

У групі чоловіків під час першого проходження тесту ефект Струпа також був отриманий для реакцій лівої руки (рис.). Міжпівкульна асиметрія фактично не представлена, оскільки про неї можна судити лише за відмінностями однотипних (конгруентних або неконгруентних) подразників для правої та лівої руки. Розкид значень, на відміну від жінок, не відрізняється від наступних тестів, що може свідчити про менше напруження чоловіків під час врацьовування. Під час проходження наступних тестів ефект Струпа виражений або лише справа, або зліва, а міжпівкульна асиметрія виражена значно менше, ніж в групі жінок. Так, під час проходження тестів 2 і 4 отримані відмінності для конгруентних і неконгруентних подразників відповідно (рис., позначення відмінностей над стовпчиками), а під час виконання тесту 3 вони відсутні взагалі. Отже, під час проходження даних тестів у чоловіків функціональна асиметрія, як і ефект Струпа, виражені значно менше, ніж у жінок.

Як під час дослідження оперативної пам'яті [2], так і під час дослідження ефекту Струпа, нами отримані аналогічні результати, які вказують на більшу латералізацію мозку жінок із переважанням активації лівої півкулі у порівнянні із мозком чоловіків. Наші результати узгоджуються із даними, отриманими із застосуванням фМРТ, за якими під час дослідження оперативної пам'яті у чоловіків спостерігалась або білатеральна активація мозку, або правопівкульне домінування, тоді як у жінок виявилась активація переважно лівої півкулі [7]. Мозок чоловіків більше латералізований за своєю природою, і тому, ймовірно, інформаційні процеси протікають в ньому із залученням більшою мірою паралельних нейронних мереж у порівнянні з мозком жінок, півкулі якого більше зв'язані між собою, що і веде до сильнішої інтерференції інформаційних процесів. Ймовірно, функціональна латералізація мозку жінок пов'язана із типом навантаження, застосованим в наших тестах, які включають вербальні подразники: сильніша вербалізація → сильніше втручання вербальної інформації в оброблення інформації про колір → більше виражений ефект Струпа. В принципі, отримані результати можна розглядати як експериментальне підтвердження відомої думки про те, що "жінки люблять вухами". З іншого боку, наші результати не узгоджуються із відомостями про те, що більші розміри мозолистого тіла (а, за більшістю даних, у жінок воно більше) ведуть до меншої

інтерференції і меншої функціональної латералізації [10]. Розбіжності можуть бути пов'язані з тим, що авторами досліджувалась інша сенсорна модальність та була застосована інша методика (дихотичне прослуховування). Зважаючи на це, хоча отримані нами результати і вказують на більшу латералізацію мозку жінок у порівнянні з мозком чоловіків під час функціонального навантаження, вони потребують подальших досліджень. Також в наступних публікаціях ми плануємо представити результати ефективності виконання ефекту Струпа жінками і чоловіками за аналізом кількості помилок.

Висновки. За абсолютними значеннями усіх досліджуваних показників не отримано відмінностей між групами жінок і чоловіків, що узгоджується із даними літератури про відсутність відмінностей ефекту Струпа для жінок і чоловіків. Відмінності ефекту Струпа між жінками і чоловіками виявляються за умов урахування особливостей міжпівкульної взаємодії. Ефект Струпа у жінок виражений краще, ніж у чоловіків, що є проявом сильнішої інтерференції між подразниками першої та другої сигнальних систем і пояснюється більшою активацією лівої півкулі у жінок, пов'язаної із процесами вербалізації інформації.

