

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В НИРКАХ ТА ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Дослідження біохімічних процесів за хронічної алкогольної інтоксикації є актуальним питанням сьогодення. Глибші уявлення про механізм дії протеїназ за цього патологічного стану допоможуть у розробці та пошуку неінвазивних методів діагностики, тим самим зводячи до мінімуму ризик зашкодити здоров'ю людини під час проведення складних діагностичних маніпуляцій. У статті представлено результати дослідження загальної протеолітичної активності, активності металопротеїназ і серинових протеїназ у печінці та нирках щурів на експериментальній моделі хронічної алкогольної інтоксикації на 1, 3, 7 та 11 добу експерименту, а також на 21 та 28 добу після припинення введення етанолу. Щурам-самцям масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію, моделювали хронічну алкогольну інтоксикацію шляхом внутрішньошлункового введення 30-відсоткового розчину етилового спирту протягом 10 діб натщесерце з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини. Контрольній групі тварин вводили відповідний об'єм питної води. Гомогенат печінки та нирок отримували загальноприйнятими методами. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорд. Загальну протеолітичну активність, активність металопротеїназ і серинових протеїназ визначали казеїнолітичним методом із модифікаціями.

Встановлено, що на 3, 7 та 11 добу експерименту в печінці відбувалося підвищення загальної протеолітичної активності та активності металопротеїназ. Активність серинових протеїназ достовірно підвищувалася на 3 та 7 добу дослідження. У нирках достовірне підвищення всіх досліджуваних активностей спостерігали лише на 3 добу. Такі відмінності в активностях металопротеїназ і серинових протеїназ можуть бути пов'язані з різною роллю цих ферментів у фізіологічних процесах. Підвищення активності серинових протеїназ ми спостерігали за гострої інтоксикації, а металопротеїназ – за хронічної.

Ключові слова: хронічна алкогольна інтоксикація, металопротеїнази, серинові протеїнази, нирки, печінка.

Вступ. Хронічне зловживання алкоголем є досить розповсюдженим явищем у сучасному суспільстві. Тривале, регулярне вживання алкоголю супроводжується ураженням багатьох органів і систем організму. Останнім часом велике значення в розвитку і перебігу хронічного алкоголізму приділено порушенням біохімічних показників [19] та дослідженням білок-білкових взаємодій [5].

Численні наукові дослідження свідчать про те, що за хронічного зловживання алкоголем в різних тканинах організму може підвищуватися активність протеолітичних ферментів, що, зі свого боку, призводить до порушення білкового обміну [7]. Однак, незважаючи на інтенсивні дослідження в зазначеній сфері, інформація про вплив алкоголю на протеолітичні системи має суперечливий характер та багато питань ще досі залишаються нез'ясованими [2, 13].

Розуміння змін кількісного та якісного складу протеолітичних ферментів є важливим для поглиблення знань щодо патогенезу алкогольної інтоксикації та може бути корисним як для передбачення розвитку пов'язаних з нею ускладнень, так і для прогнозу ефективності терапії.

Етанол негативно впливає на всі органи, однак печінка найбільш схильна до його впливу, оскільки в цьому органі відбувається окиснення спирту [11]. Ураження нирок за хронічного алкоголізму розвиваються внаслідок прямої нефротоксичної дії етанолу і його метаболітів та за рахунок гемодинамічних, імунологічних й інших механізмів, пов'язаних із залученням органів та систем у відповідь на інтоксикацію етанолом [6].

Отже, мета нашої роботи – дослідити загальну протеолітичну активність, а також активність металопротеїназ і серинових протеїназ за розвитку хронічної алкогольної інтоксикації в печінці та нирках щурів.

Матеріали і методи. Модель хронічної алкогольної інтоксикації відтворювали на щурах-самцях масою 180–200 г шляхом внутрішньошлункового введення за допомогою зонду 30-відсоткового розчину етилового спирту протягом 10 діб, натщесерце, з розрахунку 2 мл на 100 г

маси тварини раз на добу. Контрольній групі тварин внутрішньошлунково вводили питну воду [17]. Отримання матеріалу для досліджень здійснювали через 1, 3, 7, 11, 21 та 28 діб від початку експерименту.

Гомогенат печінки та нирок отримували загальноприйнятими методами, описаними В. Меншиковим [15]. Концентрацію білка у зразках визначали за методом Бредфорд [3].

