

ГЛУТАТІОНПЕРОКСИДАЗНА АКТИВНІСТЬ ЗАРОДКІВ В'ЮНА ЗА ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ЗЕЛЕНОГО ДІАПАЗОНУ

Семочко О.М., Санагурський Д.І.

Львівський національний університет імені Івана Франка,
біологічний факультет, кафедра біофізики та біоінформатики

Різні ділянки видимого спектра світла проявляють різноплановий вплив на клітинні процеси, що знаходять застосування у багатьох галузях біології та медицини, зокрема завжди були актуальними лікувальні технології та новачі, що не супроводжуються інтоксикацією організму. Зелене монохроматичне світло впливає на гідродинаміку очей здорових пацієнтів і хворих на глаукому, спричинює зниження очного тиску, підвищення відтоку камерної вологи, зниження коефіцієнта Беккера (Сергієнко М.М., 2002). Різні типи випромінювання викликають утворення вільних радикалів, що може негативно впливати на клітину, та організм в цілому. Винайдення потужних світлодіодів сприяло широкому їх застосуванню і у побуті. Проте вплив низькоінтенсивного монохроматичного світла на тваринні організми та стан метаболічних систем є недостатньо дослідженим. Мішенями дії електромагнітного випромінювання можуть виступати і ферменти системи антиоксидантного захисту (Якименко І.Л., 2007), зокрема супероксиддисмутаза та ін.

Метою даного дослідження, було встановити зміни системи антиоксидантного захисту, зокрема глутатіопероксидазної активності за впливу зеленого монохроматичного випромінювання. Глутатіопероксидаза (ГПО), приймає важливу участь у знешкодженні як H_2O_2 , так і органічних гідропероксидів. Відновлення $ROOH$, особливо ліпідів і ДНК, припиняє пероксидацію і попереджує появу токсичних вторинних метаболітів. У ході проведених досліджень використовували яйцеклітини і зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L., які отримували і запліднювали за методикою Нейфаха (Нейфак А.А., 1977), оскільки вони є адекватною тест-системою для дослідження дії фізичних та хімічних факторів. Стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9. Отримані зиготи опромінювали світлодіодом із зеленим типом світла «AVAGO», ASMT MGOO - NGJOO PBF ($\lambda = 530$ нм), потужністю 1 Вт з рефлектором «Gamma» – FC-M2-XR79-OR для фокусування випромінювання у площині. Зародки в'юна в умовах контролю та дослідів інкубували у фізіологічному розчині Гольтфретера; за умовами дослідів – опромінювали одноразово одразу після запліднення протягом 1, 5, 10 та 20 хв, що відповідають дозам 2,16, 10,8, 21,6, 43,2 Дж/см², з відбором клітин на досліджуваних стадіях. Мірою активності глутатіопероксидази, є швидкість окиснення глутатіону в присутності гідропероксиду третинного бутілу (Моин В.М., 1986). Концентрацію білка визначали за методом Лоурі та ін. (Lowry O.H., 1951).

Експозиція зеленим світлом 1 та 5 хв не викликає достовірних змін глутатіопероксидазної активності протягом раннього ембріогенезу зародків. Збільшення тривалості дії світлом зеленого діапазону до 10 хв та 20 хв, також не спричиняє достовірних змін досліджуваного показника на стадії 2 бластомерів, тоді як на стадіях 16, 64 бластомерів та 8 та 10 поділу зародків в'юна відмічено дозозалежне зростання активності ГПО. Збільшення експозиції до 20 хв веде до істотного зростання досліджуваного показника. Зокрема на стадії 16 бластомерів активність сягає рівня $27,22 \pm 1,34$ мкмоль G-SH / хв мг білка, що на $52 \pm 2,5$ % ($p \geq 0,999$) більше ніж у контрольних зразках і на 20 % більше від показника активності ензиму на цій же стадії, після 10 хв опромінення. Максимальних значень активність ГПО, сягає на стадії 8 поділу бластомерів, а далі поступово знижується, що може пояснюватись запуском адаптивних процесів у зародках.

Отже мінімальна дія протягом зеленим монохроматичним випромінюванням, одразу після запліднення, не викликає достовірних змін глутатіопероксидазної активності. Зростання активності ГПО за умов збільшення тривалості опромінення, вказує на зростання H_2O_2 . Участь у його знешкодженні бере також і каталаза, проте спорідненість ГПО до H_2O_2 вища, тому цей фермент більш ефективно працює при низьких концентраціях субстрату, тоді як у захисті клітини від оксидативного стресу зумовленого високими концентраціями H_2O_2 , ключова роль належить каталазі. Слід зазначити, що активація ГПО пов'язана не лише із реакцією знешкодження пероксиду водню, але й детоксикацією інших пероксидів, у першу чергу ліпідних, що входять до складу біомембран.