

2. Серед виявлених антигенних компонентів *M. kansasii* доведено наявність як спільних з антигенними компонентами туберкульозних й атипичних мікобактерій, так і відмінних за електрофоретичною рухомістю та антигенною специфічністю.

3. Виявлення видоспецифічних антигенів *M. kansasii* саме серед поверхневих компонентів може сприяти при розробці більш ефективних препаратів для серологічної діагностики.

Література. 1. Досон Р. и др. Справочник биохимика. - М.: Мир, 1991. - 466 с. 2. *Иммунологические методы* /Под ред. Г. Фримеля. - М.: Медицина, 1987. - 77 с. 3. Кучеров А.Л., Магнитский В.А. Итоги выполнения целевой программы «Ускорение темпов снижения заболеваемости туберкулезом в РСФСР на 1983-1990 гг.» //Пробл. туб. - 1992. - № 9-10. - С. 4-6. 4. Ломако М.Н., Калечиц О.М. Работа Белорусского научного общества фтизиатров и фтизиатрической организации республики в условиях сложившейся критической ситуации по туберкулезу в связи с катастрофой на Чернобыльской АЭС //Пробл. туб. - 1992. - № 1-2. - С. 59-61. 5. Мельник В.М. Проблемы епідеміології та профілактики туберкульозу //Медичні вісті. - 1997. - № 1. - С. 10-13. 6. Остерман Л.А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. - М., 1983. - 304 с.

A STUDY OF SPECIES - SPECIFIC COMPONENTS OF *M. KANSASII* WITH THE HELP OF IMMUNODIFFUSION METHODS

A.A. Gruzevskiy

Abstract. The results of studying species - specific components among the surface structures of *M. kansasii* by means of reactions of immunodiffusion precipitation (RIP) and immunoelectrophoresis are adduced in the paper. We revealed 4 antigenic components of *M. kansasii* using RIP and 9 – by means of immunoelectrophoresis. Cross reactions of *M. kansasii* extracts and other species of tuberculous and atypical mycobacteria were investigated. Among the detected antigenic components of *M.* the presence of both general tuberculous and atypical mycobacteria with antigenic components and those differing on the basis of electrophoretic motility and antigenic specificity was shown.

Key words. Atypical mycobacteria, antigenic structure, species - specific components, immunodiffusion methods, immunoelectrophoresis.

Odessa State Medical University

УДК:57.034:612.273.2:612.82:577.122:577.352.38

І.І.Заморський, В.П.Пішак

СТАН ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ БІЛКІВ У КОРІ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ТА ГІПОКАМПИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ ТА РІЗНОЇ ДОВЖИНИ ФОТОПЕРІОДУ

Кафедра медичної біології, генетики і паразитології (зав. – проф. В. П. Пішак),
кафедра фармакології (зав. – проф. Р. Б. Косуба)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Досліджено дію гострої гіпобаричної гіпоксії за різної довжини фотоперіоду на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у корі

великих півкуль та гіпокампі головного мозку ювенільних самців білих щурів. Встановлено, що гостра гіпоксія посилює інтенсивність білкової пероксидації у нейронах досліджених структур головного мозку. При цьому зміни довжини світлового періоду доби як у бік збільшення за постійного освітлення, так і в бік зменшення за постійної темряви залишали високою інтенсивність білкової пероксидації.

Ключові слова: фотоперіод, гостра гіпобарична гіпоксія, окиснювальна модифікація білків, кора головного мозку, гіпокамп.

Вступ. Загальновідомо, що виникнення окисного стресу [17] внаслідок зсуву окисно-відновної рівноваги в бік збільшеної продукції вільних радикалів є провідним патогенетичним механізмом руйнування клітинних мембран і загибелі клітин за різноманітних патологічних станів [7]. При цьому вільні радикали за дії гіпоксії є одною з головних причин виникнення смерті нейронів через розвиток некрозу або апоптозу [9,18]. Інтенсивність вільнорадикального пошкодження ненасичених ліпідів у різних структурах головного мозку за дії гострої гіпоксії знайшло достатньо повне висвітлення у роботах різних авторів [4,15]. Зокрема показано, що найбільшого рівня пероксидне окиснення ліпідів досягає у корі великих півкуль та гіпокампі [2,15], котрі є найчутливішими до кисневої недостатності [18]. Проте вільні радикали атакують не лише ліпіди, а й інші макромолекули клітинних структур, у тому числі й білки [14]. Вважають, що пероксидна деструкція білків є найбільш небезпечною ланкою токсичного пошкодження клітин через інактивацію цитоплазматичних ферментів та мембранних іонних насосів, що, безперечно, що призводить до швидкого зростання внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію, натрію і водню та наступним запуском різноманітних патогенетичних механізмів руйнування клітин [12]. Тому пошкодження білків відносять до більш шкідливих проявів дії вільних радикалів, ніж аналогічне пошкодження ліпідних молекул [12]. Однак рівень білкової пероксидації (окиснювальної модифікації білків) за різних станів окисного стресу, зокрема за гострої гіпоксії, залишається дослідженим недостатньо.

