

8. Кархут В.В. Ліки навколо нас. – К.: Здоров'я, 1973. - 447 с.
9. Крылов А. А., Марченко В. А., Максютин Н. П., Мамчур Ф. И. Фитотерапия в комплексном лечении заболеваний внутренних органов. – К.: Здоров'я, 1991. – 240 с.

Summary.

O.V. Storchilo, V.K. Naphanyuk, E.A. Bagirova, A.G. Vasylieva
**INFLUENCE OF THE PLANT EXTRACTS ON THE GLYCINE TRANSPORT BY
THE ACCUMULATE FRAGMENTS OF THE RATS SMALL INTESTINE
MUCOSA**

The effect of the water-alcohol dry extracts of the rastoropsha and calendula on the transport of glycine by the rat small intestine mucosa was investigated. The increase of transport rate was detected in the case of the rastoropsha presence if the initial data was not very high and no effect in the case of the high value. It is possible that the active substances of the rastoropsha have membranotropic effect and that is why they can repair the membrane. Extract of calendula did not expressed the same effect.

УДК 612.357.6-055

Цвіговський В.М.

ФОСФОРИЛЮВАННЯ БІЛКІВ ХРОМАТИНУ ЯДЕР КЛІТИН ТИМУСА ЩУРІВ ПІСЛЯ ТРИВАЛОЇ ДІЇ γ -ОПРОМІНЕННЯ

Одеський державний медичний університет

Вступ. Процеси фосфорилювання білків хроматину є однією з найбільш чутливих маркерних відповідей на дію різних за своїм походженням екстремальних чинників довкілля. Існуючі дані літератури [1, 2] свідчать про те, що іонізуюча радіація в великих дозах викликає досить істотні зміни активності реакцій фосфорилювання як гістонових, так і негістонових білків хроматину і при цьому найбільш глибокі зрушення відзначаються в радіочутливих органах і тканинах. Оскільки процеси фосфорилювання є інтегруючими в реакціях посттрансляційної модифікації білків хроматину, то безумовно, що їх зміни під впливом іонізуючої радіації негативно віддзеркалюються на структурі і функції хроматину та активності геномних структур. Враховуючи той факт, що на сьогодні в численних роботах [3, 4] доведено, що тривала дія іонізуючої радіації в низьких дозах викликає досить істотні і стійкі зміни в імунній системі, то очевидно, що з'ясування особливостей перебігу реакцій фосфорилювання білків хроматину ядер клітин тимуса дозволило б у значній мірі розкрити раніше невідомі патогенетичні механізми таких зрушень. З'ясування таких механізмів, на нашу думку, може бути фундаментальним підґрунтям для розробки шляхів фармакологічної корекції функціонального стану імунної системи осіб, які зазнали тривалого впливу іонізуючої радіації в низьких дозах.

Мета дослідження. З'ясувати особливості змін активності реакцій фосфорилювання гістонових і негістонових білків хроматину ядер клітин тимуса щурів, які зазнали тривалого γ -опромінення в сумарній дозі 1,0 Гр.

Матеріали і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на 60 статевозрілих щурах-самцях лінії „Вістар”, які утримувались в стандартних умовах віварію Одеського державного медичного університету. У відповідності до мети дослідження тварин було розподілено на дві групи : 1) інтактні тварини (контроль); 2) тварини, які підлягали γ -опроміненню в сумарній дозі 1,0 Гр. Опромінення експериментальних тварин проводили на гамма-терапевтичній установці АГАТ-Р № 83 в Одеському обласному онкологічному диспансері, Під час опромінення дотримувались слідуєчих технічних умов: потужність дози 1,07 Гр/хв., розмір поля 20×20 см, відстань джерело-поле 75 см, одноразова доза 0,1 Гр,

