

БІОЛОГІЯ

© В. В. Гавриляк

УДК 611.781:616.594.1.

В. В. Гавриляк

КОНЦЕНТРАЦІЯ СУЛЬФУРОВМІСНИХ СПОЛУК, ТИРОЗИНУ І ТРИПТОФАНУ У ВОЛОСІ ЛЮДИНИ ЗА ДІЇ ХІМІЧНОГО СТРЕСУ

Інститут біології тварин НААН (м. Львів)

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Вивчити регуляторні механізми біосинтезу продукції вівчарства», № державної реєстрації 0110U004171.

Вступ. Загальновідомо, що волос – це біополімер, понад 90% сухої маси якого становить білок-кератин. Характерною особливістю кератинів, яка відрізняє їх від інших структурних протеїнів, є високий вміст Сульфуру, переважно у вигляді цистину, концентрація якого змінюється у межах 13–18%, і забезпечує стабільність кератину шляхом формування поперечних дисульфідних зв'язків між поліпептидними ланцюгами. Аналіз літературних даних свідчить про те, що більшість хімічних і косметологічних обробок кератину ґрунтуються саме на модифікації дисульфідних зв'язків, які змінюють властивості волоса і можуть призводити до його пошкодження [3, 10].

Сульфуровмісні та ароматичні амінокислоти кератину беруть активну участь у вільнорадикальних процесах, зокрема сульфуровмісні сполуки взаємодіють з активною формою кисню і перекисними радикалами завдяки сульфгідрильним групам [6–8]. Акцептування активних форм кисню також може бути пов'язане із аміногрупами. Так, окиснення триптофану супроводжується деструкцією індольного кільця із утворенням N-формілкінуреніну та кінуреніну [5].

Мета дослідження полягала у вивченні концентрації сульфуровмісних сполук, а також амінокислот тирозину і триптофану у волоссі за умов хімічного стресу, викликаного обробкою пероксидом водню за підвищеного рН.

Об'єкт і методи дослідження.

Дослідження проводили на зразках натурального нефарбованого волосся жінок із середнім діаметром близько 70 мкм, довжиною 10 см. Пучки волосся масою 5 г промивали в 1% розчині додецилсульфату натрію, споліскували деіонізованою водою та висушували за кімнатної температури.

Хімічний стрес моделювали шляхом обробки зразків волосся у відбілювальному розчині

(співвідношення розчину до волокна становить 50:1) при 37 С протягом 30, 60, 90 хв. Відбілювальний розчин отримували шляхом змішування розчину А (10 г сечовини, 7 г NaCl, 12 мл аміаку (28%), розчинені у 100 мл деіонізованої води) і розчину В (17,1 мл H₂O₂ і 82,9 мл деіонізованої води) у рівних пропорціях. Після обробки зразки волосся промивали деіонізованою водою і сушили за кімнатної температури. Порівнювали інтактне волосся і волосся, хімічна обробка якого тривала 30, 60 і 90 хв.

Вміст загальної сірки у волоссі визначали за методом, описаним у [1]. Концентрацію цистину та цистеїну оцінювали за утворенням комплексу голубого кольору між цистеїном та фосфорно-9-вольфрамовою кислотою, а вміст SH-груп за реакцією із реактивом Еллмана [1]. Вміст тирозину визначали в реакції з ферроціанідом та 4-аміноантипірином та виражали у г/100 г, а вмісту триптофану – за кольоровою реакцією з п-диметиламінобензальдегідом [1]. Отримані цифрові дані опрацьовували статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL та Origin Pro 8. 5. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента (t). Розбіжності вважали статистично вірогідними при P<0,05.

Результати досліджень та їх обговорення.

У результаті проведених досліджень встановлено зміни у балансі сульфуровмісних сполук кератину волоса за дії хімічного стресу порівняно з інтактним волоссям (**табл.**).

Аналіз отриманих результатів свідчить про нижчий рівень цистину у хімічно обробленому волоссі, причому найбільше зниження його (на 8,5%) спостерігалось після 90-хвилинної обробки. Стосовно вмісту цистеїну та сульфгідрильних груп відмічали

Таблиця

Вміст сульфуровмісних сполук у волоссі людини за дії хімічного стресу, (M ± m; n = 5)

| Показник | Тривалість хімічної обробки, хв | | | |
|----------------------------|---------------------------------|-------------|---------------|---------------|
| | 0 | 30 | 60 | 90 |
| Загальний Сульфур, г/100 г | 6,31±0,25 | 6,18±0,17 | 6,24±0,27 | 6,28±0,20 |
| Цистин, г/100 г | 15,34±0,39 | 14,31±0,30 | 14,44±0,13 | 14,03±0,17* |
| Цистеїн, г/100 г | 0,35±0,01 | 0,41±0,02* | 0,45±0,02** | 0,53±0,02*** |
| SH-групи, мкмоль/г | 28,54±1,06 | 33,74±1,31* | 37,25±1,26*** | 43,47±1,44*** |

Примітка: вірогідні різниці показників при хімічній обробці порівняно до інтактного волокна:

* – P≤0,05, ** – P≤0,01, *** – P≤0,001.