1. Куценко Т.В., Філімонова Н.Б., Костенко С.С. Прояв прямого та зворотнього ефекту Струпа при відповідях обома руками та кожною рукою окремо // Вісник Черкаського університету (серія Біологічні науки). – 2009. – Вип. 156. – С.55-61.
2. Т.В. Куценко Дослідження оперативної пам'яті на літери та цифри у жінок і чоловіків // Вісник Черкаського університету (серія Біологічні науки). – 2010. – Вип.184 – С.59-65.
3. Куценко Т. В. Прояв міжпівкульної асиметрії при повторному проходженні прямого і зворотного тестів Струпа // Вісник Київського університету (серія Біологія). – 2010. – Вип. 56. – С.63-65.
4. Разумникова О.М. Мышление и функциональная асимметрия мозга. – Новосибирск: Изд-во СО РАМН. – 2004. – 272 с.
5. Atkinson, C.M., Drysdale, K.A., Fulham, W.R. Event-related potentials to Stroop and reverse Stroop stimuli // International Journal of Psychophysiology 47 (1). – Jan 2003. – p.1-21.
6. Kaplan O., Lubow R.E. Ignoring irrelevant stimuli in latent inhibition and Stroop paradigms: The effects of schizotypy and gender // Psychiatry Research – 2010 (in press).
7. Speck O., Ernst T., Braun J., Koch C., Miller E., Chang L. Gender differences in the functional organization of the brain for working memory // Brain imaging. – 2000. – Vol.11, №11. – P. 2581-2585.
8. Valera E. M., Brown A., Biederman J. Sex differences in the functional neuroanatomy of working memory in adults with ADHD // Am J Psychiatry. – 2010. – 167. – P. 86-94.
9. Van Strein J.W., Valstar L.H. The lateralized emotional Stroop task: left visual field interference in women // Emotion, 2004. – Vol.4, No.4. – P. 403-409.
10. Yazgan Y., Wexler B., Kinsbourne M., Peterson B., Leckman F. Functional significance of individual variation in callosal area // Neuropsychologia. – 1995. – 33. – P.769-779.

Надійшла до редколегії 04.11.10

УДК 577.543.426

А. Майданюк, канд. біол. наук

ВИЗНАЧЕННЯ СУМАРНОГО ВМІСТУ АДЕНІНОВИХ КОМПОНЕНТІВ ТИМОЦИТІВ СПЕКТРОМЕТРИЧНИМИ МЕТОДАМИ

Спектрофлуориметрією етеноаденіну та його похідних і спектрофотометрично визначено зниження сумарного вмісту аденінових компонентів в тимоцитах через 2,5 години після їх рентгенівського опромінення в дозі 4,5 Гр.

The reaction of chloroacetaldehyd with adenine derivatives leads to the formation of highly fluorescent ethanoadenosine has been used by us a convenient method for their fluometric analysis. Decrease of level adenine row components in 2,5 hour after an X-irradiation of thymocytes in a doze 4,5 Gy is established.

Вступ. Процеси апоптозу (запрограмованої загибелі клітин) стимулюються як зовнішніми сигналами (гормони, опромінення, стрес, оксидативний стрес і інше), так і внутрішніми сигналами серед яких – зміни метаболізму аденілових нуклеотидів за відповідної зміни активності ферментів пуринового обміну. Пуринові нуклеозиди – аденозин, дезоксиаденозин та дезоксиуанозин індукують загибель клітин тимусу за механізмом апоптозу. Порушення пуринового обміну після опромінення, являється одним із ранніх і характерних процесів апоптозу тимоцитів [4]. Дослідженню вмісту АТФ та

інших вільних рибонуклеотидів у тимусі опромінених тварин присвячена велика кількість публікацій, проте суперечливих. Так за даними деяких авторів не спостерігається змін у концентрації АТФ через 15 хвилин та 1 годину після рентгенівського опромінення щурів в дозі 10 Гр за потужності дози 0,7 Гр/хв. Проте, за їх же результатами, в ці терміни уже відбуваються статистично значимі порушення обміну пуринів. Так, через 15 і 60 хвилин після опромінення дозою 258 мКл/кг концентрація АДФ зменшується від 0,69 до 0,52 і 0,39 мкмоль/г; АМФ – з 0,59 до 0,46 і 0,34 мкмоль/г; су-

