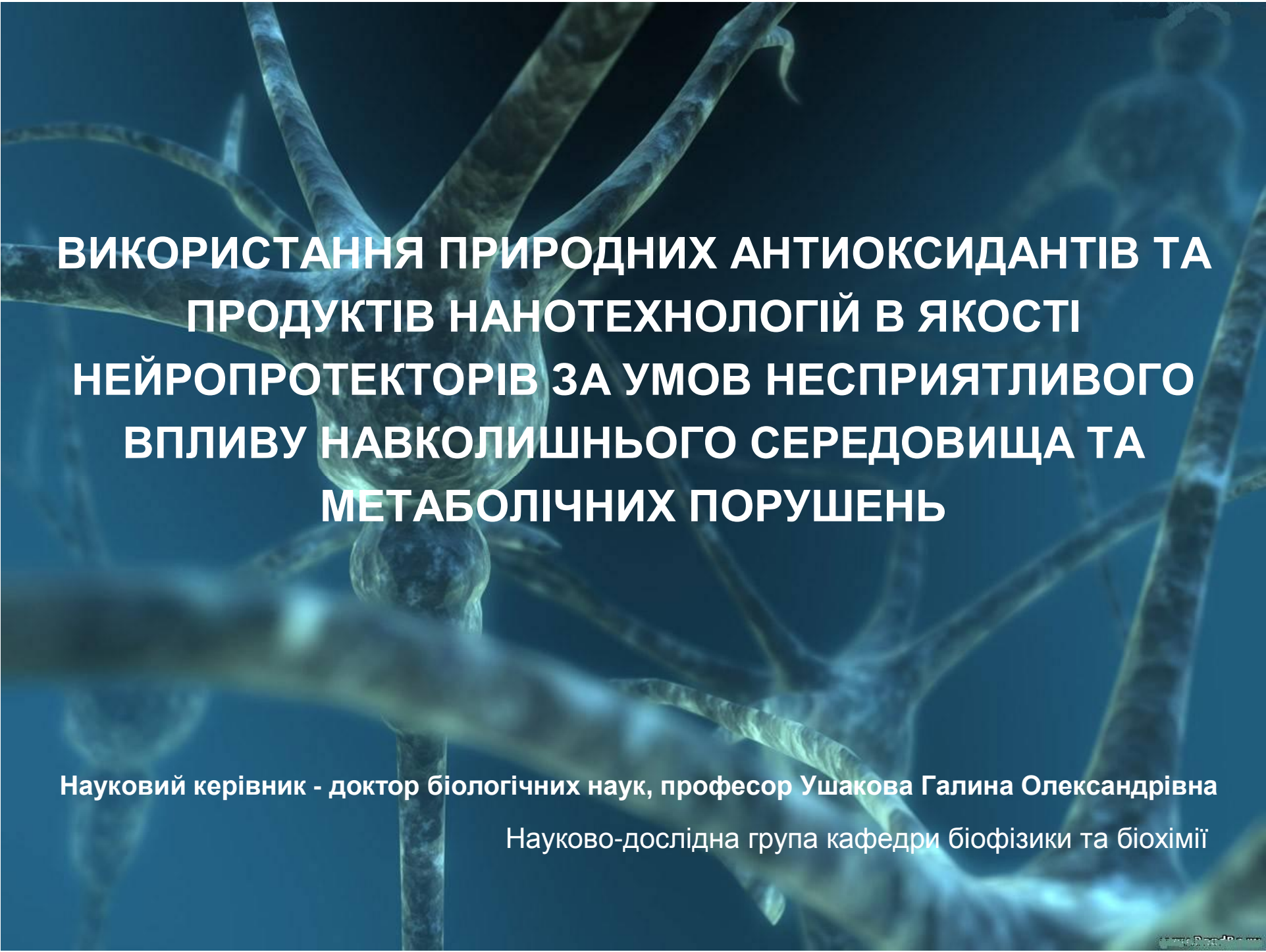




ВИКОРИСТАННЯ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ ТА ПРОДУКТІВ НАНОТЕХНОЛОГІЙ В ЯКОСТІ НЕЙРОПРОТЕКТОРІВ ЗА УМОВ НЕСПРИЯТЛИВОГО ВПЛИВУ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ТА МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ

Науковий керівник - доктор біологічних наук, професор Ушакова Галина Олександрівна

