

ОСОБЛИВОСТІ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ВПЛИВУ ПЕПТИДНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ПАМ'ЯТЬ І ЗДАТНІСТЬ ДО НАВЧАННЯ ЩУРІВ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ

Нейропептидні препарати церебролізин, кортексин і цереброкурин покращують процеси формування пам'ятного сліду в алкоголізованих тварин. Латентний період заходу в темний відсік у щурів з групи, що отримувала цереброкурин, значно збільшувався після одночасного проведення алкоголізації та введення препарату. Кортексин також позитивно впливав на когнітивно-мнестичні функції тварин, а церебролізин проявив себе як менш активний препарат.

Ключові слова: алкоголізація, нейропептидні препарати, нейропротекція.

PECULIARITIES OF THE NEUROPROTECTIVE IMPACT OF PEPTIDE PREPARATIONS ON MEMORY AND THE ABILITY TO LEARN IN RATS IN CONDITION OF ALCOHOL ENCEPHALOPATHY

The neuropeptide preparations cerebrolysin, cortexin and cerebrocurin improve the formation of a memorable trace in alcoholized animals. The latent period of entering the dark compartment in rats from the cerebrocurine group was significantly increased after concurrent alcoholization and administration of the drug. Cortexin also had a positive effect on the cognitive-memory functions of animals, and cerebrolysin proved to be a less active drug than those described above.

Key words: alcoholization, neuropeptide preparations, neuroprotection.

УДК 614.876:616-055.6:577.122:616-092.4

Г. Ф. Степанов, канд. мед. наук, доц.,

О. О. Мардашко, д-р мед. наук, проф.,

А. А. Костіна

ЕПІГЕНЕТИЧНІ ЗМІНИ ФЕРМЕНТНИХ БІЛКІВ У ТКАНИНАХ ТВАРИН ПІСЛЯ ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ

Одеський національний медичний університет

Ферменти, молекули яких складаються з двох і більше субодиниць, що контролюються різними генами, мають різну первинну, вторинну й третинну структуру і поєднуються в різних кількісних співвідношеннях, можуть існувати у вигляді кількох форм. Ці різновиди ферментів дістали назву ізоферментів. Унаслідок епігенетичних перетворень ізоферментні спектри мають тканинну специфічність і можуть змінюватися як у процесі онтогенезу, так і під впливом різноманітних чинників.

Серцевий м'яз відрізняється від скелетного не тільки морфологічними та функціональними характеристиками, а й, у першу чергу, значним вмістом мітохондрій, швидкістю обміну білків, високою інтенсивністю аеробних процесів, зокрема ре-

акцій циклу трикарбонових кислот, кратинфосфокінази. Серцевий м'яз, на відміну від скелетного, для одержання енергії використовує поряд із глюкозою значні кількості жирних кислот, а також лактат і кетонів тіла [1].

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–220 г, яких утримували на стандартній дієті віварію ОНМедУ.

Для визначення вмісту ферментів елементів крові та білка у сироватці крові кров брали із хвостової вени тварин, що дозволяло спостерігати динаміку змін в одних і тих же особин протягом 30 діб спостереження. Для визначення екскреції азоту та розпаду білка в експеримен-

тальних тварин їх утримували в обмінних клітках протягом усього експерименту.

Для визначення біохімічних показників серце і передню групу м'язів стегна тварин гомогенізували у 9-кратному об'ємі 0,32 моль сахарози на 0,05 моль трис-буфері, рН 7,36 і піддавали диференційному центрифугуванню. Для досліджень використовували мітохондріальний супернатант експериментальних тварин [2].

Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) визначали за відновленням пірувату до лактату в присутності відновленого НАД. Активність ЛДГ оцінюється за швидкістю окиснення НАДН, яка реєструється спектрофотометрично і виражається у мікромолях НАДН на міліграм білка у пробі за 1 хв інкубації [3].

Ізоферменти ЛДГ у тканинах виявляли за допомогою елект-

рофорезу в поліакриламідному гелі та денситометрували [4].

Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням комп'ютерних програм [5].

Тварин піддавали тотальному гамма-опроміненню Co^{60} на апараті «Агат». Поглинута доза 6,0 Гр, потужність дози 0,48 Гр/хв, відстань до джерела випромінювання 75 см. Загибель тварин дорівнювала 43,7 % опромінених за 1 міс., а середня тривалість життя загиблих тварин становила 12,5 діб.

