

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ГЕМОГЛОБІНУ КРОВІ РИБ ЗА ДІЇ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ФАКТОРІВ ДОВКІЛЛЯ

Смольський О.С.,

к.б.н., доцент кафедри хімії, технологій та фармації НУ «Чернігівський
колегіум» імені Т.Г. Шевченка

Янченко В.О.,

к.фарм.н., доцент кафедри хімії, технологій та фармації НУ «Чернігівський
колегіум» імені Т.Г. Шевченка

На сьогодні одним з найпоширеніших екологічних наслідків антропогенного впливу є порушення газового режиму та вмісту розчиненого кисню у воді. У водному середовищі дифузія кисню протікає значно менш ефективно, в порівнянні з повітрям, тому в умовах забруднень води чинниками різного походження здатне викликати гіпоксичні стани у гідробіонтів. Особливо це актуально для риб, у яких енергетичні витрати на обмін істотно превалюють над конструктивними процесами [8]. В цих умовах для підтримання гомеостазу першорядного значення набуває підтримання на оптимальному функціональному рівні кисень-транспортних можливостей крові.

Гемоглобінова система риб є чутливою та зручною моделлю щодо оцінки впливу умов існування риб до дії факторів навколишнього середовища. Відомо, що процес приєднання кисню до гемоглобіну характеризується кооперативним характером зв'язування, завдяки чому криві окси- та деоксигенації мають сигмоїдний характер. При цьому найбільш оптимальним для організму у фізіологічних умовах є такий варіант зсуву, коли крива зміщується вліво в область верхньої інфлексії та вправо – в область нижньої інфлексії [2].

Тому для розуміння молекулярних механізмів підтримки фізіолого-біохімічної активності гемоглобіну нами розглянуто його функціональні характеристики, головною з яких є спорідненість до кисню. Для оцінки функціональних властивостей гемоглобіну досліджено вплив токсичних концентрацій йонів металів окремо та в суміші з амоніаком, а також фенолу на кисеньтранспортні можливості крові коропа лускатого.

Спорідненість гемоглобіну до кисню аналізували за кривими дисоціації оксигемоглобіну та вмісту в крові АТФ, 2,3-ДФГ та білкових SH-груп [5].

Аналіз кривих дисоціації оксигемоглобіну коропа свідчить, що максимальний зсув відбувається в області верхньої інфлексії. Зниження спорідненості гемоглобіну до кисню спостерігається у випадках впливу амоніаку окремо та в суміші з йонами Mg^{2+} , Mn^{2+} та Cu^{2+} , а також суміші йонів Mn^{2+} та амоніаку. При дії йонів Pb^{2+} , Pb^{2+} з амоніаком, йонів Zn^{2+} та фенолу відмічається зсув кривих дисоціації вліво. Останнє свідчить про поліпшення віддачі кисню, що у умовах токсикозів є необхідним, оскільки найчастіше у риб відбувається ослизнення зябер і доступ кисню у тканини погіршується. У випадках зсуву

кривих праворуч, як і при впливі інших абіотичних факторів, за рахунок прискореної дисоціації оксигемоглобіну та низької спорідненості дезоксигемоглобіну до кисню збільшується кількість незв'язаного молекулярного кисню (P_{50} підвищується). Наслідком цього є надлишкова оксигенація тканин, що за активації гліколізу може призводити до неконтрольованого використання молекулярного кисню не на окислення енергетичних субстратів, а на процеси, які ініціюють утворення пероксидних похідних ліпідів. Зазначені зміни мають масовий характер при токсикозах. Ці дані корелюють зі швидкістю дисоціації оксигемоглобіну, яка у випадках збільшення P_{50} зростає.

З іншого боку, підвищення спорідненості гемоглобіну до кисню (зсув кривих дисоціації вліво) у випадках впливу іонів Pb^{2+} окремо та в суміші з амоніаком, іонів Zn^{2+} та фенолу можна розглядати як захисні, спрямовані на підтримку необхідної кількості функціонально активного гемоглобіну. Вважаємо, що надлишкова оксигенація, крім перекисного окислення ліпідів, може окиснювати і йони Fe^{2+} гему, а необхідну кількість макроергічних сполук організм у будь-якому випадку при інтоксикаціях змушений отримувати гліколітично. +

Однак кінетика дисоціації оксигемоглобіну та її швидкість однозначно не відображають причин зміни спорідненості до кисню даного гемпротеїду. Тому нами проаналізовані показники мікрооточення гемоглобіну і, зокрема, рівня органічних фосфатів як негативних модуляторів функціональних властивостей гемоглобіну. Крім того, їх вміст певною мірою відображає інтенсивність метаболічних процесів у крові, зокрема в еритроцитах.

Відомо, що у ссавців основним органічним фосфатом, що впливає на спорідненість гемоглобіну до кисню є 2,3-ДФГ, а у риби - АТФ [1].

Для вивчення механізмів зміни кисневотранспортної функції гемоглобіну нами розглянуто динаміку вмісту цих двох органічних фосфатів в еритроцитах коропа окремо, а також у їх взаємозв'язку між собою та з іншими алостеричними ефекторами спорідненості до кисню - іонами металів, SH-вмісними речовинами.

Встановлено, що рівень 2,3-ДФГ в еритроцитах підвищується вірогідно лише у випадках впливу іонів Mn^{2+} та Mn^{2+} з амоніаком ($p < 0,05$). Проте за дії іонів Pb^{2+} , Pb^{2+} з амоніаком, Zn^{2+} та Cu^{2+} та амоніаку окремо спостерігаємо вірогідне зменшення даного фосфату.