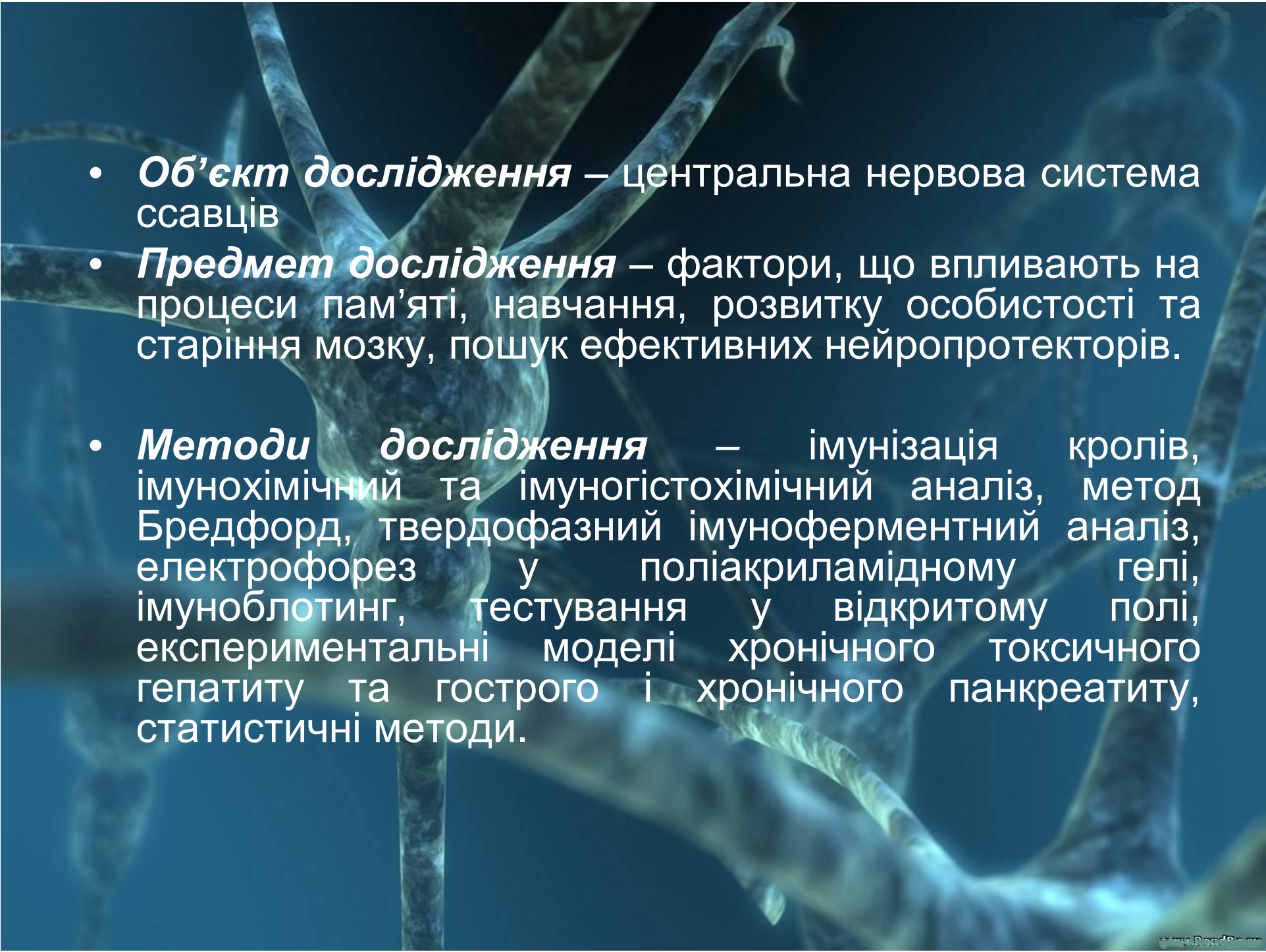
Науково-дослідна група кафедри біофізики та біохімії

