

INTERNATIONAL SCIENTIFIC
PERIODICAL JOURNAL



THE EUROPEAN ASSOCIATION OF PEDAGOGUES AND PSYCHOLOGISTS "SCIENCE"

"THE UNITY OF SCIENCE"

VIENNA, AUSTRIA

MONOGRAPH

M. E. KOSHELEVA - P. 190



APRIL, 2015

Single photocopies of single chapters may be made for personal use as allowed by national copyright laws. Permission of the Publisher and payment of a fee is required for all other photocopying, including multiple or systematic copying, copying for advertising or promotional purposes, resale, and all forms of document delivery. Special conditions are available for educational institutions that wish to make photocopies for non-profit educational classroom use. Permission of the Publisher is required for all other derivative works, including compilations and translations. Electronic Storage or Usage Permission of the Publisher is required to store or use electronically any material contained in this work, including any chapter or part of a chapter. Except as outlined above, no part of this work may be reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without prior written permission of the Publisher.

International scientific professional periodical journal «THE UNITY OF SCIENCE» / publishing office
Friedrichstrabe 10– Vienna – Austria, 2015. – 190 p.

«Unity of science» is the **international scientific professional periodical journal** which includes the scientific articles of students, graduate students, postdoctoral students, doctoral candidates, research scientists of higher education institutions of Europe, Russia, the countries of FSU and beyond, reflecting the processes and the changes occurring in the structure of present knowledge. It is destined for teachers, graduate students, students and people who are interested in contemporary science.

Publishing office Friedrichstrabe 10, Vienna, Austria, 2015

www.eapps.info

Editorial opinion may be different from the views of the authors. Please, request the editors' permission to reproduce the content published in the journal.

ISSN 9091-175X



9 779091 175195

© 2015 «**The European Association of pedagogues and psychologists Science**», Vienna, Austria
© 2015 Article writers
© 2015 All rights reserved

FORMATION OF THE PROFESSIONAL IMAGE OF THE PHYSICIAN.....129



Vasquez Abanto J.E.
*PhD, Physician in the Emergency
 Department Obolon district of Kyiv (Center
 for primary medical and sanitary help no. 2)*



Васкес Абанто А.Е.
*Department of Physiology of the
 Bogomolets National Medical University,
 Kyiv City, Ukraine. Intern Physician in
 Family Medicine*



Arellano Vásquez S.B.
*Graduate of the University of San Pedro,
 Chimbote City (Peru). Specialist in physical
 therapy and rehabilitation*

THE STATE OF DENTAL HEALTH AND GENERAL ADAPTIVE REACTIONS
 OF THE ORGANISM IN PATIENTS WITH VIRAL HEPATITIS C.....132



N.A. Dzeman
*Head of Department of Dentistry
 of Bogomolets National Medical University*

ЗМІНА АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО
 ЗАХИСТУ В МІТОХОНДРІЯХ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ.....135

Dikal M. V.
*MD, PhD, As. Prof. Bucovinian State Medical
 University Department of Bioorganic and Biologic
 Chemistry and Clinical Biochemistry*



Ferenchuc Ye. A.
*Bucovinian State Medical University
 Department of Bioorganic and Biologic
 Chemistry and Clinical Biochemistry*

INFLUENCE OF OXIDANT-ANTIOXIDANT IMBALANCE TO DEVELOPMENT
 AN ACID-DEPENDENT DAMAGE ESOPHAGEAL MUCOSA IN PATIENTS WITH CHRONIC
 OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE.....138



I.V. Dudka
*PhD, Associate Professor of the Internal Medicine, Clinical Pharmacology
 and Occupational Diseases Department.
 Bukovinian State Medical University.
 Chernivtsi. Ukraine*

MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF THE GALLBLADDER IN PATIENTS WITH CHRONIC
 OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE.....143



T.V. Dudka
*PhD, Assistant of the Internal Medicine,
 Clinical Pharmacology and Occupational
 Diseases Department. Bukovinian State
 Medical University. Chernivtsi. Ukraine*

