных средств Республики Беларусь. Учитывая ухудшение экологической обстановки, увеличение средней продолжительности жизни человека и частоты патологии хрусталика актуальным аспектом данной работы является изучение свойств природных полифенолов (меланина и кверцетина), обладающих антиоксидантной и фотопротекторной активностями. Основываясь на высказанном предположении о важной роли антиоксидантной системы в механизмах защиты от УФ-индуцированных повреждений, меланин и кверцетин представляют интерес в качестве перспективных природных субстанций для изыскания новых профилактических и лекарственных препаратов для начальных стадий лечения возрастных катаракт.

Связь работы с крупными научными программами, темами. Диссертационная работа выполнена в 1998 – 2004 г.г. в научно-исследовательской лаборатории биохимии обмена веществ кафедры биохимии Белорусского государственного университета в рамках одного из разделов Государственной научно-технической программы «Лекарственные препараты», тема НИР «Исследование физико-химических и токсикологических свойств меланина. Проведение медико-биологических исследований препарата меланина» (номер госрегистрации 19962093); Государственной программы прикладных исследований «Биоанализ и диагностика». Республиканской межвузовской программы научных исследований «Биотест», тема НИР «Исследование ферментативных повреждений биополимеров продуктами метаболизма ароматических соединений» (номер госрегистрации 20014629); научно-исследовательской программы БГУ «Исследование биохимических механизмов формирования патологических состояний организма под воздействием повреждающих факторов окружающей среды и разработка способов их направленной фармакологической коррекции» (номер госрегистрации 19962081, приказ БГУ от 19.03.96 г. № 216-Д).

Цель и задачи исследования. *Цель исследования* – изучить состояние ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы хрусталика глаза в условиях УФ-облучения in vitro и исследовать модифицирующее влияние полиолов (D-глюкозы, D-галактозы, D-сорбита) и полифенолов (меланина и кверцетина) на антиоксидантную систему хрусталика при воздействии УФ-излучения и без облучения.

Задачи исследования:

- изучить воздействие электромагнитного излучения спектров УФ-С, УФ-(В+А) и УФ-А-излучения in vitro на активность антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазу, глутатионпероксидазу, глутатионредуктазу, а также уровнь общей антиоксидантной активности, восстановленного глутатиона и аскорбиновой кислоты, электрофоретическую подвижность структурных белков кристаллинов в хрусталике бычьего глаза;

- установить зависимость исследуемых параметров антиоксидантной системы хрусталика глаза от дозы излучения диапазонов УФ-С, УФ-(В+А) in vitro; выявить возможные механизмы фотоповреждения компонентов антиоксидантной системы хрусталика глаза при УФ-облучении in vitro;
- изучить воздействие УФ-излучения in vitro на ферментативные и неферментативные компоненты антиоксидантной системы хрусталика бычьего глаза в присутствии полиолов (D-глюкозы, D-галактозы, D-сорбита);
- изучить in vitro экранирующее и непосредственное воздействие природных полифенолов (меланина и кверцетина) на активность антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазу, глутатионпероксидазу, а также уровень общей антиоксидантной активности, восстановленного глутатиона и аскорбиновой кислоты хрусталика бычьего глаза в условиях УФ-облучения и без облучения.

Объект и предмет исследования. *Объектом исследования* являлись надмитохондриальная и цитозольная фракции гомогената хрусталика бычьего глаза. *Предмет исследования* – активность ферментов антиоксидантной системы – супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы; уровни общей антиоксидантной активности, неферментативных антиоксидантов - восстановленного глутатиона и аскорбиновой кислоты; состояние структурных белков хрусталика - кристаллинов.

Гипотеза. Ферментативные и неферментативные компоненты антиоксидантной системы хрусталика обладают высокой чувствительностью к повреждающему действию УФ-излучения, что может служить важным фактором в реализации биохимических механизмов формирования УФ-индуцированных патологических состояний хрусталика.

Состояние антиоксидантной системы может быть модифицировано природными полифенольными соединениями.

