

MÜXTƏLİF QATILIQDA ZN İONLARININ ERİTROSİT SUSPENZİYASININ ANTİOKSİDANT TUTUMUNA TƏSİRİNİN KİMYƏVİ LÜMİNESENSİYA METODU İLƏ TƏDQIQI

Aytən Poluxova^{1*}, Sevinc Cəfərova², Ruhiyyə Quliyeva², Nərinə Cəfər³

¹Bakı Dövlət Universiteti

²AR ETN Biofizika İnstitutu, Bakı

³MediClub hospital, Bakı

**apoluxova@gmail.com*

Biogen ağır metallar orqanizmin normal fəaliyyəti üçün mikro və daha kiçik miqdarda zəruridir və bioloji proseslərdə koenzim kimi çıxış edirlər [1]. Orqanizm üçün mühüm olan biogen ağır metal Zn-in çatışmazlığı inkişaf etməmiş ölkələrdə əsas qida rasionunda fitatlarla zəngin olan taxıl və paxlalı bitkilərin olması səbəbindən baş verir ki, bu da sink və digər mikroelementlərin udulmasını azaldır [2, 3]. Zn çatışmazlığı yalnız qida ilə əlaqəli deyil, digər səbəblər - alkoqolizm, bağırsaq malasorbisiya sindromu, Zn transferlərin struktur pozulmaları nəticəsində baş verə bilər [4].

Zn-in orqanizmdə bir çox həyati proseslərdə iştirak etməsinə baxmayaraq onun yüksək konsentrasiyası orqanizmə zədələyici təsir göstərə bilər [5]. Bir çox tədqiqatlarda Zn-in orqanizmdəki toksik olan dozalar tədqiq edilib, ancaq onun toksik olmayan normanı aşan dozaların təsiri öyrənilməyib. İnkişaf etmiş ölkələrdə isə qida rasiyonu dolğun olduqda bu tip mineral komplekslərin istifadəsi orqanizmin toxumalarında ağır metalların yüksək miqdarda yığılmasına səbəb olur. Zn-in orqanizmə daxil olması yalnız qida ilə deyil, tənəffüs yolu ilə, dəri ilə təmasda, xüsusən də makiyajdan, günəşdən qoruyucu vasitələrdən və məlhəmlərdən həddindən artıq istifadə edildikdə baş verə bilər [6].

Ağır metalların əksəriyyətinin toksikliyə səbəb olduğu əsas mexanizmlərə ROS əmələ gəlməsi, fermentlərin fəaliyyətinin inhibə edilməsi və antioksidant müdafiə sistemlərinin zəifləməsi daxildir [7, 8]. Ağır metallar antioksidant müdafiə sistemini bağladığı üçün ROS-un balansını pozur. Baxmayaraq ki, belə hadisələr ola bilər, müasir ədəbiyyatlarda bununla bağlı araşdırmalar demək olar ki, yox səviyyəsindədir.

Məqsəd: Yuxardakıları nəzərə alaraq, işimizin məqsədi müxtəlif Zn ionlarının qatılıqları olan mühitdə eritrositlərdə inkubasiyadan sonra sərbəst radikal oksidləşmənin səviyyəsinin dəyişməsinin araşdırılmasıdır.

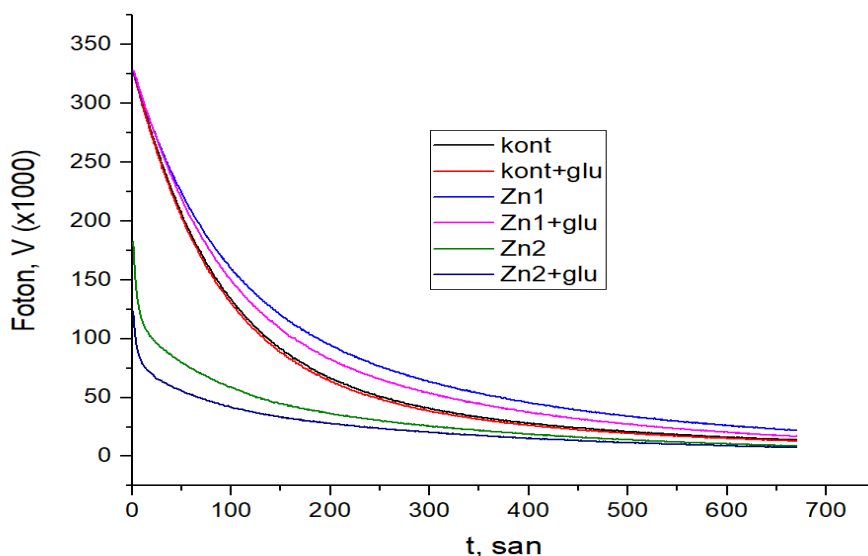
Material və Metodlar: Eritrositlərin antioksidant tutumu (AOT) azoinisiator ABAP-in peroksil radikalları ilə luminolun sərbəst radikal oksidləşməsinə əsaslanan *total reactive antioxidant potentials* (TRAP) üsulu ilə müəyyən edilmişdir [9]. KL intensivliyi daimi qarışdırmaqla və $37 \pm 1^\circ\text{C}$ temperaturda Lum-5773 kimyəvi lüminometrindən istifadə etməklə ölçülmüşdür.

