

цГМФ (майже в 14 разів) і значне (у 8 разів) зменшення цАМФ у міоцитах шлунка на ранньому етапі виразки порівняно з контролем. Відповідним чином цей факт має своє відображення і на зміні співвідношення цАМФ/цГМФ у досліджуваних міоцитах. Можна припустити, що зміна вмісту циклічних нуклеотидів та їхні співвідношення призведе до відповідних порушень активності скорочення гладеньких м'язів шлунка, при цьому вона зростає порівнянно з контролем.

Раніше було показано, що механізми цАМФ і цГМФ-залежної регуляції скоротливої активності гладеньких м'язів здійснюються у тісному взаємозв'язку [9]. Співвідношення цАМФ/цГМФ також опосередковує потенціал-незалежний контроль NO механічного напруження гладеньких м'язів [8].

Отримані нами дані вказують на те, що на ранньому етапі розвитку виразки в мускулатурі шлунка включаються механізми, спрямовані на стимулювання роботи скоротливого апарату, що обов'язково позначиться на роботі шлунка.

Нами було встановлено зміни співвідношення цАМФ/цГМФ у парієтальних клітинах слизової оболонки

та гладеньких міоцитах шлунка щурів за умов розвитку стресової моделі виразки. У парієтальних клітинах відбувається зростання співвідношення цАМФ/цГМФ в основному завдяки підвищенню рівня цАМФ, а в гладеньких міоцитах спостерігається зменшення співвідношення цАМФ/цГМФ за рахунок як зростання цГМФ, так і зниження цАМФ. З'ясування механізмів встановлених змін є завданням подальшої роботи.

1. Ургин А.И., Сорокин А.В., Евдокимов В.Г. // Медицинский вестник. – 2002 – № 5. 2. Остапченко Л.І. Молекулярні механізми регуляції активності циклонуклеотид- та кальційзалежних протеїніназ лімфоїдних клітин в умовах радіаційного впливу. – К., 1999. 3. Гройсман С.Д., Каревина Т.Г. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс. – Рукопись деп. в ВИНТИ, № 452/79, 131 с. 4. Таиров М.М., Берсумбаев Р.И., Аргутинская С.В., Салганик Р.И. // Биохимия. – 1983. – Т. 48. – вып. 6. – С1035–1041 5. Balint G.A. // Acta physiol Hung. – 1991. – Vol. 77. – № 2. – P. 153–158. 6. Balint G.A. // Acta Physiol Hung. – 1992. – Vol. 80. – № 1. – P. 81–88. 7. Tkachenko E.V., Belostotskii N.I., Varvanina G.G. // Eksp Klin Gastroenterol. – 2002. – Vol. 55. – № 8. – P. 113. 8. Ковалев И.В., Баскаков М.Б., Капилевич Л.В., Медведев М.А. // Бюл. сиб. мед. – 2004 – № 1. 9. Капилевич Л.В., Носарев А.В., Ковалев И.В. и др. // Бюлл. эксп. биол. мед. – 2003. – Т. 135, № 6. – С. 714–717

Надійшла до редколегії 10.09.04.

УДК 577.34(35)

К.І. Богуцька, канд. біол. наук

АТФаза АКТИВНІСТЬ АКТОМІОЗИНУ Й МІОЗИНУ ЗА РІЗНИХ УМОВ ЗБЕРІГАННЯ ЇХНІХ ПРЕПАРАТІВ

Проведено визначення середовища, яке сприяє оптимальному зберіганню препаратів скоротливих білків з відновленням ними функціональних властивостей після розморожування. Показано, що при зберіганні препаратів з додаванням гліцеролу залишається контрольний рівень АТФазної активності. Без додавання гліцеролу АТФаза активність міозину та актоміозину після розморожування є нижчою за контрольні значення.

Determination of the condition of medium for optimal storage of the contractile proteins with recovery their functional properties after unfreezing was carried out. It was shown that the ATPase activity does not change under the storage of the contractile proteins with glycerol. On the contrary the ATPase activity of the myosin and actomyosin after unfreezing without glycerol was lower its control level.

Вступ. Серед проблем, якими займається сучасна кріобіологія, одне з центральних місць належить кріостійкості й кріолабільності білкових структур, зокрема ферментів і ферментних систем. Установлено, що за присутності кріопротекторів, наприклад гліцеролу, значних змін в активності ферментів не відбувається. Гліцерол має здатність утворювати оборотні комплекси з водою, іонами й макромолекулами. Якщо проводити процес заморожування тканин у середовищі без гліцеролу, то під час поступового вимержання води відбувається дегідратація. У разі значного зневоднення підвищена концентрація осмотично активних речовин, що виникає внаслідок кристалізації води, може призвести до денатурації білків. Гліцерол зв'язує значну кількість води й, утримуючи її, запобігає підвищенню концентрації солей до критичного рівня, попереджаючи тим самим денатурацію білкових комплексів; своєрідна осмотична дія гліцеролу проявляється й за відтаювання.

