

Рис. 3 Зміни рівнів когерентності (КОГ) при переході до активної діяльності (рахунок подумки) з узагальненою фоновією активністю короткотривалого спокою (S/O).
 "—" – значуще зростання показника для пари з'єднаних відведень,
 "- - -" – значуще зниження, відповідно; значущі зміни – $p < 0.05$. $n=60$

В наших дослідженнях показано, що зміни когерентності електричної активності головного мозку людини при рахунку подумки стосувались як низько-, так і високочастотних ритмів (Рис.3). Так, в $\theta 2$ - та в $\alpha 1$ -піддіапазонах спостерігалось зменшення когерентних зв'язків, а в $\alpha 3$ - та $\beta 2$ -діапазонах – зростання, причому в $\alpha 3$ - з фокусом активності в лівому лобному відведенні. Що стосувалось $\beta 1$ -ритму, то збільшення когерентних зв'язків відбувалось в скронево-тім'яних та потиличних зонах, а в $\beta 2$ -генералізовано (Рис.3).

Вважається доведеним, що показники когерентності вказують на рівень міжрегіональної синхронізації активності головного мозку. Тому, достовірне зниження міжпівкульної когерентності свідчить про зниження інтегративної активності між відповідними зонами ($\theta 2$ -, $\alpha 1$ -піддіапазони).

Роботами [9] було показано, що пригнічення активності лобних відділів мозку може сприяти більш продуктивному творчому мисленню. Крім того, посилення міжпівкульних взаємодій в задніх відділах кори спільно із зниженням в передніх може свідчити про використання людиною при виконання когнітивного навантаження зорово-просторової стратегії з активним використанням епізодичної пам'яті [10].

Висновок. Зміни електричної активності головного мозку людини при виконанні когнітивного навантаження після короткотривалого (до 3 хв.) знаходження індивіда

в стані спокою характеризуються як наявністю змін ЕЕГ характерних для вивчаемого когнітивного навантаження так і тих, що свідчать про розвиток у індивіда активаційних та емоційних процесів.

1. Зима І.Г. Нейродинаміка електричної активності головного мозку людини в стані пролонгованого спокою // Вісник Черкаського ун-ту. Серія Біологічні науки. Черкаси. – 2007. – Вип. 105. – с. 15-22.
2. Зима І., Піскорська Н., Крижановський С., Чернінський А., Тукаєв С. Особливості інтеграції мозкових структур людини під час виконання когнітивних завдань в залежності від часу перебування в стані спокою // Вісник Черкаського ун-ту. Серія Біологічні науки. Черкаси. – 2008. – Вип. 128. – с. 38-46.
3. Богомолова І.В., Фарбер Д.А. Электрофизиологический анализ зрительной перцептивной памяти. Сообщение 1. Влияние величины интервала между слышимыми буквами на параметры ССП // Физиология человека – 1995, т.21, №4 – с. 13 – 14.
4. Gray, E. M. An analysis of diverging approaches to simple arithmetic: Preference and its consequences // Educational Studies in Mathematics – 1991 – V. 22, №6 – P. 551.
5. Jensen O., Goel P., Kopell N., et al. On the human sensorimotor-cortex beta rhythm: Sources and modelling // NeuroImage. – 2005. – V.26, N.2. – P.347-355.
6. Basar E. Gamma, alpha, delta, and theta oscillations govern cognitive processes // Basar E, Basar-Eroglu C., Karakas S. // Int. J. Psychophysiol. – 2001. – V. 39. – P. 241-248.
7. Gomez C. M., Vazquez M., Vaquero. E. Frequency analysis of the EEG during spatial selective attention // Int. J. Neurosci. – 1998. – V. 95 – P.17-32.
8. Turbes S.S. EEG dynamics. Brain processing of sensory and cognitive information // Biomed.Sci.Insturm. – 1992. – V.28. – P.51-58.
9. Gray, E. M. An analysis of diverging approaches to simple arithmetic: Preference and its consequences // Educational Studies in Mathematics – 1991 – V. 22, №6 – P. 551 – 574.
10. Turbes S.S. EEG dynamics. Brain processing of sensory and cognitive information // Biomed.Sci.Insturm/ – 1992 – V.28 – P.51-58.