Aşağıdakı tərkibdə bufer (mM) istifadə edilmişdir: $100 \text{ KH}_2\text{PO}_4$ və $100 \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ ($\text{pH } 7.4 \pm 0.05$). Ümumi həcmi 2,26 ml olan reaksiya mühitində 1,84 ml bufer və son qatılığı 1 mM olan 0,02 ml luminol əlavə edilmişdir. Sərbəst radikal oksidləşməni başlatmaq üçün 10 mM son qatılıqda 0,2 ml ABAP əlavə edilmişdir. Luminolun ana-məhlulu distillə suyunda $1,13 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ qatılığında hazırlanmış (luminolun həll edilməsi üçün su əvvəlcə qələviləşdirilmiş, sonra pH 7,4-ə çatdırılmışdır) və $+4^\circ\text{C}$ temperaturda saxlanılmışdır.

Ölçmələrdən dərhal əvvəl luminolun ana-məhlulu distillə suyunda 10 dəfə durulaşdırılmışdır. Küvetə 1,1 ml bufer və 10 μl luminolun işçi məhlulu əlavə edilmişdir. Bu sistemə 10 μl eritrosit suspenziyası əlavə edilmiş, küvet qarışdırıldıqdan sonra kemilüminometrin qaranlıq kamerasına yerləşdirilmişdir. 113 mM qatılıqda ABAP təcrübə günü buferdə həll edilməklə hazırlanmış və buz üzərində saxlanılmışdır. 37°C -yə qədər qızdırıldıqda, ABAP luminol ilə qarşılıqlı əlaqədə olduqda peroksil radikallarının meydana gəlməsi ilə parçalanır və bu KL-yə səbəb olur. KL platoya çıxması peroksil radikallarının əmələ gəlməsi üçün stasionar qatılıqda olduğunu göstərir.

Təcrübədə eritrosit suspenziyaları 0,2 mmol/L ZnCl_2 və 1,5 mmol/L ZnCl_2 qatılıqlı mühitdə inkubasiya olunub və nümunələrə 3,6 mM qlutation əlavə edilib.

Öldə olunan nəticələr: Alınan nəticələr aşağıdakı şəkil və cədvəldə göstərilib.



Şəkil. Eritrosit lizatında antioksidant tutumunun dəyişməsinin kimyəvi lüminessensiya metodu ilə tədqiqi

ABAP-lüminol-eritosit lizati sisteminə qlutationun əlavəsinin kimyəvi lüminessensiyanın kinetikasına təsiri

Nümunələr	S, foton	S _{dx}	v, foton/san	J, Foton *san (450san)
Kontrol/GSH	44534/43168	74,10/71,9	98,96/95,93	20040,30*10 ³ 19425,60 *10 ³
Zn ₁ /Zn ₁ + GSH	56776/51417	95,30/86,2	126,17/114,26	25549,20*10 ³ 23137,65*10 ³
Zn ₂ /Zn ₂ + GSH	21849/16415	30,50/33,81	48,55/36,48	9832,05*10 ³ 7386,75*10 ³

Müzakirə: Qlutationun təsirsiz nümunəyə əlavə edilməsi foton sayını demək olar ki dəyişmir. Zn₁ dozada qlutationun əlavə edilməsi 10% antioksidant tutumunu azaltmış bu da sərbəst radikalların foton sayında artmasında əks olundu. Yüksək dozada Zn₂ antioksidant tutumunun 33% azalması, eyni zamanda sərbəst radikalların platoya çıxma səviyyəsi (daha az foton sayı nümayiş etməsi) destruktiv dəyişiklərin artmasını təsdiq edir.

Ədəbiyyat siyahısı:

1. Narjala R. J. Heavy Metal Sources and Their Effects on Human Health. Chapters, in: Mazen Nazal & Hongbo Zhao (ed.), Heavy Metals – Their Enviromental Impacts and Mitigation, IntechOpen. 2021.
2. Gupta S., Brazier A.K.M., Lowe N.M. Zinc deficiency in low- and middle-income countries: prevalence and approaches for mitigation. J. Hum Nutr. Diet., 2020, v. 33, № 5, p. 624-643.
3. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Zinc. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, D.C.: National Academy Press; 2001, p. 442-501.
4. Bonaventura P., Benedetti G., Albarède F., Miossec P. Zinc and its role in immunity and inflammation. Autoimmun Rev., 2015, v. 14, № 4, p. 277-85.
5. Grzeszczak K., Kwiatkowski S., Kosik-Bogacka D. The Role of Fe, Zn, and Cu in Pregnancy. Biomolecules, 2020, v. 10, № 8, p. 1176.
6. <https://www.statpearls.com/ArticleLibrary/viewarticle/31470>
7. Sharifi-Rad M., Anil Kumar N.V., Zucca P., et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. Front. Physiol., 2020, v. 11, p. 694.
8. Ohiagu F.O., Chikezie P.C., Ahaneku C.C., et al. Human exposure to heavy metals: toxicity mechanisms and health implications. Material Sci & Eng., 2022, Vol. 6, № 2, p. 78-87.
9. Алексеев А.В., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Определение Антиоксидантов Методом Активированной Хемилюминесценции С Использованием 2,2'-Азо-Бис(2-Амидинопропана). Вестн. Моск. Ун-Та. Сер. 2. Химия, 2012, Т. 53, № 3, с. 187-193.