Методология и методы проведенного исследования. Состояние антиоксидантной системы хрусталика оценивали по ряду биохимических параметров в экспериментах in vitro на субклеточных фракциях в условиях экранированного и неэкранированного УФ-облучения в различных дозах и спектральных диапазонах.

В диссертационной работе были использованы: методы дифференциального центрифугирования для получения субклеточных фракций, экспериментальная модель УФ-индуцированных повреждений in vitro, спектрофотометрические методы исследования в видимой и УФ-области, электрофоретические методы анализа белков, титриметрические методы, статистические методы анализа результатов.

Научная новизна и значимость полученных результатов. В диссертационной работе впервые был использован системный подход к изучению состояния ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы хрусталика при воздействии электромагнитного

излучения спектров УФ-С, УФ-(В+А) и УФ-А. Установлен факт различной дозовой зависимости фотоповреждения отдельных компонентов антиоксидантной защиты хрусталика. Показано, что изменения в антиоксидантной системе при воздействии УФ-излучения предшествуют формированию высокомолекулярных агрегатов кристаллинов.

Результаты исследований позволяют предположить, что причиной выраженного окисления восстановленного глутатиона и аскорбиновой кислоты в условиях УФ-облучения могут являться повреждения мембранных структур, вовлеченные в реализацию возможных механизмов фотоповреждения хрусталика глаза.

Показано, что высокая чувствительность глутатионредуктазы к воздействию УФ-излучения может быть обусловлена не только прямым повреждающим влиянием УФ-лучей на состояние молекулы фермента, но и ингибирующим действием продуктов фотоокисления аскорбиновой кислоты.

В условиях УФ-облучения in vitro надмитохондриальной фракции гомогената хрусталика была обнаружена активация НАДФН-зависимого окислительно-восстановительного процесса, не связанного с глутатионредуктазной активностью. Это может способствовать снижению восстановительного потенциала ткани.

Получены экспериментальные доказательства участия полиолов (D-глюкозы, D-галактозы, D-сорбита) в качестве усугубляющего фактора в отношении состояния антиоксидантной системы хрусталика глаза в условиях воздействия УФ-излучения.

Обнаружены модифицирующие эффекты полифенольных соединений (меланина и кверцетина) на антиоксидантную систему хрусталика бычьего глаза. Меланин и кверцетин проявляют антиоксидантные и фотозащитные свойства в условиях фотоэкранирования УФ-излучения in vitro. Установлено, что меланин способен ингибировать активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы хрусталика при непосредственном контакте в составе цитозольной фракции.

Диссертационная работа демонстрирует экспериментальное подтверждение гипотезы о высокой чувствительности антиоксидантной системы хрусталика к УФ-излучению. Результаты работы вносят существенный вклад в раскрытие патобиохимических механизмов формирования нарушений в хрусталике на уровне ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы под воздействием УФ-излучения диапазонов С и В. С учетом этих данных гипотеза генеза возрастной катаракты, профессиональной УФ-зависимой катаракты получает вполне определенное развитие, так как снижение антиоксидантной защиты способствует накоплению продуктов фотоокисления и увеличению риска развития патологии.

Практическая значимость полученных результатов. Создана экспериментальная модель для формирования in vitro УФ-зависимого повреждения биохимических компонентов антиоксидантной системы хрусталика глаза. Эта модель может найти практическое применение для

выявления химических и физических факторов, обладающих негативным воздействием на хрусталик и способствующих формированию патологических состояний. Предложенная экспериментальная модель может использоваться для токсико-фармакологического поиска и изучения природных и синтетических соединений с целью создания фотозащитных, антикатарактогенных средств терапии.

Результаты изучения распространенных природных полифенолов - меланина и кверцетина - демонстрируют их выраженные антиоксидантные, фотоэкранирующие свойства, которые могут быть использованы для разработки новых лекарственных препаратов для эффективного лечения сенильных катаракт в начальных стадиях развития, приостановки и профилактики заболевания.

Положения диссертационной работы внедрены в научный и учебный процесс на кафедре биохимии Белорусского государственного университета.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту.

