

Сорокопыт Е.М.**МЕМБРАНО-АССОЦИИРОВАННАЯ ТИАМИНКИНАЗА ИЗ МОЗГА СВИНЬИ: ЛОКАЛИЗАЦИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ В МОЗГЕ**

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: Черникевич И.П., д.х.н., профессор

Биологические функции витамина В₁ реализуются через коферментные и некоферментные свойства его тиаминди – и тиаминтрифосфорного эфиров. Недостаток тиаминдифосфата (ТДФ) приводит к болезням человека алиментарного или вторичного происхождения, или заболеваниям обусловленным врождёнными нарушениями обмена и функций этого соединения. К числу первых относятся бери-бери и энцефалопатия Вернике. Генетически детерминированные дефекты лежат в основе подострой некротизирующей энцефаломиелопатии, перемежающейся атаксии, тиаминзависимой мегалобластической анемии и тиаминзависимой формы болезни «моча с запахом ленового сиропа». Биосинтез коферментной формы осуществляется тиаминкиназой (КФ 2.7.6.2), однако сведения о структуре и свойствах фермента мозга единичны, подчас противоречивы, а данные о локализации и рассредоточении в отдельных субклеточных фракциях отсутствуют. Цель данной работы – выяснение распределения тиаминкиназы в нервных клетках и в ряде отделов головного мозга свиньи. Материалы и методы: ядра, митохондрии и микросомы выделяли отдельно, в соответствии с известными методиками. Для контроля частоты субклеточных фракций и выяснения целостности структур ядер, митохондрий и микросом осадки фиксировали 1%-ной четырёхокисью осмия на буфере Миллонига и заливали в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, анализируя органеллы под электронным микроскопом ЭМВ 100ЛМ (Россия). Активность тиаминкиназы регистрировали по скорости образования ТДФ. Реакционная среда содержала: 2 мкМ тиамин, 2 мМ АТФ, 10 мМ сульфата магния, 0,02 М трис-НСl буфера рН 8,6 и 100-200 мкг фермента в общем объёме 1 мл. В качестве контроля использовали те же ингредиенты, к которым добавляли 100-200 мкг предварительно денатурированного белка. Удельную активность выражали в нмоль кофермента, который образовался за 1 ч при 37°C в расчете на 1 мг белка. Концентрацию белка определяли по методу Лоури и спектрофотометрически по поглощению при 280 нм. Результаты. Проведенные исследования показали, что уровень ТДФ и активность тиаминкиназы практически одинаковы в различных отделах головного мозга свиньи и не определяются конкретно выполняемыми функциями этих структур. Анализ количества ТДФ в субклеточных фракциях подтвердил допонирующее кофермента в гиалоплазме и митохондриях, т.е. в тех участках мозга, в которых сконцентрированы основные ТДФ-зависимые системы: пируват – и альфакетоглутаратдегидрогеназные комплексы и транскетолаза. В отношении тиаминкиназы наиболее высокая скорость биосинтеза ТДФ выявляется в митохондриях. В отличие от печени и сердца, где установлена цитозольная локализация фермента, в гиалоплазме мозга регистрируется только 16% активности тиаминкиназы от её общей в исходном гомогенате. Внесение в среду выделения 0,5 М KCl или известного неионного детергента тритона X-100 в концентрациях 0,005–0,01%, которые сохраняют структуру органелл клетки, но угнетают гидрофобную сорбцию макромолекул, приводило к повышению активности фермента на 34 и 88% соответственно. При этом высокие концентрации детергента (0,1–1,0%) существенно не влияли на активность. Вывод: тиаминкиназа головного мозга свиньи ассоциирована на внешней стороне митохондриальной мембраны, сорбируясь на ней гидрофобными участками.

Сохацкий А.В.**НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИИ ПОЧЕК КРЫС С ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИЕЙ**

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: Борисёнок О.А.