Надійшла до редколегії 23.12.10

УДК 577.151.6:612.115:616-005

В. Скалка, асп., О.Савчук, канд. біол. наук

АНАЛІЗ ВМІСТУ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ У МОЛОЦІ РІЗНИХ ВИДІВ СВІЙСЬКИХ ТВАРИН

В роботі було проаналізовано якісний і кількісний склад зразків молока різних свійських тварин методом диск-електрофорезу в поліакриламідному гелі. Такі данні дають можливість більш детально охарактеризувати молоко за біохімічними параметрами та знайти потенційно нові біологічно-активні речовини білкової природи, що можуть мати різнонаправлену дію на перебіг біохімічних реакцій різних систем та органів.

In this work the qualitative and the quantitative composition of milk samples of various domestic animals were analyzed by disc electrophoresis in polyacrylamide gel. These data allow to characterize more detail the biochemical parameters of milk and to find potentially new biologically active substances of protein nature, which may have alternate course of action on the biochemical reactions of different systems and organs.

Вступ. Молоко – це багатокомпонентна система, до складу якої входять білки з різними характеристиками. В цілому до складу молока може входити понад 100 різних білків, більша частина яких представлена ізоформами [3]. Умовно білкові компоненти молока розподілені на 2 групи: казеїни, до яких відносять α -, β -, κ -казеїни та сироваткові протеїни, які складають до 85 % від всіх білків молока: β -лактоглобуліни, α -лактоальбуміни, імуноглобуліни, сироваткові альбуміни крові, пептиди та деякі інші. До недавнього часу вважалося, що казеїни виконують лише поживну функцію, але ряд останніх досліджень показали, що внаслідок їх гідролізу утворюється велика кількість біологічно активних пептидів. Крім того група сироваткових білків,

яка функціонально дуже різноманітна, теж здатна бути джерелом біологічно активних пептидів [5, 7].

З біохімічної точки зору дослідження якісного та кількісного складу білків молока дають певну перспективу, пов'язану зі з'ясуванням особливостей динаміки білок-білкових взаємодій та утворення великих за молекулярною масою асоціатів. Це дозволяє поглибити наші знання в області білкової хімії та впровадити на основі цих знань нові розробки, що дозволять впливати на перебіг взаємодій в білкових мережах, які зазнають певних порушень при різних патологічних станах організму [6]. Дослідження таких складних білкових систем необхідні як скринінгові аналізи при поглибленому вивченні протеоміки молочної продукції. Крім того результати дослідження можуть полегшити контроль молочної

сировини, оскільки в процесі досліджень відпрацьовуються і модифікуються методики аналізу білкового складу [3].

Метою нашої роботи було проаналізувати якісний та кількісний білковий склад молока таких свійських тварин як корови, кобили, кози та вівці з використанням методу диск-електрофорезу в поліакриламідному гелі та підібрати оптимальні умови для дослідження вищевказаних видів молока.

Об'єкт та методи дослідження. Для наших досліджень було використано 50 зразків коров'ячого, козиного, кобилячого та овечого молока. Під час виготовлення зразків для подальшого електрофоретичного дослідження, білки молока осаджувались за допомогою трихлороцтової кислоти [1,2]. Дослідження зразків молочних білків різних свійських тварин проводили з використанням методу диск-електрофорезу у поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію в системі Лемлі [5]. Електрофорез проводили на апараті Hoefer Mighty Small (GE, США) за сили струму 19 мА для концентруючого та 35 мА для розділюючого гелів.

Як маркери молекулярних мас було використано PageRuler™ Prestained Protein Ladder – суміш білків з молекулярною масою 170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 17, 10 кДа (Fermentas, Канада).

