



УДК 57.017.23+112.7:352.465:151.643

ЛОКАЛІЗАЦІЯ ФІЗІОЛОГІЧНОГО ПРИОНА Й АКТИВНІСТЬ $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-АЗИ У ТКАНИНАХ ПРИОН-РЕПЛІКУВАЛЬНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ

М. В. Кушкевич, В. В. Влізло, Ю. В. Мартин

*Інститут біології тварин НААН України
вул. Стуса, 38, Львів 79034, Україна
e-mail: m_kushkevych@ukr.net*

Імуногістохімічне дослідження тканин пріон-реплікувальної системи щурів, віком шість місяців, виявило фізіологічний пріон у тонкому кишечнику, зокрема у клітинах власної пластинки ворсинок порожньої кишки – лімфоцитах і моноцитах. У селезінці локуси фізіологічного пріона виявлено у лімфоцитах червоної пульпи, які локалізовані поблизу капсули і трабекул. У клітинах білої пульпи фізіологічний пріон не виявили. Натомість найбільша його кількість міститься у мікрогліоцитах довгастого мозку. Визначено активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-ази та концентрацію іонів натрію і калію у тканинах пріон-реплікувальних органів щурів. Активність ферменту була найбільшою у довгастому мозку, а концентрація іонів – у селезінці. Встановлено пряму позитивну кореляцію між кількістю фізіологічного пріона й активністю $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-ази.

Ключові слова: пріон-реплікувальні органи, фізіологічний пріон, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-аза, іони натрію та калію.

ВСТУП

Пріонні інфекції – це летальні захворювання центральної нервової системи людини і тварин, збудниками яких є інфекційні білки – пріони [2, 25]. Патологічний пріон (інфекційний, PrP^{Sc}) відрізняється від фізіологічного (клітинного, PrP^{C}) конформацією вторинної та третинної структури молекули [11, 20]. Фізіологічний пріон містить альфа-спіралі (42%) і бета-структури (3%), тоді як у патологічного частка бета-структур становить 43%, а альфа-спіралей – 30%. Потрапляючи в організм, патологічний пріон взаємодіє з фізіологічним, що спричиняє перетворення останнього у патологічний [27]. Унаслідок цього змінюється конформація молекули. Вміст бета-структур зростає, а альфа-спіралей – знижується, що обумовлює виникнення інфекції. За цих умов також виникають точкові мутації, що є причиною заміни окремих амінокислот у поліпептидному ланцюзі [30]. Таким чином, фізіологічний пріон є субстратом для утворення патологічного [16]. Проте

останній не здатний виконувати функцій попередника, що спричиняє порушення метаболізму у клітині, зокрема обміну води й електролітів між клітиною та поза-клітинним середовищем [32]. Зростання вмісту патологічного білка на мембрані нервових клітин спричиняє порушення транспортних та сигнальних функцій [29]. У цитоплазмі зростає кількість лізосом унаслідок посиленого руйнування клітинних органел, зокрема мітохондрій. Знижується активність АТФ, порушується синтез білків і активність ферментів [2, 3, 17, 23].

Фізіологічний пріон – це поліпептидний ланцюг довжиною 253 амінокислотних залишки у людини, 254 – у гризунів, 256 – у овець. Він синтезується на мембранах гранулярного ендоплазматичного ретикулу, потрапляє в апарат Гольджі і транспортується в секреторних везикулах до зовнішньої поверхні клітини [12]. Молекула фізіологічного пріона кріпиться до клітинної мембрани за допомогою глікозилфосфатидил-інозитольного (ГФІ) якоря. Молекулярна маса цього білка становить 33–35 кДа [2, 24].

Фізіологічний пріон бере участь у клітинній адгезії, трансмембранній взаємодії, транспорті деяких іонів, антиоксидантному захисті [12, 23].