Протеолітичну активність протеїназ у зразках аналізували методом визначення казеїнолітичної активності з модифікаціями [10]. Аліквоту гомогенату тканини (печінки чи нирок), що містила 100 мкг білка, розводили 0,05 М фосфатним буферним розчином, рН 7,4. Потім додавали 1-відсотковий казеїн і, після інкубації за +37°C, реакцію зупиняли трихлороцтовою кислотою та центрифугуванням за 250 g упродовж 30 хв. Екстинцію вимірювали за довжини хвилі 280 нм. Холості проби містили суміш казеїну, відповідного фосфатного буфера та трихлороцтової кислоти в ідентичних співвідношеннях. Для селективного визначення активності металопротеїназ і серинових протеїназ до реакційної суміші додавали до кінцевої концентрації 0,2 М натрієву сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти або 0,2 М фенілметилсульфонілфторид, відповідно. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Результати дослідження та їх обговорення. Загальновідомо, що печінка та нирки є органами-мішенями для дії токсичних речовин, накопичення яких в організмі спостерігаємо за різних патологічних станів. Печінка, наприклад, є бар'єром для екзогенних й ендогенних токсинів та основним місцем метаболізму етанолу. А нирки, що є головним органом виділення, також беруть участь у метаболізмі алкоголю. Ми визначали загальну протеолітичну активність, активність металопротеїназ і серинових протеїназ у гомогенаті печінки та нирок щурів на 1, 3, 7 та 11 добу експерименту, а також на 21 та 28 добу після припинення введення етанолу.

Внаслідок експерименту було виявлено, що загальна протеолітична активність у гомогенаті печінки (рис. 1 А) зростає на 90 % відносно контролю на 3 добу експерименту. На 7 та 11 добу зазначена активність

була на 37 та 32 %, відповідно, вищою за контрольні показники. А на 21 та 28 добу експерименту загальна протеолітична активність у печінці перебувала в межах контрольних показників.

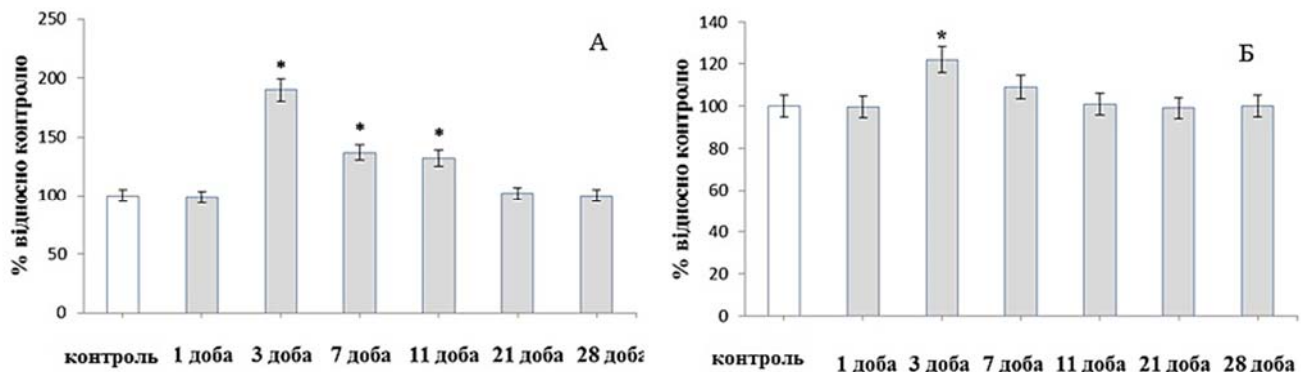


Рис. 1. Відносна загальна протеолітична активність у гомогенатах печінки (А) та нирок (Б) щурів за розвитку хронічної алкогольної інтоксикації, * – $p < 0,05$ відносно контролю

У процесі дослідження загальної протеолітичної активності в гомогенаті нирок (рис. 1, Б) було виявлено підвищення показника на 22 % відносно контролю лише на 3 добу експерименту. На 7, 11, 21 та 28 добу зазначена активність перебувала в межах контрольних показників.

Згідно з літературними даними, алкоголізм впливає на активність металопротеїназ. Існує різниця між рівнем активності металопротеїназ в алкоголіків без цирозу пе-

чінки та в пацієнтів із цирозом печінки [9]. Ми досліджували активність металопротеїназ як у гомогенаті печінки, так і в гомогенаті нирок.

Було виявлено, що активність металопротеїназ у гомогенаті печінки (рис. 2 А) підвищувалася на 60 % відносно контрольних значень на 3 добу експерименту. На 7 та 11 добу їхня активність була, у середньому, на 24 % вищою за контроль. А на 21 та 28 добу, як й у випадку із загальною протеолітичною активністю, – показники перебували в межах контрольних значень.

