

ЛІТЕРАТУРА

1. Мазур І. П., Поворознюк В. В. Некоторые аспекты патогенеза резорбции альвеолярного гребня при генерализованном пародонтите // Пародонтология. — 1999. — № 3 (13). — С. 19-23.

2. Системний остеопороз в развітті захворювань пародонта / В. В. Поворознюк, І. П. Мазур, Г. Н. Вишняк и др. // Вісник стоматології. — 1997. — № 4. — С. 554-557.

3. Богдан А. С. Структурно-функціональний стан пародонта і опорного скелета у жінок в пре- та постменопаузі та шляхи корекції їх порушень: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.22 / Нац. мед. ун-т ім. О. О. Богомольця. — К., 2002. — 20 с.

4. Ефективність альфакальцидолу при генералізованому пародонтиті у хворих на ревматоїдний артрит / Н. В. Нейко, В. В. Поворознюк, Т. Д. Павлюк, І. Ю. Головач // Вісник стоматології. — 1999. — № 3. — С. 24-26.

5. Влияние препарата «ЭКСО» на состояние тканей пародонта

крыс / А. П. Левицкий, Ю. Г. Чумакова, О. А. Макаренко и др. // Там же. — 2000. — № 1. — С. 15-17.

6. Остеотропная активность соевого препарата «ЕКСО» / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Л. Н. Россаханова, Н. Ю. Лерфина // Там же. — № 4. — С. 5-9.

7. Чумакова Ю. Г., Россаханова Л. М., Левицкий А. П. Вплив фітоестрогенів на стан кісткової тканини і показники мінерального обміну при експериментальному пародонтиті у щурів // Одес. мед. журнал. — 2003. — № 5 (79). — С. 35-39.

8. Дедух Н. В., Малышкина С. В. Бенгуз Л. М. Алиментарный остеопороз // Остеопороз: эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение / Под ред. Н. А. Коржа, В. В. Поворознюка, Н. В. Дедух, И. А. Зупанца. — Х.: Золотые страницы, 2002. — С. 527-531.

9. Влияние соевых изофлавонов на протеолиз в костной ткани при экспериментальном остеопорозе / А. П. Левицкий, О. А. Левицкий, И. А. Дюдина, Ю. В. Зеленина // Пробле-

мы медицинской энзимологии: Труды Всерос. конф. (Москва, ЦДХ, 28-31 мая 2002 г.). — М.: Лабор. диагностики, 2002.

10. Козлянина Н. П. Физиологическая антиоксидантная система десны и кости альвеолярного отростка в норме и при патологии: Дис. ... канд. биол. наук. — Одесса, 1989. — 204 с.

11. Леонтьев В. К., Петрович Ю. А. Удельный вес // Биохимические методы исследования в клинической и экспериментальной стоматологии. — Омск, 1976. — С. 51.

12. Левицкий А. П., Марченко А. И., Рыбак Т. Л. Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны // Лабор. дело. — 1973. — № 10. — С. 624-625.

13. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В. В. Миньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.

14. Колб В. Г., Камышников В. С. Справочник по клинической химии. — Минск, 1982. — 230 с.

УДК 612.332.2/7.015+612.38+577.112

О. В. Сторчило, В. К. Напханюк, О. А. Багірова

ОСОБЛИВОСТІ ТРАНСПОРТУ ВІЛЬНОГО І «ПЕПТИДНОГО» ГЛІЦИНУ В ПРИСУТНОСТІ ВУГЛЕВОДНИХ СУБСТРАТІВ У ТОНКІЙ КИШЦІ ЩУРІВ IN VITRO

Одеський державний медичний університет

Гліцин і глюкоза використовуються як тривіальні субстрати для дослідження функцій тонкої кишки протягом кількох десятків років. Але залишається чимало нез'ясованого у механізмі їх взаємовідношень у процесі транспорту в тонкій кишці. Це цілком справедливо і для їх димерних форм (гліцил-гліцину та мальтози) [1–3]. Вагомий вклад в ситуацію, яка виникла, певно, вносить також використання дослідниками різних рівнів моделювання гідролітичних і транспортних функцій тонкої кишки — від солюбілізованих ферментів до хронічних ек-

периментів на цілісному організмі, що, безумовно, дає широкий діапазон параметрів, які досліджуються, але утруднює верифікацію та порівняння отриманих даних [4].