марна кількість аденілових нуклеотидів – від 2,88 до 2,44 і 2,40 мкмоль/г тканини (тимуса) відповідно. Через 4 години після загального рентгенівського опромінення в дозі 8 Гр сумарна кількість нуклеозидмонофосфатів зменшується на 16,5 %, а вміст АТФ на 13 % із розрахунку на 1 г/тканини. Згідно [1] рівень АТФ в тимусі щурів, опромінених в дозі 10 Гр в цей час складає біля 81 % від контрольного рівня, а за іншими даними за опромінення в дозі 225,75 мКл/кг він знижується більш ніж в 2 рази. Н.В. Єрмолаєва і Н.А. Водолазская [3] не виявили достовірних змін концентрації АТФ у тимусі через 30 хвилин – 1 годину після у – опромінення щурів у дозах 154,8 – 258 мКл/кг. Мабуть, це пояснюється невдалим перерахунком експериментальних результатів на 1 мг ДНК, оскільки післяпроменевої зміни кількості ДНК і АТФ у цей час мають однакову спрямованість. Висновок про сталу концентрацію аденілових нуклеотидів після опромінення значною мірою обумовлений використанням різних способів перерахунку їх вмісту або активності ферментів. Так одні дослідники розраховують вміст нуклеотидів на одиницю маси тканини, другі – на одиницю маси білка, треті – на вміст ДНК або фосфору ДНК, ще інші – на весь орган. Очевидно, що результати, а відповідно і висновки із цих робіт часто виявляються протилежними. Порівняльний аналіз наявних результатів дозволяє зробити висновок проте, що більш об'єктивні результати, особливо по відношенню до радіочутливих тканин і у ранні терміни їх дослідження, одержують при перерахунку вільних нуклеотидів на клітин(у;и) або на одиницю маси білка чи тканини. Встановлено, що у радіочутливих тканинах, через незначний проміжок часу після дії іонізуючого випромінювання, знижується концентрація не тільки пуринових, але і піримідинових нуклеотидів. У відповідності із зміною вмісту аденіну нуклеотидів реакція клітин (timoцитів) на опромінення ділиться на три періоди: деенергізація, стабільність, посилений катаболізм пуринів. Виявлені зміни у проникності мембран тимоцитів заключаються у втраті опроміненими клітинами Na^+ , K^+ , нуклеотидів і нуклеозидів, а також різних ферментів [6]. Таким чином, внутрішньоклітинний сумарний фонд аденілових нуклеотидів у тканинах опромінених тварин може зменшуватися в результаті радіаційного порушення біосинтезу нуклеотидів, окисного фосфорилування, нейрогуморальної регуляції, а також загибелі клітин. Проаналізовані експериментальні дані свідчать про те, що зміни концентрації аденіну нуклеотидів і їх сумарного вмісту в клітинах і тканинах після опромінення можна вважати показником порушення обміну нуклеотидів і їх включення у процеси біосинтезу нуклеїнових кислот та інші метаболічні реакції.

Метою роботи було дослідити спектрометричними методами сумарний вміст аденінових компонентів у тимоцитах через 2,5 години після їх рентгенівського опромінення дозою 4,5 Гр.

Об'єкт та методи досліджень. Для досліджень використовували білих щурів обох статей масою 120-150 г. Щурів утримували на стандартному раціоні виварію. Після декапітації тимоцити отримували м'яким продавлюванням через капронове сито тимусу у буфері, що містив, ммоль/л: Na_2HPO_4 -3, KCl , HEPES -5, NaCl -120, глюкоза -10, NaHCO_3 , CaCl_2 , MgCl_2 -1 рН=7,0. Цей буфер використовували для інкубації та опромінення суспензії тимоцитів. Опромінення проводили од-

нократно на установці РУМ -17 у дозі 4,5 Гр за умов: потужність дози – 0,4 Гр/хв, напруга – 200 кВ, сила струму – 10 мА, фокусна відстань – 50 см. Для кількісного аналізу суспензію тимоцитів центрифугували 10-15 хв при 1500 об/хв. (центрифуга ОПН -3У42), осад тимоцитів використовували для екстракції вільних компонентів аденінового ряду протягом 25-30 хв при температурі 0 – 4 °С, шляхом розтирання в охолоджену розчині 0,8 н HClO_4 . Одержані кислотні екстракти нейтралізували K_2CO_3 до значень рН 7,0-7,5 і після центрифугування за вищевказаних умов відбирали верхню фазу, визначали її об'єм і певні аліквати використовували для визначення екстинції $E_{260} - 290$ спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Scinco SUV – 2120 (ФРН), або проводили реакцію з хлорацетальдегідом (Fluka) для утворення флуоресцентних етеніпохідних аденіна згідно [7] з деякими модифікаціями та вимірювали інтенсивність флуоресценції (em) за 420 нм при збудженні (ex) на 312 нм на спектрофлуориметрі RF-510 фірми Shimadzu (Японія). Для побудови калібрувальних графіків використовували аденозин-5-трифосфорної кислоти динатрієву сіль (АТФ) виробництва фірми Reanal (Угорщина).

