

**ПРИМЕНЕНИЕ РФА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭЛЕМЕНТНОГО
СОСТАВА СЫВОРОТКИ КРОВИ**

А. Мешков, В. Кузнецов, Л. Гребеник, Л. Суходуб

*Сумской государственной университет
ул. Римского-Корсакова, 2, Сумы 40007, Украина
e-mail: guhosotsu@gmail.com*

В статье рассмотрены особенности применения рентгено-флуоресцентного анализа (РФА) для изучения образцов биологического происхождения. Основное внимание уделено использованию РФА для оценки минерального состава жидких проб. Рассмотрен пример применения этого метода для определения концентрации меди в сыворотке крови по упрощенному экспериментальному алгоритму, который предусматривает добавление стандарта элемента к образцу с последующим расчетом, исходя из существования линейной зависимости интенсивности пиков в РФ-спектрах от концентрации элемента. Приведенный принцип расчета с учетом концентрации стандарта в пробе сыворотки крови и интенсивности пиков элемента в РФ-спектрах.

Ключевые слова: рентгено-флуоресцентный анализ, сыворотка крови, элементный анализ.

УДК: 573.2:577.95

**ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У
ЗАРОДКАХ В'ЮНА (*MISGURNUS FOSSILIS* L.) ЗА ВПЛИВУ КАТІОНІВ КАЛЬЦІУ
ТА МАГНІЮ**

А. Тарновська, О. Яцків

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: antoninat@pochta.ru*

Досліджено вплив іонів кальцію та магнію на динаміку процесів перекисного окиснення ліпідів каталази зародків в'юна. З'ясовано, що катіони кальцію інтенсифікують процеси ліпопероксидації у зародках в'юна, а катіони магнію, навпаки, знижують досліджувані показники на початкових стадіях дроблення бластомерів. Показано, що на першу годину розвитку в інкубаційному середовищі за відсутності іонів кальцію та магнію спостерігається максимальний рівень продуктів перекисного окиснення ($144,4 \pm 0,7$ ммоль/г білку $p \geq 0,99$), що ймовірно зумовлене посиленням утворення гідропероксидів, епоксидів, альдегідів, а також недостатньою ефективністю антиоксидантної системи. На пізніших

стадіях (32 та 256 бластомерів, що відповідає 3 та 5 год розвитку) спостерігається поступове зниження інтенсивності накопичення ТБК-позитивних продуктів ($122,4 \pm 0,6$ ммоль/г білку та $123,9 \pm 0,8$ ммоль/г білку, $p \geq 0,99$, відповідно).

Ключові слова: перекисне окиснення ліпідів, в'юн, катіони кальцію, катіони магнію.

Процеси перекисного окиснення ліпідів в риб активні вже в ранньому онтогенезі. Показано, що перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) інгібує швидкість поділу клітин зародків [5–9] тому, у яйцеклітинах в'юна спостерігається високий вміст ліпідних антиоксидантів і, як наслідок, знижується рівень неферментативного ПОЛ [5]. Його інтенсивність в незапліднених яйцеклітинах є низькою. Через 2 год після запліднення вона підвищується, що пояснюється активацією поділу бластомерів [5, 8, 9]. На стадіях поділу та органогенезу відмічено збільшення (в 2–5 разів) кількості ліпопероксидів та малонового дегіду [8, 9]. На розвиток ПОЛ впливають різноманітні фактори. Проте, вплив катіонів кальцію та магнію на інтенсивність вільнорадикальних реакцій у зародкових об'єктах майже не досліджений.

Метою нашої роботи було оцінити інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) зародків в'юна у період дроблення на стадіях 2-х, 36-ти та 64-х бластомерів, яких інкубували у різних середовищах.