Мета дослідження. Вивчити вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у корі великих півкуль та гіпокампі головного мозку щурів за дії гострої гіпобаричної гіпоксії. Враховуючи, що інтенсивність ліпідної пероксидації за гострої гіпоксії, а також чутливість нейронів переднього мозку до гострої гіпоксії залежать від умов освітлення [1,2], таке дослідження здійснено на фоні різної тривалості фотоперіоду.

Матеріали і методи. Експерименти проведено на 49 статевонезрілих самцях безпородних білих щурів масою 65–75 г, які досягали на момент закінчення досліджень ювенільного віку 5,5–6,0 тижнів. За тиждень до початку дослідів визначали чутливість щурів до гіпоксії [8] і в подальшому використовували лише середньостійких тварин. Для моделювання фотоперіодичних змін в організмі тварин упродовж одного тижня застосовували три різні режими освітлення. Перша група щурів (n=17) знаходилася за умов звичайної зміни світлової і темної фаз доби у весняно-літній період року. При цьому співвідношення світлової і темної фаз доби в середньому дорівнювало 16 год : 8 год. Друга група (n=17) піддавалася дії постійного штучного освітлення упродовж доби. Третя група (n=15) утримувалася в

постійній цілодобовій темряві. Доступ до тварин останньої групи здійснювали тільки при слабкому в 2 лк червоному світлі.

Гостру гіпоксичну гіпобаричну гіпоксію моделювали у проточній барокамері шляхом розрідження повітря до величин, що еквівалентні висоті 12000 м зі швидкістю 50 м/с. На “висотному плато” щурів витримували до моменту другого агонального вдиху, після чого здійснювали “спуск” на попередню нульову висоту, відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин. Евтаназію щурів виконували у світловий період доби шляхом декапітації через 30 хв після припинення дії гострої гіпоксії та швидко забирали головний мозок, який зберігали в рідкому азоті до проведення подальших досліджень. Вміст продуктів білкової пероксидації досліджували в супернатанті, який отримували після центрифугування при 900 g упродовж 15 хв гомогенатів наважок тканин кори великих півкуль (переважно фронтальної частини) та гіпокампа. Останні виділяли на зрізах переднього мозку згідно стереотаксичного атласу мозку статевонезрілих щурів [20]. Наважки досліджуваних структур головного мозку гомогенізували в охолодженому до 2–4°C 0,25 М трис-НСІ (“Sigma”, США) буфері (рН 7,4).

Продукти білкової пероксидації визначали за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином за методом І. Ф. Мешишена [3]. Аліфатичні альдегід- і кетон-динітрофенілгідрозони основного характеру реєстрували при 430 нм, а нейтрального — при 370 нм і розраховували у нмоль 2,4-динітрофенілгідрозонів на г білка [10,16]. Вміст білка визначали за методом Лоурі–Фоліна [11]. Отримані дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою пакету програм “STATISTICA 5.0” з використанням для оцінки вірогідності різниць окремих груп даних параметричного (t Стьюдента) та непараметричних (Вілкоксона, U Манна-Уїтні) критеріїв, а також дисперсійного аналізу “ANOVA”.

Результати дослідження та їх обговорення. Дані, які наведені в таблиці, свідчать, що вміст продуктів окиснювальної модифікації білків після постійного освітлення порівняно з даними за звичайного освітлення збільшувався як у корі великих півкуль (кількість продуктів нейтрального характеру – на 37%, основного характеру – на 48%), так і в гіпокампі (вміст продуктів нейтрального характеру – на 58%, основного характеру – на 73%). Аналогічні зміни зареєстровано після постійної темряви: вміст продуктів нейтрального характеру збільшувався в корі головного мозку на 35%, у гіпокампі – на 51%, основного характеру в корі – на 50%, а в гіпокампі – у 2,1 раза. Крім того, у гіпокампі за цих умов постійної темряви вміст продуктів основного характеру був навіть більшим у середньому на 19%, ніж за постійного світла. Аналіз отриманих даних свідчить про помітне зростання вмісту продуктів білкової пероксидації основного характеру, тобто тих речовин, котрі утворюються з білків, які містять основні амінокислоти. Ці амінокислоти, зокрема гістидин, є найбільш вразливими для дії вільних радикалів [6]. Тому зростання вмісту таких продуктів свідчить, що як за умов постійного освітлення, так і за постійної темряви посилюється утворення вільних радикалів, які у першу чергу вражають найчутливіші амінокислоти і білки основного характеру. Отже, будь-які порушення регулярної зміни світлового і темного періодів доби призводять до помітного погіршення анти-

оксидантного захисту білків головного мозку із посиленням їх пероксидного окиснення.