Об'єкт і методи досліджень. Досліджували актоміозин і міозин, які було отримано з лівого шлуночка серця бика за загальноприйнятною методикою [1]. Виділення актоміозину здійснювали екстракцією за умов високої іонної сили середовища, міозин очищали із застосуванням хроматографічної колонки, чистоту та якісний склад препаратів контролювали методом електрофорезу. Препарати зберігали у присутності гліцеролу під час заморожування в рідкому азоті, гліцерол видаляли методом діалізу. Метою роботи було визначення середовища, яке сприяє кращому зберіганню препаратів з відновлення ними функціональних властивостей після розмо-

рожування. Для цього визначали АТФазну активність актоміозину та міозину в препаратах у процесі виділення та після розморожування їх у разі тривалого зберігання. Препарати білків зберігали в 0,6 моль/л KCl та 0,6 моль/л KCl з додаванням гліцеролу або в середовищі BW (40 ммоль/л KCl; 20 ммоль/л імідазол; pH 6.6; 2 ммоль/л MgCl₂; 1 ммоль/л азид натрію; 1 ммоль/л меркаптоетанол) і BW з додаванням гліцеролу. Статистичну обробку даних проводили методами варіаційної статистики за допомогою програми "Origin 5.0", результати досліджень представляли у вигляді різниці середніх значень та помилок середнього ($M \pm m$), вірогідними вважали результати при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. На величину АТФазної активності можуть впливати тонкі зміни в структурі молекули білка, які залежать від чистоти реактивів, домішок двовалентних іонів, умов зберігання та ін. [2, 3]. Препарати міозину й актоміозину залежно від методики виділення можуть відрізнятися за значеннями АТФазної активності. При дослідженні їхніх властивостей і порівнянні результатів виникають певні складності, тому бажано проводити окремі експерименти або серію експериментів на одному препараті. Це можна виконати за умов тривалого зберігання препаратів при заморожуванні. Також вивчали вплив солей у високих концентраціях у середовищі заморожування як однієї з можливих причин пошкодження при заморожуванні/відтаюванні ферментів.

Для того щоб з'ясувати, яке середовище сприяє кращому зберіганню препаратів без втрати ними функціональних властивостей після розморожування, визначали АТФазну активність актоміозину та міозину

в процесі виділення й після розморожування за тривалого зберігання препаратів. Результати визначення

активності препаратів скоротливих білків після розморожування наведено в табл. 1.

Таблиця 1. АТФазна активність актоміозину та міозину серцевого м'яза бика (мкмоль Φ_n / год·на 1 мг білка) залежно від умов зберігання препаратів ($M \pm m$, $n=7$)

Умови		0,6 моль/л KCl	0,6 моль/л KCl, гліцерол	BW ¹	BW ¹ , гліцерол	Контрольні показники
актоміозин	5 ммоль/л MgCl ₂	1,98 ± 0,05*	3,42 ± 0,12*	4,24 ± 0,15*	5,56 ± 0,19	5,71 ± 0,17
	100 мкмоль/л CaCl ₂ 5 ммоль/л MgCl ₂	2,28 ± 0,06*	4,26 ± 0,14*	4,56 ± 0,14*	5,16 ± 0,19	5,28 ± 0,18
	5 ммоль/л MgCl ₂ 1 ммоль/л ЕГТА	1,14 ± 0,04*	1,59 ± 0,03*	1,86 ± 0,04*	1,93 ± 0,07*	2,46 ± 0,09
міозин	5 ммоль/л CaCl ₂ 50 ммоль/л KCl	8,28 ± 0,36*	31,86 ± 1,17*	41,82 ± 1,64*	49,61 ± 2,03	49,92 ± 1,89
	2,5 ммоль/л MgCl ₂ 50 ммоль/л KCl	0,84 ± 0,02*	1,14 ± 0,02*	1,08 ± 0,02*	2,28 ± 0,04	2,41 ± 0,09
	1 ммоль/л ЕДТА 50 ммоль/л KCl	2,15 ± 0,05*	1,24 ± 0,02*	3,08 ± 0,09	3,09 ± 0,07	3,05 ± 0,08
	5 ммоль/л CaCl ₂ 0,5 моль/л KCl	6,78 ± 0,23*	31,38 ± 1,21*	41,11 ± 1,52*	49,08 ± 1,49	49,52 ± 2,23
	2,5 ммоль/л MgCl ₂ 0,5 моль/л KCl	2,28 ± 0,08*	1,26 ± 0,03*	2,44 ± 0,09*	4,02 ± 0,14	4,14 ± 0,16
	1 ммоль/л ЕДТА 0,5 моль/л KCl	2,88 ± 0,09*	10,08 ± 0,40*	12,06 ± 0,51*	7,56 ± 0,34*	15,18 ± 0,53

Примітка. * – відмінність від контрольних показників достовірна при $p \leq 0,05$; ¹ – склад див. вище.