1. Излучение спектральных диапазонов УФ-С и УФ-(В+А) in vitro оказывает повреждающее воздействие на антиоксидантную систему хрусталика бычьего глаза с различной зависимостью доза-эффект фотоповреждения. Изменения в состоянии антиоксидантной системы хрусталика предшествуют формированию фотоиндуцированных высокомолекулярных полимеров кристаллинов.
2. Компоненты антиоксидантной системы обладают различной фоторезистентностью к воздействию УФ-излучения in vitro. Наибольшей фоточувствительностью обладает глутатионредуктаза, небелковые SH-группы и аскорбиновая кислота.
3. Ингибирующее воздействие УФ-излучения in vitro на активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы усиливается в присутствии полиолов (D-глюкозы, D-галактозы, D-сорбита).
4. Полифенолы меланин и кверцетин in vitro оказывают защитное фотоэкранирующее воздействие на антиоксидантную систему хрусталика бычьего глаза при УФ-С-облучении. При добавлении в цитозольную фракцию полифенолы повышают уровень общей антиоксидантной активности. Кверцетин оказывает защитное влияние на небелковые SH-группы надмитохондриальной фракции в условиях УФ-С-облучения.

Личный вклад соискателя. Все экспериментальные результаты, представленные в диссертационной работе, получены лично автором. Тема работы и планы ее проведения предложены научным руководителем, который принимал участие в обсуждении результатов, а также их оформлении в виде статей и тезисов. Результаты исследований, принадлежащие другим лицам, не использованы в данной диссертации.

Апробация результатов диссертации. Результаты диссертации представлены на 1-ой Международной научно-практической конференции «Экология и молодежь. Исследования экосистемы в условиях радиоактивного и техногенного загрязнения окружающей среды»

(Гомель,1998); на 1-ом Кавказском симпозиуме по медико-биологическим наукам (Тбилиси, 1999); на Съезде научно-исследовательского Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков (Минск, 2000); на Юбилейной конференции, посвященной 50-летию со дня основания Института физиологии Национальной академии наук Беларуси (Минск, 2003).

Опубликованность результатов. Основные результаты работы полностью опубликованы в 10 научных работах, из которых 4 статьи в научных журналах (2 из них в ведущих изданиях Российской Федерации), 1 статья в материалах конференции, 1 депонированная статья, 4 тезиса докладов. Общий объем опубликованных материалов составляет 45 страниц, из которых 39,7 принадлежит лично соискателю.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части и обсуждения полученных результатов (главы 2-7), заключения, списка использованной литературы, списка публикаций и приложений. Полный объем диссертации составляет 124 страницы, включая 28 рисунков, 8 таблиц, библиографию, список публикаций и 2 приложения. Список использованных источников состоит из 222 наименований, включающих 76 работ на русском языке и 146 работ на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования.

Для изучения состояния АОС в условиях УФ-облучения in vitro использовали надмитохондриальную и цитозольную фракции 20 %-ного гомогената хрусталика бычьего глаза (с использованием центрифуги Sigma 3K-30). Надмитохондриальную или цитозольную фракции облучали в кварцевых стаканах (l=3мм). Измерения всех исследуемых параметров производили сразу после облучения.

Совместное влияние полиолов и УФ-излучения на АОС хрусталика исследовали при внесении растворов глюкозы, галактозы и сорбита в надмитохондриальную фракцию (УФ-С-излучения in vitro - 8,7 кДж/м^2) с достижением конечной концентрации 0,46 ммоль/л, 0,86 ммоль/л, 1,59 ммоль/л соответственно, что приблизительно в 2 раза превышает норму.

При изучении фотоэкранирующей активности полифенолов от воздействия УФ-С-излучения (4,35 кДж/м^2) на АОС цитозольной фракции гомогената хрусталика использовали растворы меланина ($1{,}23\cdot10^{-7}$, $6{,}14\cdot10^{-7}$ и $1{,}23\cdot10^{-6}$моль/л, светопропускание Т равно 67 %, 13,5 % и 7,5 % соответственно при λ=254 нм) и кверцетина ($1\cdot10^{-5}$, $5\cdot10^{-5}$ и $1\cdot10^{-4}$ моль/л, светопропускание Т соответствовало 68,87 %, 16,52 % и 3 % при λ=254 нм) как фотоэкран с длиной оптического пути l=1см [6].