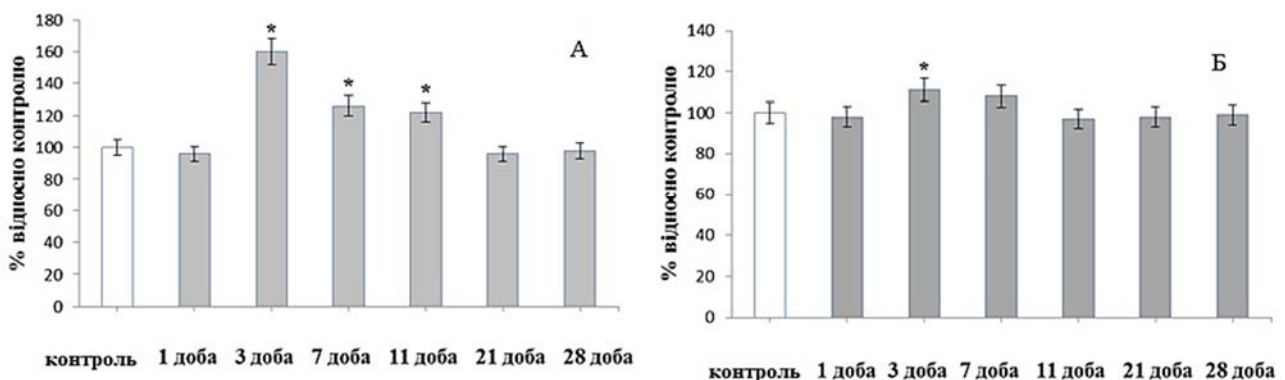


Рис. 2. Відносна активність металопротеїназ у гомогенатах печінки (А) та нирок (Б) щурів за розвитку хронічної алкогольної інтоксикації, * – $p < 0,05$ відносно контролю

Отримані результати активності металопротеїназ у гомогенаті нирок (рис. 2 Б) показали, що зазначена активність була вищою на 11 % за контроль лише на 3 добу експерименту. В інші терміни часу, як й у випадку із загальною протеолітичною активністю, активність металопротеїназ перебувала в межах контрольних показників.

Серинові протеїнази широко поширені у природі й утворюють близько третини всіх відомих протеолітичних ферментів. Вони є залученими у перебіг важливих процесів в організмі. За алкоголізму серинові протеїнази можуть брати участь в імунній відповіді у разі запалення. Дослідження активності серинових протеїназ проводили як у гомогенаті печінки, так і в гомогенаті нирок.

Було встановлено, що в гомогенаті печінки (рис. 3 А) активність серинових протеїназ на 3 та 7 добу була вищою за контроль на 95 та 35 %, відповідно. На 21 та 28 добу експерименту, як й у випадку загальної протеолітичної активності та активності металопротеїназ, активність серинових протеїназ перебувала в межах контрольних показників.

У гомогенаті нирок (рис. 3 Б) активність серинових протеїназ підвищується лише на 11 % на 3 добу експерименту. Починаючи із 7 доби, ми спостерігали подібну тенденцію із загальною протеолітичною активністю й активністю металопротеїназ – активність серинових протеїназ перебувала в межах контрольних показників.

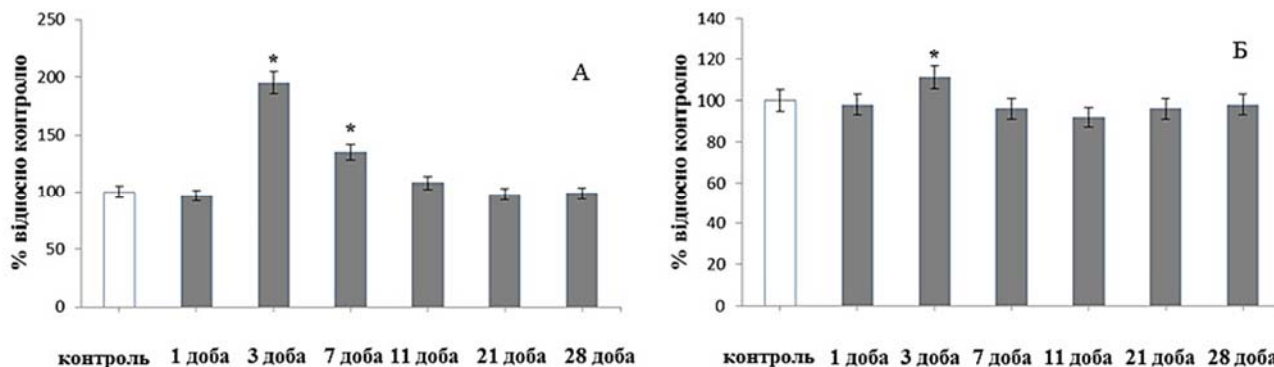


Рис. 3. Відносна активність серинових протеїназ в гомогенатах печінки (А) та нирок (Б) щурів за розвитку хронічної алкогольної інтоксикації, * – $p < 0,05$ відносно контролю