Результати та їх обговорення. Макроергічні сполуки являються джерелом енергії для здійснення всіх фізіологічних функцій клітин (організму). Крім цього аденілові нуклеотиди відіграють особливу роль у регуляції обміну речовин оскільки являються найважливішими факторами, які забезпечують спряження між процесами генерації енергії і її використання і тим самим зв'язують різні шляхи обміну. Рівень сумарного вмісту аденіну нуклеотидів здійснює визначальний вплив на інтенсивність та шляхи ресинтезу АТФ і метаболізму в цілому, тому його аналіз в клітинах являється важливою задачею при дослідженні енергетичних процесів за розвитку апоптозу. У відповідності з одержаними експериментальними результатами одним із найбільш ранніх проявів променевого ураження метаболічних процесів у клітинах являється розвиток у часі дефіциту макроергічних сполук. Більш різко це проявляється при одноразовому опроміненні тварин летальними і сублетальними дозами у тимусі, селезінці, кишечнику, шлунку. У відносно радіорезистентних тканинах: головний мозок, серце, скелетні м'язи, печінка, нирки, дефіцит аденілових нуклеотидів або зовсім не проявляється, або носить тимчасовий характер [6]. Концентрація АТФ у тимусі протягом 1 години після опромінення щурів мінімальною абсолютно летальною дозою -232,2 Кл/кг знижується на 10 %. Через 3 години рівень АТФ складає 79 % і продовжує знижуватись. За допомогою високоспецифічного для АТФ люциферин – люциферазного методу також показано зниження рівня АТФ на 11 % у селезінці через 4 години після загального рентгенівського опромінення в дозі 8 Гр. Детальний аналіз змін вмісту аденілових нуклеотидів в тимусі виявляє тенденцію до зниження фонду всіх нуклеозидмоно, ди – і три фосфатів вже через 30 хвилин після загального опромінення в дозі 206,4 мКл/кг. Достовірне зменшення вмісту АТФ у цьому органі виявлене через 2 години після опромінення дозою 8,75 Гр і через 3 години – в дозах 4,80, 8,75 Гр. Через 3 години визначено мінімальну концентрацію АМФ [6].

Таблиця 1. Сумарний вміст аденінових компонентів в тимоцитах через 2,5 години після їх рентгенівського опромінення в дозі 4,5 Гр визначений спектрометричними методами (n=10)

Метод визначення	% від контрольних значень
спектрофотометричний	65
Спектрофлуориметричний	74

Встановлене нами (Табл. 1) спектрофотометричним методом зменшення сумарного вмісту аденінових компонентів на 35 % і спектрофлуориметричним методом на 26 %, а в середньому для двох методів – 30 % зниження від контрольних значень сумарного вмісту компонентів аденінової системи через 2,5 години після рентгенівського опромінення суспензії тимоцитів в дозі 4,5 Гр добре узгоджується з наведеними вище даними і раніше одержаними нами експериментальними результатами [2, 5].

Висновки. Спектрофотометричним методом та спектрофлуориметричним визначенням етеноаденіну та його похідних встановлено зниження сумарного вмісту аденінових компонентів на 30 % через 2,5 години після рентгенівського опромінення суспензії тимоцитів в дозі 4,5 Гр.

УДК 577.151.64+616-006

Л. Сорокіна, асп., А. Білюк, студ.,
С. Хижняк, д-р біол. наук

ВПЛИВ НАТРІЙ ДИХЛОРАЦЕТАТУ НА ПЕРЕБІГ ПРООКСИДНО-АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ З САРКОМОЮ 37

Показано, що натрій дихлорацетат у дозі 86 мг/кг на добу інгібує ріст саркоми 37. Виявлена здатність даного препарату підвищувати інтенсивність вільнорадикальних процесів та знижувати активність супероксиддисмутази і каталази у пухлині, а також впливати на окисно-відновну рівновагу сироватки крові мишей з саркомою 37.

It was shown that sodium dichloroacetate in the dose 86 mg/kg per day inhibits sarcoma 37 growth. The use of DCA leads to the increase of lipid peroxidation intensity and to the decrease of superoxide dismutase and catalase activities in tumor but don't sufficiently influence on these indices in hepatocytes and blood serum of mice with sarcoma 37.

Вступ. Використання мішенних препаратів для лікування пухлинних захворювань вважається одним із найбільш багатообіцяючих підходів у сучасній онкологічній практиці [4]. Перспективним шляхом метаболічного таргетінгу пухлинних клітин є посилення в них ситуації метаболічної катастрофи [6]. Так, на відміну від нормальних клітин, мікрооточення злоякісних клітин характеризується нестачею поживних речовин, енергетичних субстратів та надлишком продуктів розпаду пухлинних клітин. За даних умов вплив на мітохондрії з метою досягнення метаболічної катастрофи може досягатися при використанні натрій дихлорацетату (ДХАН), здатного виступати інгібітором кінази піруватдегідрогенази, активної в пухлинних клітинах [5, 9]. Цей фермент характеризується здатністю фосфорилувати піруватдегідрогеназний комплекс, який трансформуює піруват до ацетил-КоА, та пригнічувати його активність. У зв'язку з цим при дії натрію дихлорацетату забезпечується активація піруватдегідрогеназного комплексу, а отже і посилення процесів енергетичного обміну в мітохондріях. Використання даної сполуки призводить до інгібування процесів аеробного гліколізу в пухлинних клітинах з гіперполяризованою внутрішньою мітохондріальною мембраною та сприяє утворенню в клітинах активних форм оксигену за участі комплексів дихального ланцюга. У зв'язку з цим актуальними є дослідження впливу ДХАН на стан пероксидних процесів та функціональну активність ферментів антиоксидантного захисту в організмі тварин з пухлинами за введення даної таргетної сполуки.

