

- biological and nuclear waste samples / Hou Xiaolin, Per Roos // *Analytica Chimica Acta*. — 2008. — Vol. 608. — P. 105–139.
4. *Moreno, J.* Combined procedure for determination of ^{90}Sr , ^{241}Am and Pu radionuclides in soil samples / J. Moreno [at al.] // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. — 1997. — Vol. 226. — P. 279–284.
5. *Larosa, J. J.* Radiochemical methods used by the IAEA's laboratories at Seibersdorf for the determination of ^{90}Sr , ^{144}Ce and Pu radionuclides in environmental samples collected for the international Chernobyl project / J. J. Larosa [at al.] // *Journal of Environmental Radioactivity*. — 1992. — № 17. — P. 183–209.
6. *Chamizo, E.* Isolation of Pu -isotopes from environmental samples using ion chromatography for accelerator mass spectrometry and alpha spectrometry / E. Chamizo [at al.] // *Analytica Chimica Acta*. — 2008. — Vol. 606. — P. 239–245.
7. International Atomic Energy Agency (IAEA) Generic procedures for monitoring in a nuclear or radiological emergency / IAEA-TECDOC-1092. ISSN 1011-4289. Vienna, 1999
8. *Павлоцкая, Ф. И.* Основные принципы радиохимического анализа объектов природной среды и методы определения радионуклидов стронция и трансурановых элементов / Ф. И. Павлоцкая // *Журнал аналитической химии*. — 1997. — Т. 52, № 2. — С. 126–143.
9. *Salar Amoli, H.* Rapid analysis of americium and plutonium in environmental samples by alpha-spectrometry / H. Salar Amoli, J. Barker // *Indian Journal of Chemistry*. — 2007. — Vol. 46a. — P. 1618–1620.
10. *Kim, G.* Efficient preconcentration and separation of actinide elements from large soil and sediment samples / G. Kim, W. C. Burnett, E. P. Horwitz // *Analytical Chemistry*. — 2000. — Vol. 72. — № 20. — P. 4882–4887.
11. *Chu, N. Y. C.* Plutonium determination in soil by leaching and ion-exchange separation / Norton Y. Chu // *Analytical Chemistry*. — 1971. — Vol. 43, № 3. — P. 449–452.
12. *Holm, E.* A method for ion-exchange separation of low levels of americium in environmental samples / E. Holm, S. Ballestra, R. Fukai // *Talanta*. — 1979. — Vol. 26. — P. 791–794.
13. Совершенствование методик радиохимического анализа ^{90}Sr и трансурановых элементов в объектах агробиосферы / Н. В. Дударева [и др.] // *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности*. — 2011. — № 1 (5). — С. 159–166.
14. *Павлоцкая, Ф. И.* Определение трансурановых элементов в объектах природной среды / Ф. И. Павлоцкая, Б. Ф. Мясоедов // *Радиохимия*. — 1996. — Т. 38, № 3. — С. 193–209.
15. *Астафуров, В. И.* Определение плутония в объектах окружающей среды и биологических материалах / В. И. Астафуров, Н. А. Землянухина // *Радиохимия*. — 1984. — № 1. — С. 119–133.
16. Rapid method for the determination of actinides in soil and sediment samples by alpha spectrometry / N. Vajda [at al.] // *Radiochimica Acta*. — 2009. — Vol. 97, № 8. — P. 395–401.
17. Rapid procedure for plutonium and uranium determination in soils using a borate fusion followed by ion-exchange and extraction chromatography / I. Croudace [at al.] // *Analytica Chimica Acta*. — 1998. — Vol. 371. — P. 217–225.
18. Nordic nuclear safety research NKS-129 ISBN 87-7893-191/ RADCHEM 2005 — Radiochemical analysis in emergency and routine situations // Institute for Energy Technology, Norway, 2006. — P. 15–18.
19. *Мясоедов, Б. Ф.* Проблемы анализа природных объектов при определении содержания и форм нахождения / Б. Ф. Мясоедов, А. П. Новиков, Ф. И. Павлоцкая // *Журнал аналитической химии*. — 1996. — Т. 51, № 1. — С. 124–130.
20. Аналитическая химия трансплутониевых элементов / Б. Ф. Мясоедов [и др.]. — М.: Наука, 1972. — С. 167–182.
21. *Улахович, Н. А.* Экстракция как метод разделения и концентрирования / Н. А. Улахович // *Соросовский образовательный журнал*. — 1999. — № 6. — С. 39–46.
22. *Мясоедов, Б. Ф.* Методы разделения и концентрирования в решении актуальных проблем радиохимии / Б. Ф. Мясоедов // *Российский химический журнал*. — 2005. — Т. XLIX, № 2. — С. 64–67.
23. Радиохимия и химия ядерных процессов / Под ред. А. Н. Мурина, В. Д. Нефедова, В. П. Шведова. — Л.: Госхимиздат, 1960. — С. 386–391.
24. Методика определения плутония в почве / Ф. И. Павлоцкая [и др.] // *Радиохимия*. — 1984. — № 4. — С. 460–466.
25. Development of extraction chromatographic separation procedures for the simultaneous determination of actinides / N. Vajda [at al.] // *Radiochimica Acta*. — 2009. — Vol. 97, № 1. — P. 9–16.
26. *Довнар, А. К.* Метод электролитического приготовления счетных образцов для альфа-спектрометрического определения изотопов плутония / А. К. Довнар, А. Б. Кухтевич // *Сб. тез. II Межд. конф. «Физические методы в экологии, биологии и медицине»*. — Львов – Ворохта, Украина, 2009. — С. 138–139.
27. *Довнар, А. К.* Определение оптимальных условий для электроосаждения америция / А. К. Довнар, Н. В. Дударева, А. Б. Кухтевич // *Матер. 10 Межд. конф. «Сахаровские чтения 2010 г.: экологические проблемы XXI в.»*. — Минск, 2010. — Ч. 2. — С. 31–32.