O.S. Khukhlina
*MD, professor, Head of the Internal Medicine,
 Clinical Pharmacology and Occupational Diseases
 Department. Bukovinian State Medical University.
 Chernivtsi. Ukraine*

I.V. Dudka
*PhD, Associate Professor of the Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases Department.
 Bukovinian State Medical University. Chernivtsi. Ukraine*

FACTORS AND MECHANISMS ANALYSIS OF NONSPECIFIC AND SPECIFIC IMMUNE
 ANTIINFECTION DEFENCE IN DM PATIENTS WITH PURULENT-INFLAMMATORY PROCESSES
 UNDER OZONOTHERAPY.....147



S.Y. Karateieva
*MD, PhD, Assistant, Department of Nursing
 and Higher Nursing Education, Bukovinian
 State Medical University, Ukraine*



O.Y. Khomko
*MD, PhD, Assoc. Professor, Department
 of Nursing and Higher Nursing Education
 Bukovinian State Medical University,
 Ukraine*

R.I. Sydorчук
*MD, PhD, FNYAM, MESVS, MEDS, MIScAB, MIDS,
 Professor at the Department of General Surgery
 Bukovinian State Medical University, Ukraine*

L.P. Khomko
*Physiotherapist highest qualification category 2 Medical
 Clinic «Gracia», Chernivtsi, Ukraine*

ЗМІНА АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В МІТОХОНДРІЯХ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

к.м.н., доц. Дікал М.В., Ференчук Є.О.

Буковинський державний медичний університет
Кафедра біоорганічної і біологічної хімії та клінічної
біохімії
вул. М. Коперника, 13б, кв. 13, м. Чернівці, Україна,
58008

MD, PhD, As. Prof. Dikal M. V., Ferenchuc Ye. A.

Bucovinian State Medical University
Department of Bioorganic and Biologic Chemistry and
Clinical Biochemistry
Copernica str. 13b, 13, Chernivtsi, Ukraine, 58008

Резюме У досліджах на 36 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях вивчено вплив 2,4-динітрофенола на стан системи енергозабезпечення та антиоксидантного захисту у мітохондріях нирок. Встановлено розвиток енергодефіцитного стану організму та активацію системи антиоксидантного захисту, викликану підвищеною продукцією вільних радикалів за умов патології.

Ключові слова: мітохондрії, 2,4-динітрофенол, цитохромоксидаза, H⁺-ATP-аза, глутатіонпероксидаза, каталаза.

Abstract In experiments on 36 albino non-linear male rats studied the influence of 2,4-dinitrophenol on the state energy supply system and antioxidant defense in mitochondria kidneys. It was determined the appearance of energy deficiency state of the organism and activation of antioxidant system caused by increased production of free radicals in conditions of pathology.

Key words: mitochondria, 2,4-dinitrophenol, cytochrome oxidase, H⁺-ATPase, catalase, glutathione peroxidase.

Вступ. Мітохондрії – головні дихаючі органели, які розміщені в цитоплазмі кожної клітини, продукують, депонують та розподіляють життєвоважливу для клітин енергію; відіграють важливу роль в багатьох процесах: регулюють обмін води, здійснюють депонування іонів кальцію, продукцію попередників стероїдних гормонів, впливають на клітинний ріст, синтез гемму та апоптоз. Завдяки їх участі в метаболічних, енергетичних та вільнорадикальних процесах вони є маркерними органелами для діагностики різних патологій. У мітохондріях міститься велика кількість активних ферментів циклу Кребса, дихального ланцюга та окислювального фосфорилування і коферментів, важливих для забезпечення клітини енергією. Водночас вони є потенціальним джерелом вільних радикалів та активних форм кисню.