Непосредственное влияние полифенолов на АОС хрусталика изучали при введении растворов меланина (конечные концентрации - $2{,}46\cdot10^{-6}$, $6{,}14\cdot10^{-6}$, $1{,}23\cdot10^{-5}$ моль/л) и кверцетина (конечные концентрации - $1\cdot10^{-5}$, $5\cdot10^{-5}$ и $1\cdot10^{-4}$ моль/л) в цитозольную фракцию гомогената хрусталика [6].

В качестве источника УФ-С-излучения использовали лампу ДРК-120. Экспозиционная доза УФ-С-излучения составляла 0,7 кДж/м^2, 2,18 кДж/м^2, 4,35 кДж/м^2, 6,5 кДж/м^2 и 8,7 кДж/м^2 (временная экспозиция - 10, 30, 60, 90 и 120 мин соответственно). Источником УФ-(В+А) и УФ-А-излучения являлась лампа ДРК-125. Спектр УФ-(В+А) выделяли при помощи светофильтров БС-3 и насыщенного раствора $CoSO_4 \times 7H_2O$ (l=1см). Пробы подвергали УФ-В-облучению в дозах 0,81 кДж/м^2, 1,62 кДж/м^2, 3,2 кДж/м^2 и 4,8 кДж/м^2. При этом доза УФ-А-облучения составляла 1,8 кДж/м^2, 3,6 кДж/м^2, 7,2 кДж/м^2 и 10,8 кДж/м^2 (временная экспозиция – 30, 60, 120 и 180 мин соответственно). Для выделения спектра УФ-А использовали светофильтр БС-5. Доза УФ-А-облучения составляла 2,5 кДж/м^2, 5 кДж/м^2, 10 кДж/м^2 и 15 кДж/м^2 (временная экспозиция – 35, 70, 140 и 210 мин соответственно).

Активность супероксиддисмутазы (СОД) (КФ 1.15.11.) определяли спектрофотометрическим методом, основанным на измерении степени ингибирования реакции автоокисления кверцетина [Костюк В.А., 1990].

Для определения активности глутатионпероксидазы (ГП) (КФ 1.11.1.9) использовался метод, основанный на спектрофотометрическом измерении скорости окисления ГSH, используя в качестве второго субстрата пероксид водорода [Flohe L. et al., 1984].

Активность глутатионредуктазы (ГР) (КФ 1.6.4.2.) измеряли спектрофотометрическим методом, в котором мерой активности фермента является скорость окисления НАДФН [Юсупова Л.Б., 1989].

Концентрации SH-групп определяли спектрофотометрическим методом с реактивом Эллмана [Sedlak J., Kaymand H., 1968].

Содержание аскорбиновой кислоты измеряли титриметрически с 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия [Кушманова О.Д., Ивченко Г.М., 1974].

Уровень общей антиоксидантной активности (ОАОА) определяли с использованием модели неферментативного Fe^{2+}+аскорбат-индуцируемого ПОЛ в аэробных условиях по концентрации ТБК-активных продуктов в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [Костюк В.А., 1988]. Субстратом окисления являлись митохондрии печени крыс с конечной концентрацией белка в инкубационной среде 0,8-1,0 мг/мл [2].

Электрофорез белков хрусталика проводился в присутствии 1 % додецилсульфата натрия в вертикальных (1 мм) пластинах полиакриламидного геля (ПААГ, Т=15 %, С=2,6 %) [Laemmli U.K., 1970].

Концентрацию белка определяли микробиуретовым методом с использованием реактива Бенедикта.