Результати дослідження та їх обговорення

Після опромінення у щурів поступово зменшується маса тіла і протягом усіх термінів спостереження вона є істотно нижчою за масу тіла одновікових тварин. Кількість еритроцитів і гемоглобіну в них, тром-

боцитів і лейкоцитів поступово знижується і найменших значень ці показники досягають на 15-ту добу після опромінення, коли реєструється найбільша загибель тварин. Вміст ретикулоцитів, як і інших показників, також досягає найменших значень на 15-ту добу експерименту, але через 30 діб майже втричі зростає порівняно з попереднім терміном дослідження, суттєво перевищуючи показники інтактних щурів. Можливо, подібна динаміка вмісту ретикулоцитів свідчить про початок реконвалесценції (табл. 1).

Для вмісту лімфоцитів, який виражали у відсотках до загальної кількості лейкоцитів, характерний відносний лімфоцитоз (збільшення відсотка лімфоцитів на фоні зниження загальної кількості лейкоцитів), що спостерігали на 15-ту добу після опромінення. Поступове

зниження вмісту білка у сироватці крові, найбільш виражене на 15-ту добу дослідження, супроводжується збільшенням розпаду білків в організмі тварин та екскрецією азоту з сечею.

Вивчення стану ЛДГ-реакції дозволило виявити деяке зниження активності ферменту в міокарді на 1-шу та 3-тю добу після опромінення, збільшення активності на 7-му і, особливо, на 15-ту добу, що майже на третину перевищує показники інтактних щурів, а в подальшому активність ферменту також суттєво відрізняється від інтактних тварин. Якщо враховувати, що для міокарда характерні аеробні окиснювальні процеси, то активація ЛДГ є свідченням розвитку гіпоксичних процесів.

Для скелетних м'язів поступова активація ферменту досягає максимуму на 7-му добу, а в подальшому знижується й іс-

Таблиця 1

Динаміка маси тіла і гематологічних показників у тварин, опромінених у дозі 6,0 Гр

Показник	Статистичний показник	Інтактні тварини	Термін після опромінення, доба				
			1	3	7	15	30
Маса тіла тварин, г	$M \pm m$ n p	188,0 \pm 2,4 56	186,6 \pm 2,8 16 > 0,5	174,8 \pm 3,0 16 < 0,05	175,1 \pm 2,6 15 < 0,05	186,6 \pm 3,7 11 < 0,01	204,2 \pm 2,6 10 < 0,01
Гемоглобін, г/л	$M \pm m$ n p	182,0 \pm 2,4 24	170,6 \pm 2,2 16 < 0,01	158,0 \pm 1,8 16 < 0,01	152,4 \pm 2,7 15 < 0,01	139,6 \pm 4,0 11 < 0,01	160,4 \pm 3,9 10 < 0,01
Еритроцити, $10^{12}/л$	$M \pm m$ n p	5,78 \pm 0,07 24	5,20 \pm 0,10 16 < 0,01	4,73 \pm 0,11 16 < 0,01	4,75 \pm 0,19 15 < 0,01	4,37 \pm 0,13 11 < 0,01	4,82 \pm 0,15 10 < 0,01
Ретикулоцити, ‰	$M \pm m$ n p	33,0 \pm 1,4 24	29,9 \pm 2,8 16 < 0,5	24,9 \pm 2,4 16 < 0,01	21,6 \pm 4,1 15 < 0,05	15,1 \pm 1,5 11 < 0,01	42,0 \pm 3,1 10 < 0,05
Тромбоцити, $10^9/л$	$M \pm m$ n p	686,4 \pm 32,5 24	641,4 \pm 43,1 16 < 0,5	574,0 \pm 39,2 16 < 0,05	461,1 \pm 34,3 15 < 0,01	410,4 \pm 27,9 11 < 0,01	516,6 \pm 19,8 10 < 0,01
Лейкоцити, $10^9/л$	$M \pm m$ n p	17,04 \pm 0,70 24	12,20 \pm 0,90 16 < 0,01	10,47 \pm 0,94 16 < 0,01	8,18 \pm 0,56 15 < 0,01	6,97 \pm 0,50 11 < 0,01	10,70 \pm 0,75 10 < 0,01
Лімфоцити, %	$M \pm m$ n p	52,0 \pm 4,1 24	36,2 \pm 3,6 16 < 0,01	46,0 \pm 3,0 16 < 0,5	43,3 \pm 3,0 15 > 0,05	59,7 \pm 2,4 11 > 0,1	38,5 \pm 1,8 10 < 0,01

Примітка. p — відмінність порівняно з інтактними тваринами; маса тіла одновікових тварин через 15 діб дорівнює (220,1 \pm 5,1) г; маса тіла одновікових тварин через 30 діб дорівнює (243,0 \pm 4,2) г.

