

моделі. Можна припустити, що порушення у функціонуванні вищезгаданого ферменту можуть бути пов'язані зі змінами у фосфоліпідному складі мембран [7], як це було показано раніше нашими дослідженнями, зокрема у вмісті фосфатидилсерину (ФС), який є одним з трьох (ДАГ, Ca^{2+} , ФС) кооперативних регуляторів ПК-С. Попереднє внутрішньошлункове введення тваринам препарату меланіну підвищувало активність Ca^{2+} , фосфоліпідзалежної протеїнази у 2 рази.

Цікаві дані було отримано під час визначення активності тирозинової при розвитку аспіринової виразки. Установлено суттєве зниження її активності. Можливою причиною зміни активності цієї кінзи може бути посилення синтезу інтерлейкінів, які, як відомо, інтенсифікуються при утворенні виразки шлунка. Відомо, що саме ці біологічноактивні сполуки відіграють суттєву роль у регуляції тирозинових кінз. Попереднє внутрішньошлункове введення тваринам препарату меланіну сприяло підвищенню активності тирозинової протеїнази до контрольних значень.

Висновки. Наведені експериментальні дані дають підстави передбачати залучення досліджуваних систем

фосфорилювання до біохімічних подій, які порушуються за умов розвитку виразки шлунка. Уведення меланіну призводить до нормалізації досліджуваних процесів, що, можливо, є пов'язаним з підвищенням резистентності слизової оболонки шлунка, яке відбувається за рахунок зменшення деградації гелевого шару, і приводить до гальмування структурно-функціональних пошкоджень мембран слизової оболонки шлунка щурів, викликаних аспірином.

1. Lincoln T.M., Dills W. L. // J. Biol. Chem. – 1987. – Vol. 241. – P. 4408–4412.
2. Гривенников И.А., Булгарина Т.В., Северин Е.С. цАМФ-зависимые протеинкиназы. Свойства, регуляция и биологическая роль // Функционпная активность ферментов и пути ее регуляции / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Кочеткова. – М., 1981. – С. 30–58.
3. Tytgat G.N. // J. Treatment of Peptic Ulcer. // Digestion. – 1998. – Vol. 59. – P. 44652–44655.
4. Остапченко Л.И., Протас А.Ф., Кучеренко Н.Е. // Радиобиология – 1986. – Т. 26, № 6. – С. 761–765.
5. Boutin J.C. // J. of Chromatogr. – 1996. – Vol. 684. – P. 179–199.
6. Складов О.Я. Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. – Харків, 1993.
7. Mire A., Hoffman A. Biochim. // Et biophys. acta. – 1993. – Vol. 77. – P. 7208–7212.

Надійшла до редколегії 08.10.04

УДК 577.115.346

Л.І. Степанова, канд. біол. наук, А.В. Клепко, канд. біол. наук, І.І. Ромась, провід. інж., О.А. Лапоша, асп., Л.В. Левченко, асп.

ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЯ ТА АНТИОКИСНЮВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ АПІКАЛЬНОЇ МЕМБРАНИ ЕНТЕРОЦИТІВ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ

Досліджено вміст продуктів ПОЛ в апікальній мембрані ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки через 24 год після дії іонізуючої радіації в дозах 0,1–6,0 Гр. Найбільше змінюється в мембранах вміст малонового діальдегіду та його кількість у присутності Fe^{2+} -аскорбат за дії іонізуючої радіації в дозах 1,0; 2,0; 3,0 і 6,0 Гр. Одночасно спостерігається пригнічення активності антиокисної системи.

Lipid peroxidation products content in small intestine mucous apical membrane in 24 hour after ionizing radiation action at dose 0,1–6,0 Gy was investigated. Total amount and Fe-ascorbat depend formation of malonic dialdehyde change in membrane after ionizing radiation action in doses 1,0; 2,0; 3,0 and 6,0 Gy the most. At the same time antioxidative system activity depression is observed, which state estimated on definition of rate and oxidizing inhibition constants.

Вступ. Відомо, що універсальною реакцією на дію іонізуючої радіації є активація процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) мембран [1]. Мембрани і компоненти, що містять ненасичені жирні кислоти та їхні залишки, здатні пошкоджуватися активними формами кисню й вільними радикалами. Відомо також, що регуляція реакції ПОЛ у мембранних структурах досягається за рахунок узгодженого функціонування ферментних і неферментних механізмів, порушення яких викликає зміни вільнорадикального окиснення ліпідів [2]. Установлені зміни ліпідного та жирнокислотного складу мембран ентероцитів тонкої кишки за дії іонізуючої радіації вказують на можливість активації процесів ПОЛ [3]. З метою перевірки цього припущення нами досліджено стан процесів ПОЛ після дії іонізуючої радіації на підставі оцінки вмісту дієнових кон'югатів (ДК), малонового діальдегіду (МДА), шифових основ (ШО) та антиокиснювальної активності (АОА).