Синтез молекули патологічного пріона є аналогічним до синтезу фізіологічного. Перший акумулюється всередині клітини в лізосомах. Оскільки патологічний пріон є малорозчинним у воді, то утворює агрегати в мозку у вигляді амیلіду [21, 26].

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-аза є мембранним ферментом тканин усіх тварин. Вона забезпечує підтримання асиметричного розподілу іонів натрію та калію по обидва боки мембрани, використовуючи енергію гідролізу АТФ. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-аза має молекулярну масу 250–300 кДа і складається з двох субодиниць. Альфа-субодиниця є ліпопротеїдом (100 кДа). Вона перетинає мембрану кілька разів, утворюючи петлі. Активний центр ферменту локалізований усередині клітини і є доступним для АТФ. Центри зв'язування іонів Na^+ і K^+ розташовані між петлями.

Бета-субодиниця, як і фізіологічний пріон, є сіалоглікопротеїдом (40 кДа), що вмонтований у мембрану на зовнішній поверхні клітини. Вважають, що ця субодиниця виконує регуляторні функції та визначає антигенні властивості [1, 6].

Припускають залежність між активністю ферменту і вмістом фізіологічного пріона, оскільки обидва білки виконують подібні функції та мають схожу локалізацію в організмі.

Метою нашої роботи було дослідити кількість фізіологічного пріона у різних тканинах і органах щурів, використовуючи метод імуногістохімічного аналізу, а також визначити активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-ази та концентрацію іонів натрію і калію.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на самцях лабораторних щурів *Rattus norvegicus* var. alba, лінії *Wistar*, яких утримували у стандартних умовах віварію. Тварин у віці шість місяців декапітували під легким ефірним наркозом, відбирали довгастих мозок, селезінку та порожню кишку.

Маніпуляції з тваринами проводили з дотриманням принципів „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і інших наукових цілей” (Страсбург, 1986) і Ухвали першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Шматки тканин завтовшки 0,5–0,7 см, фіксували у 10% нейтральному формаліні протягом двох тижнів. Після цього зразки промивали водою, зневоднювали в етанолі, поступово збільшуючи концентрацію від 50 до 100%. Для витіснення етилового спирту зрізи спочатку поміщали у суміш спирт-ксилол, потім двічі у ксилол. Тканини заливали у парафін, формуючи блоки.

Зрізи товщиною 7 мкм нарізали на мікротомі Microm HM 340E. Прогрівали за температури $+52^\circ\text{C}$ упродовж 12 год, після чого депарафінували у ксилолі та зневоднювали в етанолі. Відновлення антигену здійснювали за впливу мікрохвильового випромінювання у середовищі 10 мМ цитратного буферу, рН 6,0. Блокували ендогенну лужну фосфатазу 0,3 н розчином HCl .

Зрізи промивали у TBST, рН 7,6 (0,05 М Трис, 150 мМ NaCl , 0,05% Tween 20, H_2O). У подальшому їх інкубували з моноклональними первинними антитілами (Antibody mAB6H4; Prionics, Швейцарія). Використовували набір реактивів для імуногістохімії фірми Dako (Данія), який містив полімер-імуноглобуліновий комплекс (Rabbit mouse link), полімер-ензимний комплекс (AP Enzyme), субстратний буфер і хромоген (Permanent Red). Після промивання зрізи фарбували гематоксиліном Майєра та поміщали у середовище (Aqueous permanent mounting medium; Dako, Данія). Розглядали під мікроскопом Axioskop 40 (Carl Zeiss, Німеччина). Контрольними вважали зрізи тканин, зафарбовані лише гематоксиліном.

Визначення кількості фізіологічного пріона проводили методом оцифрування фотографій тканин, використовуючи програму ВідеоТест 5.0 [33].

Для визначення активності $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-ази тканини гомогенізували упродовж 1–2 хв на гомогенізаторі Omni GLH-220 у середовищі сахарози. У результаті повторного центрифугування отримали мембранну фракцію тканин [8, 13].