Поступила 14.09.2012

УДК: 546.15

ТБК-АКТИВНЫЕ ПРОДУКТЫ ПЕРИКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ЭРИТРОЦИТОВ В УЗ-ПОЛЕ И ПРИ НАЛИЧИИ ЭТАНОЛА

В. А. Игнатенко, А. В. Лысенкова, А. Л. Калинин, А. Л. Казушич

Гомельский государственный медицинский университет

Получены новые данные об образовании активного продукта — тиобарбитуровой кислоты (ТБК) из этилового спирта, имеющего максимум поглощения света на длине волны 532 нм, при взаимодействии с радикалами кислорода, которые возникают в водных растворах под действием ультразвуковых волн. Результаты образования ТБК-активных продуктов подтверждены в эксперименте по защите мембран эритроцитов этанолом от перекисного окисления в ультразвуковом поле и прямым действием ультразвука на растворы этанола. Предложен предполагаемый механизм образования ТБК-активного продукта, малонового диальдегида (МДА) из раствора спирта при взаимодействии с радикалами кислорода в нормальных условиях. Показаны механизмы образования молекулярного йода и железа (III) в ультразвуковом поле. Обсуждается роль спирта в образовании молекулярного йода, железа и перекисное окисление липидов (ПОЛ) мембран эритроцита.

Ключевые слова: ТБК-активные продукты, малоновый диальдегид, радикалы кислорода, йод, железо, эритроциты, тени эритроцитов мет и окси форм, ультразвук, ПОЛ.

TBA-ACTIVE PRODUCTS OF LIPID PEROXIDATION IN ERYTHROCYTES OF ULTRASONIC FIELD AND IN THE PRESENCE OF ETHANOL

V. A. Ignatenko, A. V. Lysenkova, A. L. Kalinin, A. L. Kazuskych

Gomel State Medical University

There are new data that provide evidence on formation of the active product of TBA from ethanol which has maximum light absorption at a wavelength of 532 nm in the interaction with oxygen radicals, which occur in aque-

ous solutions under the effect of ultrasonic waves. The results of the formation of TBA active products are confirmed in an experiment on protection of erythrocyte membranes from ethanol peroxidation in an ultrasonic field and the direct effect of ultrasound on ethanol solutions. We proposed a chemical mechanism of the alleged TBA active product, malondialdehyde from alcohol solution in the interaction with oxygen radicals in normal conditions. The mechanisms of formation of molecular iodine and iron three-plus in an ultrasonic field were illustrated. The role of alcohol in the formation of molecular iodine, iron and lipid peroxidation of erythrocyte membranes is still being discussed.