Виявлене підвищення в печінці щурів загальної протеолітичної активності, активності металопротеїназ і серинових протеїназ на 3 добу експерименту може бути пов'язане з гострим ураженням органу етанолом і його метаболітами. Збереження підвищеної загальної протеолітичної активності й активності металопротеїназ на 7 та 11 добу може свідчити про хронічний перебіг хвороби [1]. Також представлені нами результати щодо активності серинових протеїназ узгоджуються з раніше опублікованими даними, отриманими у плазмі крові [16] корелюють з показниками вмісту трипсиноподібних ферментів, які визначали хроматографічним методом [18]. Зниження активності серинових протеїназ, починаючи з 11 доби експерименту, може свідчити про участь цих ферментів за гострої фази інтоксикації.

Отримані дані узгоджуються з літературними, де зазначено, що вживання алкоголю викликає розвиток запалення в печінці [12], а за хронічного зловживання призводить до накопичення фібрину і фібриногену в гепатоцитах та до розвитку фіброзу [2].

У нирках щурів за розвитку хронічної алкогольної інтоксикації підвищення досліджуваних показників протеолітичної активності може бути пов'язане зі зростанням навантаження на нирки внаслідок процесу запалення в організмі. Згідно з літературними даними, запалення в нирках може виникати як патологічна відповідь організму на альтерацію імунної або неімунної природи [14]. Також у науковій літературі зазначено, що в нирках може підвищуватися активність металопротеїназ, але за суттєвіших та триваліших порушень [8], оскільки механізм, що лежить в основі порушення роботи нирок і розвитку патологічних станів, є опосередкованим і пов'язаним із суттєвими порушеннями в роботі печінки [4].

Висновки. Отже, за розвитку хронічної алкогольної інтоксикації відбувалося підвищеннями загальної протеолітичної активності й активності металопротеїназ у печінці щурів на 3, 7 та 11 добу експерименту. А активність серинових протеїназ підвищувалася лише на 3 добу від початку введення етанолу. У нирках щурів із хронічною алкогольною інтоксикацією загальна протеолітична активність, активність металопротеїназ і серинових протеїназ достовірно зростали лише на 3 добу експерименту.

Список використаних джерел

- Adnan N., Qiuwei P. and Mirza S. Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Liver Diseases / N. Adnan, P. Qiuwei and S. Mirza // Journal of Clinical and Experimental Hepatology. – 2017. Vol.7, N4. P. 367–372.
- Akram S., Mostafa R., Afsaneh A., Mona Z., Seyed R. and Abdol R. Protein-protein interaction network analysis of cirrhosis liver disease / S. Akram, R. Mostafa, A. Afsaneh, Z. Mona, R. Seyand and R. Abdol // Gastroenterol Hepatol Bed Bench. – 2016. – Vol. 9, N2. P. 114–123.
- Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. Bradford // Analytical Biochemistry. – 1976. Vol. 72, N1-2. – P. 248–254.