експозиція 5,6 сек., кількість повторів – 10, сумарна доза 1,0 Гр. До експерименту тварин брали через 24, 48, 72, 99 і 120 годин після завершення γ -опромінення. Евтаназію експериментальних тварин виконували під ефірним наркозом. В якості об'єкта для досліджень було обрано тимус, з клітин якого методом Рого Ф. О. і співавторів отримували ядра [5]. За методом Tenq С. S. і співавторів [6] з ядер виділяли хроматин, який підлягав очистці. Шляхом обробки очищеного хроматину 0,35 М NaCl рН 7,5 отримували лабільно зв'язані з ДНК негістонові білки [7]. Гістони отримували внаслідок екстракції 0,25 N H₂SO₄, осаджували ацетоном, після чого промивали етанолом і ліофілізували. Індивідуальні гістони отримували внаслідок фракціонування сумарних гістонів методом гел'фільтрації на біогелі Р-60 і сефадексі G-100 [8]. Фракцію міцно зв'язаних з ДНК негістонових білків отримували після екстракції гістонів шляхом обробки хроматину 0,5 N HClO₄ на протязі 20 хвилин. Для дослідження реакцій АДФ-рибозилування усім тваринам за 2 години до декапітації внутрішньоочеревинно (із розрахунку на 100 г маси) вводили 6 МБк NaH₂³²PO₄. Підрахунок радіоактивності проводили методом Aloyo V. J. [9]. Отримані результати опрацьовані методом варіаційної статистики.

Результати дослідження і їх обговорення. Внаслідок проведених досліджень (табл. 1) встановлено, що через 24 години після завершення дії іонізуючого фактору активність фосфорилування сумарних гістонів хроматину ядер клітин тимусу була нижчою за рівень контролю на 19,7%. Паралельно з цим також спостерігалось зниження активності процесів фосфорилування індивідуальних гістонів Н1, Н2А, Н3 та міцно зв'язаних з ДНК негістонових білків, показники яких відносно до контролю дорівнювали відповідно 62,8, 49,3, 45,1 та 19,6% (табл.1). У цей же час активність процесів фосфорилування індивідуальних гістонів Н2В, Н4 та лабільно зв'язаних з ДНК негістонових білків була вища за рівень інтактних тварин відповідно на 15,1, 66,3 та 21,2%.

Через 48 годин після завершення γ -опромінення в сумарній дозі 1,0 Гр активність процесів фосфорилування сумарних гістонів достовірно знижувалась порівняно з аналогічними показниками попереднього терміну і при цьому була на 31,5% нижчою за рівень контролю. На цьому етапі досліджень продовжувала також знижуватись і активність процесів фосфорилування індивідуальних гістонів Н1, Н2А та міцно зв'язаних з ДНК негістонових білків, показники яких відносно інтактних тварин дорівнювали відповідно 25,6, 28,5 і 1,6%. Внаслідок проведених досліджень було також встановлено, що на цей час активність фосфорилування гістону Н4 знижувалась відносно попереднього терміну на 119,2%, а лабільно зв'язаних з ДНК негістонових білків на 66,4% і їх показники відносно контролю дорівнювали відповідно 47,1 та 54,8%. Окрім цього виявлено, що активність фосфорилування гістона Н2В залишалась на попередньому рівні, переважаючи контроль на 18,3%, а фосфорилування гістону Н3 збільшувалось відносно його значень на 24 годину в 4,6 разів і в двічі було вищим за контроль.

Через три доби по завершенні дії іонізуючої радіації активність фосфорилування сумарних гістонів хроматину ядер клітин тимуса майже в три раз була вищою за показники попереднього терміну і водночас переважала контроль на 68,3%. Також встановлено що активність індивідуальних гістонів Н1 і Н2А досить істотно посилювалась відносно своїх значень в попередньому терміні, але при цьому вона відносно контролю становила відповідно 84,8 і 43,5%. Активність фосфорилування Н4 в цей час була вищою за контроль у 3,4 рази, а гістону Н3 в 1,9 разів. Фосфорилування лабільно та міцно зв'язаних з ДНК негістонових білків хроматину ядер клітин тимуса знаходилось на дуже низькому рівні і стосовно до контролю відповідно дорівнювало 43,4 та 6,8%.