Таблиця

Вплив різної довжини світлового періоду за умов гострої гіпобаричної гіпоксії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у корі та гіпокампі головного мозку ювенільних щурів ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови освітлення	Характер впливу	Кора великих півкуль		Гіпокамп	
		Продукти нейтрального характеру	Продукти основного характеру	Продукти нейтрального характеру	Продукти основного характеру
		(ммоль 2,4-динітрофенілгідрозонів на г білка)			
Звичайне освітлення	Контроль	2,53±0,132	1,36±0,108	2,53±0,127	1,38±0,096
	Гіпоксія	3,50±0,206*	2,16±0,136*	2,96±0,136*	1,69±0,104*
Постійне світло	Контроль	3,47±0,309 ⁺	2,01±0,207 ⁺	3,99±0,206 ⁺	2,39±0,135 ⁺
	Гіпоксія	3,58±0,313	1,81±0,197	3,50±0,235	2,25±0,122 ⁺⁺
Постійна темрява	Контроль	3,42±0,186 ⁺	2,04±0,119 ⁺	3,82±0,201 ⁺	2,85±0,163 ^{+#}
	Гіпоксія	3,31±0,418	2,24±0,209	3,21±0,282	2,33±0,207 ⁺⁺

Примітки: * зміни вірогідні щодо показників у контрольних тварин за тих же умов освітлення, $p < 0,05$;

⁺ зміни вірогідні щодо показників у контрольних тварин за звичайних умов освітлення, $p < 0,05$;

[#] зміни вірогідні щодо показників у контрольних тварин за постійного освітлення, $p < 0,05$;

⁺⁺ зміни вірогідні щодо показників після гіпоксії за звичайних умов освітлення, $p < 0,05$.

Після гострої гіпоксії за звичайного освітлення у корі головного мозку вміст продуктів пероксидного окиснення білків як нейтрального, так і основного характеру зростав відповідно на 38% і 59%, а в гіпокампі – на 17% і 22%, що узгоджується з результатами інших авторів про посилення білкової пероксидації за ішемічно-реперфузійного пошкодження [12] та про загальне посилення вільнорадикального пошкодження макромолекул за гострої гіпоксії такого рівня [4]. Гіпоксія на фоні постійного освітлення, а також постійної темряви залишала вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у досліджених структурах головного мозку на таких же високих рівнях, що й у контрольних тварин за цих же умов освітлення. При цьому в корі серед всіх умов експерименту вміст досліджених продуктів сягав найвищих рівнів саме після гіпоксії: основного характеру – за умов постійної темряви, а нейтрального – за постійного освітлення.

Отримані результати можна пояснити різним вмістом циркулюючого мелатоніну в організмі тварин за різних умов освітлення. При збільшенні освітлення рівень ендogenous антиоксиданту мелатоніну різко падає [19], що й викликає активацію вільнорадикального окиснення макромолекул – як ліпідів [2], так і білків, на що вказують наші результати. Скорочення фотоперіоду сприяє синтезу мелатоніну і його вивільненню з шишкоподібного тіла у кров і ліквор [19]. Мелатонін за своєю будовою є гідрофобною молекулою [13] і, відповідно, більше проявляє свої знешкоджувальні антирадикальні властивості в ліпідному шарі мембран, що помітно обмежує ліпідну пероксидацію [19] та попереджує вільнорадикальне пошкодження вбудованих у мембрані білків [1]. Однак антиоксидантна дія мелатоніну недостатньо ефективна для захисту розчинених у цитоплазмі білків [5] так само, як і дія інших ліпофільних антиоксидантів, зокрема α -токоферолу [12]. Саме тому, на нашу думку, за постійної темряви зростає інтенсивність вільнорадикальної окисної модифікації білків у досліджених структурах головного мозку. Крім того, попередник мелатоніну – серотонін є гідрофільною молекулою і може за звичайних умов освітлення забезпечувати антиоксидантний захист білкових молекул у водному середовищі цитоплазми [13]. Однак відсутність нормальної періодичності у зміні добової освітленості можливо викликає порушення активності серотонінергічної системи головного мозку зі зменшенням рівнів серотоніну в його структурах, що, імовірно, є додатковим фактором посилення білкової пероксидації за порушення звичайної довжини фотоперіоду. Таким чином, за гострої гіпоксії як постійне освітлення, так і постійна темрява посилюють інтенсивність пероксидного окиснення білків у корі великих півкуль і гіпокампі головного мозку шурів.

Висновок. Порушення природної довжини фотоперіоду – як у бік збільшення за постійного освітлення, так і в бік зменшення за постійної темряви – посилюють інтенсивність білкової пероксидації у структурах переднього мозку шурів (корі великих півкуль та гіпокампі), яка найпомітніше проявляється за умов гострої гіпоксії.

