

ОЧИСТКА И СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТИАМИНДИФОСФАТКИНАЗЫ ИЗ ГОЛОВНОГО МОЗГА СВИНЬИ

Хильманович Е.Н., Кравец Е.В.

*Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Научный руководитель – д. хим. н., профессор Черникевич И.П.*

Актуальность. Физиологически активными формами витамина В₁ являются его тиаминди- и трифосфаты. Первый – ТДФ – как коферментная форма участвует в обменных процессах, роль второго – ТТФ – связывают с функционированием нервной системы, действием адаптационных факторов. Недостаток ТТФ приводит к подострой некротизирующей энцефаломиелопатии, другим патологическим состояниям. Биосинтез трифосфорного эфира катализируется тиаминдифосфаткиназой (КФ 2.7.6.15), обнаруженной в мозге животных. Попытки выделения и очистки фермента пока безуспешны из-за отсутствия эффективного метода определения его активности. Радиометрический способ идентификации скорости реакции предложен нами ранее [1].

Цель настоящей работы – очистка тиаминдифосфаткиназы, выяснение её четвертичной организации и устойчивости.

Материалы и методы. Для получения фермента использовали митохондрии. Активность киназы определяли по количеству образовавшегося ТТФ в реакции с меченым ТДФ. Меченый [¹⁴C] - ТДФ получали из [¹⁴C]-тиамина. Продукты разделяли на колонке с сефадексом SP-C-25.

Результаты. Методами аммонийного фракционирования, хроматографии на ионообменных сефадексах, гель-фильтрации из головного мозга свиньи выделен высокоочищенный препарат тиаминдифосфаткиназы с удельной активностью 35,6 единиц и выходом 1,8%. Электрофорез препарата фиксировал четыре попарно спаренные близко расположенные полосы примерно одинаковой интенсивности с R_f соответственно 0,23; 0,27; 0,49; 0,51. Ферментативная активность выявлялась в обеих белоксодержащих зонах, свидетельствуя о его достаточной гомогенности. Разделить спаренные участки на составляющие компоненты нам не удалось. В присутствии додецилсульфата натрия идентифицируются только 2 белковые полосы с R_f 0,96 и 0,99, указывая на субъединичное строение глобулы. При этом более ассоциированные формы осуществляют синтез тиаминтрифосфата с заметно меньшей скоростью, чем менее ассоциированные. Тиамидифосфаткиназа характеризуется неустойчивостью при хранении. Скорость инактивации препарата зависела от ионной силы раствора, серусодержащих компонентов, температуры.

Вывод. Из головного мозга свиньи впервые выделен препарат тиаминдифосфаткиназы со степенью очистки 1730 раз и выходом около 2%. Фермент обладает четвертичной структурой, лабилен вне митохондрий.

Литература

1. Черникевич, И.П. Выделение и радиометрический метод определения активности АТФ: тиаиндифосфатфосфотрансферазы из митохондрий головного мозга свиньи / И.П. Черникевич, Е.Н. Хильманович, Е.В. Кравец // Журнал ГрГМУ. – 2017. – Т.15, №4. – С.442-446.

ПОКАЗАТЕЛИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Хлебин М.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

Научные руководители – ассистент Гуца В.К.;

д.м.н., профессор, Лелевич В.В.

Актуальность. Дофаминергическая система головного мозга играет особую роль в функционировании ряда физиологических процессов нервной системы. Проведённые ранее экспериментальные исследования показали, что дисфункция данной системы, возникающая на фоне длительной, систематической алкоголизации, является ключевым звеном в изменении нейropsychического статуса человека, и как следствие, в формировании синдрома зависимости.

Цель: изучить влияния хронической и прерывистой алкогольной интоксикации на содержание основных компонентов дофаминергической системы в различных отделах головного мозга крыс.

Материалы и методы исследования. В эксперименте было использовано 30 беспородных белых крыс-самцов массой 180-220 г. Хроническую алкогольную интоксикацию (ХАИ) и прерывистую алкогольную интоксикацию (ПАИ) моделировали путем внутрижелудочного введения 25%-го раствора этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела дважды в день в течение 14 суток. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество воды. Содержание свободных аминокислот и биогенных аминов определяли методом ВЭЖХ.

Результаты. ХАИ вызвала достоверное повышение уровня тирозина в коре больших полушарий (на 46%), гипоталамусе (на 23%) и среднем мозге (на 52%). Также данный тип алкоголизации сопровождался увеличением содержания дофамина (на 135%, $p<0,05$), 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (на 62,5%, $p<0,05$) и норадреналина (на 52%, $p<0,05$) в среднем мозге. В группе ПАИ-4 в гипоталамусе достоверно увеличилось содержание тирозина (на 93%), в стриатуме и среднем мозге повысились концентрации тирозина (на 47% и на 68% соответственно) и норадреналина (на 68% в обоих отделах). ПАИ-1