Антиоксидантная активность меланина in vitro (конечная концентрация $1{,}23 \cdot 10^{-6}$, $2{,}46 \cdot 10^{-6}$, $6{,}14 \cdot 10^{-6}$ и $12{,}3 \cdot 10^{-6}$ моль/л) определялась по степени ингибирования накопления ТБК-активных продуктов с использованием модели неферментативного - Fe^{2+}-индуцированного ПОЛ, Fe^{2+}+аскорбат-индуцируемого ПОЛ и ферментативного – НАДФН-индуцируемого ПОЛ в безъядерных фракциях 10 %-ных гомогенатов печени, мозга и глаз крыс [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальный материал, полученный при системном изучении биохимической активности антиоксидантной системы хрусталика в условиях воздействия ультрафиолетового излучения in vitro и исследовании влияния полиолов и полифенолов (меланина и кверцетина) на антиоксидантную защиту хрусталика, позволил обосновать и сформулировать основные выводы диссертационной работы, приведенные ниже.

1. Повреждающее воздействие на антиоксидантную систему хрусталика оказывает электромагнитное излучение диапазонов УФ-С и УФ-В. Компоненты ферментативной и неферментативной антиоксидантной системы хрусталика обладают различной фоточувствительностью к УФ-излучению, которую можно представить в следующем сравнительном ряду: глутатионредуктаза > небелковые SH-группы > аскорбат > супероксиддисмутаза > глутатионпероксидаза > уровень общей антиоксидантной активности > белковые SH-группы. При УФ-облучении надмитохондриальной фракции гомогената хрусталика глаза in vitro происходит активация НАДФН-зависимой окислительно-восстановительной реакции [1, 3, 5, 8, 10].

2. Статистически достоверные изменения в состоянии антиоксидантной системы хрусталика при УФ-С-облучении in vitro наблюдаются в диапазоне экспозиционных доз 0,7-8,7 кДж/м^2, а при УФ-(В+А)-облучении 3,2-4,8 кДж/м^2. При УФ-А-облучении в диапазоне экспозиционных доз от 1,8 до 15 кДж/м^2 достоверных изменений в состоянии антиоксидантной системы не отмечалось. Фотоповреждения антиоксидантной системы хрусталика предшествуют появлению УФ-индуцированных ковалентно-сшитых полимерных форм кристаллинов [1, 3, 5, 8, 10].

3. Фотоокисление небелковых SH-групп и аскорбиновой кислоты при воздействии УФ-С-излучения in vitro значительно усиливается в присутствии микросомальных структур надмитохондриальной фракции гомогената хрусталика бычьего глаза по сравнению с цитозольной фракцией [3, 4].

4. Ингибирующее влияние УФ-излучения in vitro на активность супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы в надмитохондриальной фракции гомогената хрусталика усиливается в присутствии полиолов - D-глюкозы, D-галактозы, D-сорбита [1, 8].

5. Полифенолы меланин и кверцетин проявляют выраженное фотоэкранирующее влияние на антиоксидантную систему хрусталика бычьего глаза в условиях УФ-С-облучения in vitro. При добавлении в цитозольную фракцию меланин и кверцетин повышают уровень общей антиоксидантной активности. При добавлении в надмитохондриальную фракцию кверцетин снижает степень фотоокисления небелковых SH-групп. Меланин способен ингибировать активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы хрусталика при непосредственном контакте в составе цитозольной фракции [2, 4, 6, 7, 9].

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Статьи в журналах:

1. Бышнева Л.Н., Сенчук В.В. Влияние УФ-излучения на антиоксидантную систему хрусталика // Вестник БГУ.- Сер.2.- 2000.- № 1.- С.30-33.
2. Бышнева Л.Н., Сенчук В.В. Влияние меланинов на перекисное окисление липидов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2001.- Т.37.- №1.- С.105-109.
3. Бышнева Л.Н., Сенчук В.В. Активность глутатионредуктазы, уровень глутатиона и аскорбата в условиях УФ-облучения // Вопросы мед.химии. – 2002. – Т.48. - № 5. – С. 455-460.
4. Бышнева Л.Н., Сенчук В.В. Влияние меланина и кверцетина на антиоксидантную систему хрусталика // Вестник БГУ.- Сер.2.-2005.- № 1.- С. 18-23.