Відомо [5, 9], що 95–98 % кисню у клітинах використовується при окисному фосфорилуванні мітохондріальною цитохромоксидазою, яка каталізує 4-х електронне відновлення кисню до води ($O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$). При цьому відбувається чотириетапне одноелектронне відновлення, внаслідок якого виникають проміжні продукти радикальної природи. У ланцюгу переносу електронів можливе неповне відновлення кисню: у випадку приєднання одного електрону утворюється супероксидний радикал, а двоох – пероксид водню. За нормальних умов концентрація активних форм кисню у тканинах є невисокою: $H_2O_2 - 10^{-8}$ М, $O_2^- - 10^{-11}$ М, $OH^- - 10^{-11}$ М.

Серед можливих причин, які зумовлюють збільшення продукції активних форм кисню, є порушення транспорту електронів у дихальному ланцюгу мітохондрій та електронно-транспортному ланцюгу мікосом, хімічне забруднення, іонізуюче випромінювання, гіпер- і гіпоксія, токсичні речовини, запальні процеси. Інтенсифікація утворення активних форм кисню призводить до посиленого пероксидного окиснення ліпідів, окисної

модифікації білків, деструкції нуклеїнових кислот, що спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах. Пошкоджувальній дії активних форм кисню протистоїть антиоксидантна система захисту, яка запобігає їх утворенню, забезпечує зв'язування і модифікацію вільних радикалів та руйнування пероксидів [1, 13]. Особливо уразливими до будь-яких токсичних впливів на організм є нирки. Процес патологічної інтоксикації супроводжується порушенням головного енергозалежного процесу – реабсорбції іонів натрію у ниркових каналцях із розвитком дисбалансу антиоксидантної системи від вільно-радикального окислення. Ефективний ферментативний захист організму від продуктів пероксидного окислення ліпідів здійснюється каталазою і глутатіоновою антипероксидною системами.

Каталаза (КФ 1.11.1.6.) – хромопротеїд з молекулярною масою близько 240 000, складається із чотирьох субодиниць, які містять по одній групі гема. Каталаза метаболізує пероксид водню, попереджає його накопичення в клітині, утворюючи воду та кисень. Каталаза є високоактивним ферментом, який не потребує енергії для активації. Основна функція каталази – попередження накопичення пероксида водню, який у присутності двохвалентного заліза може слугувати джерелом утворення гідроксильного радикала – найбільш небезпечного із активних форм кисню [11].

Глутатіонпероксидаза (КФ 1.11.1.9) каталізує реакцію відновлення гідропероксиду за допомогою глутатіону, володіє широкою субстратною специфічністю щодо гідропероксидів, але є абсолютно специфічною до глутатіону. Глутатіонпероксидаза – білок з молекулярною масою 84000 – 88000, складається з чотирьох ідентичних субодиниць, кожна із яких містить атом Se. У мітохондріальних мембранах печінки, нирок і серця міститься безселенова глутатіонпероксидаза з молекулярною ма-

сою 39000 – 46000, її ефективність до пероксиду водню є низькою. У цитоплазмі локалізується 70% глутатіонпероксидази, 30% – у мітохондріях усіх клітин ссавців. Спорідненість глутатіонпероксидази і пероксиду водню вища, ніж у каталази, тому при низьких концентраціях субстрату робота глутатіонпероксидази є більш ефективною, проте у захисті клітин від окислювального стресу, спровокованого високою концентрацією перексида водню, ключова роль належить каталазі [9, 12].

Мета роботи – дослідження змін активності ферментів системи енергозабезпечення та антиоксидантного захисту у мітохондріях нефроцитів щурів у умовах експериментальної інтоксикації 2,4-динітрофенолом.

Матеріали і методи дослідження. Досліди проведено на 36 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 0,16-0,20 кг, які перебували в умовах віварію зі сталим температурним та світловим режимами, і були розподілені на дві групи: 1-ша – контрольна група тварин; 2-га – тварини, яким моделювали токсичне ураження шляхом уведення 0,1% розчину 2,4-ДНФ внутрішньоочеревинно в дозі 3 мг/кг одноразово. Через 2 години після навантаження проводили евтаназію тварин шляхом декапітації під легким ефірним наркозом відповідно до вимог Європейської конвенції із захисту експериментальних тварин (86/609 ЄС).