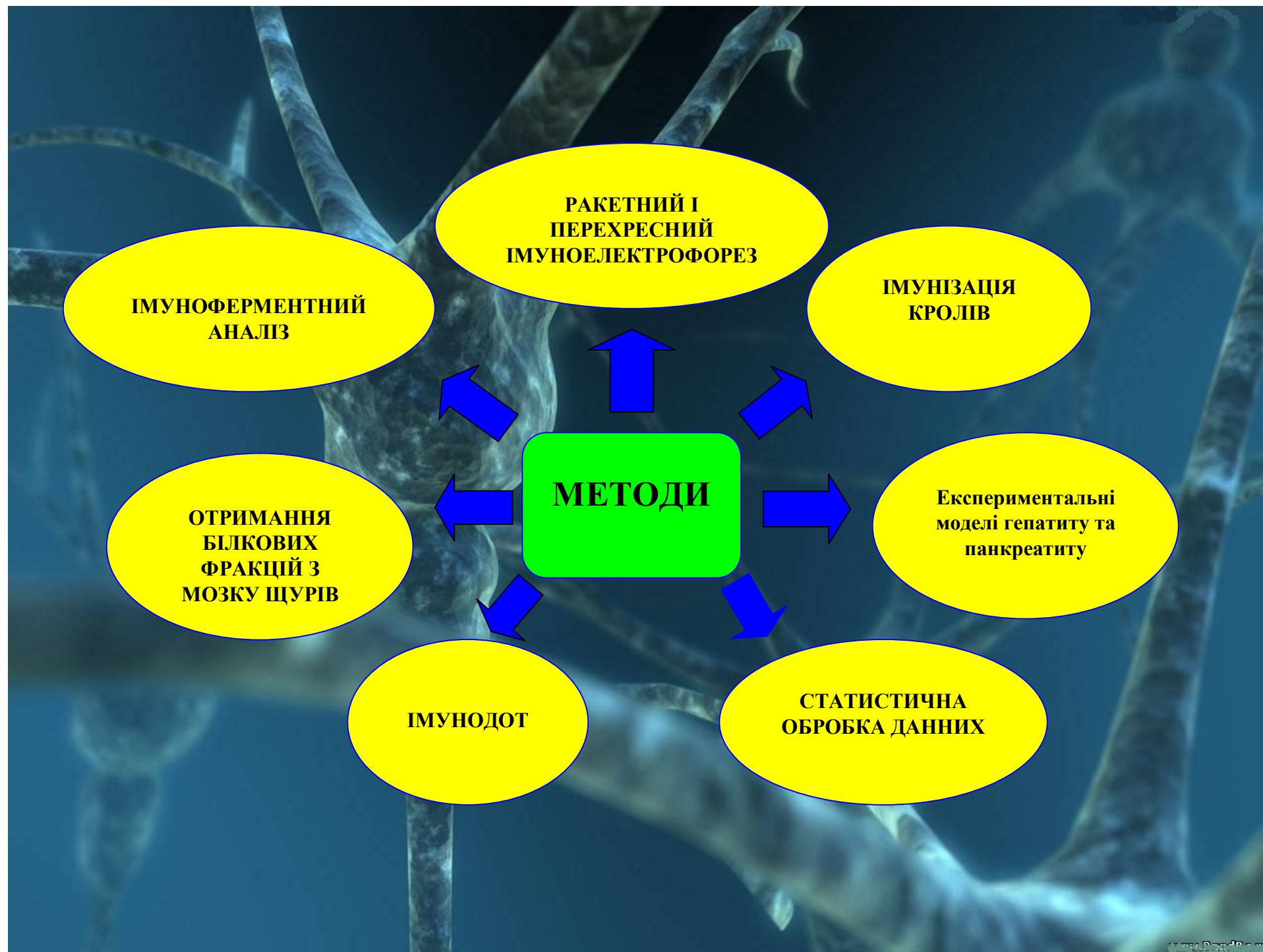
Мета та задачі дослідження

Метою НДР є обґрунтування молекулярно-біохімічних основ специфічних функцій нервової системи, зокрема, процесів навчання і пам'яті, пошук нейропротекторів, що запобігають порушенню когнітивної функції людини за умов техногенного стресу.

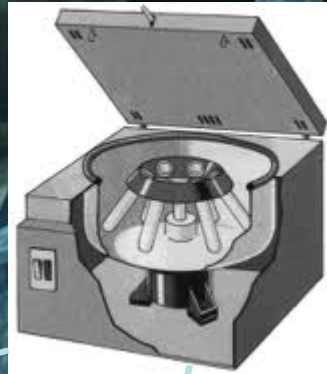
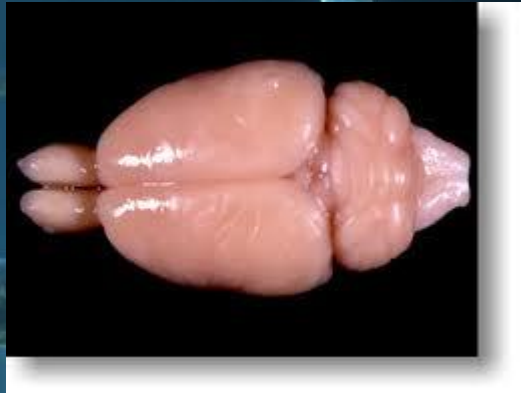
Основні завдання та задачі, на вирішення яких спрямовано НДР:

- виділити та кількісно накопичити очищені астроцит- та олігодендроцит-специфічні білки з мозку щурів;
- отримати моноспецифічні антитіла до маркерних білків нейронів та астроцитів;
- розробити діагностичні тест-системи (імуноферментний аналіз, імунодот, імуноелектрофорез);
- визначити показники поведінкових реакцій, вміст і склад цитоскелетних білків (ГФКБ) та основного білка мієліна за умов впливу несприятливих чинників на центральну нервову систему;
- дослідити процеси навчання і пам'яті у модельних експериментах за експериментального діабету та хронічного токсичного гепатиту;
- оцінити токсичні ефекти несприятливих чинників на ЦНС за комплексним аналізом: ступінь зміни стану цитоскелету астроцитів і стану мієліна, що безпосередньо впливають на процеси навчання і пам'яті та поведінкових реакцій;
- оцінити нейропротекторну дію природних антиоксидантів (α -ліпоевої кислоти, альфа-кетоглутарата та продуктів нанотехнологій структурованих часток металів).

- 
- **Об'єкт дослідження** – центральна нервова система ссавців
 - **Предмет дослідження** – фактори, що впливають на процеси пам'яті, навчання, розвитку особистості та старіння мозку, пошук ефективних нейропротекторів.
 - **Методи дослідження** – імунізація кролів, імунохімічний та імуногістохімічний аналіз, метод Бредфорд, твердофазний імуноферментний аналіз, електрофорез у поліакриламідному гелі, імуноблотинг, тестування у відкритому полі, експериментальні моделі хронічного токсичного гепатиту та гострого і хронічного панкреатиту, статистичні методи.



Нейроспецифічні білки, що досліджувалися



Філаментні білки
(гліальний
фібрилярний кислий
білок ГФКБф)

Цитозольні білки
(S100b, гліальний
фібрилярний кислий
білок ГФКБр)

Основний білок
мієліну (ОБМ)

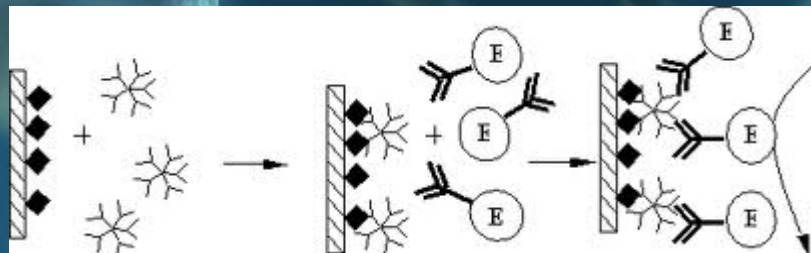
Мієлін розглядається сьогодні, як один з найбільш інформативних маркерів патологічних станів, що супроводжуються порушенням цілісності мієлінової оболонки

S-100b приймає участь у регуляції фосфорилування білка, енергетичного метаболізму, цитоскелетної динаміки, кальцієвого гомеостазу та проліферації й диференціації клітин.