Матеріали та методи

Об'єктом досліджень були зародки в'юна на першу, третю та п'яту години розвитку, що відповідає стадіям 2-х, 36-ти та 64-х бластомерів. Яйцеклітини одержували та запліднювали за методом, запропонованим А.А. Нейфахом [11]. Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Ікру одержували через 36 год після стимулювання. Сім'яники одержували після декапітації та розтину черевної порожнини самців. Ікру запліднювали в чашках Петрі суспензією спермій. Через 5–10 хв після запліднення зиготи відмивали та інкубували при температурі $20\text{--}22^\circ\text{C}$ у фізіологічному розчині Гольтфретера. Інтенсивність процесів ПОЛ визначали за накопиченням ТБК-активних продуктів (комплексів альдегідів з 2-тіобарбітуровою кислотою) [14]. Досліджували зміну інтенсивності процесів ПОЛ зародків в'юна в період дроблення на стадіях 2-х, 36-ти та 64-х бластомерів. Після запліднення зародки інкубували у таких середовищах: фізіологічний розчин Гольтфретера, що містить катіони кальцію та магнію (контроль), фізіологічний розчин Гольтфретера, що містить катіони кальцію (дослідна група 1), фізіологічний розчин Гольтфретера, що містить катіони магнію (дослідна група 2), фізіологічний розчин Гольтфретера, що не містить іонів кальцію та іонів магнію (дослідна група 3). Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням критерію Стюдента [7].

Результати і їхнє обговорення

За відсутності іонів кальцію та магнію в середовищі розвиток більшості зародків зупиняється на стадії 16–32 бластомерів, що може викликатися значним підвищенням кількості пероксидних продуктів в клітині. Відсутність іонів кальцію в середовищі інкубації нейтралізує дію антиоксидантної системи на перебіг вільнорадикальних реакцій, і зменшує ефективність ендогенних антиоксидантів. Ці результати підтверджуються і даними літератури [8, 9, 12, 13]. Нами показано, що на першу годину розвитку в інкубаційному середовищі за відсутності іонів кальцію та магнію спостерігається максимальний рівень продуктів пероксидного окиснення ($144,4 \pm 0,7$ ммоль/г білку $p \geq 0,99$), (див. табл.), що ймовірно зумовлене посиленням утворення гідрпероксидів, епоксидів, альдегідів, а також недостатньою ефективністю антиоксидантної системи. На пізніших стадіях (32 та 256 бластомерів, що відповідає 3 та 5 год розвитку) спостерігається поступове зниження інтенсивності накопичення ТБК–позитивних продуктів ($122,4 \pm 0,6$ ммоль/г білку та $123,9 \pm 0,8$ ммоль/г білку, $p \geq 0,99$, відповідно). В таких умовах спостерігається значна активація системи ПОЛ, в результаті чого відбувається поступове накопичення пероксидів ліпідів.

За інкубації зародків у середовищі з відсутністю катіонів кальцію відмічено вірогідне зниження інтенсивності процесів ПОЛ в перші години розвитку порівняно з накопиченням ТБК–позитивних продуктів у зародках, інкубованих у середовищі за відсутності іонів кальцію та магнію (див. табл.).

При дослідженні інтенсивності процесів ПОЛ у середовищі з відсутністю катіонів магнію спостерігається незначне зменшення вмісту ТБК-активних продуктів порівняно із контролем ($120,7 \pm 0,3$ ммоль/г білку, контроль – $144,4 \pm 0,7$ ммоль/г білку $p \geq 0,99$). Ці результати підтверджуються даними літератури [8, 9, 13], коли вплив катіонів Ca^{2+} посилював вільнорадикальне окиснення ліпідів. Важливо відмітити, що максимум інтенсивності ПОЛ спостерігається через 3 год після запліднення ($125,2 \pm 0,7$ ммоль/г білку, контроль – $95,3 \pm 0,6$ мкг/моль $p \geq 0,99$).

Інтенсивність вільнорадикальних реакцій у зародків в'юна, інкубованих у середовищі із наявністю катіонів кальцію та магнію на стадії 2 бластомерів становить $94,3 \pm 0,7$ мкг/моль, $p \geq 0,99$. На стадії 32 бластомери, що відповідає третій годині розвитку, інтенсивність процесу ПОЛ досягає максимуму і становить $95,3 \pm 0,6$ мкг/моль, $p \geq 0,99$, але через 2 год розвитку інтенсивність вільнорадикальних процесів достовірно знижується ($89,5 \pm 0,4$ мкг/моль, $p \geq 0,99$).