- Calivarathan L., Laura E., and Thomas MM. Myeloperoxidase Formation of PAF Receptor Ligands Induces PAF Receptor-dependent Kidney Injury During Ethanol Consumption Free / Calivarathan L., Laura E., and Thomas MM. // Radic Biol Med. – 2015. – Vol. 86. P. 179–190.
- Coleman L. and Crews F. Innate Immune Signaling and Alcohol Use Disorders / L. Coleman and F. Crews // Handb Exp. Pharmacol. – 2018. Vol. 248 – P. 369-396
- Harris S., Roy S., Coughlan C. and Orlicky D. Chronic ethanol consumption induces mitochondrial protein acetylation and oxidative stress in the kidney / S. Harris, S. Roy, C. Coughlan and D. Orlicky // Redox Biol. – 2015. – Vol. 6. – P. 33–40.
- Jastrzębska I., Zwolak A., Szczurek M. and Wawryniuk A. Biomarker of alcohol misuse: recent advances and future prospect / I. Jastrzębska, A. Zwolak, M. Szczurek and A. Wawryniuk // Gastroenterology Rev. – 2016. Vol.11, N2. – P. 78-89.
- Mahrokh S., Alireza S., Ali T., Fatemeh K., Yousef R. and Maryam S. Chronic ethanol ingestion induces glomerular filtration barrier proteins genes expression alteration and increases matrix metalloproteinases activity in the kidney of rats / S. Mahrokh, S. Alireza, T. Ali, K. Fatemeh, R. Yousef and S. Maryam // Interv Med Appl Sci. – 2018. – Vol. 10 N3. – P. 171–177.
- Prystupa A., Boguszewska-Czubara A., Bojarska-Junak A., Toruń-Jurkowska A., Roliński J. and Załuska W. Activity of MMP-2, MMP-8 and MMP-9 in serum as a marker of progression of alcoholic liver disease in people from Lublin Region, eastern Poland / A. Prystupa, A. Boguszewska-Czubara, A. Bojarska-Junak, A. Toruń-Jurkowska, J. Roliński and W. Załuska // Annals of Agricultural and Environmental Medicine. – 2015. – Vol. 22, N2. P. 325-328.
- Reubin A., Gordon C., and Kenneth L. The quantitatively minor role of carbohydrate in oxidative metabolism by skeletal muscle in intact man in the basal state. measurements of oxygen and glucose uptake and carbon dioxide and lactate production in the forearm / A. Reubin, C. Gordon, and L. Kenneth // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. – 1956. – Vol. 35, N6. – P. 1393–1995.
- Souza-Smith F., Lang C., Nagy L. and Bailey S. Physiological processes underlying organ injury in alcohol abuse / F. Souza-Smith, C. Lang, L. Nagy and S. Bailey // Am. J. Physiol Endocrinol Metab. – 2016. – Vol. 311, N3. – P. 605-619.
- Veronica L. and Gavin E. Acute Alcohol-Induced Liver Injury / L. Veronica and E. Gavin // Front Physiol. – 2012. Vol. 3, №93. P. 1 – 6.
- Xiao ZY., Wang JW. and Fenyong S. Protein-protein interactions among signaling pathways may become new therapeutic targets in liver cancer / ZY. Xiao, JW. Wang and S. Fenyong // Oncology reports. – 2016. – Vol.35, N2. – P.625-638.
- Зорин И. В., Вялкова А. А., Гунькова Е. В., Куценко Л. В., Плотникова С. В., Чеснокова С. А. и Коннова С. М. Роль цитокинов и факторов роста в формировании и прогрессировании хронической болезни почек у детей / И. В. Зорин, А. А. Вялкова, Е. В. Гунькова, Л. В. Куценко, С. В. Плотникова, С. А. Чеснокова и С. М. Коннова // Лечащий врач. – 2019. № 9. – С. 6-9.
- Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике / В. В. Меньшиков. – М.: "Медицина", 1987. – 368 с.
- Сербин А.С. Протеолітична активність плазми крові та печінки щурів за хронічної алкогольної інтоксикації / А.С. Сербин, Т.В. Коваль та О.І. Харченко // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Серія Біологія. – 2020. – Т. 2, №81. – С. 18-21.
- Халилов М. и Закиходжаев Ш. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации. / М. Халилов и Ш. Закиходжаев // Вопросы клиники алкоголизма. – 1983. – С. 38–41.
- Харченко О.І. Вміст трипсиноподібних ферментів і молекул середньої маси плазми крові як потенційні маркери хронічної алкогольної інтоксикації / О.І. Харченко // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Серія Біологія. – 2015. Т.1, №69. – С. 49-52.
- Ходос О. А. Етилметилгидроксипиридина сукцинат и морфолинний 3-метил-1,2,4-триазол-5-тиоацетат: влияние на протеолиз в Сыворотке крови крыс / О. А. Ходос // Фундаментальные исследования, – 2014 Т.5, №6. – С. 1229-1232.

References (Scopus)