Мітохондріальну фракцію отримували методом диференційного центрифугування [4]. H^+ -АТФазу активність реєстрували за накопиченням неорганічного фосфату [3], цитохромоксидазну активність – за концентрацією утвореного індофенолового блакитного [2]. Каталазну активність визначали за швидкістю розщеплення пероксиду водню [6]. Активність глутатіон-пероксидази реєстрували за кольоровою реакцією при взаємодії SH-груп із реактивом Елма-на [7]. Вміст білка визначали за методом Лоурі [16]. Статистичний аналіз даних проводили методами параметричної статистики, включаючи кореляційний, регресійний та багатофакторний регресійний методи аналізу із покроковим відбором змінних за допомогою програм "Statgrafics" та "Excel 7.0".

Результати та їх обговорення. Уведення 2,4-динітрофенола призводить до різнонаправлених змін каталазної і глутатіонпероксидазної активностей у мітохондріях нефроцитів щурів. Відомо, що 2,4-динітрофенол діє не лише як токсикант, а і як роз'єднувач процесів окислення та фосфорилування [8] у дихальному ланцюгу мітохондрій, про що свідчать достовірні зміни ферментів системи енергозабезпечення. Застосування 2,4-динітрофенола у дослідній групі тварин призводить до пошкодження мітохондрій та порушення транспорту електронів дихальним ланцюгом, пригнічення ферментативних активностей IV та V комплексів дихального ланцюга мітохондрій (рис. 1, 2), і, як наслідок, зниження компенсаторного потенціалу енергозабезпечувальної системи. IV комплекс, ключовим ферментом якого є цитохромоксидаза, безпосередньо реагує із молекулярним киснем, каталізуючи реакцію транспортування двох електронів на кисень при одночасному перенесенні $2H^+$ в міжмембранний простір [10, 15].

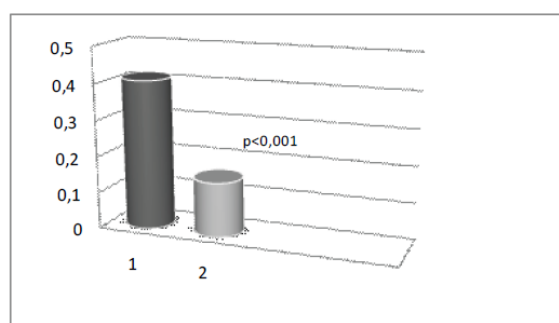


Рис. 1 . Активність цитохромоксидази у мітохондріях нирок за умов уведення 2,4-динітрофенола. 1 – контроль, 2 – дослід. $p < 0,001$ – достовірність різниці порівняно з контролем

Під час окисно-відновних реакцій у дихальному ланцюзі мітохондрій синтезується енергія, яка використовується для ефективного функціонування мітохондрій нефроцитів, що є необхідним для повноцінної роботи видільної системи організму. Суттєве зниження ферментативних активностей дихального ланцюга викликає порушення синтезу АТФ, що одразу знаходить негативне відображення на стані всього організму. У досліджуваних нами умовах зниження цитохромоксидазної (рис. 1) та H^+ -АТФ-азної (рис. 2) активностей пояснюється дією 2,4-динітрофенола як класичного роз'єднувача процесів окислення та фосфорилування. Зміни енергетичного забезпечення, викликані порушенням функціонування спряженої системи окислювального фосфорилування мітохондрій дихального ланцюга клітин, провокують розвиток енергодефіцитного стану організму.