Отримані електрофореграми оброблялись в програмі TotalLab 2.01.

Результати та їх обговорення. Нами було досліджено 50 зразків коров'ячого, кобилячого, козиного та овечого молока за допомогою методу диск-електрофорезу в поліакриламідному гелі в системі Лемлі. Проаналізувавши результати ми визначили, що для всіх зразків був характерний вміст білків широкого спектру молекулярних мас (Рис.1). Обчислення кількості білку в досліджуваних зразках показало, що за кількісним вмістом білка ці види сировини розподіляються в наступному порядку: овече – до 62,16 мг/мл білка, козине – до 37,22 мг/мл білку, коров'яче – до 36,45 мг/мл, кобиляче – до 28,28 мг/мл (Табл. 1).

Особливість білкового складу коров'ячого молока полягає в наступному: в межах 100 – 170 кДа найбільше зустрічалося білків з молекулярною масою 150 – 156 кДа, які відповідають молекулярним масам імуноглобулінів. В межах 50 – 99 кДа переважали білки з молекулярною масою 65 – 75 кДа. Було показано, що білки, молекулярна маса яких сягала менш ніж 34 кДа, складають основну частину білкової маси досліджених зразків, оскільки саме в цю групу входять казеїни (Рис.1 D), (Табл. 1). В групу білків з молекулярною масою до 80 кДа входить більшість білків молока, які окрім своєї харчової цінності мають біологічну активність, наприклад, лактопероксидаза та лактоферин. Дуже часто саме ці білки і використовуються для отримання біологічно активних пептидів [3].

Проаналізувавши зразки кобилячого молока було виявлено меншу кількість білкових компонентів і їх загальну концентрацію в порівнянні зі зразками коров'ячого молока (Рис.1 B), (Табл. 1). Загалом в досліджуваних

зразках кобилячого молока було виявлено 22 білки. Найменший відсоток білків припадав на діапазон молекулярних мас від 55 до 180 кДа, хоча загалом в зазначеному діапазоні було знайдено до 12 білків. Було показано, що основну масу білків в кобилячому молоці становили білки з молекулярною масою 13-34 кДа (Табл. 1), серед яких основу складали казеїни.

Результати дослідження білкового складу козиного молока показали наявність 38 білків в досліджуваних зразках дуже широкого спектру молекулярних мас – від 11 до 270 кДа (Рис.1 A), (Табл. 1). Проведений аналіз цих зразків показав присутність 18 білків з молекулярною масою до 80 кДа.

Дослідження овечого молока показало, що в його складі переважають дві групи білків: з молекулярною масою 69 – 190 кДа і 10 – 30 кДа (Рис.1 B). Було також виявлено декілька білків в діапазоні 55 – 70 кДа (Табл. 1). Однак не зважаючи на те, що овече молоко якісно включає найменшу серед досліджуваних зразків молока кількість білків, за загальною концентрацією білка воно посідає перше місце. Даний об'єкт виявився дуже багатим на білки з молекулярною масою до 30 кДа, які були представлені 9 білками.

Однією з характеристик молока є співвідношення кількості казеїнів та сироваткових білків. В наших дослідженнях ми також проаналізували це співвідношення для різних видів свійських тварин (Табл.2). Як видно з представлених даних в таблиці 2, це співвідношення коливається в межах: 84-76 % для казеїнів та 16-24 % для сироваткових білків.

