

*І. І. Заморський***ВПЛИВ РІЗНОЇ ДОВЖИНИ ФОТОПЕРІОДУ НА АКТИВНІСТЬ МАРКЕРНИХ ФЕРМЕНТІВ ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН У ПЕРЕДНЬОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ЗА ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ**Кафедра патологічної фізіології і медичної фізики (зав. – проф. В. Ф. Мислицький)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Досліджено вплив гострої гіпобаричної гіпоксії на активність маркерних ферментів плазматичних мембран – Na^+ , K^+ -аденозин-5'-трифосфатази (Na^+ , K^+ -АТФази) і 5'-нуклеотидази – у передньому мозку ювенільних самців білих щурів за різноманітної тривалості фотоперіоду впродовж одного тижня. Встановлено, що гостра гіпоксія зменшує активність Na^+ , K^+ -АТФази. Постійна темрява запобігає пригніченню активності Na^+ , K^+ -АТФази, що виникає за гострої гіпоксії, а також сприяє активації 5'-нуклеотидази в передньому мозку щурів.

Ключові слова: фотоперіод, гостра гіпобарична гіпоксія, Na^+ , K^+ -АТФаза, 5'-нуклеотидаза.

Вступ. Структурну цілісність та нормальний функціональний стан плазматичних мембран нейронів характеризують за активністю двох ферментів – Mg^{2+} -залежної аденозин-5'-трифосфатази, що активується іонами натрію і калію (Na^+ , K^+ -АТФаза) [КФ 3.6.1.37], та 5'-нуклеотидази [КФ 3.1.3.5] [13]. Ці ферменти є білками плазматичної мембрани, що обумовлює високу залежність їх функціонування від мембранного ліпідного оточення [6]. Тому Na^+ , K^+ -АТФаза і 5'-нуклеотидаза належать до маркерних ферментів плазматичних мембран [4]. Крім того, Na^+ , K^+ -АТФазу вважають ключовим ферментом нейронів, який визначає рівень їх функціональної активності [8]. Попередженню інактивації Na^+ , K^+ -АТФази та усуненню порушень структури плазматичних мембран нейронів присвячені окремі дослідження [1,15]. Нашими спостереженнями доведено залежність чутливості щурів до гострої гіпоксії від характеру фотоперіоду [2,3]. Можливо ступінь ушкодження структурних елементів плазматичних мембран нейронів за гострої гіпоксії також залежить від тривалості фотоперіоду.

Мета дослідження. Встановити вплив фотоперіоду різної довжини на активність Na^+ , K^+ -АТФази і 5'-нуклеотидази в передньому мозку щурів за гострої гіпобаричної гіпоксії.

Матеріали і методи. Експерименти здійснено на 54 (із урахуванням тих, у яких визначали стійкість до гострої гіпоксії) статевонезрілих самцях безпородних білих щурів масою 65–75 г, які доростали на час закінчення досліджень мали ювенільний вік 5,5–6,0 тижнів. За тиждень до початку моделювання фотоперіодичних змін визначали стійкість щурів до гіпоксії і в подальшому використовували лише середньостійких тварин [5]. Для моделювання фотоперіодичних змін в організмі тварин упродовж одного тижня застосовували три різні режими освітлення. Перша група щурів ($n=17$) знахо-

дилася в умовах 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 впродовж доби. Третя група (n=15) утримувалася в постійній цілодобовій темряві. Доступ до тварин останньої групи здійснювали тільки при слабкому в 2 лк червоному світлі. Дослідження виконано на статевонезрілих щурах у зв'язку з тим, що саме в такий критичний період статевого дозрівання можна моделювати впродовж невеликого проміжку часу (одного тижня) вірогідні фотоперіодичні зміни в організмі тварин [3]. Після моделювання фотоперіодичних змін піддослідних тварин одноразово піддавали дії гострої гіпоксичної гіпобаричної гіпоксії, яку створювали в модифікованій барокамері проточного типу шляхом імітації піднімання щурів на висоту 12000 м із швидкістю 50 м/с. На "висотному плато" щурів витримували в середньому 2,5–3,5 хв до початку другого агонального вдиху, після чого здійснювали "спуск" на попередню нульову висоту, відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин. Загальна тривалість експерименту від початку моделювання фотоперіодичних змін до моменту евтаназії дорівнювала 7 діб. Евтаназію щурів виконували в світловий період доби шляхом декапітації через 30 хв після припинення дії гострої гіпоксії і швидко забирали головний мозок, який зберігали в рідкому азоті до проведення подальших досліджень. Активність маркерних ферментів плазматичних мембран досліджували в супернатанті, який отримували після центрифугування при 900 g упродовж 15 хв гомогенатів наважок тканин переднього мозку. Наважки гомогенізували в охолодженому до 2–4°C 0,25 М трис-НСІ ("Sigma", США) буфері (рН 7,4). Активності Na⁺, K⁺-АТФази і 5'-нуклеотидази визначали за збільшенням під час реакції кількості неорганічного фосфату (P_i) згідно з методами [16] і [14] та виражали в нмоль P_i, що утворився за хв на мг білка. Кількісне визначення P_i проводили колориметричним методом [11]. Вміст білка визначали за методом Лоурі–Фоліна. Отримані дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою пакету програм "STATISTICA 5.0" із використанням для оцінки вірогідності різниць окремих груп результатів параметричного (t Стьюдента) та непараметричних (Вілкоксона, U Манна-Уїтні) критеріїв, а також дисперсійного аналізу "ANOVA".

