

HİDROGEN PEROKSİD İLƏ İNDUKSIYA EDİLMİŞ OKSİDLƏŞMƏ ZAMANI HEM HİSSƏSİNİN FLÜORESENSIYA GÖSTƏRİCİLƏRİNƏ NATRIUM SELENİTİN TƏSİRİ

Məmmədli M.İ., Mehrəliyeva F.R.

AR Elm və Təhsil Nazirliyi Fizika İnstitutu

mamlakatmammadli@gmail.com

Hemoqlobinin oksidləşməsində hidrogen peroksidin (H_2O_2) mühüm rolu var. Eritrositlərin özlərində, təkamül zamanı H_2O_2 -nin həddindən artıq yığılmasını məhv edən katalaza (CAT), qlutation peroksidaza (GPX) və peroksiredoksin-2 kimi antioksidləşdirici (AO) enzimləri də daxil olan təbii antioksidləşdirici amillərinin effektiv sistemi yarandı. Üstəlik H_2O_2 -nin artıq miqdarı əsasən CAT və GPX hesabına suya qədər reduksiya olunur. H_2O_2 -nin yığılması hemoqlobinin ferrilhemoqlobinə ($HbFe(IV)=O$) oksidləşdirici deqradasiyasına gətirib çıxarır və nəticədə onun hem komponentini deqradasiya edir. Bu zaman iki növ flüorescent məhsul əmələ gəlir: “1-ci birləşmə” üçün $\lambda_{emissiya}=465$ nm $\lambda_{həyəcanlanma}=321$ nm-də və “2-ci birləşmə” $\lambda_{emissiya}=525$ nm $\lambda_{həyəcanlanma}=465$ nm-də olan. Ümumiyyətlə, qəbul edilir ki, H_2O_2 -nin subtoksik konsentrasiyalarında AO mühafizəsinin əsas payı selenenzim GPX-ə düşür. Bu arada, qeyri-spesifik olaraq hemoqlobinə daxil olan seleniumun GPX mexanizmindən kənar hemoqlobinə antioksidləşdirici dayanıqlığı da verdiyi ortaya çıxdı. Bu arada, qeyri-spesifik olaraq hemoqlobinə daxil olan seleniumun GPX mexanizmindən kənar hemoqlobinə antioksidləşdirici dayanıqlığı da verə biləcəyi ortaya çıxdı. Hemoqlobinin özü, hem tərkibli zülal olmaqla yanaşı, qlutationun iştirakı ilə kvazi-GPX aktivliyi də daxil olmaqla, peroksidaza fəaliyyəti göstərə bilər. İnsanlarda eritrositdaxili seleniumun yalnız 10-20%-nin GPX tərəfindən, qalan 80-90%-nin isə hemoqlobinin payına düşdüyünü nəzərə alsaq, flüoresensiyanın inkişafından hemin deqradasiyasının marker

olaraq istifadə edərək GPX-in iştirakı olmadan seleniumun hemoqlobində AO rolunu nəzərdən keçirmək maraqlı görünür.

Məqsəd: İşin məqsədi eritrositlərdə aktiv oksidləşdirici metabolizmə malik olan natrium selenitin H_2O_2 -nin oksidləşdirici təsiri altında hem flüores-sensiya göstəricilərinə qoruyucu rolunu nəzərdən keçirməkdir.

Materiallar və üsullar: Donor qanını sentrifüqa ($800\text{ g} \times 10$ dəqiqə) üsulu ilə steril fizioloji məhlulla 3 dəfə yuyularaq ($0,9\%$ NaCl) eritrosit kütləsi alındı. Eritrosit suspenziyası hazırlandı (hematokrit 10% , $0,05\text{ M}$ kalium-fosfat buferi (PBS) $0,14\text{ M}$ NaCl-da, pH 7.4; $+0,1\text{ mM}$ EDTA, $t=37^\circ\text{C}$). Təcrübələrə 3 seriya daxildir.

Seriya 1 (nəzarət): eritrosit suspenziyası Hb-nin $50\text{ }\mu\text{M}$ konsentrasiya-sına qədər durulaşdırıldı, H_2O_2 -nin (2 mM) subtoksik dozasının təsiri altında 37°C temperaturda 60 dəqiqə inkubasiya edildi.

Seriya 2: əsas antiperoksid enzimlərinin inhibitorları – $1,0\text{ mM}$ natrium azid (NA) (CAT üçün) və $5,0\text{ mM}$ yodasetamid (YA) (GPX üçün) inkubasiya mühitinə daxil edildi, bu da GPX-in əsas substratı kimi qlutationun (GSH) səviyyəsini endirir. İnhibitorlar sınaq nümunələrinə H_2O_2 ilə inkubasiyadan 5 dəqiqə əvvəl əlavə edildi (37°C temperaturda, nəzarətdə olduğu kimi).

Seriya 3: CAT və GPX-in inhibirləşməsi ilə eyni vaxtda inkubasiya mühitinə $10\text{ }\mu\text{M}$ yekun konsentrasiyada natrium selenit (Na_2SeO_3) əlavə edildi (bütün şərtlər 2-ci seriya ilə eynidir).

Bu nümunələrdə $\lambda_{\text{emissiya}}=465\text{ nm}$ $\lambda_{\text{həyəcanlanma}}=321\text{ nm}$ -də və $\lambda_{\text{emissiya}}=525\text{ nm}$ $\lambda_{\text{həyəcanlanma}}=465\text{ nm}$ -də olan hemoqlobinin oksidləşdirici deqradasiyasının iki flüorescent məhsulunun inkişafı tədqiq edilmişdir. Alikvotların son həcmi 3 ml təşkil edirdi. Nəticələr $p<0.05$ əhəmiyyət səviyyəsində $n\geq 3$ statistik işlənmişdir.

Nəticələr: Təcrübələrin birinci seriyasının nəticələrinə əsasən, hemin parçalanmasını əks etdirən 1-ci və 2-ci birləşmələr üçün flüoressensiyanın intensivliyinin nəzərəcarpacaq inkişafı müşahidə edilməmişdir. Təcrübələrin ikinci seriyasına görə, NA və YA-nın birgə istifadəsi ilə artıq 10-cu dəqiqədə flüoressensiyanın intensivliyinin artması baş verir ki, bu da müvafiq olaraq, 1-ci və 2-ci birləşmələr üçün 60-cı dəqiqədə ilkin səviyyədən 6 və 4 dəfə artıq olur. İnhibitorlar olmadığı halda flüoressensiyanın nəzərəcarpacaq dərəcədə artması müşahidə edilmir. Na_2SeO_3 ($10\text{ }\mu\text{M}$) istifadə edildikdə, induksiya edilmiş flüoressensiyanın bütün göstəriciləri orta hesabla $10\text{--}15\%$ azalır ki, bu da seleniumun hemoqlobinə olan antioksidant təsirinin GPX mexanizmlərini cəlb etmədən həyata keçirilə biləcəyini göstərir.