Гентамицин – высокоэффективный аминогликозидный антибиотик при тяжелых инфекционных заболеваниях, вызываемых грамотрицательными микроорганизмами [2]. Однако его широкое применение ограничивается развитием нефропатии различной степени выраженности в 25% случаев [1]. Механизмы развития аминогликозидной нефропатии хорошо изучены. Ключевую

роль играет их накопление в эпителии проксимальных извитых канальцев, преимущественно корковых нефронов, с последующей генерацией цитотоксичных радикалов кислорода и повреждением этих канальцев [3]. Цель работы. Изучить нарушения функции почек крыс с гентамициновой нефропатией. Материалы и методы. Опыты проведены на 16 крысах-самках массой 250 – 300 г. Гентамицин (60 мг/кг) и воду вводили животным внутривентрально 1 раз в день, 10 дней. Через 2 часа после последнего введения веществ крыс помещали в обменные клетки для сбора мочи. Затем животных эвтаназировали и собирали кровь. О функциональном состоянии почек судили на основании результатов исследований плазмы (содержание средних молекул, мочевины, креатинина) и мочи (содержание мочевины, креатинина, белка и глюкозы, лейкоцитов и эритроцитов; клиренс креатинина, pH и удельный вес) с использованием широко применяемых в клинической практике методов исследований. Количественную оценку полученных результатов проводили с помощью метода непараметрической статистики Манна-Уитни. Результаты. У крыс, получавших гентамицин (внутривентрально, 60 мг/кг, 1 раз в день, 10 дней), содержание в плазме средних молекул, мочевины и креатинина возрастает на 32, 279 и 182%, соответственно. Увеличение в плазме содержания мочевины и креатинина ассоциируется с синхронным снижением их концентрации в моче соответственно на 44 и 73%. Клиренс креатинина и pH мочи снижаются на 20%. Удельный вес не изменяется. Содержание белка повышается на 609%, а глюкозы – остается прежним. При микроскопическом исследовании мочи появляются лейкоциты, а количество эритроцитов не изменяется. Вывод. Гентамицин (внутривентрально, 60 мг/кг, 1 раз в день, 10 дней) вызывает тяжелые нарушения функции почек крыс. Об этом свидетельствует увеличение содержания в плазме средних молекул, мочевины и креатинина и, как следствие, снижение концентрации двух последних в моче; развитие протеин- и лейкоцитурии.

Литература: 1. Марино, П. Сведения об антибактериальных средствах / П. Марино // Интенсивная терапия: пер. с английского, доп. / П. Марино. – М.: ГОЭТАР Медицина, 1999. – С. 573–577.

2. Страчунский, Л.С. Аминогликозиды / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов // Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов. – М.: Боргес, 2002. – С. 71–82, 287–96.

3. Simmons, C.F. Inhibitory effects of gentamicin on renal mitochondrial oxidative phosphorylation / C.F. Simmons, R.T. Bogusky, H.D. Humes // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1980. – Vol. 214, № 3. – P. 709–715.

Сохацкий А.В.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ НЕФРОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕЛАТОНИНА У КРЫС С ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИЕЙ

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: Борисёнок О.А.

Широкое применение аминогликозидных антибиотиков (гентамицин и др.) значительно ограничивается их нефротоксическим действием [1]. Механизмы развития аминогликозидной нефропатии хорошо изучены. Ключевую роль играет их накопление в эпителии проксимальных извитых канальцев (ПИК), преимущественно корковых нефронов (КН), с последующей генерацией цитотоксичных радикалов кислорода [2]. Цель работы. Изучить возможное нефрозащитное действие антиоксиданта мелатонина при гентамициновой нефропатии. Материалы и методы. Опыты проведены на 24 крысах-самках массой 250 – 300 г. Гентамицин (внутривентрально, 60 мг/кг), мелатонин (в желудок, 10 мг/кг) назначали 1 раз в день, 10 дней. Контрольным животным вводили воду (внутривентрально) и слизь крахмала (в желудок). Через 2 часа после последнего введения веществ крыс помещали в обменные клетки для сбора мочи. Затем животных эвтаназировали, собирали кровь и извлекали почки. Кусочки почек фиксировали в жидкости Карнуа и заключали в парафин. Срезы толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. В плазме определяли содержание средних молекул, мочевины, креатинина. В моче регистрировали содержание мочевины, креатинина, белка и глюкозы, лейкоцитов и эритроцитов, pH и удельный вес; клиренс креатинина. Количественная оценка – метод непараметрической статистики Манна-Уитни. Результа-