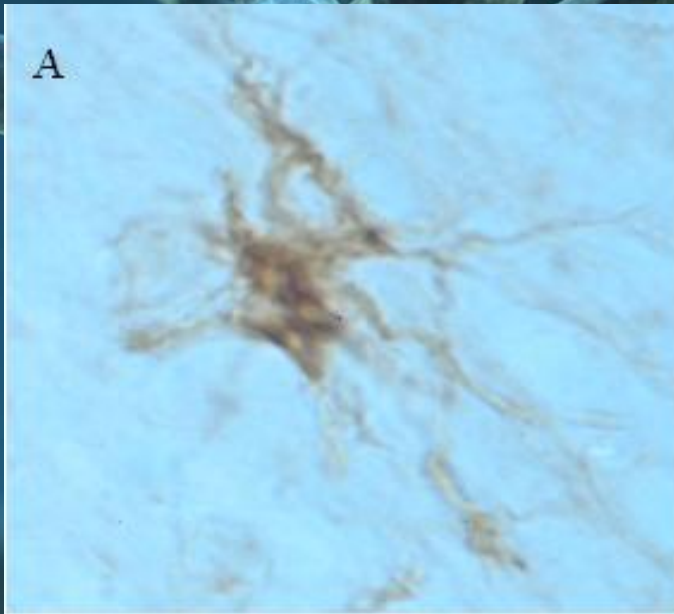
ГФКБ разом з віментіном, десміном та периферіном утворює цитоскелет астроцита, приймає участь у багатьох клітинних процесах, таких як підтримка структури клітини, рух клітини, міжклітинні взаємодії та приймає участь у функціонуванні гемато-енцефалічного бар'єру.

Отримання антисироваток проти нейроспецифічних антигенів

Отримані нові поліклональні антисироватки проти гліального фібрилярного кислого білка (ГФКБ) та основного білка мієліна (ОБМ), відповідно. Отримані антитіла є моноспецифічними, мають високий титр: анти-ГФКБ від 1:500 до 1:2500; анти-ГБМ від 1:1000 до 1:2000. В імуноблотингу анти-ГФКБ реагує з головним поліпептидом 49 кДа та його дериватами. Серед апробованих різних варіантів твердофазного імуоферментного аналізу конкурентний сандвіч метод має вищу специфічність та чутливість.



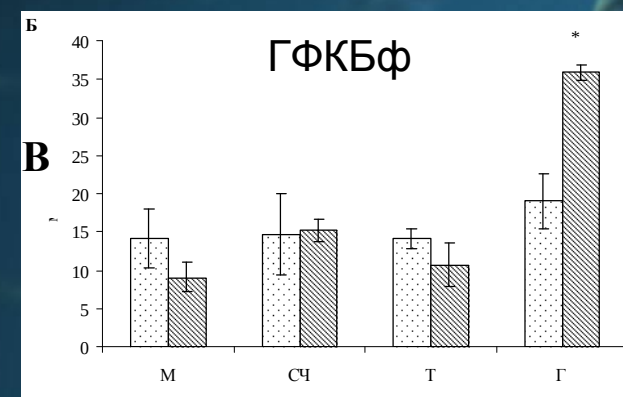
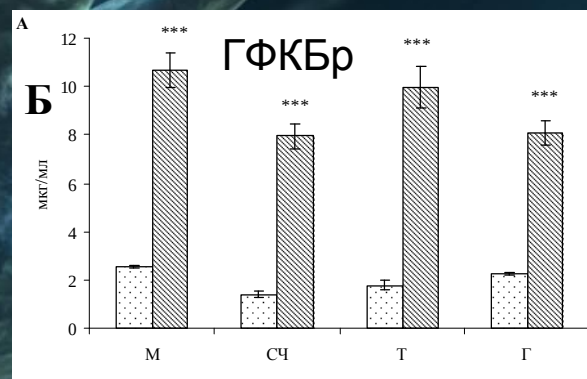
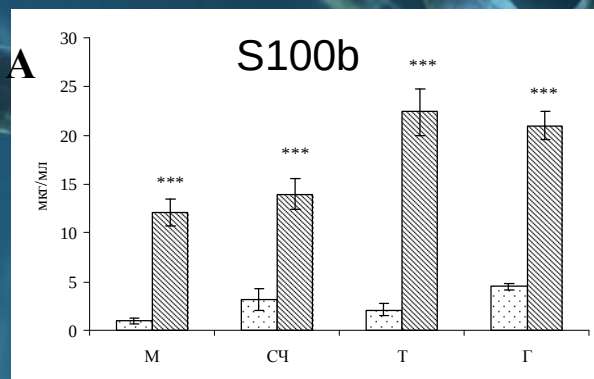
Морфологічні зміни астроцитів під час розвитку неалкогольного стеатогепатиту у щурів



Астроцити із сагітального зрізу мозочка щурів. Забарвлення антитілами до GFAP: А – контрольна група, Б – група з розвитком експериментального неалкогольного стеатогепатиту. Збільшення у 1200 разів.