Проведені дослідження активності реакцій фосфорилування білків хроматину ядер клітин тимуса через 4 доби по завершенні дії іонізуючої радіації дозволяли також виявити цілий ряд особливостей. Так, активність фосфорилування сумарних гістонів, індивідуальних гістонів Н1, Н2В і Н4 переважала показники інтактних тварин і стосовно до них дорівнювала відповідно 165,6, 135,3, 161,7 і

210,3%. Незважаючи на деяке посилення фосфорилування гістону H2A та міцно зв'язаних з ДНК негістонових білків відносно попередніх показників їх активність була нижчою за контроль відповідно 31,5 та 87,6%. На цей час також спостерігалось зниження активності фосфорилування гістона H3 і лабільно зв'язаних з ДНК негістонових білків як по відношенню до попередніх показників, так і контролю і стосовно останнього вона відповідно дорівнювала 72,4 і 28,2%.

Таблиця 1

Вплив γ -опромінення в сумарній дозі 1,0 Гр на фосфорилування білків хроматину ядер клітин тимуса щурів ($M \pm m$; $n=10$; імп/хв. на 1 мг білка)

Умови досліджу	Термін після впливу	Сумарні гістони	Індивідуальні гістони					Негістонові білки	
			H1	H2A	H2B	H3	H4	лзНГБ	мзНГБ
Контроль		475±18*	560±22*	380±12*	305±10*	318±11*	220±6*	1980±73*	21810±430*
Після γ -опромінення	24 години	381±15*	352±10*	187±9*	351±15*	143±6*	366±10*	2400±32*	4275±35*
	48 годин	325±13*	143±8*	108±4*	358±16*	666±12*	104±8*	1085±41*	351±5*
	72 години	894±18*	475±12*	165±6*	586±19*	377±11*	745±17*	859±26*	1483±33*
	96 годин	787±19*	758±15*	260±8*	493±20*	230±9*	463±11*	558±22*	2704±36*
	120 годин	444±20	796±14*	325±11*	414±22*	314±15	419±18*	1224±28*	5191±48*

* $P < 0.05$ стосовно контролю

По завершенні експерименту (120 годин) активність фосфорилування сумарних гістонів знижувалась відносно значень на 96 годину на 72,2% і при цьому практично відновлювалась до фізіологічного рівня, а виявлені деякі відхилення від нього мали недостатній характер. Проведені на цьому етапі дослідження також дозволили встановити, що фосфорилування гістонів H1, H2 і H4 було достовірно вищим за показники інтактних тварин відповідно на 42,2, 35,8 і 90,4%, тоді як цей процес у гістонів H2A, лабільно та міцно зв'язаних з ДНК негістонових білків був нижчим за них на 14,4, 38,2 і 23,8%. У цей же час також посилювалась активність фосфорилування гістона H3, показники якої були вищими за попередні значення на 26,4% і при цьому досягали рівня інтактних тварин.

Таким чином, тривале тотальне γ -опромінення в сумарній дозі 1,0 Гр викликало досить істотні і стійкі зміни інтенсивності процесів фосфорилування гістонових і негістонових білків хроматину ядер клітин тимуса щурів, наслідком чого можуть бути конформаційні зрушення структури хроматину на взаємодії цих білків з ДНК.

Висновки: Тривале γ -опромінення в сумарній дозі 1,0 Гр викликало пригнічення активності реакцій фосфорилування негістонових білків хроматину на протязі усього експерименту і особливо глибоким воно було у міцно зв'язаних з ДНК білків на другу та третю добу.

Активність процесів фосфорилування індивідуальних гістонів мала різнонаправлений характер. При цьому фосфорилування гістонів H1 і H2A у більшості випадків гальмувалось, тоді як у гістонів H2B, H3 і H4 посилювалось. Такі зміни активності процесів фосфорилування білків хроматину ядер клітин тимуса є ознакою конформаційних перебудов його структури в опроміненому організмі на порушення взаємодії цих білків з ДНК.