Key words: TBA-active products, malondialdehyde radicals of oxygen, iodine, iron, red blood cells, red blood cells met the shade and oxy forms, ultrasound, POL.

Радикалы кислорода (АФК-активные формы кислорода) образуются в ходе процессов, связанных с транспортом электронов по дыхательной цепи. В обычных условиях на генерацию АФК расходуется от 1 до 5 % потребляемого кислорода. Эта величина может существенно возрастать при изменении кислородного бюджета организма — при гипероксии или гипоксии. При последовательном восстановлении молекулярного кислорода происходит образование супероксидного аниона, перекиси водорода, гидроксильного радикала. Радикалы кислорода являются инициаторами повреждения мембран клеток за счет перекисного окисления липидов.

ПОЛ начинается с внедрения свободного радикала в липидный слой мембран или липопротеинов. Чаще всего это радикал гидроксила. Будучи небольшой по размеру незаряженной частицей, он способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами, входящими в состав биологических мембран и липопротеинов плазмы крови. При этом образуются липидные радикалы, гидроперекиси. Гидроперекиси неустойчивы, их распад приводит к появлению разнообразных вторичных и конечных продуктов ПОЛ, представляющих собой высокотоксичные соединения (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, шиффовы основания и др.), которые оказывают повреждающее действие на мембраны и клеточные структуры. Простым и доступным методом определения продуктов перекисного окисления липидов является определение малонового диальдегида (МДА) в реакции с ТБК [1].

Цель работы

Получение в модельных опытах радикалов кислорода, доказательство их действия на вещество, использование веществ, поглощающих и инактивирующих радикалы кислорода, иницирование ПОЛ в эритроцитах и определение ТБК-активных продуктов. В качестве модели были взяты водные среды, на которые воздействовали ультразвуковыми волнами.

Материалы и методы

В работе использовали ультразвуковые колебания частоты 880 кГц от ультразвукового терапевтического аппарата УТП-1 с изменяемой интенсивностью 0,2–2 Вт/см², получаемые с кварцевого излучателя диаметром 4 см. Растворы исследуемых веществ, подвергаемые

действию ультразвуковых колебаний, помещали в стеклянный сосуд, закрывали и ставили на кварцевый излучатель ультразвуковой головки. Ультразвуковая головка помещалась в сосуд, через который циркулирует охлажденная вода, подаваемая насосом термостата U-10 для охлаждения излучателя и облучаемой пробы.

В качестве ловушек радикалов ОН и Н использовали растворы этилового спирта.

В проделанных экспериментах исследуемыми веществами были KI, FeSO₄, этанол, эритроциты окси и мет формы, тени эритроцитов окси и мет формы.

Количество образовавшегося из водных растворов KI и FeSO₄, I₂ максимум оптического поглощения на $\lambda = 350$ нм и Fe³⁺ максимум оптического поглощения на $\lambda = 305$ нм. В УФ-области спектра определяли на спектрофотометре СФ-46 на 5-й, 10-й, 15-й, 20-й, 25-й, 30-й минутах действия ультразвука. Аналогично определяли образование I₂ и Fe³⁺ под действием УЗ при добавлении в растворы спирта.

ПОЛ определяли по ТБК-активным продуктам. При взаимодействии МДА с двумя молекулами ТБК при температуре 90–100 °С образуется окрашенный триметиновый комплекс с максимумом поглощения при 532 нм. Для этих целей применяли следующие реактивы: трихлоруксусная кислота (ТХУ) — 30 % раствор; ТБК — 0,75 % раствор; физиологический раствор NaCl 0,15 М.

Взвесь отмытых эритроцитов облучают ультразвуком, аналогично облучают и тени, получаемые из эритроцитов.

ТБК-активные продукты определяли следующим образом. В центрифужную пробирку вносили 0,1 мл взвеси эритроцитов, 1,9 мл раствора гемолитика (воды) и тщательно перемешивали; затем добавляли 2 мл 30 % ТХУ и 2 мл 0,75 % ТБК, вновь перемешивали. Пробирку выдерживали в кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры центрифугировали (10 мин, 3000 об./мин). Центрифугат спектрофотометрировали в кювете с рабочей длиной 10 мм при 532 нм против контроля.