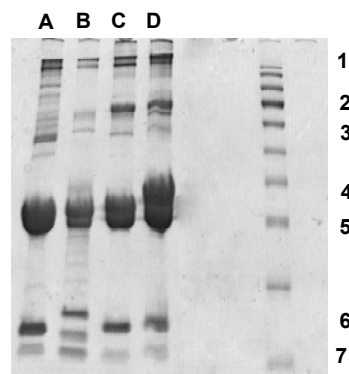


Рис. 1. Типова електрофореграма зразків молока свійських тварин (А – козине молоко, В – кобиляче молоко, С – овече молоко, D – коров'яче молоко, маркери молекулярних мас (170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 17, 10 кДа)):

- 1 – 156 кДа – імуноглобуліни, комплекси κ-казеїну,
- 2 – 77-72 кДа – лактоферини та тетрамер κ-казеїну і γ-казеїну,
- 3 – 65-67 кДа – альбуміни,
- 4 – 23-27 кДа – α_{s1}, α_{s2} – казеїни,
- 5 – 25 кДа – β-казеїни,
- 6 – 14 кДа – α-лактоальбуміни,
- 7 – 11 кДа – γ-казеїни.

Таблиця 1. Кількісний та якісний склад білків в досліджуваних зразках молока свійських тварин

Молекулярні маси	Концентрація мг/мл			
	Коров'яче молоко	Кобиляче молоко	Козине молоко	Овече молоко
Понад 170 кДа	-	0,10	2,21	4,63
130– 170 кДа	1,09	3,03	2,2	-
95 – 130 кДа	0,65	0,96	1,29	-
72 – 95 кДа	2,3	1,53	1,19	-
55 – 72 кДа	2,05	1,34	4,54	3,34
43 – 55 кДа	5,28	-	3,63	-
34 – 43 кДа	16,2	-	6,1	-
26 – 34 кДа	3,65	10,15	6,15	30,11
17 – 26 кДа	2,56	6,27	2,8	11,86
10 – 17 кДа	2,67	4,9	7,11	12,22
Всього	36,45	28,28	37,22	62,16

Таблиця 2. Співвідношення казеїнових і сироваткових білків в зразках молока свійських тварин

	Співвідношення казеїнів і сироватки білків %			
	Коров'яче молоко	Кобиляче молоко	Козине молоко	Овече молоко
Сироваткові білки	16%	19%	16%	24%
Казеїни	84%	81%	84%	78 %

Як відомо саме коров'яче молоко, в порівнянні з молоком інших свійських тварин, є більш розповсюдженою сировиною для харчової промисловості та біотехнології. Такий стан речей пояснюється найбільшим виробництвом і попитом в світі саме коров'ячого молока [3]. Проте молоко інших свійських, як показали наші дослідження, за показниками вмісту білків не поступається коров'ячому, а іноді є кращим. Тому на нашу думку молоко різних тварин варто дослідити на наявність біологічно активних компонентів білкової природи. Отримані нами результати можна використати для пошуку біологічно активних пептидів чи білків в молоці таких тварин, як кози, вівці й коні. Молоко вище перерахованих тварин містить не тільки досить велику кількість низькомолекулярних білків, але й і високомолекулярні білки, як у випадку з козячим молоком, і це, враховуючи можливість використання ферментативного розщеплення, може бути потужним джерелом отримання біологічно активних пептидів.

Висновки. Проаналізувавши різні зразки молока нами було показано, що найбільшу концентрацію білка має овече молоко – до 62 мг/мл. Коров'яче і козине молоко містить близьку кількість білків – до 36 і 37 мг/мл відповідно. Кобиляче молоко містить найменшу кількість білка, яка може сягати 27 мг/мл. За якісним складом і кількістю білкових компонентів всі види молока досить суттєво відрізнялися один від одного в зонах які відповідають сироватковим білкам. Зразки козиного та

овечого молока містили білки широкого діапазону молекулярних мас, в той час як в зразках кобилячого молока наявна більша кількість білків в зоні до 17 кДа.

Нами було підібрано оптимальні умови для дослідження молока свійських тварин, таких як вівці, кози, коні та корови, що може бути використано для контролю якості молочної сировини на виробництві. Також наші результати можуть бути застосовані в подальших дослідженнях, спрямованих на пошук цінних білків чи пептидів в молоці різних свійських тварин.