Метою роботи стало дослідження транспорту гліцину (вільного й утвореного при гідролізі димеру) у присутності вуглеводних субстратів.

Матеріали та методи дослідження

Експерименти було проведено на щурах-самцях лінії Вістар масою (165±5) г, позбавлених їжі протягом 18–24 год. Використано тварин одного ві-

варію, що утримувалися на стандартному раціоні. Акумуляючий препарат слизової оболонки (АПС) виготовляли за методом О. М. Уголева та співавторів [5]. Субстратами слугували розчини гліцину (5 або 10 ммоль/л), гліцил-гліцину (2,5 або 5 ммоль/л, що відповідає 5 і 10 ммоль/л вільного гліцину) і мальтози (2,5 або 5 ммоль/л, що відповідає 5 або 10 ммоль/л вільної глюкози відповідно), які виготовляли на розчині Рінгера рН=7,4. Інкубували АПС протягом 1 год при 37 °С в оксигенованому середовищі. Концентрацію вільного гліцину і такого, що утворився при гід-



Акумуляція «пептидного» гліцину препаратами слизової оболонки тонкої кишки щурів, ммоль/(л·мг) вогкої маси препарату

Концентрація субстрату в інкубаційному розчині	Концентрація гліцину в препараті слизової	n	P
1. 2,5 ммоль/л гліцил-гліцину (еквівалентно 5 ммоль/л гліцину)	2,10±0,46	5	
2. 5 ммоль/л гліцил-гліцину (еквівалентно 10 ммоль/л гліцину)	3,71±0,80	5	
3. 2,5 ммоль/л гліцил-гліцину + +2,5 ммоль/л мальтози	9,51±0,59	5	P ₃₋₁ =0,001
4. 5 ммоль/л гліцил-гліцину + +5 ммоль/л мальтози	13,68±2,36	15	P ₄₋₂ =0,028

ролізі димеру («пептидного» гліцину) визначали за методом О. М. Уголева і Н. М. Тимофєєвої [6] колориметрично на КФК-2МП при $\lambda=540$ нм. Концентрацію вільної глюкози і такої, що утворилася внаслідок гідролізу мальтози (М-глюкози), визначали антроновим методом [7].

Результати обробляли статистично за програмою "Primer Biostatistics".

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження акумуляції вільного гліцину та гліцину, який утворився внаслідок гідролізу дипептиду, показали, що при підвищенні концентрації гліцил-гліцину в інкубаційному середовищі вдвічі акумуляція гліцину в АПС збільшується пропорційно: 2,10±0,46 і 3,71±0,80 відповідно (табл. 1). У присутності еквімолярного розчину мальтози акумуляція гліцину збільшується приблизно чотирикратно як з 2,5 ммоль/л, так і з 5 ммоль/л розчинів гліцил-гліцину (9,51±0,59 проти 2,10±0,46 (P=0,001) та 13,68±2,36 проти 3,71±0,80 (P=0,028) відповідно). Ці результати дозволяють припустити стимуляцію активності гліцил-гліцин-дипептидази мальтозою (або глюкозою як продуктом її гідролізу). Для перевірки цього припущення було проведено експерименти, які показали, що при інкубації АПС тонкої кишки щурів у розчині, який містить еквімолярну кількість вільних гліцину і глюкози, акумуляція гліцину не менш ніж втричі вища, ніж при інкубації АПС у розчині, який містить тільки дипептид відповідної концентрації (табл. 2).