Вміст ТБК-позитивних продуктів в зародках в'юна, інкубованих у різних середовищах інкубації на різних етапах розвитку (ммоль/г білка, $M \pm m$, $p \geq 0,99$, $n=5$)

Середовища розвитку	1 год	3 год	5 год
Середовище інкубації за відсутності іонів кальцію та магнію (дослідна група 3)	144,4±0,7	122,4±0,6	123,9±0,8
Середовище інкубації за наявності іонів магнію (дослідна група 2)	92,7±0,5	90,9±0,4	89,2±0,7
Середовище інкубації за наявності іонів кальцію (дослідна група 1)	120,7±0,3	125,2±0,7	115,4±0,5
Середовище інкубації за наявності іонів кальцію та магнію (контроль)	94,3±0,7	95,3±0,6	89,5±0,4

Слід відзначити, що найбільш чутливою до впливу катіонів кальцію чи магнію є стадія 32 бластомерів. Виявлено, що параметри ПОЛ зародків в'юна залежать від наявності катіонів Ca^{2+} та Mg^{2+} в інкубаційному середовищі. Тому, можна припустити, що катіони кальцію знижують ефективність ендogenous антиоксидантів в перші години розвитку. Накопичення ж пероксидів жирних кислот, що відбувається при цьому, викликає підвищення швидкості утворення радикалів і інтенсифікацію процесів ПОЛ на наступному етапі розвитку [1–4]. Відомо, що катіони Ca^{2+} та Mg^{2+} є антагоністами щодо їх впливу на параметри зародків в'юна, що підтверджується при порівнянні впливу цих іонів на інтенсивність процесів ліпопероксидації. Вплив цих катіонів на зародки в'юна через 45 год після запліднення майже не відрізняється від контролю, тобто зміна їх концентрацій в інкубаційному середовищі істотно впливає на перших етапах розвитку зародків [5, 6, 8, 9].

Як впливає з отриманих нами результатів, інтенсивність процесів ПОЛ зародків в'юна низька порівняно з тканиною м'язів дорослого в'юна [6]. Незважаючи на низький рівень активності досліджуваних процесів у період раннього розвитку, вона зазнає змін на початкових етапах ембріогенезу. Наприклад, у разі інкубації зародків у середовищі Гольтфретера максимальний рівень ПОЛ зафіксовано в перші години розвитку (1–3 год після запліднення) (див. табл.), що узгоджується з літературними даними, де максимум спостерігали через 2 год після запліднення [7]. Проте, вже в наступні години інтенсивність цих процесів різко знижується до рівня, властивого незаплідненим яйцеклітинам. Отже, отримані експериментальні та літературні дані свідчать про існування двох характерних періодів (2–3 год і 5–6 год після запліднення), пов'язаних зі змінами інтенсивності вільнорадикальних реакцій. Однак, у першому випадку вона підвищується, а в другому, навпаки, знижується. Відомо, що саме через 2 год починається інтенсивний поділ бластомерів зародків, тому значне зростання процесів вільнорадикального окиснення може бути пов'язане з ефективним мембраногенезом [6]. Окрім