Расчет концентрации МДА (С) проводят по формуле:

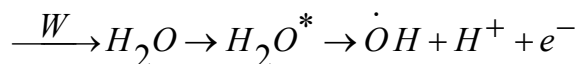
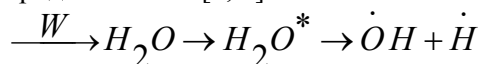
$$C = D \cdot 50 / 1,56 \text{ нМоль/мл эритроцитов,}$$

где D — оптическая плотность; 50 — разведение; 1,56 — молярный коэффициент экстинкции МДА.

В данной работе использовали реактивы: KI «хч» и FeSO₄ · 7H₂O «хч», производство «Реанал», спирт ректификат, ТБК «ч», ТХУ.

Результаты и их обсуждение

Известно, что, распространяясь в среде, ультразвуковые волны оказывают на нее действие как носитель энергии. Поглощенная H₂O энергия приводит к образованию радикалов кислорода по схеме [2, 3]:



То есть гидроксильный радикал (·OH), как и другие активные частицы, образуется при действии УЗ на воду в атмосфере воздуха. Существенным является то, что с увеличением концентрации кислорода в воздухе число свободных радикалов возрастает. Действие радикалов кислорода на растворы различных веществ представлены в таблице 1.

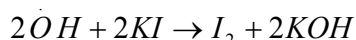
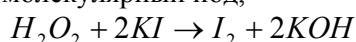
Таблица 1 — Кинетика образования молекулярного I₂ и Fe³⁺ из водных растворов KI и FeSO₄ в УЗ-поле 880 кГц, интенсивностью 2 Вт/см² и при наличии этанола (эт)

№ п/п	Водные растворы KI и FeSO ₄ , их концентрации	Оптическая плотность полученного I ₂ на λ = 350 нм и концентрации Fe ³⁺ 1·10 ⁻³ М на λ = 305 нм (5,6)				
		0 мин	5 мин	10 мин	20 мин	30 мин
1	KI 0,09 М + УЗ	0	0,035	0,075	0,145	0,215
2	KI 0,12 М + УЗ	0	0,040	0,080	0,160	0,240
3	KI 0,09М + 2,5М эт + УЗ	0	0	0	0,040	0,080
4	KI 0,12М + 2,5М эт + УЗ	0	0	0	0,050	0,095
5	FeSO ₄ 1·10 ⁻³ М + УЗ	0	0,51	0,92	1,02	—
6	FeSO ₄ 1·10 ⁻³ М + 1М эт + УЗ	0	0	0,01	0	0

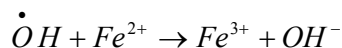
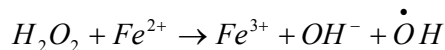
Примечание. Относительная ошибка во всех экспериментах не превышает 5 %.

Под действием УЗ происходит образование молекулярного йода и Fe³⁺, таблица 1 (1; 2; 3; 4; 5; 6). Образование молекулярного йода доказывали качественной реакцией с крахмалом (появление синего окрашивания).

При взаимодействии KI с гидроксильным радикалом или водород пероксидом образуется молекулярный йод. При добавлении в водный раствор KI водорода пероксида в растворе образуется молекулярный йод,



Аналогично и для случая образования Fe³⁺ из раствора FeSO₄:

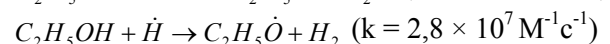
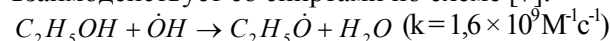


На причастность гидроксильного радикала или водород пероксида в образовании молекулярного йода и Fe³⁺ из водных растворах KI и FeSO₄ указывают следующие эксперименты. При добавлении в систему водных растворов KI и FeSO₄ этанола под действием УЗ в течение десяти минут молекулярный йод и Fe³⁺ не образуются, таблица 1 (3; 4; 6).

В работе [4] показаны превращения этилового спирта при взаимодействии со свободными радикалами. Известно, что радикалы H и OH взаимодействуют с молекулами этилового спирта с константами скорости K = 2,8 × 10⁷ и K =

1,6 × 10⁹ м³/(кмоль с) соответственно, а гидратированный электрон — с K = 10⁵ м³/(кмоль с) [5] и с (определенной методом импульсного фотолиза) [6] K = 4,3 × 10² м³/(кмоль с).