Таким чином, показано значне підвищення активності гліцил-гліцин-дипептидази і пов'язаної з нею транспортної системи для гліцину в присутності як мальтози, так і глюкози. В літературі наведено дані про існування однієї загальної для гліцину і глюкози транспортної

Таблиця 2
Акумуляція вільного гліцину препаратами слизової оболонки тонкої кишки щурів, ммоль/(л·мг) вогкої маси препарату

Концентрація субстрату в інкубаційному розчині	Концентрація гліцину в препараті слизової	n	P
1. 10 ммоль/л гліцину*	28,56±2,29	12	
2. 10 ммоль/л гліцину в присутності еквімолярної глюкози	12,63±2,14	5	P ₂₋₁ <0,001
3. 5 ммоль/л гліцину в присутності еквімолярної глюкози	6,03±1,20	5	P ₃₋₁ <0,001 P ₃₋₂ =0,028

Примітка. * — дані отримано раніше [11], використано для порівняння та обговорення.

системи [8], а також про наявність різних шляхів їх транспорту [9]. Обидва субстрати (і гліцин, і глюкоза) потрапляють в ентероцит за участі як Na-залежного, так і Na-незалежного механізмів транспорту [8–9]. Згідно з даними літератури, більш ніж 90 % гліцил-гліцину всмоктується в тонкій кишці за участі пептидної транспортної системи і тільки приблизно 10 % цього дипептиду гідролізується на мембрані з подальшим всмоктуванням утвореного при цьому гліцину [3; 9]. На даний момент з високим ступенем вірогідності можна припустити, що глюкоза, яка активно транспортується в клітину і є головним джерелом енергії для її життєдіяльності, використовується для енергізації транспорту гліцину і/або, можливо, модифікує активність його транспортної системи [10].

Слід зазначити, що акумуляція «пептидного» гліцину в присутності мальтози переви-

щує акумуляцію вільного гліцину в присутності глюкози тільки у разі відносно низької концентрації гліцил-гліцину (2,5 ммоль/л; див. табл. 1 і 2). Акумуляція гліцину з його 10 ммоль/л розчину (в присутності еквімолярної глюкози) і з 5 ммоль/л розчину гліцил-гліцину (в присутності еквімолярної мальтози) практично ідентична (13,68±2,36 і 12,63±2,14 відповідно; див. табл. 1 і 2). При зниженні концентрації відповідних субстратів у інкубаційному розчині вдвічі це співвідношення змінюється на користь транспорту «пептидного» гліцину (9,51±0,59 і 6,03±1,20 відповідно, тобто на 36 %, P=0,031, див. табл. 2).

Таким чином, для відносно низьких концентрацій цієї амінокислоти відзначається висока активність гліцил-гліцин-дипептидази і пов'язаної з нею транспортної системи. Для всмоктування вільного гліцину в присутності еквімолярної



глюкози зберігається співвідношення концентрації субстрату в інкубаційному розчині і його акумуляції в препараті слизової оболонки ($12,63 \pm 2,14$ — для 10 ммоль/л і $6,03 \pm 1,20$ — для 5 ммоль/л; див. табл. 2), тобто зниження концентрації в інкубаційному середовищі вдвічі призводить до пропорційного зниження його концентрації в кишковому препараті на 50% ($P=0,028$). Однак у разі «пептидного» гліцину зниження концентрації його попередника (гліцил-гліцину) в присутності еквімолярної мальтози в кишковому препараті невірогідне і становить тільки 30% ($13,68 \pm 2,36$ для 5 ммоль/л гліцил-гліцину і $9,51 \pm 0,59$ — для $2,5$ ммоль/л гліцил-гліцину, $P=0,33$).

Отже, спряження процесів гідролізу гліцил-гліцину та транспорту «пептидного» гліцину, який при цьому утворився, в присутності еквімолярної мальтози відбувається більш ефективно в умовах відносно низької концентрації субстрату. Напевно, в цих умовах між транспортними системами відбувається конкуренція за субстрат, що забезпечує високу ефективність їх роботи.

Раніше нами отримано значно більш високі показники транспорту вільного гліцину з його 10 ммоль/л розчину в аналогічних умовах ($28,56 \pm 2,29$, $n=12$) [11]. Виявляється, що присутність еквімолярної вільної глюкози сповільнює акумуляцію вільного гліцину більш ніж вдвічі (на 55% , $P<0,001$) до мінімальних показників активного транспорту (див. табл. 2). Якщо припустити можливість використання гліцином та глюкозою спільної транспортної системи [8], очевидна конкуренція еквімолярних вільних глюкози та гліцину за транспортну систему.