Розвиток стеатогепатиту призводить до зменшення об'єму соми та кількості відростків астроцитів у внутрішньогранулярному шарі мозочка, що свідчить про погіршення трофічної функції цих клітин.

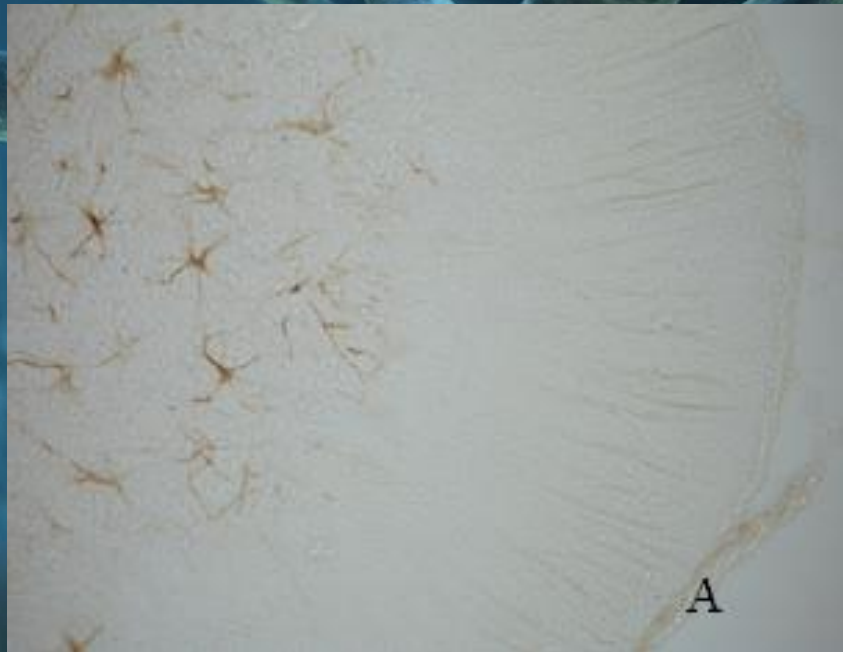
Розвиток печінкової енцефалопатії за умов хронічного гепатиту: рівень кальцій-зв'язуючого білка S100b та гліального фібрилярного кислого білка



Рівень кальцій-зв'язуючого білка S100b (А), розчинної (Б) та філаментної форми (В) гліального фібрилярного кислого білку у мозку щурів: за нормальних умов та розвитку хронічного гепатиту. М – мозочок, СЧ – сенсорна частина кори півкуль, Т – таламус, Г – гіпокамп, $n = 8$, * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$.

Збільшення цитозольної форми ГФКБ при відносно незмінній кількості його філаментної форми свідчить про унеможливлення агрегації структурних одиниць ГФКБ у проміжні філаменти на тлі збільшення експресії S100b.

Морфологічні зміни астроцитів під час розвитку хронічного гепатиту



Астроцити мозочка щурів після розвитку хронічного гепатиту: А – контрольна група, Б – група з розвитком хронічного гепатиту. Забарвлення антитілами до ГФКБ. Збільшення у 1200 разів.

Спостерігається набряк астроцитів та втрата ними характерної зірчастої форми, зменшення кількості відростків, що разом призводить до зниження трофіки нейронів