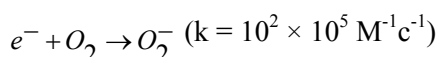
Известно, что гидроксильный радикал взаимодействует со спиртами по схеме [7]:



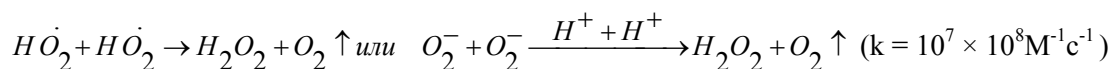
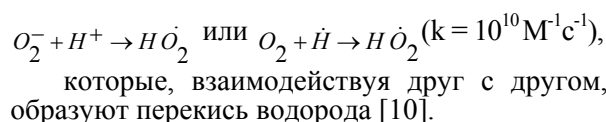
В водном растворе C₂H₅OH под действием УЗ вследствие высокой упругости паров спирта происходит перехват гидроксильного радикала с образованием этоксид радикала.

В ультразвуковом поле при наличии кислорода происходит взаимодействие гидроксильного радикала с альфа-гидроксиэтильным радикалом спирта с константой K = 4,3 × 10⁹ м³/(кмоль с) [8] с последующим образованием уксусного альдегида, уксусной кислоты и водород пероксида.

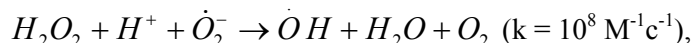
С увеличением концентрации кислорода выход уксусного альдегида возрастает. В этом случае этанол выполняет роль перехватчика гидроксильных радикалов, и появляется возможность возникновения электрона. Образовавшийся электрон может взаимодействовать с водой, и тогда появляется гидратированный электрон, который может существовать в водной среде до 600 миллисекунд [9]. Ультразвуковой выход гидратированного электрона под действием ультразвука соответствует ультразвуковому выходу гидроксильного радикала. В этих случаях при наличии в растворе молекул кислорода вероятен процесс образования супероксидного ион-радикала по реакции:



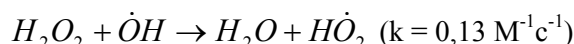
В свою очередь, O_2^- , взаимодействуя с H^+ , образует гидропероксидный радикал:



H_2O_2 может инактивироваться при взаимодействии с O_2^-



образуя гидроксильный радикал $\dot{O}H$, или с $\dot{O}H$, образуя гидропероксидный радикал $H\dot{O}_2$



Представленная информация определяет роль ультразвука в образовании кислородных радикалов в водной среде, их действие на вещество и роль спирта как скэвенджера радикалов кислорода.

Известно, что свободные радикалы кислорода инициируют перекисное окисление липидов (ПОЛ), которое можно получить при действии ультразвука на водную взвесь эритроцитов.

Действие ультразвуковых колебаний на взвесь эритроцитов в изотоническом растворе NaCl приводит к гемолизу эритроцитов.

Основной причиной гемолиза является механическое действие ультразвуковых волн на мембрану эритроцита [11, 12].

Наряду с механическим действием УЗ-колебаний на мембраны эритроцитов действуют и свободные радикалы, которые возникают в водной среде под действием ультразвуковых волн. В работах [13, 14] авторы отмечают, что

свободные радикалы, действующие на мембрану клетки, вызывают как перекисное окисление липидов мембраны, так и действуют на белки мембраны и приводят к лизису клетки. С увеличением мощности ультразвуковых колебаний, действующих на водные взвеси эритроцитов в 0,15 М NaCl, увеличивается число гидроксильных радикалов, которые подвергают мембраны эритроцитов дополнительному воздействию.

После воздействия ультразвука на отмытые тени эритроцитов наблюдали образование продуктов перекисного окисления липидов, таблица 2. Причем количество образовавшихся продуктов перекисного окисления липидов, определяемое с помощью ТБК, возрастало с увеличением времени сонолиза, таблица 2 (1; 8; 9; 10; 11). Спирты в малых концентрациях оказывали выраженный ингибирующий эффект на перекисное окисление липидов, таблица 2 (7).