Аналогічно, мабуть, можна було б пояснити і відповідну акумуляцію «пептидного» гліцину з 5 ммоль/л розчину гліцил-гліцину (що еквівалентно

10 ммоль/л вільного гліцину). Однак акумуляція «пептидного» гліцину в даному разі майже в 4 рази нижча, ніж у присутності еквімолярної мальтози (див. табл. 1) або еквімолярного вільного гліцину (10 ммоль/л) в присутності еквімолярної глюкози (див. табл. 2).

Таким чином, можна припустити, що вільні гліцин і глюкоза можуть використовувати спільну транспортну систему, в цьому разі транспорт вільного гліцину сповільнюється присутністю еквімолярної глюкози, а транспорт «пептидного» гліцину, напевно, активується за рахунок енергізації транспортної системи глюкозою. Суттєво більш низькі показники транспорту вільного гліцину в присутності вільної еквімолярної глюкози порівняно з показниками транспорту вільного гліцину [11], можливо, пов'язані з детермінованою перепускною спроможністю мембрани ентероцита, тобто зумовлені переважаючим транспортом глюкози, яка конкурує за переносник, і за рахунок цього — зниженням транспорту гліцину. Можливе також існування кількох транспортних систем для гліцину (принаймні, більш ніж однієї) — цим можна пояснити більш інтенсивну акумуляцію вільного гліцину порівняно з акумуляцією його в присутності еквімолярної глюкози. Це припущення не суперечить власним даним щодо активності гліцил-гліцин-дипептидази: її активність також змінюється в присутності еквімолярної мальтози, однак остання стимулює її, тимчасом як акумуляція вільного гліцину знижується в присутності вільної еквімолярної глюкози.

Висновки

1. Вільна глюкоза сповільнює активність транспортної системи для вільного гліцину, але активність гліцил-гліцин-дипептидази і/або спряженої з

нею транспортної системи зростає у присутності еквімолярної мальтози.

2. Акумуляція «пептидного» гліцину з розчинів двох концентрацій, напевно, перебігає пасивно, тобто за градієнтом концентрації, і тільки присутність мальтози активує цей процес, можливо, за рахунок енергізації ферментативно-транспортного конвеєра для гліцину глюкозою.

Надалі потрібно буде відповісти на питання: чи зберігаються одержані нами співвідношення для гліцину та глюкози в умовах функціонування кишки *in vivo*, чи вони характерні тільки для ізольованих систем.

ЛІТЕРАТУРА

1. Эккерт Л. Г., Громова Л. В. Влияние различных способов оксигенации слизистой тонкой кишки на кинетические характеристики транспорта глюкозы и глицина // Физиол. журн. СССР. — 1986. — Т. LXXII, № 4. — С. 431-436.
2. Громова Л. В., Груздков Ал. А., Груздков А. А. Кинетические параметры гидролиза мальтозы и всасывания глюкозы в тонкой кишке крыс в хронических опытах // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2002. — Т. 88, № 4. — С. 510-518.
3. Громова Л. В., Груздков А. А. Кинетический анализ всасывания глицина и глицил-глицина в тонкой кишке крыс в условиях хронического опыта // Там же. — 2003. — Т. 89, № 2. — С. 173-183.
4. Мембранный гидролиз и транспорт. Новые данные и гипотезы. — Л.: Наука, 1986. — 240 с.
5. Уголев А. М., Жигуре Д. Р., Нуркс Е. Е. Аккумулирующий препарат слизистой — новый метод исследования начальных этапов переноса веществ через кишечную стенку // Физиол. журн. СССР. — 1970. — Т. 56, № 11. — С. 1638-1641.
6. Уголев А. М., Тимофеева Н. М. Определение пептидазной активности // Исследование пищеварительного аппарата у человека. — Л.: Наука, 1969. — С. 178-181.
7. Scott T. A., Melvin E. H. The determination of hexoses with antirone // Analyt. Chem. — 1953. — N 25. — P. 1656-1658.
8. Метельский С. Т. Транспортные характеристики дипептидов и аминокислот при различных рН // Мембрана щеточной каймы: Тез. докл. 4-го Всесоюз. симп. — Юрмала, 2-4 апреля 1990. — С. 64-65.