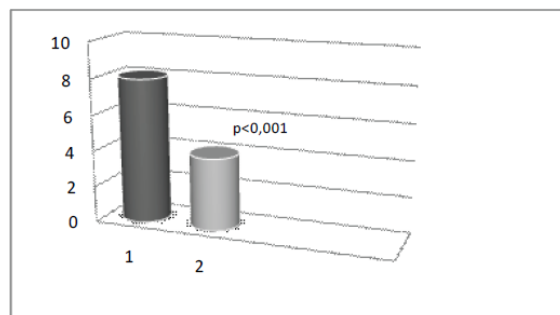


Рис. 2. Активність H^+ -АТФ-ази у мітохондріях нирок за умов уведення 2,4-динітрофенолу. 1 – контрольна група, 2 – дослідна група. $p < 0,001$ – достовірність різниці порівняно з контролем

Відомо, що порушення роботи дихального ланцюга мітохондрій супроводжується посиленою продукцією вільних радикалів та активацією пероксидного окиснення ліпідів [12, 14] із наступним пошкодженням біомембран клітин та активацією ферментів антиоксидантного захисту, а саме зростанням каталазної активності у мітохондріях нефроцитів дослідної групи тварин порівняно з показниками контролю (рис.3).

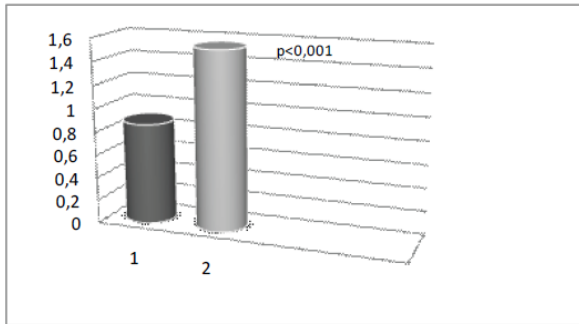


Рис. 3. Активність каталази у мітохондріях нирок за умов уведення 2,4-динітрофенолу. 1 – контрольна група, 2 – дослідна група. p – достовірність різниці порівняно з контролем

Інгібування глутатіонпероксидазної активності, яке спостерігається у дослідній групі тварин, (рис. 4), можливо, призводить до накопичення окисленого глутатіона як результат зниження антиоксидантного захисту клітин при інтоксикації, і посилення неферментативного окислення відновленого глутатіона при активації процесів переокислення.

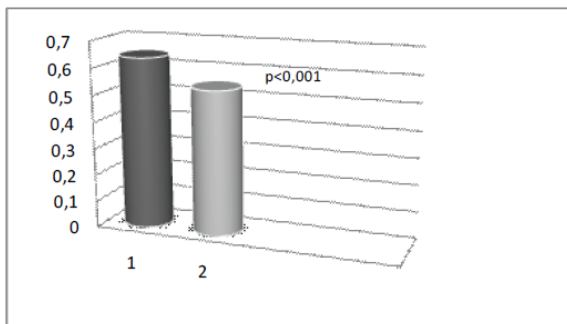


Рис. 4. Активність глутатіонпероксидази у мітохондріях нирок за умов уведення 2,4-динітрофенолу. 1 – контрольна група, 2 – дослідна група. p – достовірність різниці порівняно з контролем

Шляхом роз'єднання процесів окиснення і фосфорилування 2,4-динітрофенол викликає розвиток гострої тканинної гіпоксії, що призводить до неповноцінної роботи нирок через порушення синтезу АТФ та змін в системі антиоксидантного захисту. Під час реалізації вільно-радикальних реакцій, які ініціюються активними формами кисню, формується новий етап окислювального пошкодження молекулярних структур.

Відомо, що порушення механізму детоксикації активних форм кисню та вільних радикалів також може сприяти виникненню оксидативного стресу. Мітохондріальні активні форми кисню є не лише агентами дестабілізації процесів тканинного дихання, але й виступають важливими елементами, які виконують сигнальну функцію, дозволяючи судити про стан і функціональну активність клітини, та мають регуляторну роль у роботі здорових і патологічно видозмінених клітин

Отже, при отруєнні щурів 2,4-динітрофенолом в умовах окислювального стресу виникає гострий енергодефіцит, а антиоксидантна система не забезпечує ефективну утилізацію активних форм кисню, які продукуються мітохондріями, що, в свою чергу, може посилювати патологічний процес.