Таблица 2 — Кинетика образования ТБК-активных продуктов МДА в УЗ-поле 880 кГц, интенсивностью 2 Вт/см²

№ п/п	Облучаемые вещества	Концентрация МДА $\times 10^4$ М, время действия УЗ, 880 кГц, интенсивность 2 Вт/см ²					
		5 мин	10 мин	15 мин	20 мин	25 мин	30 мин
1	Тени эритроцитов	0,66	1,50	2,5	3,33	4,00	4,33
2	Тени эритроцитов + 10^{-4} М этанола	0,16	0,33	0,66	1,66	3,5	7,83
3	Тени эритроцитов + 10^{-3} М этанола	0,83	1,67	2,83	3,33	4,67	5,50
4	Тени эритроцитов + 10^{-2} М этанола	1,00	2,83	4,67	5,83	7,50	9,00
5	Разность №4–№1	0,33	0,83	1,67	2,50	3,50	4,67
6	Разность №3–№1	0,16	0,16	0,33	0,83	0,67	1,16
7	Разность №2–№1	0	0	0	0	0,16	0,35
8	Тени окси эритроцитов	0,27	0,64	1,10	1,65	2,85	3,7
9	Гемолизат окси эритроцитов	0,09	0,28	0,37	0,74	1,01	1,47
10	Эритроциты	0,05	0,09	0,14	0,18	0,28	0,37
11	Гемолизат мет эритроцитов	0,59	1,47	2,43	3,25	3,95	4,33

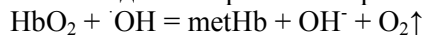
Примечание. Относительная ошибка во всех экспериментах не превышает 5 %.

Большие концентрации оксиНв (10^{-3} М), добавленные к взвеси теней эритроцитов, резко ингибируют процессы перекисного окисле-

ния липидов в ультразвуковом поле, регистрируемые по образованию малонового диальдегида, таблица 2 (9 и 1).

Альдегидные продукты перекисного окисления липидов в отличие от теней эритроцитов не образуются в значительных количествах за одинаковые промежутки времени озвучивания, таблица 2 (10).

Гемоглобин при этом окисляется частично в метНв вследствие протекания реакций



Если озвучивать эритроциты, содержащие гемоглобин в форме метНв, то уровень продуктов перекисного окисления возрастает, но все же остается меньшим, чем в случае мембран, отмытых от гемоглобина, таблица 2 (1 и 11).

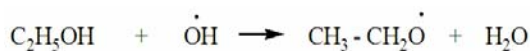
Вероятно, гидроксильные радикалы, генерируемые воздействием ультразвука или при реакции Фентона с ионами переходных металлов, перехватываются молекулами Нв и не достигают мембран эритроцитов. Это позволяет предположить, что Нв, а точнее его простетическая группа — гем, выполняет защитную роль, выступая в качестве «ловушки» свободных радикалов.

Протекание ПОЛ под действием УЗ ингибируется добавлением «ловушек» гидроксильных радикалов спиртов, таблица 2 (7 и 1), что свидетельствует о роли ОН радикалов. Наиболее эффективно ингибируют реакции ПОЛ в эритроцитах оксиНв, добавленный к взвеси эритроцитарных мембран, таблица 2 (10; 9 и 1).

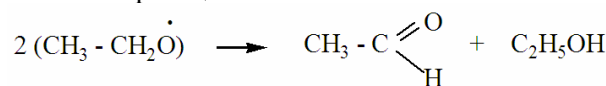
Этот результат понятен в связи с его высокой эффективностью захвата ОН радикалов. Для этилового спирта — «ловушки» свободных радикалов обнаружены различные эффекты на ПОЛ в зависимости от концентрации скэвэнджера. Так, при низких концентрациях — 10^{-4} М — этанол ингибирует образование МДА, таблица 2 (2 и 1), а при 10^{-2} и 10^{-3} М наблюдали возрастание концентрации образования продуктов ПОЛ, таблица 2 (4; 3 и 1)

Действие этанола на эритроцитарную мембрану многофакторно и не сводится к ингибированию реакций ПОЛ вследствие перехвата радикалов. Как известно, этанол вызывает гемолиз эритроцитов при комнатной температуре при концентрациях выше 3,0 М. Гемолиз существенно ингибируется сахарами, что позволяет предполагать его протекание по коллоидноосмотическому механизму. При меньших концентрациях спирта (ниже 1,0 М) гемолиз красных кровяных клеток не наблюдается, а изменяются реологические свойства, текучесть мембран эритроцитов. Поэтому повышение стабильности эритроцитарных мембран к действию УЗ в присутствии этанола вряд ли можно прямо связать с перехватом ОН радикалов.