Активність ферменту визначали в інкубаційному середовищі (рН 7,4) такого складу: NaCl – 125 мМ, KCl – 25 мМ, MgCl_2 – 5 мМ, Na_2ATP – 5 мМ, ЕГТА – 1 мМ, перес – 20 мМ, сапонін 0,2%. Розраховували за різницею між активностями загальної та оубаїннечутливої АТФ-ази, яку визначали у середовищі з 1 мМ оубаїну. Мітохондріальну АТФ-азу блокували 1 мМ NaN_3 . Мірою активності була концентрація неорганічного фосфату, яку виражали у мкмоль Φ_{H} у перерахунку на 1 мг білка на 1 год (мкмоль $\Phi_{\text{H}} / (\text{мг білка} \times \text{год})$). Визначення білка проводили методом Лоурі [19].

Концентрацію іонів натрію та калію визначали з використанням комерційних наборів фірми Фелісіт-Діагностика [9].

Виразували основні статистичні показники за безпосередніми даними (середнє арифметичне M , стандартна похибка середнього арифметичного m). Для оцінки вірогідної різниці між статистичними характеристиками альтернативних сукупностей даних обраховували коефіцієнт Стюдента. Вірогідною вважалася різниця за показника достовірності $P < 0,05 - 0,001$ [4].

Статистичне опрацювання результатів проводили, використовуючи програми Excel та Origin [5].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Фізіологічний пріон експресується у клітинах більшості еукаріотів. У випадку проникнення патологічного пріона відбувається його взаємодія з фізіологічним. Це автокаталітичний процес, за якого фізіологічний пріон перетворюється у па-

тологічний внаслідок зміни конформації молекули [28]. Організм усуває нестачу фізіологічного пріона, активно його синтезуючи, але він постійно перетворюється у патологічний [2, 17].

Інфікування патологічним пріоном найчастіше відбувається перорально [3, 14, 21] під час вживання ураженого м'яса та корму. Тому нами було вивчено локалізацію фізіологічного пріона у тканинах тонкого кишечника лабораторних тварин.

Проаналізувавши гістозрізи порожньої кишки щурів, встановили, що вона мала типову структуру слизової, підслизової, м'язової та серозної оболонок. Слизова складалася з ворсинок і крипт, співвідношення яких становило 3,5 : 1 (рис. 1, а, б). На гістохімічних зрізах чітко видно, що ззовні вони вкриті одношаровим епітелієм. Серед клітин останнього розрізняли стовпчасті видовжені епітеліоцити (ентероцити) з овальним ядром, поодинокі келихоподібні залозисті клітини, які секретують слиз (рис. 1, в). Крипти покриті ентоцитами, які мали округлу форму, та містили ендокриноцити (рис. 1, г). Вони продукують гормони шлунково-кишкового тракту. Під епітелієм ворсинки локалізована базальна мембрана та власна пластинка, яка містила кровоносні та лімфатичні судини звичайного кровонаповнення, а також нерви. Імуногістохімічним методом у цій ділянці виявили фізіологічний пріон, який, імовірно локалізований на поверхні лімфоцитів і моноцитів (рис. 1, в, г).