Об'єкт і методи досліджень. Дослідження були проведені на білих безпородних щурах-самцях, вагою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Опромінювання проводили на апараті РУМ-17 (потужність дози в повітрі 0,17 Гр/хв, фільтри 0,5 мм Си і 1 мм Al, сила струму 5 мА, напруга 200 кВ, шкірно-фокусна відстань – 50 см). Експериментальних тварин розділяли на сім груп. Перша – контрольні тварини. Щурів інших груп піддавали дії рентгенівського опромінювання в дозах 0,1; 0,4; 1,0; 2,0; 3,0 та 6,0 Гр відповідно. Через 24 год після дії радіації отримували

препарати апікальної мембрани (АМ) ентероцитів з контрольних і опромінених тварин за методикою, описаною в роботі [4] з незначними модифікаціями. Вміст білка визначали за методом Лоурі та співавт. Відносний вміст ДК оцінювали спектрофотометрично за відношенням оптичної щільності кон'югованих ($\lambda=233$ нм) та ізованих ($\lambda=218$ нм) подвійних зв'язків у мембранних екстрактах: E_{233}/E_{218} [5]. Кількість МДА визначали за методом [6], який заснований на реакції МДА з тіобарбітуровою кислотою до і після інкубації в системі Fe^{2+} -аскорбат. Вміст ШО оцінювали за інтенсивністю флюоресценції при довжині хвилі збудження $\lambda=365$ нм і флюоресценції $\lambda=435$ нм. Визначення АОА проводили за методом [7], заснованим на дослідженні кінетики окиснення відновленої форми 2,6-дихлорфеноліндофенолу натрію киснем повітря в присутності та відсутності досліджуваного препарату. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стюдента.

Результати та їх обговорення. Активація процесів ПОЛ є універсальною реакцією на дію іонізуючої радіації. Порушення в системі регуляції процесів ПОЛ викликає зміни вільнорадикального окиснення ліпідів [8]. Стан процесів ПОЛ після дії іонізуючої радіації в дозах 0,1; 0,4; 1,0; 2,0; 3,0 і 6,0 Гр в АМ ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки оцінювали за вмістом ДК, МДА, ШО та дослідженням антиокиснювальної активності.

Установлено, що вміст ДК суттєво не змінюється після дії іонізуючої радіації в досліджуваних дозах. Відомо,

що при вільнорадикальному окисненні відбувається міграція подвійних зв'язків у переважній більшості полієнових ацилів. Разом з тим, процес пероксидного окиснення з утворенням гідропероксидів може проходити й без зміни локалізації подвійних зв'язків. Таким чином, пероксидне окиснення може відбуватися і без збільшення вмісту ДК.

Розпад гідропероксидів, незалежно від механізму утворення, супроводжується утворенням вторинних продуктів ПОЛ типу МДА, які визначали в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою – ТБК-активні продукти. Саме за вмістом ТБК-активних продуктів в АМ ентеро-

цитів слизовій оболонці тонкої кишки й оцінювали кількість МДА. Аналіз проведених досліджень свідчить (табл. 1), що загальний вміст МДА збільшується після дії іонізуючої радіації в дозах 1,0; 2,0; 3,0 та 6,0 Гр у середньому на 31, 50, 56 і 69 % відповідно. За рахунок зменшення мікрів'язкості мембран може відбуватися Fe^{2+} -аскорбатзалежне підвищення рівня МДА [9]. Дійсно, у препаратах АМ, отриманих із тварин після опромінення в дозах 1,0; 2,0; 3,0 і 6,0 Гр, вміст МДА підвищується в середньому на 22, 32, 41 і 64 % відповідно.

Таблиця 1. Вміст продуктів ПОЛ в апікальній мембрані ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки щурів після дії іонізуючої радіації, ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови досліджу		Дієнові кон'югати, (A_{233}/A_{218})	Малоновий діальдегід, нмоль/мг білка		Шиффові основи, відн. од.
			-Fe-аскорбат	+Fe-аскорбат	
контроль		$0,92 \pm 0,08$	$0,16 \pm 0,01$	$2,23 \pm 0,21$	1,0
Доза, Гр	0,1	$0,90 \pm 0,07$	$0,17 \pm 0,02$	$2,31 \pm 0,20$	$1,05 \pm 0,04$
	0,4	$0,88 \pm 0,06$	$0,16 \pm 0,03$	$2,52 \pm 0,23$	$1,08 \pm 0,04$
	1,0	$0,85 \pm 0,05$	$0,21 \pm 0,02^*$	$2,74 \pm 0,24^*$	$1,10 \pm 0,03$
	2,0	$0,82 \pm 0,06$	$0,24 \pm 0,03^*$	$2,90 \pm 0,27^*$	$1,13 \pm 0,04$
	3,0	$0,80 \pm 0,07$	$0,25 \pm 0,02^*$	$3,12 \pm 0,30^*$	$1,15 \pm 0,04$
	6,0	$0,76 \pm 0,08$	$0,27 \pm 0,03^*$	$3,65 \pm 0,34^*$	$1,17 \pm 0,05$