Статья в материалах конференции:

5. Бышнева Л.Н., Сенчук В.В. Модифицирующее действие меланина и кверцетина на антиоксидантную систему хрусталика // Ксенобиотики и живые системы. Материалы II Междунар. Науч. Конф. Минск, 11-15 ноября 2003 г. / Белгосуниверситет, Центральный Ботанич. Сад НАН Беларуси. – Минск, 2003.- С. 51-55.

Депонированная статья:

6. Бышнева Л.Н., Сенчук В.В. Биохимическая активность антиоксидантной системы при воздействии УФ-(В+А)-излучения // Белорусский институт системного анализа и информационного обеспечения научно-технической сферы (БелИСА). – Минск, 2004. – 15 с.– Библиогр.: - с. 9. – Деп. 02.03.04, № Д200411.

Тезисы:

7. Бышнева Л.Н., Сенчук В.В. Механизмы антиоксидантной активности меланиновых пигментов // Экология и молодежь. Исследования экосистемы в условиях радиоактивного и техногенного загрязнения окружающей среды. Материалы 1 Международной научно-практической конференции. Гомель, 17-19 марта, 1998 г. / Гомельский государственный университет. – Гомель, 1998.- Т.2.- С.13.
8. Бышнева Л.Н., Сенчук В.В. Влияние УФ излучения на антиоксидантную систему хрусталика // 1 Кавказский симпозиум по медико-биологическим наукам. Тбилиси 21-24 сентября 1999г. / Тбилисский университет им. И.Джавахишвили. – Тбилиси, 1999. – С.25.
9. Кукулянская Т.А., Новиков Д.А., Гавриленко Н.В., Воробьева И.Н., Бышнева Л.Н., Суходолец В.В., Курченко В.П., Сенчук В.В. Фотобиологические свойства меланинов // Тезисы докладов научно-исследовательского Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков/ Национальн. Акад. Наук Беларуси. Ин-т фотобиологии НАН Беларуси. – Минск, 2000.- С.64.

10. Бышнева Л.Н., Сенчук В.В. Изменение антиоксидантной защиты хрусталика в условиях ультрафиолетового облучения глаза // Юбилейная конференция, посвященная 50-летию со дня основания Института физиологии Национальной академии наук Беларуси (Минск, 7-8 октября 2003 г.) / Национальн. Акад. Наук Беларуси. Ин-т физиологии. – Минск: Технопринт, 2003.- С. 21.

РЕЗЮМЕ

Бышнева Людмила Николаевна

Антиоксидантная система хрусталика в условиях УФ-облучения и ее модификация меланином и кверцетином

Ключевые слова: хрусталик, УФ-излучение, антиоксидантная система, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, глутатион, аскорбат, кристаллины, полиолы, полифенолы, меланин, кверцетин.

Объект исследования: субклеточные фракции гомогената хрусталика бычьего глаза.

Предмет исследования: антиоксидантная система хрусталика, кристаллины.

Цель исследования: изучить состояние антиоксидантной системы хрусталика в условиях УФ-облучения in vitro и исследовать модифицирующее влияние на нее полиолов (D-глюкозы, D-галактозы, D-сорбита) и полифенолов (меланина и кверцетина).

Методы исследования: ультрацентрифугирование (центрифуга Sigma 3K-30), спектрофотометрические методы исследования, титриметрическое исследование аскорбата, электрофоретическое исследование кристаллинов, статистические методы анализа. Источником УФ-излучения являлись лампы ДРК-120 и ДРК-125.

Полученные результаты и их новизна: впервые предпринят системный подход к изучению антиоксидантной системы хрусталика. Показана различная фоточувствительность ее компонентов, различная зависимость доза-эффект фотоповреждения ее в условиях УФ-С- и УФ-(В+А)-облучения. Наибольшей чувствительностью к воздействию УФ-излучения in vitro обладают глутатионредуктаза, небелковые SH-группы и аскорбат, фотоповреждение которых предшествует образованию высокомолекулярных форм кристаллинов. В ткани хрусталика в условиях УФ-облучения in vitro обнаружено повышение НАДФН-зависимой окислительно-восстановительной активности, не связанной с активностью глутатионредуктазы.