того, до шести годин розвитку повністю формується морула, і в бластодермі настає юнний гомеостаз, близький до вмісту катіонів у цитозолі диференційованих клітин. Це і може впливати на інтенсивність процесів ПОЛ та ефективність функціонування ферментів антиоксидантної системи. Посилення цього процесу через 45 год після запліднення можна пояснити подальшим розвитком зародків, оскільки продукти ПОЛ беруть участь у багатьох процесах. Проведені нами дослідження, пов'язані із роботами інших авторів [5–7]. До 5 год розвитку в'юнів інтенсивність ПОЛ невірогідно зростає порівняно з контролем. При дослідженні інтенсивності процесів ПОЛ зародків, інкубованих у середовищі з катіонами кальцію нами відмічено зростання вмісту ТБК-активних продуктів. Ці результати підтверджені літературними даними [1] (додавання іонів Ca^{2+} до ліпідів теж приводило до посилення вільнорадикального окислення). Важливо зазначити, що максимум активності процесів ПОЛ є через 3 год після запліднення. Ймовірно, що підвищена концентрація кальцію знижує ефективність ендогенних антиоксидантів у перші 2 год розвитку. Через 5 год після запліднення швидкість реакцій перекисного окиснення знижується внаслідок витрачання субстратів, тому досліджено вірогідне зниження вмісту ТБК-реактивних продуктів. З даних літератури відомо, що катіони Ca^{2+} та Mg^{2+} є антагоністами щодо їхнього впливу на параметри зародків в'юна [10]. Це підтверджено щодо впливу цих катіонів на інтенсивність ПОЛ. Вплив цих катіонів на зародки в'юна через 45 год після запліднення майже не відрізняється від контролю, тобто зміна їхніх концентрацій в інкубаційному середовищі суттєво впливає на перших етапах розвитку зародків. Відомо, що без катіонів Ca^{2+} неможливе нормальне запліднення яйцеклітин і ранній розвиток зародків [10], а механізми впливу Ca^{2+} на важливу для них структурну організацію мембран ще не повністю з'ясовані. В літературі трапляються дані, що при транслокації катіонів Ca^{2+} через клітинні мембрани навіть за нормальних умов відбувається їх зв'язування з мембранними ліпідами [4]. Отже, зв'язування катіонів Ca^{2+} з фосфоліпідами дає змогу регулювати ПОЛ дуже швидко і, що особливо важливо для селективних властивостей біомембран, швидкість процесу може бути різною на досить близьких ділянках мембран [2]. Це необхідно для процесів різних перебудов мембран, що особливо інтенсивно відбуваються під час ембріонального розвитку.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Владимиров Ю. А.* Биологические мембраны и незапрограммированная смерть клетки // Биол. мембраны. 2002. Т. 19. № 5. С. 356–357.
2. *Владимиров Ю. А.* Свободные радикалы в биологических системах // Сорос. образ. журнал. ISSEP. 2000. Т. 6. № 12. С. 13–19.
3. *Владимиров Ю. А.* Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. РАМН. 1998. № 7. С. 43–51.
4. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
5. *Гойда О. А.* Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных. К.: Наук. думка, 1993. 224 с.
6. *Грубинко В. В., Леус Ю. В.* Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб // Гидробиол. журнал. 2001. Т. 37. № 1. С. 68–78.
7. *Деркач М. П., Гумецький Р. Я., Чабан М. Е.* Курс варіаційної статистики. К.: Наук. думка, 1977. 206 с.
8. *Мукалов И. О.* Перекисное окисление липидов в раннем эмбриогенезе вьюна: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Тбилиси, 1986. 24 с.
9. *Мукалов И. О., Гойда Е. А., Кусень С. И.* Перекисное окисление липидов на ранних этапах развития вьюна // Укр. биохим. журнал. 1980. Т. 52. № 4. С. 473–477.
10. *Мукалов И. О., Гойда Е. А., Кусень С. И., Данилевич Н. И.* Перекисное окисление липидов на раннем эмбриогенезе вьюна // Биофизика. 1984. Т. 29. №1. С. 60–64.
11. *Нейфах А. А.* Молекулярная биология процессов развития. М.: Наука, 1977. 311 с.
12. *Тарновська А. В.* Перекисне окиснення ліпідів у зародках в'юна за впливу фторхінолонів, іонів кальцію та магнію: автореф. дис. ... канд. біол. наук. Львів, 2005. 16 с.
13. *Тарновська А. В., Смалюх Г. І., Санагурський Д. І.* Інтенсивність процесів ліпопероксидації у зародках в'юна під впливом катіонів кальцію, магнію та антибіотиків класу фторхінолони // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2003. Вип. 34. С. 19–25.
14. *Тимирбулатов Р. А., Селезнев Е. И.* Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. 1981. № 4. С. 209–211.