Препарати для корекції печінкової енцефалопатії

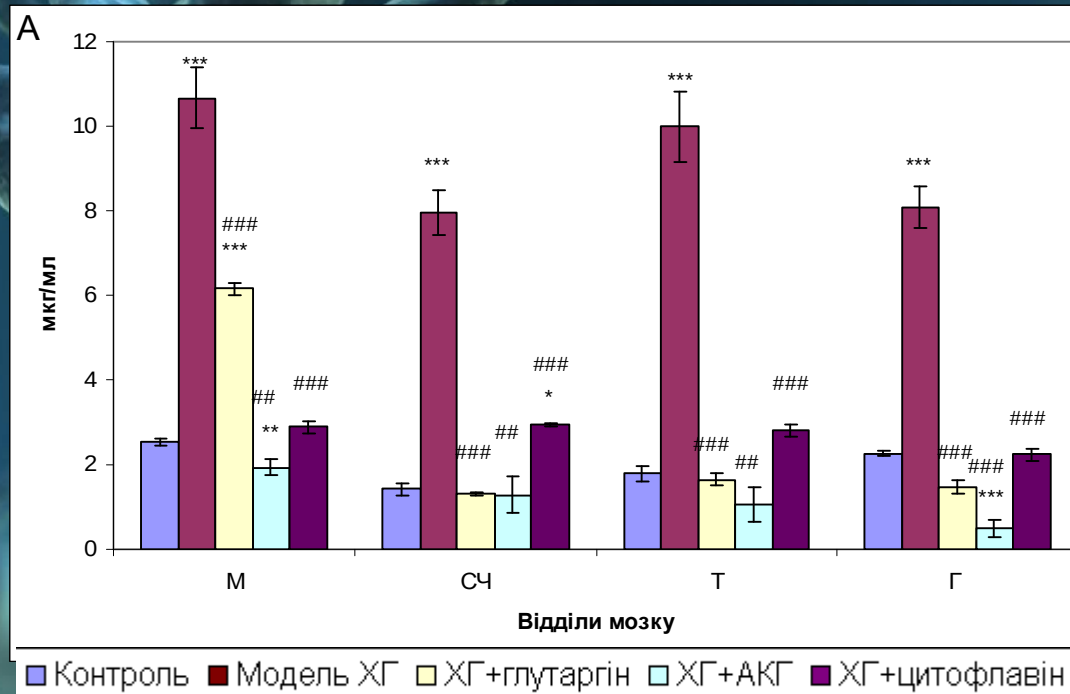


Глутаргін — з'єднання аргініну і глютамінової кислоти. Аргінін залучається до циклу синтезу сечовини, підвищуючи аміакнейтралізуючу здатність останнього. Глютамінова кислота також бере участь в детоксикації аміаку, утворюючи нетоксичний глютамін, який у свою чергу підсилює виділення аміаку нирками у вигляді солі амонію.

Альфа-кетоглутарат має детоксикаційну дію за рахунок сприяння додаткового синтезу будь-якої амінокислоти з відповідної альфа-кетокислоти й аміаку, має антиоксидантний та енергетичний ефекти.

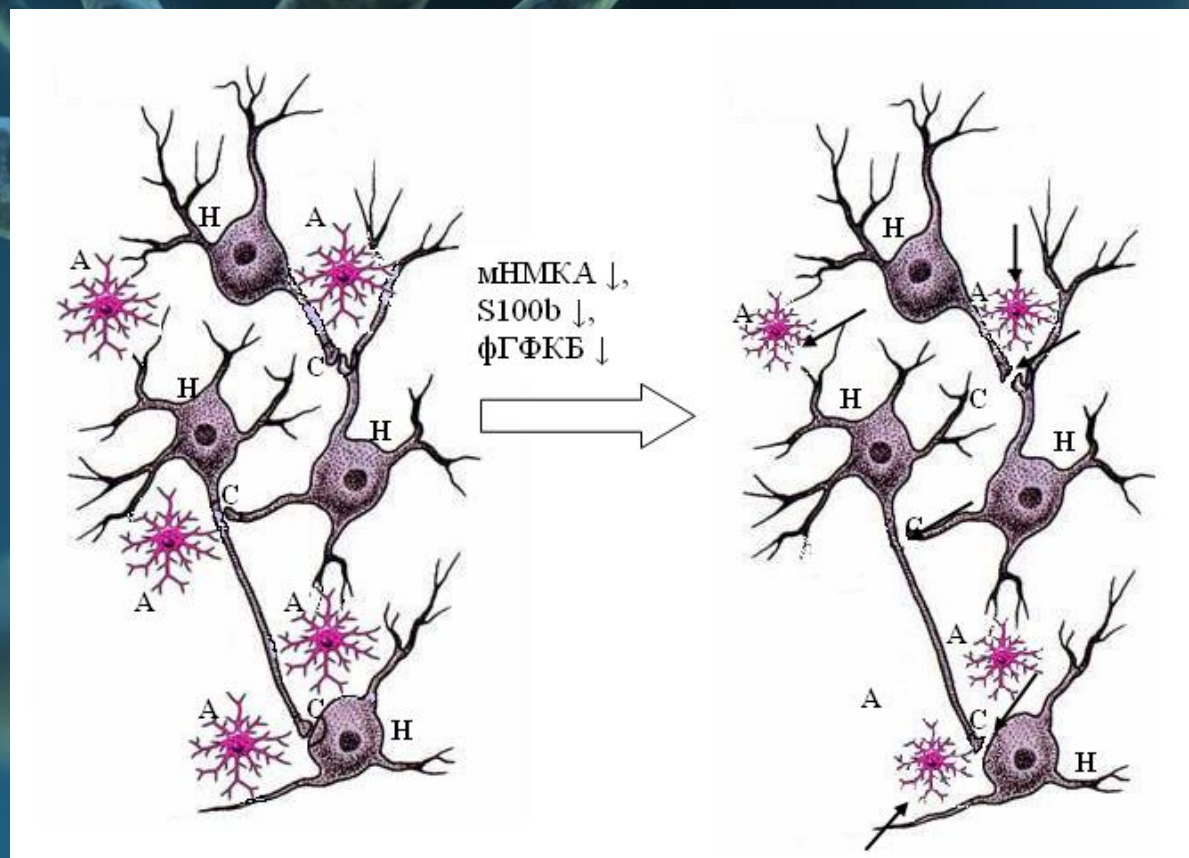
Цитофлавін стимулює дихання та енергоутворення в клітинах, покращує процеси утилізації кисню тканинами, відновлює активність ферментів антиоксидантного захисту. Препарат активує внутрішньоклітинний синтез білка, сприяє утилізації глюкози, жирних кислот і ресинтезу в нейронах гама-аміномасляної кислоти через шунт Роберта.