Ключові слова: γ -опромінення, хроматин, тимус, фосфорилування

Література.

1. Тірон О. І., Напханюк В. К. Вплив хронічного γ -опромінення низькими дозами на процеси фосфорилування гістонів і негістонових білків

- хроматину ядер гепатоцитів // Одеський медичний журнал. - 2001. - №6. - С.10 - 12.
2. Аванов А. Я. Конформационные аспекты фосфорилирования // Молекулярная биология. – 1999. - Т.33, №5. – С. 725 - 739.
 3. Беляков И. В., Ярилин А. А., Надежина Н. М. Некоторые показатели периферического звена иммунной системы у ликвидаторов и больных перенесших ОЛБ, через 5 лет после воздействия факторов радиационной аварии // Радиобиология. – 1992. – Т. 32. – Вып.3. - С. 349 - 356.
 4. Ярилин А. А. Радиация и иммунитет. Современный взгляд на старые проблемы // Радиационная биология. Радиозоология. – 1997. – Т.37. – Вып.4. – С.597 - 604.
 5. Poço A. O., Littan V. C., Allfrey V. G., Mirsky A. E. Modification of ribonucleic acid synthesis in nuclei isolated from normal and regenerating liver some effects of salt and specific divalent cations // Proc. Nat. Acad. Sci. – 1967. – V.53, №3. – P.743 - 750.
 6. Tenq C. S., Andrews G. K., Tenq C. T. Studies on the high-mobility group non-histone proteins from hen oviduct. // Biochem. J. – 1979. - 181. №3. – P. 585 - 591.
 7. Уманский С. Р., Ковалев Ю. И., Пикер Е. Г. Взаимодействие негистоновых белков хроматина с гомологичной и гетерологичной ДНК // Молекулярная биология. – 1975. – Вып. 5. – С. 683 - 690.
 8. Bohm E. L., Strickland W. N., Von Holt C. Purification of the liver main calf thymus histone fractions by gel exclusion chromatography. // FEBS Lett. - 1973.- №2. - P. 217 - 221.
 9. Aloyo V. J., Scintillation counting of ^3H - and ^{14}C containing gel slices: a one step method. // Anal. Biochem. - 1979. - №1. - P. 161 - 164.

Summary.

Tsvigovsky V. M.

PHOSPHORILATION OF CHROMATINE PROTEINS OF RATS' THYMUS NUCLEAR CELLS AFTER PROLONGED GAMMA – IRRADIATION ACTION

It has been established that a prolonged gamma – irradiation at a total dose of 1 Gr led to the inhibition of reaction phosphorilation (PH) of non – histone proteins of nuclear chromatine of thymus cells during the whole period of experiment. Especially promoted it was in depravedly connected with DNA non – histone proteins at the 2nd and 3rd days. Besides it has been revealed that reaction activity of PR of individual histones had different directions. As it was, activity of histone H1 and H2 PR decreased significantly at the major of cases, and histones H2b< H3 and H4 increased. On the basis of the data obtained we suppose that a prolonged irradiation at the dose of 1,0 Gr can cause comformative changes of chromatine structure and disturbance of its proteins interaction with DNA.

УДК 612.014.482

Чернега Л.І.

ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ КАТЕХОЛАМІНІВ У КРОВІ І ГІПОТАЛАМУСІ ОПРОМІНЕНИХ В НИЗЬКИХ ДОЗАХ ТВАРИН

Одеський державний медичний університет

Вступ. Однією з актуальних проблем сучасної медичної науки є проблема дослідження патофізіологічних механізмів які лежать в основі розвитку соматичних захворювань, викликаних дією стресових факторів на організм. Особливої актуальності ця проблема набула після аварії на ЧАЕС, яка спровокувала появу значної кількості стрес-індукованої патології обумовленої жахом перед «невидимим» ворогом. В цьому плані особливу цікавість набули дослідження причино-слідчих