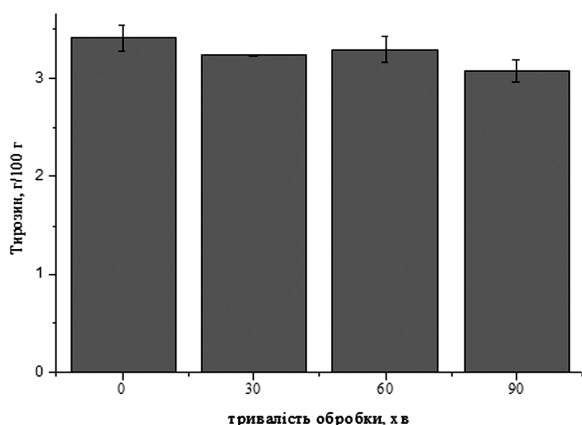


Рис. 1. Вміст тирозину залежно від тривалості хімічної обробки волоса людини, %, $M \pm m$, $n=5$. * – відмінності між обробленими і інтактними зразками статистично вірогідні ($P \leq 0,05-0,001$).

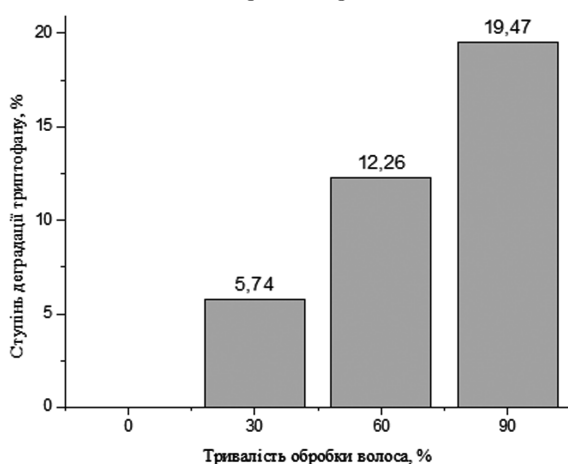
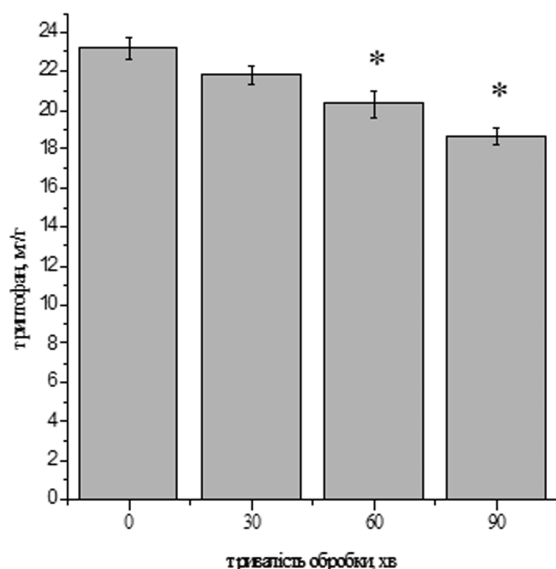


Рис. 2. Вміст триптофану та ступінь його деградації в залежності від тривалості хімічної обробки волоса людини, мг/г, $M \pm m$, $n=5$. * – відмінності між обробленими і інтактними зразками статистично вірогідні ($P \leq 0,05-0,001$).

протилежну картину: збільшення тривалості хімічної обробки супроводжувалося вірогідним підвищенням як концентрації цистеїну, так і сульфгідрильних груп, що вказує на гідроліз дисульфідних зв'язків у кератині волоса.

Отже, хімічний стрес, викликаний дією пероксиду водню при підвищеному рН, призводить до окиснення цистину, в результаті чого можуть утворюватися такі сполуки, як лантйонін та цистеїнова кислота, тобто виникають процеси, які, ймовірно, призводять до формування нових тіоєфірних зв'язків. Очевидно, саме цим можна пояснити той факт, що загальна кількість Сульфуру у волоссі залишається практично без змін.

Варто зазначити, що механізм окиснення цистину може бути різним: за дії хімічних чинників відбувається розрив S-S зв'язку, тоді як при фотопшкодженні кератину ультрафіолетовим чи видимим світлом руйнується C-S зв'язок [2, 8].

