

МОНООКСИГЕНАЗНАЯ СИСТЕМА ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОТИРЕОЗЕ

О.Н. Ворошук, О.И. Валентюкевич

Научный руководитель – к.б.н., доцент *Л.И. Сушко*
Гродненский государственный университет имени Я. Купалы

По мере развития цивилизации растет актуальность вопроса воздействия факторов внешней среды на организм человека и животных. Монооксигеназная система печени принадлежит важная роль в защите организма от различных химических агентов. Большинство чужеродных веществ, попадающих в организм, подвергаются метаболическим превращениям с ее участием. Сила, продолжительность действия, токсичность их определяется функциональным состоянием этой системы. Цитохром Р-450, кроме того являясь активатором молекулярного кислорода, оказывает существенное влияние на свободнорадикальные процессы, протекающие в клетке. Последние, в свою очередь, определяют метаболический баланс, изменение которого ведет к развитию ряда патологических состояний. Гормоны щитовидной железы участвуют в формировании антиоксидантного статуса организма, возможно и через регуляцию активности цитохром Р-450- зависимой системы печени.

В работе изучалось влияние уровня тиреоидных гормонов на активность и содержание ферментов монооксигеназной системы печени крыс. Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Вистар, массой 130-150 г. Гипотиреоз моделировали введением мерказолила (МЗ) в/ж через зонд в дозах 2.5, 10 и 20 мг/кг в течение четырех недель. В микросомальной фракции печени спектрофотометрически определяли активность НАДФН- и НАДН- оксидаз, - феррицианид-редуктаз и содержание цитохромов Р-450 и b_5 .

Результаты экспериментов показали достоверное повышение всех НАДФН- зависимых компонентов системы при дозе МЗ 2.5 мг/кг. Увеличение дозы МЗ сохраняет повышенную активность НАДФН – оксидазы (10мг/кг) и снижает ее для феррицианид-редуктазы (20мг/кг) в сравнении с показателями контрольной группы. Звенья НАДН- зависимой системы микросомального окисления остаются на уровне контрольных величин вплоть до дозы МЗ 20 мг/кг, при которой обнаружено уменьшение содержания цитохрома b_5 на 26%.

Принимая во внимание данные об изменении процессов перекисного окисления липидов в клетках печени при гипотиреозе и анализируя полученные результаты можно предполагать реализацию антиоксидантного эффекта тиреоидных гормонов посредством цитохром Р-450 - зависимой системы.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ВАРБУРГА-ХРИСТИАНА В МИКРОБИОЛОГИИ

О.С. Игнатовец, И.М. Бурак

Научный руководитель – к.хим.н., доцент *В.Н. Леонтьев*
Белорусский государственный технологический университет

В настоящее время количественное определение общего белка в бактериальных клетках может быть осуществлено разными методами. Наиболее часто применяемыми из них являются следующие: метод Лоури, метод Бредфорда, биуретовый метод [1]. Но, в тоже время, перечисленные методы требуют предварительной обработки клеточного материала, которая заключается в отмывании культуры от растительных субстратов и продуктов метаболизма, разрушения клеток и отделения их остатков. При этом очевидно, что такая предобработка приводит к частичной потере белка, связанного с клеточными мембранами. Кроме того, ни один из колориметрических методов не может гарантировать получение корректных результатов со всеми белками, сказывается индивидуальная природа каждого белка и в некоторых случаях наличие загрязнений – детергентов, липидов и т.д., внесенных в процессе его выделения [2]. Спектрофотометрические методы определения белка имеют ряд преимуществ по сравнению с другими методами и могут быть рекомендованы для определения белка в бактериальных клетках. Один из них - метод Варбурга-Христиана- является простым, быстрым и основан на определении соотношения величин поглощения при 280 и 260 нм и позволяет определять белок в присутствии

нуклеиновых кислот.

Целью нашей работы явился сравнительный анализ сходимости результатов разных методов при определении концентрации белка в разрушенных клетках и соотнесение этих результатов с концентрацией белка в неразрушенных клетках, определенной по методу Варбурга-Христиана.

Для колориметрических методов были предварительно отработаны условия разрушения клеток бактерий ультразвуком. Объектом исследования служили бактерии *Pseudomonas fluorescens* В-22 в экспоненциальной фазе роста. Для минимизации потерь мембранного белка всю работу проводили в экстрагирующем растворе, содержащем 0,9 % NaCl и 0,05 % детергента Tween-80. Выбор детергента обусловлен отсутствием у него поглощения в УФ-области спектра, улучшением солюбилизации мембранных белков, незначительным влиянием на результаты определения концентрации белка колориметрическими методами [1]. Разрушение клеток проводили на установке УЗДН-2Т при 22 или 44 кГц в течении разных интервалов времени и с разной кратностью обработки. Исходное количество и количество неразрушенных клеток определяли чашечным методом Коха. По полученным результатам были подобраны наиболее оптимальные условия ультразвуковой обработки: 95 %-ное разрушение клеток при 5-кратной обработке по 30 секунд с интервалом в 1 минуту при 44 кГц. Калибровочные кривые строили по овальбумину в том же экстрагирующем растворе. В связи с относительно низкой чувствительностью биуретового метода использовали его модификацию – микрометод [2].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в разных диапазонах концентрации клеточного белка наблюдается различная сходимость результатов, что обусловлено как особенностями методов, так и специфичностью объекта исследования. Тем не менее существует область концентраций, в которой полученные результаты обладают удовлетворительной схожимостью. Обнаружены некоторые различия в концентрации белка в разрушенных и неразрушенных клетках, обсуждаются причины этих различий.

Литература

1. John M. Walker «The Protein Protocols Handbook», Second edition, Humana Press, 2002.
2. Практическая химия белка. Москва, «Мир», 1989.

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ КСИЛОФАГОВ В ЕЛОВЫХ НАСАЖДЕНИЯХ

В.Н. Кухта

Научный руководитель – к.б.н., доцент *А.И. Блинцов*
Белорусский государственный технологический университет

В настоящее время в республике продолжается процесс ослабления и интенсивного усыхания еловых древостоев. Усыхание ельников, как правило, сопровождается массовым размножением стволовых вредителей, очаги которых являются источником заселения еще жизнеспособных насаждений. В связи с этим, внимание к изучению ксилофагов неуклонно возрастает.

Исследования, целью которых было выявление видового состава, определение популяционных показателей и распространения наиболее вредоносных видов стволовых вредителей, выполнялись в рамках работы совместно с лесопатологической партией УП «Белгослес». Обследованные еловые насаждения по геоботаническому районированию [1] относятся к Минско-Борисовскому лесорастительному району (Минский, Смолевичский и Борисовский лесхозы) подзоны дубово-темнохвойных лесов.

В соответствии с методикой проведения лесопатологического обследования очагов стволовых вредителей [2] в насаждениях II и III категорий биологической устойчивости закладывали пробные площадки. На них выбирали свежезаселенные модельные деревья (более 50 шт.), которые подвергали детальному анализу. Все модели взяты в период с мая по июль текущего года.

Установлено, что свежезаселенные деревья относятся к I и II классам роста по классификации Крафта. В усыхающих еловых насаждениях преобладает стволовой тип заселения деревьев, реже – комлевой. Наиболее часто встречающимися видами ксилофагов являются короед-типограф, еловый гравер, короед двойник (таблица).