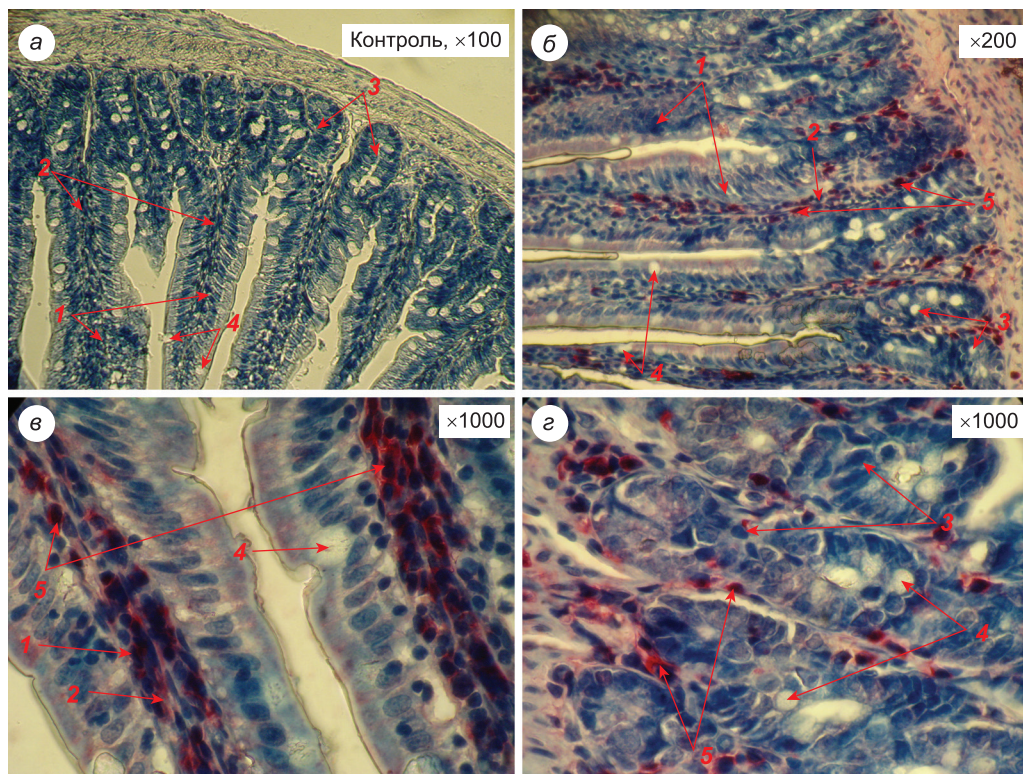


Рис. 1. Порожня кишка щурів: 1 – слизова оболонка (ворсинка); 2 – власна пластинка ворсинки; 3 – крипта; 4 – келихоподібна клітина; 5 – фізіологічний пріон. Фарбування гематоксиліном

Fig. 1. The hollow gut of rats: 1 – mucosa (Villi); 2 – villi own plate; 3 – crypt; 4 – goblet cell; 5 – physiological prion. Hematoxylin staining

За експериментального орального зараження мишей патологічним пріоном збудник спочатку акумулюється у лімфоретикулярній тканині кишечника. Тоді він потрапляє в інші органи імунної системи (лімфатичні вузли, селезінку, мигдалики) [15, 21, 22]. Відомо, що рівень експресії фізіологічного пріона у клітинах селезінки є високим.

Проведені нами гістологічні дослідження показали, що морфологічна структура селезінки нормальна. Наявна сполучнотканинна капсула, від якої відходять трабекули (рис. 2, а, б). У проміжках між останніми розташована строма селезінки. Вона утворена ретикулярною тканиною. Селезінка містить білу та червону пульпу. Перша – це сукупність лімфоїних клітин, які формують вузли або фолікули навколо центральних вен і пульпарних артерій.