1.Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование – М.: Наука, 1981. 2.Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. – М.: Просвещение, 1982. 3.Brennan J. G. Food processing handbook/ Wiley-VCH, 2006.4.D'Auria E, Agostoni C, Giovannini M: Proteomic evaluation of milk from different mammalian species as a substitute for breast milk// Acta Paediatr. – 2005. – Vol. 94, № 12. – P.1708-1713 5.Laemmli K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4// Nature. – 1970. – V.227, N1 – p. 680-685.6.Larsen L.B., Wedholm A., Moller H.S., Andrén A., Lindmark-Mensson H. Proteomic study of regressions between milk yield and whey protein composition//Journal of Animal and Feed Sciences. – 2007. – N 16, p. 200–206.7.Sofia V. Silva, F. Xavier Malcata. Caseins as source of bioactive peptides// International Dairy Journal. – 2005. – N 15, p. 1-15.

Надійшла до редколегії 17.03.11

УДК 615.9:616.36-099:576.2.24:577.161.3

Г. Шаяхметова, канд. біол. наук

ЕКСПРЕСІЯ ЦИТОХРОМУ P-450 2E1 У СІМ'ЯНИКАХ ТА РЕПРОДУКТИВНА ЗДАТНІСТЬ ЩУРІВ-САМЦІВ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ІЗОНІАЗИДУ

За умов введення ізоніазиду щурам-самцям протягом періоду сперматогенезу встановлено підвищення експресії мРНК цитохрому P-450 2E1 у сім'яниках. В той же час визначено порушення процесів сперматогенезу, зниження життєздатності сперматозоїдів та фертильності піддослідних тварин. Присутність ізоформи CYP2E1 у чоловічих гонадах та індукція її ізоніазидом може відігравати певну роль у механізмах порушення чоловічої репродуктивної здатності при біотрансформації даного лікарського засобу in situ.

It was established increase of CYP2E1 mRNA expression in rats testes under isoniazid administration during period of spermatogenesis. At the same time it was shown disturbance of spermatogenesis, decrease of spermatozooids vital capacity and fertility of experimental animals. The presence of CYP2E1 in male gonads and it induction by isoniazid may play certain role in mechanisms of male reproductive capability disturbance under given medicine biotransformation in situ.

Вступ. Загальновідомо, що метаболічні перетворення екзо- та ендогенних речовин відбуваються за допомогою ферментних систем, локалізованих, в основному, в мітосомальній фракції гепатоцитів. Варто відмітити, що протягом тривалого часу процес перетворення речовин в організмі розглядався виключно як позитивне явище, однак, в багатьох випадках ці процеси можуть призводити до утворення проміжних, реакційно здатних активних метаболітів, продуктів неповного відновлення кисню, які хімічно модифікують макромолекули та стимулюють реакції перекисного окислення. Вміст різних ізоферментів цитохрому P-450 в печінці людини, а також їхній внесок в окислення ксенобіотиків значно відрізняються між собою [1]. Одним з найважливіших цитохромів P-450, експресія яких відбувається в печінці людини, є високоіндуцибельна ізоформа CYP2E1, здатна значно активніше, ніж інші ізоформи

каталізувати утворення вільних радикалів та активних форм кисню [2]. Розвиток P-450 2E1 – залежних патологій печінки є добре вивченим, але подібний вплив даної ізоформи на репродуктивні органи досліджений недостатньо. При цьому показано можливість біоактивності ряду ксенобіотиків із залученням даної ізоформи безпосередньо в тканинах чоловічої репродуктивної системи, що може лежати в основі порушень сперматогенезу та запліднювальної здатності [3].

Метою нашої роботи стало дослідження впливу загальновідомого індуктора цитохрому P-450 2E1 на рівень експресії мРНК даної ізоформи у сім'яниках щурів та показники, що характеризують репродуктивну здатність самців-щурів.

Об'єкти й методи дослідження. Субстанція ізоніазиду була надана ЗАТ НВЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод". В дослідженнях використовуву-