Показано, что полиолы (D-глюкоза, D-галактоза, D-сорбит) усиливают ингибирующее действие УФ-излучения in vitro на ферменты антиоксидантной системы хрусталика.

Впервые было изучено и показано модифицирующее воздействие меланина и кверцетина на антиоксидантную систему хрусталика.

Рекомендации по использованию: результаты работы вносят существенный вклад в раскрытие механизмов формирования нарушений в хрусталике на уровне антиоксидантной системы под воздействием УФ-излучения. Положения диссертационной работы внедрены в научный и учебный процесс на кафедре биохимии Белорусского государственного университета. Антиоксидантные и фотопротекторные свойства меланина и кверцетина могут быть использованы при разработке лекарственных препаратов.

Область применения: биохимия, фармакология.

РЭЗЮМЭ

Бышнёва Людміла Мікалаеўна

Антыакісляльная сістэма крышталіка ва ўмовах УФ-апраменьвання і яе мадыфікацыя меланінам і кверцэтынам

Ключавыя словы: хрусталік, УФ-апраменьванне, антыакісляльная сістэма, глутатыёнрэдуктаза, глутатыёнпераксідаза, супераксіддісмутаза, глутатыён, аскарбінавая кіслата, крышталіны, поліолы, поліфенолы, меланін, кверцэтын.

Аб'ект даследавання: субклетачныя фракцыі гамагената хрусталіка вока быка.

Прадмет даследавання: антыакісляльная сістэма хрусталіка, крышталіны.

Мэта даследвання: высветліць стан антыакісляльнай сістэмы хрусталіка ва ўмовах УФ-апраменьвання in vitro і даследаваць уплыў на яе поліолаў (D-глюкозы, D-галактозы, D-сарбіта) і поліфенолаў (меланіна і кверцэтына).

Метады даследавання: ультрацэнтрыфугіраванне (центрыфуга Sigma 3K-30), спектрафотаметрычныя метады даследавання, цітрыметрычны метад даследавання аскарбінавай кіслаты, электрафарэтычнае даследаванне крышталінаў, статыстычныя метады аналізу. Крыніцай УФ-выпраменьвання з'яўляліся лампы ДРК-120 і ДРК-125.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню быў выкарыстаны сістэмны падыход на даследаванні антыакісляльнай сістэмы хрусталіка. Паказана розная фотаадчувальнасць яе кампанентаў, розная залежнасць доза эфект фотапашкоджання ва ўмовах УФ-С і УФ-(В+А)-апраменьвання. Найбольш чулай да ўздзеяння УФ-выпраменьвання in vitro былі глутатыёнрэдуктаза, небялковыя SH-групы і аскарбінавая кіслата, фотапашкоджанне якіх папярэджвае фарміраванне высокамалекулярных форм крышталінаў. Ва ўмовах УФ-апраменьвання in vitro выяўлена павышэнне НАДФН-залежнай акісляльна-аднаўленчай актыўнасці, не звязанай з глутатыёнрэдуктазай.

Паказана, што поліолы (D-глюкоза, D-галактоза, D-сарбіт) узмацняюць пашкоджанне ферментаў антыакісляльнай сістэмы ва ўмовах УФ-апраменьвання in vitro. Упершыню даследавана і паказана мадыфіцыруючае ўздзеянне меланіна і кверцэтына на антыакісляльную сістэму хрусталіка.

Рэкамендацыі па выкарыстанню: вынікі работы ўносяць істотны ўклад у раскрыццё механізмаў фарміравання парушэнняў у хрусталіку на ўзроўні антыакісляльнай сістэмы пад уздзеяннем УФ-выпраменьвання. Палажэнні выкананай работы выкарыстоўваюцца ў навуковым і навучальным працэсах на кафедры біяхіміі Беларускага дзяржаўнага універсітэта. Антыакісляльныя ўласцівасці меланіна і кверцэтына могуць выкарыстоўвацца пры распрацоўцы новых лекаў.

Галіна выкарыстання: біяхімія, фармакалогія.