Результати дослідження та їх обговорення. Згідно з отриманими даними (табл.) гостра гіпоксія гальмує активність Na⁺, K⁺-АТФази як за звичайних умов, так і за постійного освітлення, а за постійної темряви активність цього ферменту залишається незмінною. Зниження активності Na⁺, K⁺-АТФази збігається з результатами досліджень інших авторів [4,1] і виникає, в першу чергу, внаслідок дефіциту АТФ, а також імовірної деструкції плазматичних мембран нейронів через дію вільнорадикальних окиснювачів, для яких Na⁺, K⁺-АТФаза є безпосередньою мішенню впливу [6]. Істотне зниження активності спостерігалось саме за постійного освітлення, що підкреслює негативний вплив останнього на чутливість нейронів до гострої гіпоксії [3]. Водночас відсутність змін в активності цього ферменту за постійної темряви свідчить про покращання адаптації до гіпоксії.

Активність 5'-нуклеотидази під впливом гострої гіпоксії суттєво не змінювалася за звичайних умов освітлення і за постійної темряви, а за умов

Вплив різної довжини світлового періоду за умов гострої гіпобаричної гіпоксії на активність Na^+ , K^+ -АТФази і 5'-нуклеотидази в передньому мозку ювенільних щурів ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови освітлення	Характер впливу	Na^+ , K^+ -АТФаза (мкмоль P_i за хв на мг білка)	5'-нуклеотидаза (мкмоль P_i за хв на мг білка)
Звичайне освітлення	Контроль	0,48±0,03	0,74±0,03
	Гіпоксія	0,37±0,02*	0,77±0,04
Постійне освітлення	Контроль	0,46±0,02	0,70±0,03
	Гіпоксія	0,22±0,01* ⁺⁺	0,79±0,03*
Постійна темрява	Контроль	0,52±0,03	0,79±0,03 [#]
	Гіпоксія	0,52±0,03 ^{##}	0,82±0,03

Примітки:

- * $p < 0,05$ порівняно з контрольними показниками за тих же умов освітлення;
- + $p < 0,05$ порівняно з контрольними показниками за звичайного освітлення;
- # $p < 0,05$ порівняно з контрольними показниками за постійного освітлення;
- ++ $p < 0,05$ порівняно з показниками після гіпоксії за звичайного освітлення;
- ## $p < 0,05$ порівняно з показниками після гіпоксії за постійного освітлення.

постійного освітлення підвищувалась. Відомо, що активність 5'-нуклеотидази залежить від концентрацій аденинових нуклеотидів: АТФ і АДФ гальмують активність цього ферменту [9]. За гострої гіпоксії при зменшенні вмісту макроергічних нуклеотидів активність 5'-нуклеотидази розгальмовується і цим ферментом збільшується синтез аденозину з АМФ. Аденозин є сильним ендogenousним антигіпоксантом [7], володіє антиоксидантними властивостями [12], зменшує вивільнення збуджуючих нейромедіаторів з нейронів [17] та збільшує мозковий кровотік [10], що покращує захист нейронів за гострої гіпоксії. Найбільші показники активності 5'-нуклеотидази спостерігались за постійної темряви. Отже, зростаюча за таких умов активність 5'-нуклеотидази збільшує синтез ендogenousного антигіпоксанту і антиоксиданту аденозину та зменшує деструктивну дію гіпоксії, що підкреслює посилення стійкості до гострої кисневої недостатності під час темряви.

Висновки. Постійне освітлення зменшує стійкість нейронів переднього мозку щурів до гострої гіпоксії, а постійна темрява сприяє покращанню адаптації щурів до гострої кисневої недостатності.