Висновки

Встановлені зміни ферментативної активності системи енергозабезпечення вказують на порушення спряженості функціонування дихального ланцюга мітохондрій, а зміни, які відбуваються в системі антиоксидантного захисту, є адаптивною реакцією на посилення продукції активних форм кисню та вільних радикалів унаслідок зниження електрохімічного потенціалу внутрішніх мітохондріальних мембран нефроцитів.

Література

1. Андреев А.Ю. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях / А.Ю. Андреев, Ю.Е. Кушнарева, А.А. Старков // Биохимия. – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 200 – 214.
2. *Біологічні мембрани: методи дослідження структури та функцій* / Остапченко Л.І. / – Київ: Київський університет, 2005. – 171 с.
3. Габибов М.М. Влияние гипербарической оксигенации на активность протонной АТФ-азы митохондрий различных тканей крыс / М.М. Габибов // Укр. биохим. журн. – 1986. – Т. 58, №5. – С.81 – 83.
4. Егорова М.В. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы / М.В. Егорова, С.А. Афанасьев // Сиб. мед. журн. – 2011. – Т. 26, № 1, Вып. 1. – С.22 – 28.
5. Колісник М. І. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітини / М. І. Колісник, Г.В. Колісник, Є. Нідзюлка, В.В. Влізло // Біологія тварин. – 2009. – Т. 11. – С. 59 – 71.
6. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванов, И.Г. Масторова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-17.
7. Моин В.И. Простой и чувствительный метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. Дело. – 1986. – №12. – С. 724 – 727.
8. Роговий Ю.Є. Окисномодифіковані білки у нирках та печінці при інтоксикації 2,4-динітрофенолом та дії мелатоніну в експерименті / Ю.Є. Роговий, В.В. Белявський, М.В. Дікал // Клін.анат. та опер. хірургія. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 18 – 21.

9. Скулачев В.П. Явления запрограммированной смерти / В.П. Скулачев // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7. – № 6. – С. 4 – 10.
10. Чеснокова Н. П. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах/ Н. П. Чеснокова, Е. В. Понукалина, М. Н. Бизенкова // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 7. – С. 29 – 36.
11. Abramson J. Structure of cytochrome c oxidase: a comparison of the bacterial and mitochondrial enzymes / J. Abramson, M. Svensson-Ek, B. Byrne, S. Iwata // Biochim. Biophys. Acta. – 2001. – № 1544. – P. 1 – 9.
12. Brookes P.S. Mitochondria: regulators of signal transduction by reactive oxygen and nitrogen species // Free Radical Biol. Med. – 2002. – V.33, № 6. – P. 755–764.
13. Dinitrophenol, cyclosporin A, and trimetazidine modulate preconditioning in the isolated rat heart: support for a mitochondrial role in cardioprotection / Jan Minners, Ewout J. van den Bos, Derek M. Yellon [et al.] // Cardiovascular Research. – 2000. – Vol. 47. – P.68 – 73.
14. Dryer S. E. Enhancement of Mitochondrial, Cyanide-resistant Superoxide Dismutase in the Livers of Rats Treated with 2,4-Dinitrophenol / S. E. Dryer, R. L. Dryer, A. P. Autor // J. Biol. Chem. – 1980. – Vol. 255. – P.1054 – 1057.
15. Faccenda D. Molecular Regulation of the Mitochondrial F1F0-ATPsynthase: Physiological and Pathological Significance of the Inhibitory Factor 1 (IF1) / D. Faccenda, M. Campanella // Int. J. Cell Biol. – 2012. – Vol. 40, № 12. – P. 2698 – 2701.
16. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N. I. Rosebrough, A. L. Farr, R. I. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, – № 1. – P. 2.