Обмін білка і активність лактатдегідрогенази в тканинах тварин, опроміненних у дозі 6,0 Гр

Показник	Статистичний показник	Інтактні тварини	Термін після опромінення, доба				
			1	3	7	15	30
Загальний азот сечі, мг/доба	M±m n p	76,52±3,74 40	89,10±6,46 16 > 0,05	100,80±6,73 16 < 0,01	90,52±5,86 15 < 0,05	121,9±9,07 11 < 0,01	88,86±6,35 10 > 0,05
Розпад білка в організмі тварин, мг/доба	M±m n p	478,2±23,4 40	556,9±40,4 16 > 0,05	630,0±42,1 16 < 0,01	565,8±36,6 15 < 0,05	762,1±56,7 11 < 0,01	555,4±39,7 10 > 0,05
Вміст білка у сироватці крові, г/л	M±m n p	58,97±1,09 40	55,73±1,26 16 > 0,05	54,47±1,38 16 < 0,05	52,17±1,24 15 < 0,01	48,11±1,89 11 < 0,01	50,40±1,70 10 < 0,01
ЛДГ у міокарді	M±m n p	1,542±0,076 21	1,476±0,082 11 > 0,5	1,413±0,067 10 > 0,1	1,824±0,063 10 < 0,01	1,967±0,096 15 < 0,01	1,706±0,034 11 < 0,05
ЛДГ у скелетних м'язах	M±m n p	2,060±0,094 21	2,299±0,116 11 > 0,1	2,447±0,127 10 < 0,05	2,643±0,075 10 < 0,01	2,459±0,106 15 < 0,01	2,253±0,080 11 > 0,1
ЛДГ у сироватці крові	M±m n p	8,118±0,545 21	7,367±0,679 11 > 0,5	7,160±0,677 10 > 0,1	9,175±0,549 10 > 0,1	10,550±0,748 15 < 0,05	9,580±0,542 11 > 0,05

Примітка. Активність ЛДГ у міокарді та скелетних м'язах виражена у мкмоль/мг білка за 1 хв інкубації, у сироватці крові — у нмоль/мг білка за 1 хв інкубації; p — відмінність порівняно з інтактними тваринами.

точно не відрізняється від інтактних тварин. Враховуючи характер біоенергетики у скелетних м'язах, саме на гліколітичні процеси припадає енергозабезпечення м'язів в у розпал променевого ураження. У сироватці крові характер змін активності ферменту ідентичний тому, що спостерігається в міокарді (табл. 2).

Таким чином, якщо для міокарда характерне деяке зниження активності ферменту на 3-тю добу, а в подальшому його активація, що досягає максимуму на 15-ту добу, то в скелетних м'язах з першої доби відбувається активація ЛДГ, що має максимальні значення на 7-му добу експерименту, а в подальшому спостерігається її нормалізація.

Характеризуючи ізоферментний спектр ЛДГ у міокарді інтактних тварин, слід зазначити, що домінує вміст ЛДГ₁, дещо поступається йому ЛДГ₂ і разом вони становлять 70 %

активності ферменту у цій тканині (табл. 3).

На частку ЛДГ₃ припадає майже 25 %, а вміст ЛДГ₄ та ЛДГ₅ разом становить близько 5 % загальної активності ферменту. Опромінення тварин у дозі 6,0 Гр викликає на 1-шу і 3-тю добу різке підвищення активності ЛДГ₁ і ЛДГ₂ на фоні майже подвійного зниження активності ЛДГ₃, суттєвого зниження ЛДГ₄ та незначних коливань вмісту ЛДГ₅. На 7-му добу експерименту відбувається несподіване падіння вмісту ЛДГ₁ як порівняно з попередніми термінами дослідження, так і з інтактними тваринами. На 15-ту добу знову різко активується ЛДГ₁ і досягає найвищих показників протягом усього експерименту, на 30-ту добу спостерігається його нормалізація. Така динаміка вмісту ЛДГ₁ у міокарді, особливо у розпал захворювання на 7-му–15-ту добу, свідчить про порушення епігенетичної констру-

ції тетрамерів ферменту. Це підтверджує максимально висока активність ЛДГ₂ протягом усіх термінів дослідження, і саме цьому ізоферменту належить домінуюча активність у міокарді. Активність ЛДГ₃ на 15-ту та 30-ту добу майже вдвічі нижча, а активність ЛДГ₄ у 3–4 рази нижча порівняно з інтактними тваринами, незважаючи на те, що у розпал променевої хвороби активуються гіпоксичні явища і повинна активуватися епігенетична збірка тетрамерів, що містять М-субодиниці ферменту, які функціонують при значних концентраціях пірувату.