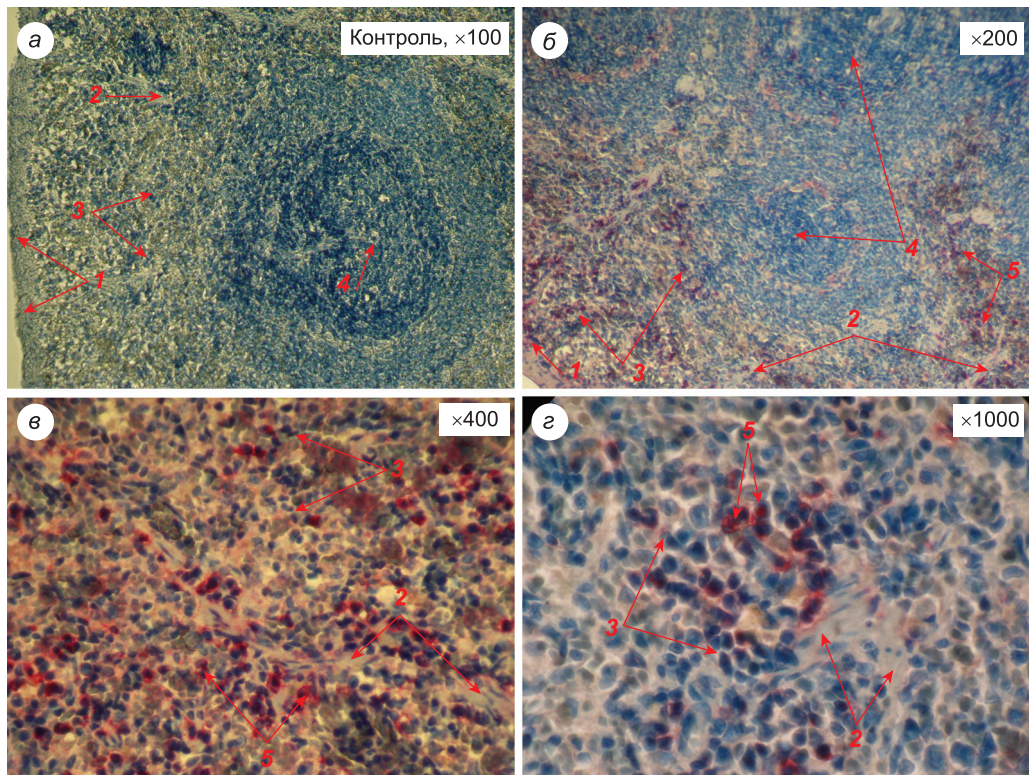


Рис. 2. Селезінка щурів: 1 – капсула; 2 – трабекули; 3 – червона пульпа; 4 – лімфоїдний фолікул; 5 – фізіологічний пріон. Фарбування гематоксилином

Fig. 2. The spleen of rats: 1 – capsule; 2 – trabecula; 3 – red pulp; 4 – lymphoid follicles; 5 – physiological prion. Hematoxylin staining

У структурі фолікулів нами виявлено такі ділянки: періартеріальну, центр розмноження, або гермінативний центр, мантийну та краєву, або маргінальну (рис. 2, б). Проте ми не виявили пріона у фолікулах селезінки. Добре помітні його локуси у червоній пульпі. Крім ретикулярної тканини, остання містить макрофаги, а також зернисті та незернисті лейкоцити, поодинокі мегакаріоцити, еритроцити (рис. 2, в). Трабекули містять кровоносні та лімфатичні судини – лімфатичні

піхви (рис. 2, а). У центральній частині піхви розташовуються В-лімфоцити та плазмоцити, по периферії – малі Т-лімфоцити [7, 18]. У Т- і В-лімфоцитах виявлено фізіологічний пріон. У разі інфекції ці клітини можуть розносити патологічний пріон з кров'ю по всьому організмі.

Потрапивши через дрібні нервові закінчення до спинного, а потім до головного мозку, патологічний пріон спричиняє значне ураження тканини, зокрема вакуолізацію нейронів [10, 16, 21]. Під час аналізу гістозрізів довгастого мозку показано, що він складається із білої та сірої речовини, остання утворена ядрами черепних нервів і нервовими волокнами, які відходять у різні напрямки та перехрещуються (рис. 3). Як показали результати наших досліджень, фізіологічний пріон локалізований у сірій речовині, а також рівномірно розподілений у структурі тканини. В основному він виявлений у мікрогліоцитах (рис. 3, б–е), які розміщені поблизу нейронів і виконують захисну функцію.