* $P \leq 0,05$ відносно контролю

Кінцевим продуктом ПОЛ є утворення ШО внаслідок взаємодії вторинних продуктів ПОЛ з фосфоліпідами та білками, які містять вільні аміногрупи. Оцінку вмісту ШО в АМ ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки проводили за визначенням інтенсивності їхньої флуоресценції. Аналіз результатів дослідження свідчить про те, що за умов досліджень спостерігається незначне збільшення вмісту ШО. Лише після дії іонізуючої радіації в дозі 6,0 Гр вміст ШО підвищується в середньому на 17 %. Це може призводити до змін білок-ліпідних взаємодій і заміни їх на білок-білкові, що сприяє агрегації молекул білка.

Захист ліпідів мембран від надмірного накопичення продуктів ПОЛ виконує антиокиснювальна система. Інтегральною характеристикою функціонування цієї системи є її загальна антиокиснювальна активність, яку для АМ оцінювали за величиною константи інгібування окиснення 2,6-дихлорфеноліндофенолу натрію у присутності препаратів АМ. Установлено, що константа швидкості окиснення суттєво не змінюється після дії досліджуваних доз, спостерігається лише тенденція до її збільшення. У той же час константа інгібування окис-

нення вірогідно збільшується лише після іонізуючої радіації в дозі 3,0 і 6,0 Гр у середньому на 15 і 19 % відповідно.

Висновки. Отримані результати свідчать, що в мембранах ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки за дії іонізуючої радіації відбувається зрушення у функціональній активності окисдантно-антиоксидантної системи, причиною чого може бути модифікація окремих її ланок, що потребує подальшого дослідження.

1. Барабой В.А. Перекисное окисление липидов и радиация. – К.: Наукова думка, 1991. 2. Stange E.F., Preclik G., Schneider A. et al. // Biochim. et biophys. acta. – 1981. – Vol. 663, № 3. – P. 613 – 620.
3. Степанов Ю.В., Степанова Л.И., Войццицкий В.М., Кучеренко М.Е. // Украинский биохимический журнал. – 1999. – Т. 71, № 1. – С. 48–52.
4. Цвилюховський Н.И., Усатюк Г.В., Мельничук Д.А. // Укр. биохим. журнал. – 1988. – Т. 60, № 6. – С. 91–94. 5. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии. – М., 1977. 6. Куклей М.П., Стволинский С.П., Шаврацкий В.Х., Шатрова Ю.В. // Нейрохимия. – 1995. – Т. 12, № 2. – С. 28–35. 7. Семенов В.А., Ярош А.М. // Укр. биохим. журнал. – 1985. – Т. 57, № 3. – С. 50–52. 8. Владимиров Ю.А. // Биофизика. – 1987. – Т. 32, вып.5. – С. 830–841. 9. Stange E.F., Preclik G., Schneider A. et al. // Biochim. et biophys. acta. – 1981. – Vol. 663, № 3. – P. 613– 620.

Надійшла до редколегії 10.09.04.

УДК.577.346:616.438

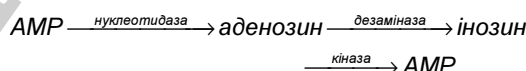
С.П. Імедадзе, провід. інж., А.В. Майданюк, канд. біол. наук,
І.К. Кисельова, інж.

ВИЗНАЧЕННЯ КІНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ 5'-НУКЛЕОТИДАЗНОЇ РЕАКЦІЇ ТИМУСА ЩУРІВ

Визначено кінетичні показники (K_m , V_{max}) 5'-нуклеотидази гомогенату тимусу щурів.

The kinetic parameters (K_m , V_{max}) of 5'-nucleotidase of rat thymus homogenate are estimated.

На мембранозв'язані ферменти впливає стан ліпідного матриксу, передусім в'язкість ліпідного компоненту мембрани й концентрація продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів. Одним з таких ферментів є 5'-нуклеотидаза (К.Ф. 3.1.3.5; 5'-рибонуклеотидфосфогідролаза). Це ліпідзалежний фермент плазматичної мембрани клітин, каталітична активність якого полягає в гідролізі АМР з утворенням аденозину.



Особливе значення 5'-нуклеотидази пов'язане з пригніченням пуринового метаболізму при імунodefіцїтних станах. Недостатність 5'-нуклеотидази тимусу та інших лімфоїдних органів супроводжується значним зниженням аденозину, що викликає порушення функцій Т- і В-лімфоцитів. У зв'язку з тим, що зміну концентрації аденозину розглядають як регуляторний фактор для багатьох важливих фізіологічних процесів (ліполіз, регуляція кровотоку та ін.), функціональний стан 5'-нуклеотидази та його регуляція зумовлюють значний інтерес до вивчення цього ферменту.

© С.П. Імедадзе, А.В. Майданюк, І.К. Кисельова, 2005