Стаття: надійшла до редакції 03.06.14

доопрацьована 02.10.14

прийнята до друку 03.10.14

**LIPID PEROXIDATION IN LOACH EMBRYOS (*MISGURNUS FOSSILIS* L.) UNDER
INFLUENCE OF CATIONS CALCIUM AND MAGNESIUM**

A. Tarnovska, O. Yatskiv

Ivan Franko National University of Lviv

4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine

e-mail: antoninat@pochta.ru

The influence of calcium and magnesium on the dynamics of lipid peroxidation catalase loach embryos. It was found that calcium cations intensify the processes of lipid peroxidation in loach embryos and magnesium cations, however, reduce the studied parameters in the initial stages of crushing blastomeres. It is shown that the first hour of incubation in medium without calcium and magnesium observed maximum level of peroxidation products ($144,4 \pm 0,7$ mmol/g protein $p \geq 0,99$), Which probably caused by increased formation of hydroperoxides, epoxides, aldehydes, and ineffective antioxidant system. At later stages (32 and 256 blastomeres, which corresponds to 3 and 5 hours of development) there is a gradual decrease in the intensity of accumulation of TBA-positive products ($122,4 \pm 0,6$ mmol/g protein and $123,9 \pm 0,8$ mmol/g protein, $p \geq 0,99$, respectively).

Keywords: lipid peroxidation, loach, cations calcium, magnesium cations.

**ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В
ЗАРОДЫШЕЙ ВЬЮНА (*MISGURNUS FOSSILIS* L.) ЗА ВЛИЯНИЯ КАТИОНОВ
КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ**

А. Тарновская, О. Яцкив

Львовский национальный университет имени Иван Франко

ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

e-mail: antoninat@pochta.ru

Исследовано влияние ионов кальция и магния на динамику процессов перекисного окисления липидов каталазы зародышей вьюна. Выяснено, что катионы кальция интенсифицируют процессы липопероксидации в зародышах вьюна, а катионы магния, наоборот, снижают исследуемые показатели на начальных стадиях дробления blastomeres. Показано, что на час развития в инкубационном среде при отсутствии ионов кальция и магния наблюдается максимальный уровень продуктов перекисного окисления ($144,4 \pm 0,7$ ммоль / г белка $p \geq 0,99$), что вероятно обусловлено усилением образования

гидропероксидов, эпоксидов, альдегидов, а также недостаточной эффективностью антиоксидантной системы. На более поздних стадиях (32 и 256 бластомеров, что соответствует 3 и 5 ч развития) наблюдается постепенное снижение интенсивности накопления ТБК-положительных продуктов ($122,4 \pm 0,6$ ммоль / г белка и $123,9 \pm 0,8$ ммоль / г белка, $p \geq 0,99$, соответственно).

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, вьюн, катионы кальция, катионы магния

УДК 616-006.04

КОНЦЕПЦІЯ МАТЕМАТИЧНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ЗВ'ЯЗКУ МІЖ ПІДВИЩЕННЯМ ВИЖИВАНОСТІ ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ І ЗРОСТАННЯМ ОНКОЛОГІЧНОЇ ЗАХВОРЮВАНОСТІ

В. Книгавко, М. Бондаренко, Т. Кочарова*, А. Солодовніков

Харківський національний медичний університет

пр. Леніна, 4, Харків 61022, Україна

e-mail: vknig@mail.ru

Наведено результати математичного моделювання залежності збільшення онкологічної захворюваності внаслідок підвищення ефективності лікування онкологічних хвороб. З погляду оцінки залежності онкологічної захворюваності від імовірності виліковування найінформативнішим показником вважається ймовірність виникнення онкологічного захворювання до певного значення віку людини. Розглянуто процеси, що визначають залежність числа а-генів у гаметах від часу. Обчислюючи значення функції розподілу часу набуття людиною онкологічного захворювання при різних значеннях імовірності виліковування онкологічного захворювання, можна визначити шукану залежність захворюваності від ефективності лікування.

Ключові слова: канцерогенез, генотип, а-ген, час репродукції.

Вважається, наприклад [1], що малігнізація клітин має причиною ушкодження деякої кількості певних генів, які ми називатимемо а-генами. Оскільки ушкодження тих чи інших генів – це випадкові події, малігнізація клітин за тих самих початкових (при народженні) кількостях а-генів у генотипі має відбуватися в різні моменти часу з різною ймовірністю. Очевидно, що внаслідок випадковості процесу мутації початкове число а-генів у генотипах різних людей є різним. Таким чином, чим менше неушкоджених а-генів у генотипі індивіда,