Література. 1. *Заморський І. І.* Вплив різної довжини фотоперіоду на активність маркерних ферментів плазматичних мембран в передньому мозку шурів за гострої гіпоксії // Бук. мед. вісник. – 1999. – Т. 3, № 4. – С. 165–168. 2. *Заморський І. І., Пішак В. П.* Вплив мелатоніну за гострої гіпоксії на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у гіпокампі шурів на фоні різної довжини фотоперіоду // Укр. мед. альманах. – 1999. – Т. 2, № 3. – С. 40–43. 3. *Мецишен І. Ф.* Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буков. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 156–158. 4. *Серебровська Т. В., Сафронова О. С., Гордій С. К.* Вільнорадикальні процеси за умов різного кисневого постачання організму // Фізіол. журн. – 1999. – Т. 45, № 6. – С. 92–104. 5. *Анисимов В. Н., Арутюнян А. В., Хавинсон В. Х.* Влияние мелатонина и эпителина на активность системы антиоксидантной защиты у крыс // Докл. Акад. наук. – 1997. – Т. 352, № 6. – С. 831–833. 6. *Арчаков А. И., Мохосов И. М.* Модификация белков активным кислородом и их распад // Биохимия. – 1989. – Т. 54, вып. 2. – С. 179–186. 7. *Барабой В. А., Сутковой Д. А.* Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Под общ. ред. Ю. А. Зозули. – К.: Наук. думка, 1997. – 420 с. 8. *Гипоксия* и индивидуальные особенности реактивности / Березовский В. А., Бойко К. А., Клименко К. С. и др. / Под общ. ред. В. А. Березовского. – К.: Наук. думка, 1978. – 216 с. 9. *Крыжановский Г. Н.* Общая патофизиология нервной системы. – М.: Медицина, 1997. – 352 с. 10. *Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения* / Дубинина Е. Е., Бурмистров С. О., Ходов Д. А., Поротов И. Г. // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41, вып. 1. – С. 24–26. 11. *Справочник биохимика* / Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К.: Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544 с. 12. *Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation* / Dean R. T., Fu S., Stocker R., Davies M. J. // Biochem. J. – 1997. – Vol. 324, N 1. – P. 1–18. 13. *Free radical scavenging effects of melatonin and serotonin: possible mechanism* / Daniels W. M. U., van Rensburg S. J., van Zyl J. M. et al. // NeuroReport. – 1996. – Vol. 7,

N 10. – P. 1593–1596. 14. *Jaeschke H.* Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue-injury // *Proc. Soc. Experim. Biol. and Med.* – 1995. – Vol. 209, N 2. – P. 104–111. 15. *Koudelov6 J., Mourek J.* The lipid peroxidation in various parts of the rat brain: effect of age, hypoxia and hyperoxia // *Physiol. Res.* – 1994. – Vol. 43. – P. 169–173. 16. *Mickel H. S., Oliver C. N., Starke-Reed P. E.* Protein oxidation and myelinolysis occur in brain following rapid correction of hyponatremia // *Biochem. Biophys. Res. Com.* – 1990. – Vol. 172, N 1. – P. 92–97. 17. *Sies H.* Oxidative stress: oxidants and antioxidants // *Exp. Physiol.* – 1997. – Vol. 82, N 2. – P. 291–295. 18. *Sims N. R., Zaidan E.* Biochemical changes associated with selective neuronal death following short-term cerebral ischaemia // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 1995. – Vol. 27, N 6. – P. 531–550. 19. *Reiter R. J.* Pineal function during aging: attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences // *Acta Neurobiol. Exp.* – 1994. – Vol. 54, suppl. – P. 31–39. 20. *Sherwood N., Timiras P.* A stereotaxic atlas of the developing rat brain. – Los Angeles, London: University of California press, Berkeley, 1970. – 204 p.

**THE STATE OF PROTEIN PEROXIDATION IN THE CEREBRAL CORTEX AND
HIPPOCAMPUS OF THE RATS' BRAIN UNDER ACUTE HYPOXIA AND VARYING
DURATION OF PHOTOPERIOD**

I.I.Zamorskyi, V.P.Pishak

Abstract. The effect of acute hypobaric hypoxia under a varying duration of the photoperiod on the content of products of the oxidative modification of proteins in the cerebral cortex and hippocampus of the brain of juvenile male albino rats was investigated. It was established that acute hypoxia strengthened the intensity of protein peroxidation. The changes of the duration of the photoperiod both towards an increase under constant illuminating and a decrease under constant darkness kept the intensity of protein peroxidation at a high level.

Key words: photoperiod, acute hypobaric hypoxia, oxidative modification of proteins, brain cortex, hippocampus.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)