- Adnan N., Qiuwei P. and Mirza S. Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Liver Diseases. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2017; 7(4): 367–372. English.
- Akram S., Mostafa R., Afsaneh A., Mona Z., Seyed R. and Abdol R. Protein-protein interaction network analysis of cirrhosis liver disease. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2016; 9(2): 114–123. English.
- Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 1976; 72(1-2): 248–254. English.
- Calivarathan L., Laura E., and Thomas MM. Myeloperoxidase Formation of PAF Receptor Ligands Induces PAF Receptor-dependent Kidney Injury During Ethanol Consumption Free. *Radic Biol Med*. 2015; 86: 179–190. English.
- Coleman L. and Crews F. Innate Immune Signaling and Alcohol Use Disorders. *Handb Exp. Pharmacol*. 2018; 248: 369–396. English.
- Harris S., Roy S., Coughlan C. and Orlicky D. Chronic ethanol consumption induces mitochondrial protein acetylation and oxidative stress in the kidney. *Redox Biol*. 2015; 6: 33–40. English.
- Jastrzębska I., Zwolak A., Szczyrek M. and Wawryniuk A. Biomarker of alcohol misuse: recent advances and future prospect. *Gastroenterology Rev*. 2016; 11(2) 78–89. English.
- Mahrokh S., Alireza S., Ali T., Fatemeh K., Yousef R. and Maryam S. Chronic ethanol ingestion induces glomerular filtration barrier proteins genes expression alteration and increases matrix metalloproteinases activity in the kidney of rats. *Interv Med Appl Sci*. 2018; 10(3): 171–177. English.
- Prystupa A., Boguszewska-Czubara A., Bojarska-Junak A., Toruń-Jurkowska A., Roliński J. and Załuska W. Activity of MMP-2, MMP-8 and MMP-9 in serum as a marker of progression of alcoholic liver disease in people from Lublin Region, eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2015; 22 (2): 325–328. English.
- Reubin A., Gordon C., and Kenneth L. The quantitatively minor role of carbohydrate in oxidative metabolism by skeletal muscle in intact man in the basal state. measurements of oxygen and glucose uptake and carbon dioxide and lactate production in the forearm. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 1956; 35(6): 1393–1395. English.
- Souza-Smith F., Lang C., Nagy L. and Bailey S. Physiological processes underlying organ injury in alcohol abuse. *Am. J. Physiol Endocrinol Metab*. 2016; 311(3): 605–619. English.
- Veronica L. and Gavin E. Acute Alcohol-Induced Liver Injury. *Front Physiol*. 2012; 3(93) 1 – 6. English.
- Xiao ZY., Wang JW. and Fenyong S. Protein-protein interactions among signaling pathways may become new therapeutic targets in liver cancer. *Oncology reports*. 2016; 35(2): 625–638. English.
- Zorin I. V., Vyalkova A. A., Gun'kova E. V., Kutsenko L. V., Plotnikova S. V., Chesnokova S. A and Konnova S. M. The role of cytokines and growth factors in the formation and the progression of chronic kidney disease in children. *Attending doctor*. 2019; 9: 6–9. Russian.
- Menshikov V.V. Laboratory research methods in the clinic. Moscow : "Medetsina", 1987. – 368 p.
- Serbin A.S. Proteolytic activity of blood and liver plasma plasma activity in chronic alcoholic intoxication. *Bulletin of the Kiev National University for the Name of Taras Shevchenko, Series of Biology*. 2020; 2(81): 18–21. Ukraine.
- Khalilov M. and Zakikhorzhaev Sh. To the characterization of some pathochemical changes in the blood, liver and brain tissues during experimental alcohol intoxication. *Questions of the clinic of alcoholism*. 1983; 38–41. Russian.
- Kharchenko O.I. The content of trypsin-like enzymes and molecules of the average mass of blood plasma as potential markers of chronic alcohol intoxication. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv, Biology Series*. 2015; 1(69): 49–52. Ukraine.
- Hodos O. A. Ethylmethylhydroxypyridine succinate and morpholine 3-methyl-1,2,4-triazolyl-5-thioacetate: effect on proteolysis in rat blood serum. *Fundamental research*. 2014; 5(6): 1229–1232. Russian.

Надійшла до редколегії 5.05.2021

Отримано виправлений варіант 5.06.2021

Підписано до друку 5.06.2021

Received in the editorial 5.05.2021

Received a revised version on 5.06.2021

Signed in the press on 5.06.2021

A. Сербин, асп.,
Ю. Комар, студ.,
Т. Коваль, канд. биол. наук,
О. Харченко, канд. биол. наук,
Т. Андрийчук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ПОЧКАХ И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОЙ АКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Исследование биохимических процессов при хронической алкогольной интоксикации является актуальным вопросом современности. Более глубокие представления о механизме действия протеиназ при этом патологическом состоянии помогут в разработке и поиске неинвазивных методов диагностики, тем самым сводя к минимуму риск нанесения ущерба здоровью человека при проведении сложных диагностических манипуляций. В статье представлены результаты исследования общей протеолитической активности, активности металлопротеиназ и сериновых протеиназ в печени и почках крыс на экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации на 1, 3, 7 и 11 сутки эксперимента, а также на 21 и 28 сутки после прекращения введения этанола. Крысам-самцам массой 180–200 г, которых удерживали на стандартном рационе вивария, моделировали хроническую алкогольную интоксикацию путем внутрижелудочного введения 30-процентного раствора этилового спирта в течение 10 дней натошак, из расчета 2 мл на 100 г массы животного. Контрольной группе животных вводили соответствующий объем питьевой воды. Гомогенат печени и почек получали общепринятыми методами. Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорда. Общую протеолитическую активность, активность металлопротеиназ и сериновых протеиназ определяли кэзеинолитическим методом с модификациями.