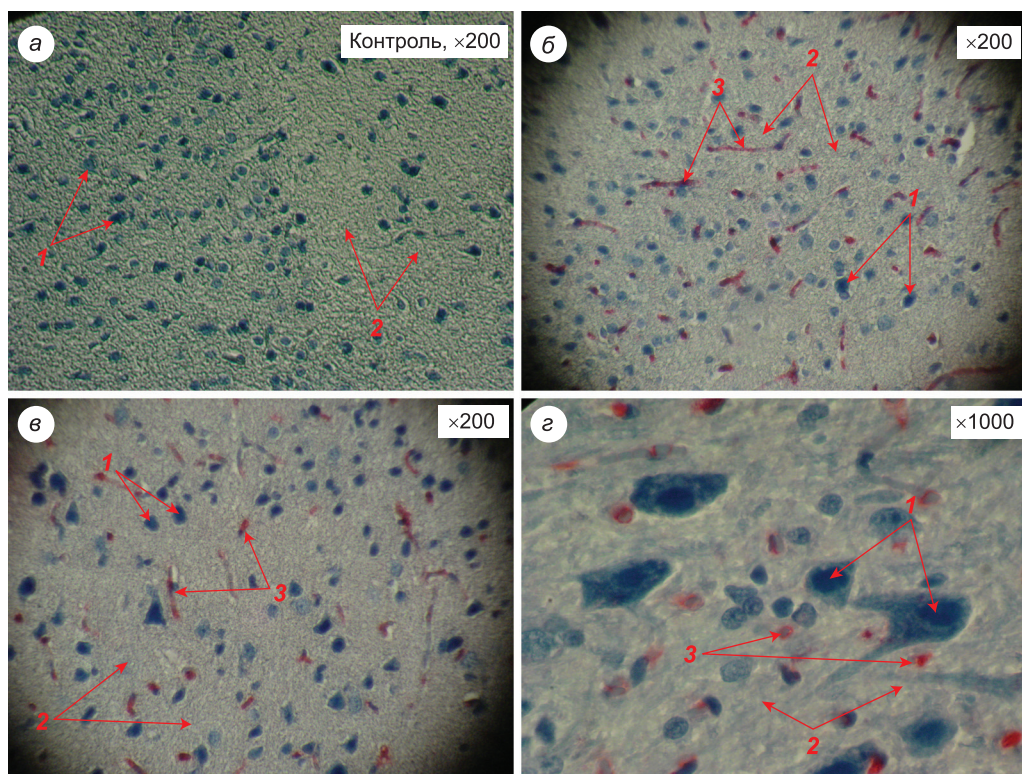


Рис. 3. Довгастий мозок щурів: 1 – ядро нейрона; 2 – нервові волокна; 3 – фізіологічний пріон. Фарбування гематоксилином

Fig. 3. The medulla of rats: 1 – neuron kernel; 2 – nerve fibers; 3 – physiological prion. Hematoxylin staining

У патогенезі пріонних інфекцій інкубаційний період є досить тривалим. Це є необхідним для реплікації та нагромадження патологічного білка [2, 3, 11]. Лімфотетікулярна система тонкого кишечника та селезінки містить фізіологічний пріон, який є субстратом для патологічного і сприяє поширенню інфекції. Однак у патогенезі велике значення має нервова система [14, 31].

Визначили кількість фізіологічного пріона у досліджуваних тканинах. Найбільше його ($432,80 \pm 5,61$ умовних одиниць) виявили у довгастому мозку. У селезінці та порожній кишці встановлено $341,33 \pm 8,34$ та $385,38 \pm 6,13$ умовних одиниць, відповідно.

Оскільки досліджуваний пріон є мембранним протеїном, то він може бути взаємопов'язаний з іншими структурами, які мають таку ж локалізацію та виконують подібні функції. Відомо, що іонним транспортером є $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-аза.

Нами показано, що активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-ази неоднакова у різних тканинах. Найбільший її рівень виявлено у тканині довгастого мозку ($56,26 \pm 0,88$ мкмоль Φ_{H} / (мг білка \times год)) (рис. 4, а). Це можна пояснити тим, що $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-аза нейронів використовує 15–40% енергії клітини для підтримання іонних градієнтів [1, 6], що є передумовою виникнення потенціалу дії для передачі нервових імпульсів уздовж аксонів та через синапси.