Метою даної роботи було оцінити вплив дихлорацетату натрію на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у сироватці крові, печінці та пухлинах мишей із саркомою 37.

1. Байсхатов Р., Хансон К.П. Исследование содержания адениловых нуклеотидов в селезенке крыс в норме и после рентгеновского облучения // Радиобиология – 1978. – Т.18, вып. 5. – С.738-739. 2. Дворченко К. О., Матишевська О.П., Майданюк А.В. Дослідження вмісту аденіну нуклеотидів аденозину й аденіну у опромінених тимоцитах щурів // Вісн. Київ. ун-ту ім. Т.Шевченка. Біологія – 2005 – вип. 45-46. – С.52-53. 3. Ермолаева Н.В., Водолазская Н.А. Взаимосвязь между уровнем распада ядерного хроматина и падением содержания АТФ в тимусе крыс после γ-облучения, введения дегранола и гидрокортизона // Радиобиология – 1980 – Т.20, вып. 2. – С.169-172. 4. Радіаційно-індукована структурно-метаболічна модифікація еритроцитів та лімфоїдних клітин / під редакцією Кучеренка М.Є. К. 2006 – 211 с. 5. Майданюк А. Участь аденілових нуклеотидів в індукції апоптозу // Вісн. Київ. ун-ту ім. Т. Шевченка. Біологія – 2008 – вип. 52-53. – С.66-67. 6. Романцев Е.Ф., Блохина З.И., Жуланова и др. Молекулярные механизмы лучевой болезни. – М. Медицина 1983. – 208 с. 7. G. Avigad., S. Damle Fluorimetric assay of adenine and its derivatives // Analytical Biochemistry – 1972. – 50 – p.321 – 323.

Надійшла до редакції 29.10.10

Об'єкт і методи досліджень. Дослідження виконані з використанням мишей-самців віком 2-2,5 міс. масою 18-23 г лінії Balb/c. Тварини були розподілені на 4 групи: 1 – контрольні тварини (n=10), 2 – тварини без пухлин, які отримували ДХАН (n=10), 3 – тварини з перещепленою підшкірно саркомою 37 (С37) у кількості 5×10^6 клітин/тварину (n=10), які отримували внутрішньоочеревинно 0,9 % натрію хлорид замість ДХАН (контроль пухлинного росту); 4 – тварини із саркомою 37, яким вводили препарат ДХАН (n=10). Експериментальні процедури на тваринах проводили з дотриманням вимог Конвенції з біоетики. ДХАН вводили внутрішньоочеревинно у дозі 86 мг/кг на добу протягом 18 днів після появи пухлини. Декапітацію тварин проводили на 20-у добу пухлинного росту, що відповідає стадії пухлинної прогресії. Екстракти пухлин та печінки отримували шляхом центрифугування грубих гомогенатів при +4°C 20 хв при 4000 об/хв. В екстрактах пухлин, печінки та сироватці крові визначали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП), активність загальної супероксиддисмутази (СОД), каталази (Кат). Вміст ТБК-АП (малонового діальдегіду) визначали в реакції з тіобарбітуровою кислотою згідно [3]. Активність загальної СОД оцінювали за відсотком інгібування реакції перетворення нітросинього тетразолію до нітроформазану при участі супероксид-аніону, який утворюється в реакції між феназин-метасульфатом і НАДН [7]. Активність каталази оцінювали за кількістю забарвленого комплексу, утвореного в реакції залишкового гідроген пероксиду з амонію молібдатом [2]. В екстрактах тканин визначали також активність глутатіонпероксидази (ГП) за кількістю утвореного окисненого глутатіону [1]. У сироватці крові визначали активність аланінамінотрансферази, аспартатамінотра-

© Сорокіна Л., Білюк А., Хижняк С., 2011