9. Базанова Н. У., Ташенов К. Т., Файтельберг Р. О. Закономерности всасывательной деятельности желудочно-кишечного тракта. — Алма-Ата: Наука, 1985. — 223 с.

10. Уголев А. М. Мембранное пищеварение. Полисубстратные процессы, организация и регуляция. — Л.: Наука, 1972. — 358 с.

11. Влияние растительных экстрактов на транспорт глицина акку-

мулирующими препаратами слизистой тонкой кишки крыс / О. В. Сторчило, В. К. Напханюк, Е. А. Багирова, А. Г. Васильева // Вісник мор. медицини. — 2004. — № 2. — С. 68-72.

УДК 616.411:612.014.482

В. М. Цвіговський

ВПЛИВ ТРИВАЛОГО γ -ОПРОМІНЕННЯ В СУМАРНІЙ ДОЗІ 1,0 ГР НА АЦЕТИЛЮВАННЯ БІЛКІВ ХРОМАТИНУ КЛІТИН СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ

Одеський державний медичний університет

Вступ

В основі оцінки генетичного ризику опромінення в малих дозах лежать результати патофізіологічних експериментів. Проте через достатньо високий ризик виникнення генетичних пошкоджень є проблематичним отримання коректної їх оцінки [1]. Згідно з існуючими уявленнями, теоретичне підґрунтя оцінки генетичного ризику [2] повинно базуватися на концепції біологічної дії іонізуючого випромінювання, що дозволяє з єдиних позицій описати існуючу емпіричну інформацію про генетичні наслідки опромінення в усьому діапазоні доз.

Сьогодні найбільшого поширення набула лінійна безпорогова концепція, що постулює безумовну загрозу будь-яких рівнів опромінення, у тому числі і таких, що не перевершують природний радіаційний фон [3]. Згідно з цією концепцією, іонізуюча радіація в низьких дозах індукує первинні пошкодження молекул ДНК і геномних структур клітини. Незважаючи на численні дослідження в цьому напрямку, ціла

низка питань залишається не з'ясованою. Зокрема, в доступній літературі майже відсутні дані стосовно дослідження впливу іонізуючої радіації в низьких дозах на активність реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину в органах імуногенезу, які, як відомо, відіграють важливу роль в експресії початкових етапів геному [4].

Мета дослідження — з'ясувати особливості впливу загального γ -опромінення в сумарній дозі 1,0 Гр на активність реакцій ацетилювання білків хроматину ядер клітин селезінки.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені на 36 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г, які утримувалися в стандартних умовах віварію Одеського державного медичного університету. У відповідності до мети дослідження усіх тварин було розподілено на дві групи: 1) інтактні тварини (контроль); 2) тварини після тривалого впливу загального γ -опромінення в

сумарній дозі 1,0 Гр. Опромінення експериментальних тварин проводили у спеціально виготовлених клітках-фіксаторах на гамма-терапевтичній установці АГАТ-Р № 83 за таких технічних умов: потужність дози 1,07 Гр/хв, розмір поля 20×20 см, відстань джерело — поле 75 см, одноразова доза 0,1 Гр, час експозиції 5,6 с, кількість повторів — 10, сумарна доза 1,0 Гр. До експерименту тварин брали через 24, 48, 72, 99 і 120 год після завершення дії іонізуючого фактора.

Експериментальних тварин забивали під ефірним наркозом. Як об'єкт дослідження було обрано селезінку щурів, з клітин якої виділяли ядра за методом Ф. О. Рого і співавторів [5]. За методом С. С. Теня і співавторів з ядер клітин селезінки вилучали хроматин [6]. Шляхом обробки очищеного хроматину 0,35 M NaCl pH 7,5 отримували лабільно зв'язані з ДНК негістонові білки [7]. Гістони екстрагували 0,25 N H₂SO₄, осаджували ацетоном, після чого промивали етанолом і ліофілізували. Індивідуальні гістони от-