Характеризуючи ізоферментний спектр ЛДГ скелетних м'язів інтактних тварин, слід зазначити, що домінуючу активність проявляє ЛДГ₅, вміст якої досягає 73 %, майже у 5,5 рази менше порівняно з ним вміст ЛДГ₄, у 7 разів менше ЛДГ₃, на частку ЛДГ₂ і ЛДГ₁ сукупно припадає приблизно 3,5 %. То-

Ізоферменти лактатдегідрогенази в міокарді та скелетних м'язах тварин, опромінених у дозі 6,0 Гр

Показник	Статистичний показник	Інтактні тварини	Термін після опромінення, доба				
			1	3	7	15	30
Міокард							
ЛДГ ₁	M±m n p	35,25±0,83 15	40,09±0,80 10 < 0,01	38,24±0,94 11 < 0,05	32,49±1,04 12 < 0,05	41,52±1,06 10 < 0,01	36,29±0,93 10 < 0,5
ЛДГ ₂	M±m n p	34,66±0,85 15	44,68±1,49 10 < 0,01	43,76±1,38 11 < 0,01	40,36±1,98 12 < 0,05	43,41±0,70 10 < 0,01	46,68±0,77 10 < 0,01
ЛДГ ₃	M±m n p	24,46±0,80 15	13,84±1,18 10 < 0,01	14,30±0,92 11 < 0,01	21,24±1,61 12 > 0,05	12,25±1,23 10 < 0,01	15,09±0,96 10 < 0,01
ЛДГ ₄	M±m n p	4,94±0,96 15	0,97±0,21 10 < 0,01	2,71±0,38 11 < 0,05	5,33±1,19 12 > 0,5	1,75±0,33 10 < 0,01	1,28±0,18 10 < 0,01
ЛДГ ₅	M±m n p	0,70±0,14 15	0,44±0,08 10 > 0,1	0,80±0,11 11 > 0,5	0,91±0,14 12 > 0,5	0,57±0,11 10 > 0,5	0,65±0,12 10 > 0,5
Скелетний м'яз							
ЛДГ ₁	M±m n p	0,86±0,04 15	0,59±0,15 10 > 0,05	0,72±0,14 12 < 0,5	0,53±0,06 12 < 0,01	0,53±0,07 10 < 0,05	0,44±0,15 11 < 0,05
ЛДГ ₂	M±m n p	2,84±0,37 15	2,75±0,27 10 > 0,5	4,06±0,31 12 < 0,05	2,08±0,44 12 > 0,1	2,00±0,46 10 > 0,1	1,72±0,26 11 < 0,05
ЛДГ ₃	M±m n p	10,02±1,07 15	14,04±1,46 10 < 0,05	11,47±0,69 12 < 0,5	7,74±0,40 12 > 0,05	9,71±0,86 10 > 0,5	8,66±0,45 11 < 0,5
ЛДГ ₄	M±m n p	13,22±1,45 15	18,04±1,47 10 < 0,05	20,45±1,09 12 < 0,01	7,82±0,40 12 < 0,01	11,56±1,59 10 < 0,5	9,64±0,83 11 < 0,05
ЛДГ ₅	M±m n p	73,12±1,89 15	64,57±1,50 10 < 0,01	63,38±1,54 12 < 0,01	81,83±0,74 12 < 0,01	76,54±2,60 10 < 0,5	79,53±0,98 11 < 0,01

Примітка. Активність ізоферментів виражена у відсотках від загальної активності ферменту в тканині; p — відмінність порівняно з інтактними тваринами.

тальне опромінення у дозі 6,0 Гр у ранні терміни на 1-шу і 3-тю добу не викликають змін вмісту ЛДГ₁, а в наступні терміни на 7-му–30-ту добу відбувається істотне його зниження. Певна нестабільність відмічається для ЛДГ₂: різке збільшення вмісту майже у 1,5 рази на 3-тю добу дослідження і достовірне зниження його на 30-ту добу експерименту. В інші терміни активність ЛДГ₂ не відрізняється від інтактних тварин.

Аналогічні зміни відбуваються і в активності ЛДГ₃: суттєве підвищення вмісту на 1-шу добу експерименту, коли розвивається період «уявного благополуччя», і незначні коливання активності в наступні періоди променевої хвороби.