Показано, що при зберіганні впродовж 3–4 місяців препаратів скоротливих білків АТФазна активність міозину й актоміозину після розморожування була майже в 2 рази меншою при високій концентрації солі, від контрольних показників нижче в середньому на 15–20 % у присутності гліцеролу та 0,6 моль/л KCl, на 10–15 % менше при зберіганні в середовищі BW і майже не змінювалась при додаванні гліцеролу до цього середовища зберігання препаратів скоротливих білків. Препарати актоміозину не втрачають чутливості до Ca²⁺, що має суттєве значення для дослідження особливостей їхньої регуляції. Подібна зміна АТФазної активності спостерігалась і для міозину: у присутності KCl після розморожування активність значно, на 70–80 %, зменшувалась, при додаванні гліцеролу – на 40 %.

Отже, додавання гліцеролу до середовища, в якому заморожувались препарати скоротливих білків, сприяло

збереженню контрольного рівня їхньої АТФазної активності. За таких умов можливо формується комплекс з активними центрами АТФаз, що викликає тимчасову оборотну блокаду їхньої активності, крім того, гліцерол стабілізує структуру ферментів, захищаючи їх від пошкоджувальної дії солей у високих концентраціях у середовищі заморожування.

Висновки. Можна вважати, що кріозахист препаратів скоротливих білків за допомогою гліцеролу є ефективним.

1. Margossian S.S. // J. Biol. Chem. – 1985. – Vol. 260, № 25. – P. 13747–13754. 2. Богущька К.І., Цимбалюк О.В., Данилова В.М. // Биополимеры и клетка. – 2002. – Т. 18, № 4. – С. 297–300. 3. Халина Я.Н., Подлубная З.А. // Биофизика. – 2002. – Т. 47, № 2. – С. 367–369.

Надійшла до редколегії 29.09.04

УДК 577.12+616.153.915:616-092.9

І.І. Паталах, канд. біол. наук, М.А. Зеленюк, студ.,
І.В. Лемешко, студ., М.С. Капішнікова, студ.

РОЛЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У РЕГУЛЯЦІЇ ЕРИТРОПОЕЗУ

Показано, що ініціювання продукції супероксидних радикалів у моделі експериментальної (фенілгідразинові) анемії викликало заміщення пошкоджених еритроцитів новою популяцією клітин. Застосування α -токоферолу пригнічувало накопичення молодих еритроцитів. Обговорюється можлива роль процесів пероксидації у регуляції еритропоезу.

Phenomenon of damaged erythrocytes substitution by new cell population under the phenylhydrazine-induced anemia was found out. α -tocopherol application had suppressed this effect. A possible role of erythropoiesis redox regulation has been discussed.

Вступ. Як відомо, розвиток певних киснедефіцитних станів, таких як гіпоксія та набуті анемії (зокрема, залізодефіцитні чи ятрогенні) призводить до накопичення у крові продуктів одноелектронного відновлення O₂ – активних форм кисню (АФК), що зумовлює часткову дестабілізацію еритроцитарних мембран з наступним прискореним лізісом клітин. Відомо також, що перебіг залізодефіцитних анемії не завжди супроводжується зниженням загальної кількості еритроцитів, оскільки ініціюються механізми еритропоезу й відбувається заміщення зруйнованих еритроцитів новими популяціями клітин. Головна роль у ініціюванні еритропоезу належить гормону еритропоетину (ЕРП), який контролює та

регулює еритроїдну диференціацію колоніє-утворювальних одиниць (КУО) та еритробластів [1]. Але до цього часу залишається відкритим питання щодо адаптивних механізмів, пов'язаних із синтезом еритропоетину. Доведено, що регуляторні послідовності ЕРП-гену перебувають під контролем певних факторів транскрипції [2]. За сучасними даними відомо також, що вторинними месенджерами регуляції активності факторів транскрипції можуть виступати такі АФК, як супероксидний аніон-радикал (O₂⁻) і пероксид водню (H₂O₂) [3].

Вважають, що ЕРП-продукуючі клітини печінки й нирок мають O₂-сенсори [4], які забезпечують чутливість клітин до дефіциту кисню. Проте існують певні дискусії