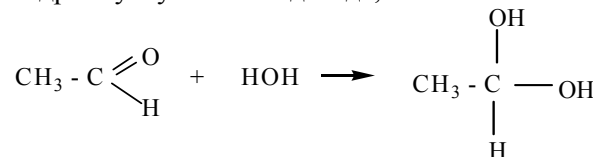
Но наряду с этим сами молекулы спирта находятся в ультразвуковом поле и с ними, могут происходить следующие превращения [4]:



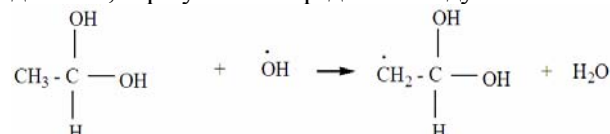
где из полученных двух этоксид радикалов, возможно, получаются ацетальдегид и этанол по реакции



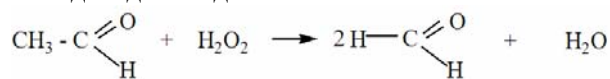
В водной среде возможно образование гидрата уксусного альдегида,



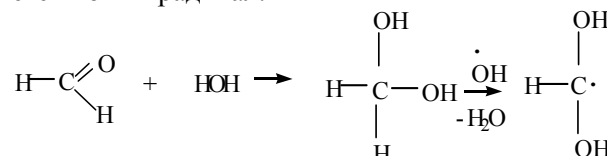
который, взаимодействуя с гидроксильным радикалом, образует новый радикал и воду по схеме:



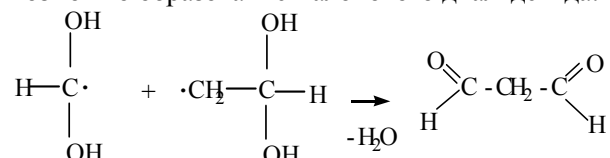
При взаимодействии ацетальдегида с водород пероксидом образуются две молекулы формальдегида и вода:



Формальдегид при взаимодействии с водой образует неустойчивый гидрат, при действии на который гидроксид радикалом образуется новый радикал:



В результате рекомбинации двух радикалов возможно образование малонового диальдегида:



Вероятно, по предлагаемой выше схеме и можно получить малоновый диальдегид в эксперименте при облучении этанола и метанола ультразвуком. Проба облученного этанола при добавлении ТБК, ТХУ и кипячении 15 минут давала розовую окраску с максимумом поглощения на $\lambda = 532$ нм, что соответствует максимуму оптической плотности поглощения малонового альдегида. Оптическая плотность поглощения ТБК-активного продукта при действии ультразвука на спирт пропорционально зависит от длительности действия ультразвука. Для доказательства возможности образования формальдегида облучали по 30 минут этанол и метанол и сразу после облучения смешали равные объемы спиртов и добавили водород пероксид, а также ТБК, ТХУ и кипятили 15 минут. Полученные пробы дали розовую окраску с максимумом поглоще-

ния на $\lambda = 532$ нм. Учитывая вышеприведенный механизм образования МДА можно объяснить данные, представленные в таблице 2 (5 и 6). Результаты данных под номерами 5 и 6, вероятно, и представляют собой ТБК-активный продукт превращения спирта под действием ультразвука. Представленные реакции химического превращения являются предполагаемым механизмом образования малонового диальдегида.

Заключение

В эксперименте получены новые данные об образовании ТБК-активных продуктов из этилового спирта, имеющие поглощение света на длине волны 532 нм, при взаимодействии с АФК, которые возникают в водных растворах под действием ультразвуковых волн. Результаты образования ТБК-активных продуктов подтверждены в эксперименте по защите мембран эритроцитов этанолом от перекисного окисления в ультразвуковом поле и прямым действием ультразвука на растворы этанола. Предложен предполагаемый химический механизм образования ТБК-активного продукта — малонового диальдегида из раствора спирта при взаимодействии с радикалами кислорода в нормальных условиях.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Владимиров, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. — М.: Наука, 1972. — 252 с.

2. Маргулис, М. А. Звукохимические реакции и сонолюминесценция / М. А. Маргулис. — М., 1986. — 260 с.

3. Маргулис, М. А. Основы звукохимии / М. А. Маргулис. — М.: Химия, 1984. — 260 с.

4. Freeman, G. R. Radiation chemistry of ethanol: A review of data on yields, reactions rates parameters and spectral properties of transients / G. R. Freeman // NSRDS-NBS, 1974. — № 48. — P. 56.