Відомо, що найбільш стійкими до дії різноманітних факторів на кератинові волокна є амінокислоти простої будови, тоді як амінокислоти складнішої будови (тирозин, триптофан, гістидин, метіонін і т. д.) є більш чутливими до пошкодження. У зв'язку з цим, ми аналізували вміст тирозину. Як свідчать дані, представлені на **рисунку 1**, статистично вірогідних змін між хімічно обробленим та інтактним волоссям не відмічено.

Літературні дані свідчать, що триптофан, який міститься у кутикулі і кортексі волоса, легко деградує під впливом ультрафіолетового світла і є своєрідним індикатором фотопшкодження волоса [9]. Тому доцільним було визначення вмісту цієї амінокислоти при хімічній обробці волоса (**рис. 2**).

У результаті проведених досліджень встановлено вірогідне зменшення вмісту триптофану у кератині, причому ступінь його деградації прямо пропорційний тривалості хімічної обробки. Подібні результати отримали автори [4], які спостерігали зниження рівня триптофану у волоссі людини при хімічній обробці, ультрафіолетовому опроміненні та їх поєднаній дії.

Висновки.

1. Хімічний стрес, викликаний обробкою волоса людини пероксидом водню при підвищеному рН, супроводжується змінами у балансі сульфуровмісних сполук. Показано, що із збільшенням тривалості обробки вміст цистину зменшується, а концентрація цистеїну та сульфгідрильних груп підвищується, що свідчить про деструкцію дисульфідних зв'язків кератину.

2. Встановлено, що ступінь деградації триптофану прямо пропорційний тривалості обробки. Вірогідних змін щодо вмісту сульфуру та тирозину не виявлено.

3. Найістотніші зміни у складі сульфуровмісних сполук, тирозину і триптофану зафіксовано при 90-хвилинній хімічній обробці волоса.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно провести дослідження змін у структурних ліпідах кератину волоса за дії хімічного стресу.

Література

1. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін. ; за ред. В. В. Влізла – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 764 с.
2. Akiyama Y. Effect of oxidation stress on the mechanical property of human hair /Y. Akiyama, Y. Doi, Y. Matsue [et al.] // The eighth IASTED International Conference on biomedical Engineering, Biomed. – 2011. – P. 151–155.
3. Chandrashekhara M. N. Chemical and photochemical degradation of human hair: A free-volume microprobe study / M. N. Chandrashekhara, C. Ranganathaiah // Journal of Photochemistry and Photobiology B : Biology. – 2010. –Vol. 101. – P. 286–294.
4. Daud F. S. Comparative evaluation of photo-protective effect of Aloe vera Tourn. Ex Linn. On UV damage in different Asian hair types / F. S. Daud, S. B. Kulkarni // Indian Journal of Natural Products and Resources. – 2011. – Vol. 2 (2). – P. 179–183.
5. Dyer J. M. Characterisation of photo-oxidation products within photoyellowed wool proteins: tryptophan and tyrosine derived chromophores / J. M. Dyer, S. D. Bringans, N. Bryson // Photochem. Photobiol. Sci. – 2006. – Vol. 5. – P. 698–706.
6. Katritzky A. R. ¹H and ¹³C NMR spectroscopic study of oxidation of D, L-cystine and 3,3'-dithiobis(propionic acid) with hydrogen peroxide in aqueous solution / A. R. Katritzky, N. G. Akhmedov, O. V. Denisko // Magn. Reson. Chem. – 2003. – Vol. 41. –P. 37–41.
7. Lee W. S. Photoaggravation of hair aging /W. S. Lee // Int. J. of Trichology. – 2009. – Vol. 1 (2). – P. 94–99.
8. Robbins C. R. Chemical and physical behavior of human hair /C. R. Robbins – New York, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. – 2012. – 724 p.
9. Signori V. Review of the current understanding of the effect of ultraviolet and visible radiation on hair structure and potions for photoprotection /V. Signori // J. Cosm. Sci. – 2004. –Vol. 55 (1). – P. 100–112.
10. Wolfram L. J. Human hair: A unique physicochemical composite /L. J. Wolfram //J. Amer. Acad. Derm. – 2003. – Vol. 48 – P. S106–114.

УДК 611. 781:616. 594. 1.

КОНЦЕНТРАЦІЯ СУЛЬФУРОВМІСНИХ СПОЛУК, ТИРОЗИНУ І ТРИПТОФАНУ У ВОЛОСІ ЛЮДИНИ ЗА ДІЇ ХІМІЧНОГО СТРЕСУ

Гавриляк В. В.