Вплив лікарських препаратів глутаргін, альфа-кетоглутарат та цитофлавін на рівень гліального фібрилярного кислого білка у мозку щурів за умов розвитку хронічного гепатиту



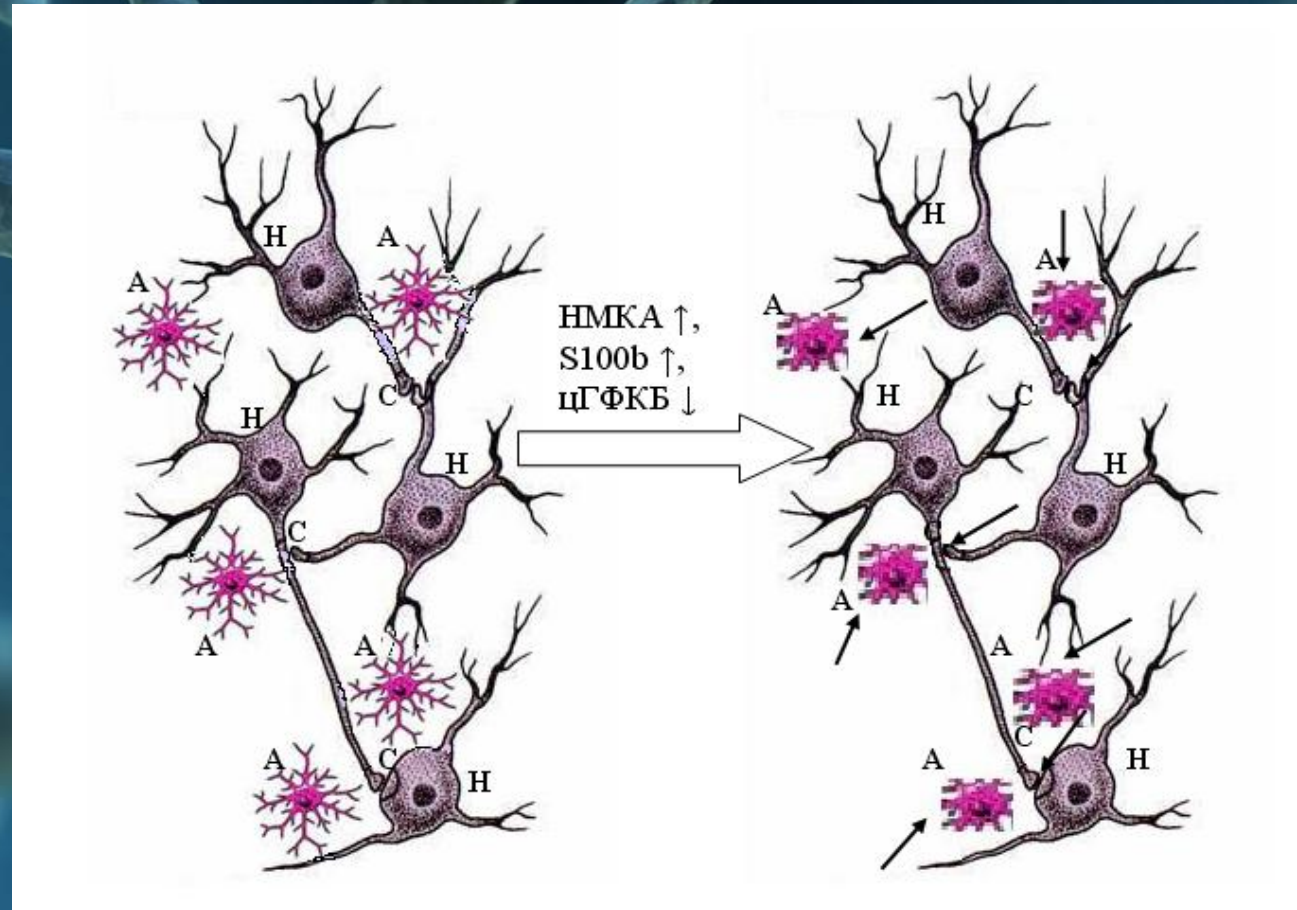
Рівень гліального фібрилярного кислого білка у цитозольній фракції мозку щурів за нормальних умов, розвитку хронічного гепатиту та після лікування щурів. М – мозочок, СЧ – сенсорна частина кори півкуль, Т – таламус, Г – гіпокамп, $n = 8$, * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (порівняння з контрольною групою), # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$, ### – $p < 0,001$ (у порівнянні з групою з хронічним гепатитом).

Процеси перебігу печінкової енцефалопатії під час експериментального неалкогольного стеатогепатиту з точки зору взаємодій в комплексі нейрон-астроцит