Найбільш суттєві зміни після опромінення відбуваються з ЛДГ₄ і ЛДГ₅: значне зниження вмісту ЛДГ₅ порівняно з інтактними тваринами на 1-шу та 3-тю добу експерименту і таке ж

значне підвищення ЛДГ₄. На 7-му добу реєструється найбільший підйом активності ЛДГ₅ і найнижчий вміст ЛДГ₄ за весь термін спостереження. На 15-ту добу нормалізуються ці показники, а на 30-ту добу експерименту знову суттєво зростає вміст ЛДГ₅ та істотно знижується вміст ЛДГ₄ порівняно з інтактними тваринами. Така «гойдалка» динаміки вмісту цих ізоферментів протягом усього експерименту свідчить про неста-

більність епігенетичного формування тетрамерів ферменту, і якщо взяти сукупну активність ЛДГ₄ і ЛДГ₅ протягом усіх термінів дослідження, то вона дещо нижча від інтактних тварин у перші три доби дослідження і вища у наступні терміни. Проте при цьому потрібно враховувати, що ЛДГ₄ містить на 25 % менше М-субодиниць, ніж ЛДГ₅.

Підсумовуючи викладене, слід зазначити, що динаміка ізоферментного спектра ЛДГ у міокарді та скелетних м'язах опромінених тварин відображає розвиток гіпоксичних явищ

у тканинах, свій внесок робить і порушення епігенетичної збірки тетрамерів ферменту.

Ключові слова: ферментні білки, тварини, іонізуюче опромінення, епігенетичні зміни.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мардашко О. О., Ясиненко Н. Є. Біологічна та біоорганічна хімія: навч. посібник. Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2008. 342 с.
2. Методы биохимических исследований / под ред. М. И. Прохорова. Ленинград: Изд. Ленинград. ун-та, 1982. 239 с.
3. Костіна А. А., Мардашко О. О., Степанов Г. Ф. Стан гліколітичної ок-

сидоредукції у міокарді та скелетних м'язах експериментальних тварин різного віку. *Досягнення біології та медицини*. 2015. № 1 (25). С. 10–14.

4. Мардашко А. А., Попик Г. С. Способ получения электрофореграмм белковых веществ. Авторское свидетельство № 1196771. *Бюлл. Изобретения и открытия*. 1985. № 45. С. 174.

5. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: МОРИОН, 2000. 320 с.

Надійшла до редакції 23.12.2019

*Рецензент д-р мед. наук,
проф. С. Г. Котюжинська,
дата рецензії 26.12.2019*

УДК 614.876:616-055.6:577.122:616-092.4

Г. Ф. Степанов, О. О. Мардашко, А. А. Костіна

ЕПІГЕНЕТИЧНІ ЗМІНИ ФЕРМЕНТНИХ БІЛКІВ У ТКАНИНАХ ТВАРИН ПІСЛЯ ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ

Досліджено епігенетичні зміни ферментних білків у тканинах тварин після іонізуючого опромінення. Установлено різкі зміни у динаміці вмісту ізоферментного спектра ЛДГ протягом усього експерименту, що свідчить про нестабільність епігенетичного формування тетрамерів ферменту. Сукупна активність ЛДГ₄ і ЛДГ₅ протягом усіх термінів дослідження дещо нижча, ніж у інтактних тварин у перші три доби дослідження і вища — у наступні терміни. Така динаміка ізоферментного спектра ЛДГ у міокарді та скелетних м'язах опромінених тварин відображає розвиток гіпоксичних явищ у тканинах і призводить до порушення епігенетичної збірки тетрамерів ферменту.

Ключові слова: ферментні білки, тварини, іонізуюче опромінення, епігенетичні зміни.

UDC 614.876:616-055.6:577.122:616-092.4

G. F. Stepanov, O. O. Mardashko, A. A. Kostina

EPIGENETIC CHANGES OF THE ENZYME PROTEINS IN THE TISSUES OF ANIMALS AFTER IONIZING RADIATION

There were investigated the epigenetic changes of the enzyme proteins in the tissues of animals after ionizing radiation. Changes in the dynamics of containing LDH isozymes during the experiment were determined. This demonstrates the instability of epigenetic formation of enzyme tetramers. Total LDH₄ and LDH₅ activity in tissues of irradiated animals was lower than activity of isozymes in intact animals in the first three days and it was higher in the next term throughout all research terms. This dynamics of LDH isozymes in myocardium and skeletal muscles of irradiated animals reflect not only development of tissue hypoxia, but the disturbance of epigenetic assembly of enzyme tetramers.

Key words: enzyme proteins, animals, ionizing radiation, epigenetic changes.

*Передплачуйте
і читайте
журнал*



ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

У випусках журналу:

Передплата приймається
у будь-якому передплатному
пункті

Передплатний індекс 08205

- ◆ Фундаментальні проблеми медицини та біології
- ◆ Нові медико-біологічні технології
- ◆ Оригінальні дослідження
- ◆ Огляди
- ◆ Інформація, хроніка, ювілеї