Резюме. У статті представлено результати дослідження впливу хімічного стресу на концентрацію сульфуровмісних сполук, тирозину і триптофану у кератині волоса людини. Показано зміни у балансі сульфуровмісних сполук, які залежать від тривалості хімічної обробки, зокрема зниження рівня цистину та підвищення концентрації цистеїну та сульфгідрильних груп. Установлено, що ступінь деградації триптофану прямо пропорційний тривалості обробки волоса. Вірогідних змін щодо вмісту сульфуру та тирозину не виявлено. Найістотніші зміни у складі сульфуровмісних сполук, тирозину і триптофану зафіксовано при 90-хвилинній хімічній обробці волоса.

Ключові слова: волос, кератин, сульфуровмісні сполуки, тирозин, триптофан, хімічна обробка.

УДК 611. 781:616. 594. 1.

КОНЦЕНТРАЦІЯ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ, ТИРОЗИНА И ТРИПТОФАНА В ВОЛОСАХ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ХИМИЧЕСКОГО СТРЕССА

Гавриляк В. В.

Резюме. В статье представлены результаты исследования влияния химического стресса на концентрацию серосодержащих соединений, тирозина и триптофана в кератине волоса человека. Показаны изменения в балансе серосодержащих соединений, которые зависят от продолжительности химической обработки, в частности снижение уровня цистина и повышение концентрации цистеина и сульфгидрильных групп. Установлено, что степень деградации триптофана прямо пропорциональна длительности обработки волоса. Содержание серы и тирозина в кератине не изменялось. Наиболее значимые изменения зафиксированы в балансе серосодержащих соединений, тирозина и триптофана после 90-минутной химической обработки.

Ключевые слова: волос, кератин, серосодержащие соединения, тирозин, триптофан, химическая обработка.

UDC 611. 781:616. 594. 1 .

Concentration of Sulfur-Containing Compounds, Tyrosine and Tryptophan in Hair under the Action of Chemical Stress

Havrylyak V.

Summary. It is well known that hair is composed by approximately 90% proteins (dry weight) – keratins. Characteristic feature of keratins that differs them from other structural proteins are high content of sulfur, mainly as cystine, whose concentration varies within 13-18%. A large amount of disulfide bonds between polypeptide chains stabilizes the structure of keratin. Analysis of the literature data indicates that most chemical and cosmetic treatments are based on keratin disulfide bonds modifications that alter the properties of the hair and can cause damage to it.

Sulfur and aromatic amino acids of keratin are actively involved in free radical processes and interact with the active oxygen compounds. Acceptance of reactive oxygen species may be associated with SH- or amino groups.

The goals of our study were to design the chemical stress and to determine the changes in sulfur-containing compounds, tyrosine and tryptophan of human hair.

For the experiment unprocessed hair samples were used. Chemical stress was performed by sample immersion into bleaching solution with a liquid to fiber ratio of 50:1 at 37°C for 30, 60, 90 min. Bleaching solution was prepared by mixing of solution A and solution B in equal proportions. Solution A contained 10 g urea, 7 g NaCl, 12 ml ammonia (28%) diluted in 100 ml de-ionized water. Solution B (6% H₂O₂) contained 17,1 ml H₂O₂ and 82,9 ml de-ionized water. After treatment the hair samples were washed with de-ionized water and dried in room temperature.

The different groups of samples such as intact human hair and hair treated with bleaching solution during 30, 60, 90 min were compared.

The obtained results indicate the changes in the balance of sulfur-contained compounds in hair under the actions of chemical stress compared with intact hair. Analysis of sulfur-contained compounds shows a lower level of cystine in chemically treated hair. The greatest decrease of cystine content (on 8.5%) was observed after 90-minute treatment. It was established increase the concentration of cysteine and SH-groups, indicating the hydrolysis of disulfide bonds in keratin.

Chemical stress caused by the hydrogen peroxide at high pH leads to oxidation of cystine. Oxidative destruction of disulfide cross-link in hair fibers is accompanied by formation of lanthionin and cysteic acid. As a result a new thioester bonds can form in keratin and may be the reason that the sulfur content of hair was unchanged.

It is known that the most resistant to the influence of various factors on the keratin fibers are simple amino acid, whereas the amino acid of complex structure (tyrosine, tryptophan, histidine, methionine, etc.) are more susceptible to damage. In this regard, we analyzed the content of tyrosine and tryptophan.

It was found that statistically significant changes of tyrosine content between the intact and chemically treated hair are not observed.

The decrease of tryptophan content in keratin was determined. It was established that the degree of tryptophan degradation depends on the duration of chemical treatment.

It was concluded that the most significant changes in sulfur-contained compounds, tyrosine and tryptophan were fixed after 90 minute of chemically treatment of human hair.

Key words: hair, keratin, sulfur-contained compounds, tyrosine, tryptophan, chemical treatment.

Рецензент – проф. Дубінін С. І.

Стаття надійшла 17. 09. 2013 р.