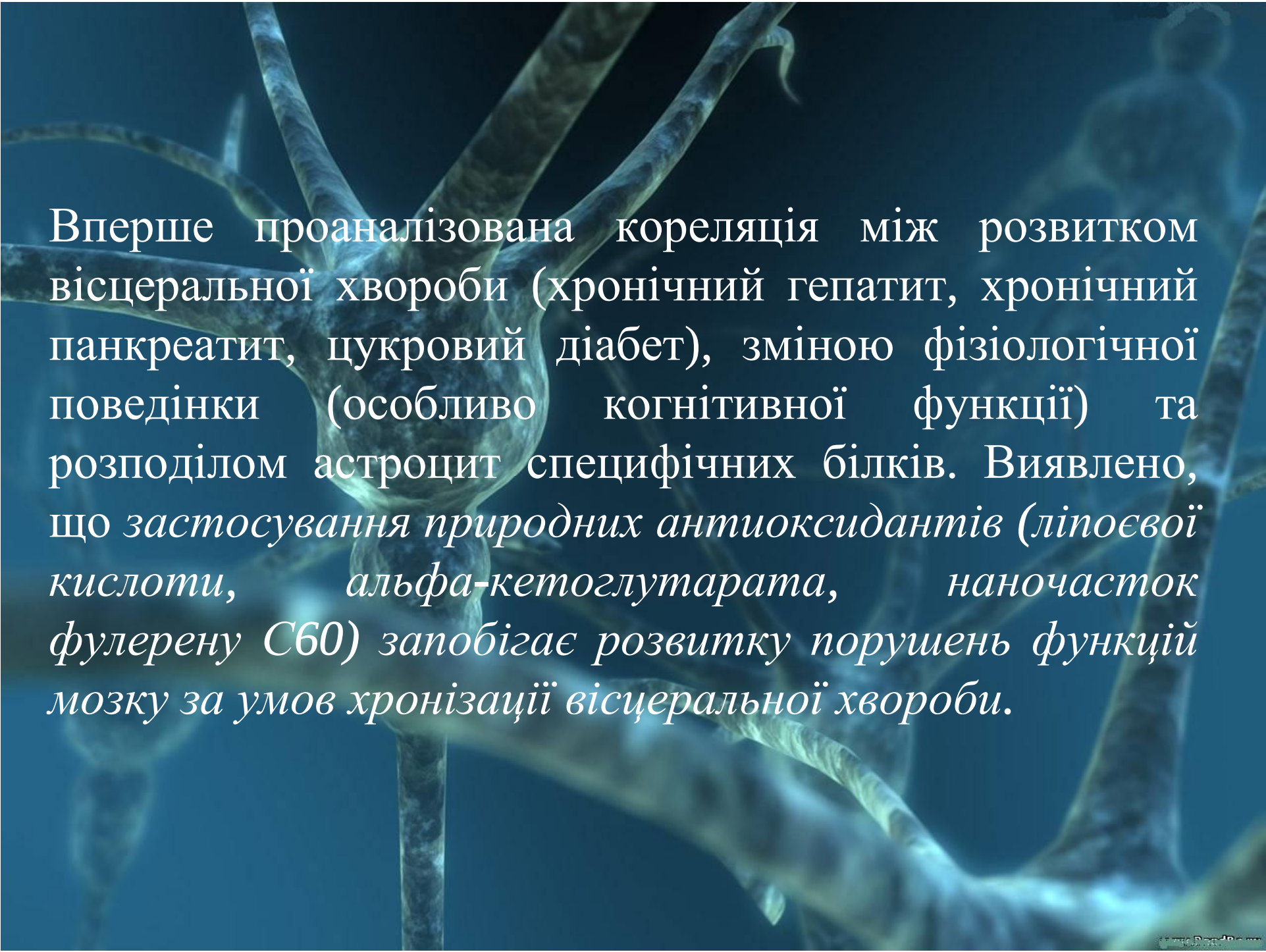


Гіпотетична схема змін, що відбуваються у нейрон-гліальному комплексі за умов розвитку печінкової енцефалопатії при експериментальному неалкогольному стеатогепатиті: Н – нейрон, А – астроцит, С – синапс, стрілками вказані області змін.

Процеси перебігу печінкової енцефалопатії під час моделювання хронічного гепатиту з точки зору взаємодій в комплексі нейрон-астроцит



Гіпотетична схема змін, що відбуваються у нейрон-гліальному комплексі за умов розвитку печінкової енцефалопатії при моделюванні хронічного гепатиту: Н – нейрон, А – астроцит, С – синапс, стрілками вказані області змін.



Вперше проаналізована кореляція між розвитком вісцеральної хвороби (хронічний гепатит, хронічний панкреатит, цукровий діабет), зміною фізіологічної поведінки (особливо когнітивної функції) та розподілом астроцит специфічних білків. Виявлено, що застосування природних антиоксидантів (ліноєвої кислоти, альфа-кетоглутарата, наночасток фулерену C60) запобігає розвитку порушень функцій мозку за умов хронізації вісцеральної хвороби.

Патенти та впровадження



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації
та патентно-ліцензійної роботи
(Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СИСТЕМІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 97 – 2013

Випуск 3 з проблеми:
«Інфекційні та паразитарні хвороби»
Підстава: Ухвала ПК
«Інфекційні та паразитарні хвороби»
Протокол №33 від 30.01.2013

ГОЛОВНОМУ ТЕРАПЕВТУ,
МОЗ АР КРИМ, УПРАВЛІННЯ ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я ОБЛАСНИХ, СЕВАСТОПОЛЬСЬКОЇ
ТА КИЇВСЬКОЇ МІСЬКИХ ДЕРЖАВНИХ
АДМІНІСТРАЦІЙ

ДОКЛІНІЧНА ДІАГНОСТИКА ПЕЧІНКОВОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ У ДОРОСЛИХ, ХВОРИХ НА ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ В ТА С

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

ДЗ «ДНІПРОПЕТРОВСЬКА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ МОЗ УКРАЇНИ»

ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. ГОНЧАРА

КЗ МКЛ №21 ім. проф. О.Г. ПОПКОВОЇ
м. ДНІПРОПЕТРОВСЬКА

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ
МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

проф. ШОСТАКОВИЧ-КОРЕЦЬКА Л.Р.
проф. МАВРУТЕНКОВ В.В.

проф. УШАКОВА Г.О.

к.м.н. БУДАЄВА І.В.
ТКАЧЕНКО В.Д.

м. Київ