Література. 1. Антиоксидантна дія таурину за умов гострої гіпоксичної гіпоксії / Маньковська І. М., Середенко М. М., Вавілова Г. Л. та ін. // Фізіол. журн. – 1998. – Т. 44, № 5–6. – С. 65–72. 2. Заморський І. І. Вплив мелатоніну та різного фотоперіоду на виживання щурів за гострої гіпоксії // Одеський мед. журн. – 1998. – № 6 (50). – С. 23–25. 3. Заморський І. І., Мецишен І. Ф., Пішак В. П. Фотоперіодичні зміни системи глутатіону мозку за гострої гіпоксії // Укр. біохим. журн. – 1998. – Т. 70, № 6. – С. 69–75. 4. Активність маркерних ферментів клітинних мембран у крыс при адаптації к гипоксической гипоксии / Маньковская И. Н., Вавилова Г. Л., Харламова О. Н. и др. // Укр. біохим. журн. – 1997. – Т. 69, № 2. – С. 79–87. 5. Гіпоксія и индивидуальные особенности реактивности / Березовский В. А., Бойко К. А., Клименко К. С. и др.: Под общ. ред. В. А. Березовского. – Киев: Наукова думка, 1978. – 216 с. 6. Капля А. А. Структурная организация изоферментов Na^+ , K^+ -АТФ-азы в плазматической мембране // Укр. біохим. журн. – 1997. – Т. 69, № 5–6. – С. 12–24. 7. Кулинский В. И., Усов Л. А., Суфианова Г. З., Суфианов А. А. Защитный эффект интрацеребровентрикулярного введения А-агонистов при полной ишемии головного мозга // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1994. – Т. 117, № 6. – С. 622–624. 8. Лелевич В. В. Особенности

энергетического обмена в ткани головного мозга // Весті АН Беларусі. Сер. біял. навук. – 1996. – № 2. – С. 113–119. 9. *Хватова Е. М., Сидоркина А. Н., Миронова Г. В.* Нуклеотиды мозга. (Метаболизм и оценка при кислородном голодании). – Москва: Медицина, 1987. – 208 с. 10. *Coney A., Marshall J. M.* The effect of 8-sulphenyltheophyllinae of the anaesthetized rat by acute systemic hypoxia and exogenous adenosine: Abstr. Sci. Meet. Physiol. Soc., Leeds, 11–13 Sept., 1996 // *J. Physiol. Proc.* – 1996. – Vol. 497. – P. 80. 11. *Fiske S., Subbarow J.* The colorimetric determination of phosphorus // *J. Biol. Chem.* – 1925. – V. 66, N 7. – P. 375–400. 12. *Fredholm B. B.* Adenosine receptors in the central nervous system // *News Physiol. Sci.* – 1995. – V. 10, June. – P. 122–128. 13. *Gottlieb L., Shostak A., Wajsbrot V., Kuschnier R.* The cytochemical profile of visceral mesothelium under the influence of lactated-hyperosmolar peritoneal-dialysis solutions // *Nephron.* – 1995. – V. 69, N 4. – P. 466–471. 14. *Israelsson B., Tengrup I.* Changes in adenylate cyclase and 5'-nucleotidase activities in liver membranes from alloxan diabetic rats // *Experientia.* – 1980. – V. 36, N 2. – P. 257–258. 15. *Lampléy E. C., Mishra O. P., Graham E., Delivoriapapadopoulos M.* Neuroprotective effect of phenytoin against in-utero hypoxic brain injury in fetal guinea-pigs // *Neuroscience Lett.* – 1995. – V. 186, N 2–3. – P. 192–196. 16. *Robinson J. D.* Interaction between monovalent cations and the (Na⁺-K⁺)-dependent adenosine triphosphatase // *Arch. Biochem. and Biophys.* – 1970. – V. 139, N 1. – P. 17–27. 17. *Sánchez de V. C.* Circadian variations of adenosine and of its metabolism. Could adenosine be a molecular oscillator for circadian rhythms? // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1995. – V. 73, N 3. – P. 339–355.

THE EFFECT OF VARYING DURATION OF PHOTOPERIOD ON THE ACTIVITY OF ENZYMATIC MARKERS OF PLASMATIC MEMBRANES IN THE RATS' FOREBRAIN UNDER CONDITIONS OF ACUTE HYPOXIA

I. I. Zamorskyi

Abstract. The effect of acute hypobaric hypoxia on the activity of enzymatic markers of plasmatic membranes — Na⁺, K⁺-adenosine-5'-triphosphatase (Na⁺, K⁺-ATPase) and 5'-nucleotidase — in the forebrain of juvenile male albino rats was investigated under a varying duration of photoperiod during one week. It was established that acute hypoxia reduced the activity of Na⁺, K⁺-ATPase. Permanent darkness prevented inhibition of the activity of Na⁺, K⁺-ATPase caused by hypoxia and promoted the activation of 5'-nucleotidase in the rat's forebrain.

Key words: photoperiod, acute hypobaric hypoxia, Na⁺, K⁺-ATPase, 5'-nucleotidase.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)