Показано, что на 3, 7 и 11 сутки эксперимента в печени происходило повышение общей протеолитической активности и активности металлопротеиназ. Активность сериновых протеиназ достоверно повышалась на 3 и 7 сутки исследования. В почках достоверное повышение всех исследуемых активностей наблюдали лишь на 3 сутки. Такие различия в активностях металлопротеиназ и сериновых протеиназ могут быть связаны с разной ролью этих ферментов в физиологических процессах. Повышение активности сериновых протеиназ мы наблюдали при острой интоксикации, а металлопротеиназ – при хронической.

Ключевые слова: хроническая алкогольная интоксикация, металлопротеиназы, сериновые протеиназы, почки, печень.

A. Serbin, PhD Student,
Y. Komar, Student,
T. Koval, PhD,
O. Kharchenko, PhD,
T. Andriychuk, Dr Hab.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kiev, Ukraine

STUDY OF PROTEOLYTIC ACTIVITY IN RATS KIDNEY AND LIVER DURING THE DEVELOPMENT OF CHRONIC ALCOHOLIC INTOXICATION

The study of biochemical processes in chronic alcohol intoxication is a topical issue of our time. A deeper understanding of the mechanism of action of proteinases in this pathological condition will help in the development and search for non-invasive diagnostic methods, thereby minimizing the risk of harming human health during complex diagnostic procedures. In our experiment, we investigated the general proteolytic activity, the activity of metalloproteinases and serine proteinases in the liver and kidneys of rats on an experimental model of chronic alcohol intoxication on days 1, 3, 7, and 11 of the experiment, as well as on days 21 and 28 after the cessation of ethanol administration. Male rats weighing 180–200 g were modeled for chronic alcohol intoxication by intragastric administration of 30% ethyl alcohol solution for 10 days on an empty stomach, at the rate of 2 ml per 100 g of animal weight. Liver and kidney homogenate by well-known methods. The concentration was determined by the Bradford method. The total proteolytic activity, the activity of metalloproteinases and serine proteinases were determined by the caseinolytic method with modifications. The total proteolytic activity, the activity of metalloproteinases and serine proteinases were determined by the caseinolytic method with modifications.

It was shown that on the 3rd, 7th and 11th days of the experiment in the liver there was an increase in the total proteolytic activity and the activity of metalloproteinases. The activity of serine proteinases significantly increased on days 3 and 7 of the study. In the kidneys, a significant increase in all studied activities was observed only on the 3rd day. Such differences in the activities of metalloproteinases and serine proteinases can be associated with the different roles of these enzymes in physiological processes. Thus, we observed an increase in the activity of serine proteinases in acute intoxication, and in metalloproteinases in chronic intoxication.

Keywords: chronic alcohol intoxication, metalloproteinases, serine proteinases, kidneys, liver.

УДК 593.121

DOI 10.17721/1728_2748.2021.85.46-51

М. Пацюк, канд. біол. наук
Житомирський державний університет імені Івана Франка, Житомир, Україна

СКЛАД МОРФОТИПІВ ГОЛИХ АМЕБ У ҐРУНТАХ ЛІСОСТЕПОВОЇ ЗОНИ УКРАЇНИ

У ґрунтах лісостепової зони України знайдено 12 морфотипів голих амеб: еруптивного (*Vahlkampfa* sp. (1), *Vahlkampfa* sp. (2), *Willarta* sp.), політактичного (*Polychaeta dubium* Schaeffer, 1917, *Deuteramoeba* *mycophaga* Page, 1988), монотактичного (*Saccamoeba stagnicola* Page, 1974, *Hartmannella vermiformis* Page, 1967, *Cashia limacoides* Page, 1974), лінзоподібного (*Cochliopodium* sp. (1)), стріатного (*Thecamoeba striata* Penard, 1890, *Thecamoeba similis* Lepsy, 1960), ругозного (*Thecamoeba terricola* (Greef, 1866) Lepsy, 1960), віялоподібного (*Vannella* sp., *Ripella platypodia* Smirnov, Nassonova, Chao et Cavalier-Smith, 2007), майорельного (*Mayorella viridis* Leidy, 1874, *Mayorella cantabrigiensis* Page, 1983, *Mayorella* sp.), дактилоподібного (*Korotneveia* sp. (1), *Vexillifera* sp.), акантоподібного (*Acanthamoeba* sp. (1)), розгалуженого (*Rhizamoeba* sp. (1)), язикоподібного (*Stenamoeba stenopodia* Page, 1969). За частотою трапляння найпоширенішими виявилися амеби еруптивного (91 %), віялоподібного (82), стріатного (69), лінзоподібного (62), акантоподібного (62), майорельного (55,5), монотактичного (53 %) морфотипів, найменш поширеними – амеби політактичного (24 %) морфотипу. Для галявин, чагарників і лісів характерні амеби еруптивного, монотактичного, лінзоподібного, стріатного, віялоподібного, майорельного, дактилоподібного, акантоподібного, язикоподібного морфотипів. У галявинах відсутні амеби політактичного й ругозного морфотипів, у чагарниках – ругозного й розгалуженого морфотипів. Склад морфотипів голих амеб у ґрунтах лісостепової зони України поділено на два комплекси: у перший комплекс входять морфотипи амеб лісів і чагарників, у другий – галявин. На формування першого комплексу морфотипів амеб впливають у більшій мірі підвищена вологість та вища температура ґрунтів порівняно із другим комплексом морфотипів амеб.