5. Hart, E. T. A review of the radiation chemistry of the hydrated electron in aqueous solution / E. T. Hart, J. K. Thomas, S. A. Gordon // Radiat. Res. — 1964. — Vol. 21, № 4. — P. 74–87.

6. Anbar, M. A. Selected specific rates of transients from water in aqueous solution. 1. Hydrated electron / M. A. Anbar, M. B. Ross // NSRDS-NBS, 1973. — № 43. — P. 1–59.

7. Петряев, Е. П. Радиационная химия бифункциональных органических соединений / Е. П. Петряев, О. И. Шадьро. — Минск: Унисерситетское, 1986. — 168 с.

8. Adams, G. E. Pulse radiolysis studies on the oxidation of organic radicals in aqueous solution / G. E. Adams, R. L. Willson // Trans. Faraday Soc. — 1969. — Vol. 65, № 9. — P. 2981–2987.

9. Маргулис, М. А. О механизме многопузырьковой сонолюминесценции / М. А. Маргулис // Журнал физической химии. — 2006. — Т. 80, № 10. — С. 1908–1913.

10. Химия и ультразвук / под ред. А. С. Козьмина. — М.: Мир, 1993. — С. 560.

11. Хенох, М. А. Действие криолиза и ультразвуковых колебаний на растворы актомиозин / М. А. Хенох, Г. П. Пинаев, Е. А. Ковалева // Реакция клеток на экстремальное воздействие. — М.: Изд. АН СССР, 1963. — С. 6–13.

12. Kowalski, H. Biofizyczne efekty oddziaływania polaultradźwiękowego na erytrocyty krwi obwodowej / H. Kowalski // Pol. prz. radiol. — 1986. — Vol. 50, № 3. — P. 147–154.

13. Chatter, S. N. Membrane lipid peroxidation and its pathological consequences / S. N. Chatter, S. Agarwal, A. Kumarjana // Indian J. Biochem and Biophys. — 1988. — Vol. 25, № 1–2. — P. 25–31.

14. Kumat, J. A. Ultrasonic radiation induced lipid peroxidation in liposomal membrane / J. A. Kumat // Radiat. arid Environ. Biophys. — 1986. — Vol. 25, № 4. — P. 303–314.

Поступила 02.08.2012

УДК 616.1.9-055.5

ИЗУЧЕНИЕ МИГРАЦИИ ЭКЗОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. Г. Скуратов, Д. Р. Петренев, А. Н. Кондрачук, С. Л. Ачинович, Б. Б. Осипов

Гомельский государственный медицинский университет
Гомельский областной клинический онкологический диспансер

Цель исследования: изучить миграцию мезенхимальных стволовых клеток, введенных в организм лабораторных животных с индуцированным токсическим гепатитом.

Материалы и методы: лабораторные крысы линии Вистар; CCl_4 -индуцированный токсический гепатит; мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани (выделение, культивирование и окраска флуоресцентным красителем РКН 67); введение меченных мезенхимальных стволовых клеток в организм крыс; флуоресцентная микроскопия криосрезов органов.

Результаты: Анализируя изображения флуоресцентной микроскопии органов крыс, было отмечено присутствие очагов яркой желто-зеленой флуоресценции размером с клетку (предположительно меченных мезенхимальных стволовых клеток) на фоне аутофлуоресценции цитоплазмы клеток зеленоватого цвета и красной флуоресценции ядер. Было выявлено, что распространенность этих очагов по различным органам отличалась. Наибольшая плотность очагов была отмечена в селезенке и в печени при хроническом гепатите. В почках, миокарде, легких в редких случаях отмечались единичные очаги яркой флуоресценции и случаи сомнительно-позитивных элементов.

Заключение: При внутривенном введении меченных мезенхимальных стволовых клеток обнаружены очаги специфической флуоресценции в селезенке у здоровых и больных животных и в печени у крыс с хроническим гепатитом. Это может свидетельствовать о тропности МСК к селезенке и поврежденной печени. Наблюдалась тенденция к увеличению концентрации очагов от 1-х к 5-м суткам наблюдения.

Ключевые слова: крысы линии Вистар, CCl_4 -модель хронического гепатита, мезенхимальные стволовые клетки, флуоресцентная микроскопия.