Аналіз зміни кількості АТФ в еритроцитах свідчить про динаміку, що подібна змінам 2,3-ДФГ. Незважаючи на думку, що у риби основним регулятором спорідненості гемоглобіну до кисню є АТФ, зміна її вмісту аналогічна такій для 2,3-ДФГ і, на нашу думку, однозначно стверджувати про переважну роль АТФ у регуляції швидкості дисоціації оксигемоглобіну та виключати роль 2,3-ДФГ не можна. Літературні дані щодо вмісту цих двох фосфатів в еритроцитах свідчать про значне перевищення у риби рівня АТФ [1].

Нами встановлено, що кількість АТФ значно перевищує рівень 2,3-ДФГ (з розрахунку на мінеральний фосфор), і тому, говорячи про зміну спорідненості гемоглобіну до кисню за допомогою органічних фосфатів, необхідно розглядати

саме показники вмісту АТФ. Крім того, у більшості випадків зміна кількості АТФ є достовірною. Саме АТФ і має регулюючий вплив на цей процес, оскільки аденіловий фосфат, зв'язуючись з дезоксигемоглобіном, знижує спорідненість останнього до кисню. Оскільки еритроцитарний АТФ утворюється гліколітично [4], то зміна швидкості гліколізу може опосередковано впливати на кисневі транспортні можливості крові.

Таким чином, зміна спорідненості гемоглобіну до кисню у бік збільшення або зменшення залежить від типу токсиканту. При цьому зміщення кривих дисоціації оксигемоглобіну ліворуч у випадках впливу йонів Pb^{2+} окремо та в суміші з амоніаком, йонів Zn^{2+} , а також фенолу можна розглядати як компенсаторне та спрямоване на підтримку необхідної кількості активного кисню, недолік якого організм відчуває при токсикологічних станах [8]. У цих умовах підвищення спорідненості дезоксигемоглобіну до кисню внаслідок зниження кількості органічних фосфатів є необхідною умовою нормального функціонування системи кисневого забезпечення тканин.

Навпаки, у випадках зниження спорідненості гемоглобіну до кисню та збільшення парціального тиску кисню в крові ці зміни можна розглядати як показник порушення та погіршення транспорту кисню в тканині. Внаслідок збільшення P_{50} у крові збільшується кількість незв'язаного молекулярного кисню та можуть ініціюватися переокисні процеси. Це можливе за умов токсичних, радіаційних впливів та різних патологіях у тварин та людини [6].

Крім органічних фосфатів, на функціональну активність гемоглобіну впливають інші компоненти мікрооточення гемоглобіну: йонів Na^+ , K^+ , Cl^- , SH-вмісні речовин, внутрішньоеритроцитарного рН [3]. Дані кінетики деоксигенації оксигемоглобіну показують, що у разі спільного впливу аміаку з йонами магнію останній в еритроцитах не є фактором підвищення спорідненості. Про це свідчать як зниження рівня оксигемоглобіну в крові, так і зниження спорідненості з гемоглобіном до кисню. У зворотній залежності із спорідненістю гемоглобіну до кисню знаходиться рівень SH-вмісних речовин. Дослідження вмісту незв'язаних сульфгідрильних груп крові дозволяє припустити їх суттєвий вплив на цю характеристику гемоглобіну у наших дослідах. Так, при дії йонів Pb^{2+} та фенолу має місце підвищення спорідненості гемоглобіну до кисню та зниження кількості білкових сульфгідрильних груп, що супроводжується зниженням рівня оксиформи гемоглобіну. Останнє може свідчити про зниження кисневої потреби організму та достатність наявної кількості кисню для забезпечення метаболічних перетворень.

Таким чином, основними чинниками регуляції спорідненості гемоглобіну до кисню за дії екстремальних чинників органічної та неорганічної природи є рівень органічних фосфатів, насамперед АТФ. Збільшення вмісту білкових сульфгідрильних груп у більшості токсичних впливів можна розглядати як адаптивну реакцію організму, яка направлена на захист функціонально-активних тіолових груп білків, ферментів та інших біомолекул від токсичного впливу токсикантів та їх метаболітів.

Список літератури

1. Гідулянов А.О. Порівняльна характеристика структурних властивостей гемоглобінів та показників еритроцитарного метаболізму у представників класу ссавців і класу риб: автореф.дис. ...канд.біол.наук: 03.00.04. Сімферополь, 2003. 28 с.
2. Губський Ю.І. Біологічна хімія: підр. Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. С. 420.
3. Пількевич Н.Б., Раздайбедін В.М., Боярчук О.Д. Гемоглобін: структура, біохімія та патологія: навч. посіб. Луганськ: Альма-матер, 2007. 90 с.
4. Сергієнко О.В. Особливості гліколізу в еритроцитах активних донорів крові. *Світ медицини та біології*. Київ. 2010. Т.6, Вип. 3. С. 38-40.
5. Солдатов О.О., Парфенова І.А. Зв'язування кисню кров'ю морських риб в умовах експериментальної гіпотермії. *Укр. Біохім. Журнал*. Київ, 2011. Т.83, № 1. С. 77-82.
6. Тихонова С. А., Пахомова О.О., Волковинська Т.В. Ліпідний склад еритроцитів, стан перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантної і тіол-дисульфідної систем плазми крові у молодих чоловіків з артеріальною гіпертензією. *Досягнення біології та медицини*. Одеса. 2006. № 1(7). С.46-50.
7. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. М.: Мир, 1988. 568 с.
8. Gudkov D. I. Radiation-induced cytogenetic and hematologic effects on aquatic biota within the Chernobyl exclusion zone / D. I. Gudkov, N. L. Shevtsova., N. A. Pomortseva at oth. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2016. Vol. 151. P. 438–448.