Ключові слова: морфотипи амеб, ґрунти, вологість, кислотність, температура, лісостеп, Україна.

Вступ. Цілеспрямовані дослідження видового складу голих амеб у водоймах, ґрунтах, епіфітних й епілітних біотопах України проведені впродовж 2009–2020 рр. [3–4, 9–13]. З водойм України ідентифіковано 45 видів голих амеб, із ґрунтів – 23 види амеб, з епіфітних й епілітних біотопів – 16 видів амеб. Для встановлення видової приналежності амеб спочатку проводять визначення їхнього морфотипу. Морфотип – це "концепція організації клітини", сукупність ознак, що описують динамічно стабільну організацію локомоторної форми амеби (загальні контури, профіль поперечного перетину, наявність складок або гребенів на дорсальній поверхні й особливості будови урідних структур) [5, 15–17]. Морфотипи описують біологічну різноманітність амеб загалом, причому один вид можна описувати декількома морфотипами [6]. Наприклад, *Amoeba proteus* (Pallas, 1766) Leidy, 1878 під час звичайного переміщення по субстрату має політактичний морфотип, за швидкого неперервного руху набуває ортотактичної форми. Локомоторні форми в більшості видів амеб, що цілеспрямовано рухаються, мають динамічно стабільні контури [5, 6]. Морфотипи можуть слугувати певною екологічною характеристикою видів за умови, що ті або інші морфотипи мають адаптивне значення. Інформацію про адаптивне значення морфотипів амеб можна отримати у природних умовах, якщо відслідкувати розподіл морфотипів амеб у біотопах досліджуваного регіону з одночасною реєстрацією змін чинників середовища. Крім того, у багатьох дослідженнях відомі особливості поширення голих амеб [3–4, 9–13], дані щодо поширення їхніх морфотипів відсутні. З огляду на це ми спробували проаналізувати особливості поширення голих амеб певних морфотипів у ґрунтах лісостепової зони України.

Матеріал і методи досліджень. Відбір проб здійснювали впродовж 2018–2020 рр. (квітень–липень мі-

сяці) у різних ґрунтах лісостепової зони України (Хмельницька, Вінницька, Київська, Сумська, Харківська обл.). У Хмельницькій обл. досліджені темно-сірі і сірі опідзолені ґрунти, у Вінницькій – світло-сірі опідзолені ґрунти, у Київській – темно-сірі опідзолені та світло-сірі лісові ґрунти, у Сумській – темно-сірі ґрунти, у Харківській обл. – темно-сірі опідзолені ґрунти. Усього відібрано та проаналізовано 350 разових ґрунтових проб. З кожної області відібрано ґрунтові проби з галявин, чагарників і лісів. У процесі вивчення амеб фауни ґрунтів досліджуваного регіону визначали вологість [1], актуальну кислотність і температуру ґрунтів. Актуальну кислотність ґрунтів вимірювали за допомогою лабораторного рН-метра 150-M. Температуру ґрунту визначали за допомогою ґрунтового термометра.

Сухий ґрунт для аналізу відбирали у стерильні zip-lock пакети.

Розмноження амеб і підтримання їх у культурах проводили згідно з методикою Пейджа [8] в лабораторних умовах за температури + 20 °С.

Ідентифікацію амеб здійснювали у два етапи – спочатку проводили визначення їхнього морфотипу за допомогою спеціальних праць [5, 15–17] після цього використовували таксономічний визначник Пейджа [8].

Сучасні методи не дозволяють отримати дані щодо чисельності амеб і їхніх морфотипів, тому ми аналізували частоту трапляння амеб і їхніх морфотипів у ґрунтах лісостепової зони України. Частоту трапляння морфотипів амеб визначали як частку проб, у яких знайдено морфотип амеб від загальної кількості досліджених проб [2, 14].

Для порівняння фауністичних списків морфотипів голих амеб використано індекс Чекановського – С'єренсена [7].

Результати дослідження та їх обговорення. У ґрунтах лісостепової зони України нами ідентифіковано