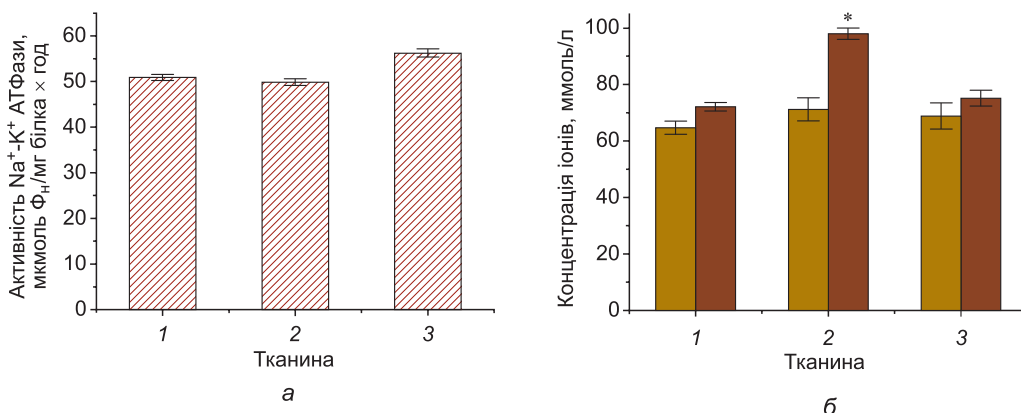


Рис 4. Активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-ази (а) та вміст іонів (б) натрію (■) і калію (■) у тканинах щурів: 1 – порожня кишка; 2 – селезінка; 3 – довгастий мозок

Примітка: * – $P < 0,05$ порівняно з показниками тканини кишечника

Fig. 4. The activity of $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase (a) and the contents of Sodium (■) and Potassium (■) ions (б) in rats tissues: 1 – hollow gut; 2 – spleen; 3 – medulla

Note: * – $P < 0,05$ compared with those intestinal tissue

Під час визначення концентрації Na^+ і K^+ встановлено неоднаковий їх розподіл у тканинах щурів (рис. 4, б). Найвищий вміст обох іонів виявили у селезінці – $71,21 \pm 4,09$ ммоль/л і $97,99 \pm 2,01$ ммоль/л для Na^+ та K^+ , відповідно.

Проведення кореляційного аналізу даних, які характеризують вміст фізіологічного пріона і активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-ази у тканинах щурів, дало змогу виявити позитивну залежність (коефіцієнт кореляції становив 0,94). Тому можна стверджувати про взаємозв'язок між кількістю фізіологічного пріона і активністю $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-ази у досліджуваних тканинах.

ВИСНОВКИ

За допомогою імуногістохімічного аналізу вперше виявлено фізіологічний пріон у клітинах тонкого кишечника, селезінки та довгастого мозку щурів. У порожній кишці він локалізований у клітинах власної пластинки ворсинок, зокрема на поверхні лімфоцитів і моноцитів. У селезінці він міститься у червоній пульпі та судинних піхвах трабекул. Пріонвмісні клітини локалізовані поблизу капсули та відсутні

у лімфоїдних фолікулах. Вміст фізіологічного пріона є найбільшим у довгастому мозку, де він рівномірно розподілений у сірій речовині, зокрема у мікрогліоцитах. У всіх досліджуваних органах кількість фізіологічного пріона прямо пропорційно позитивно корелює з активністю $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-ази.

1. Болдырев А.А. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФ-аза как олигомерный ансамбль. **Биохимия**, 2001; 66(8): 1013–1025.
2. Вербицкий П.І. Губчастоподібна енцефалопатія великої рогатої худоби та інші пріонні інфекції. К.: Ветінформ, 2005. 240 с.
3. Григорьев В.Б. Прионные болезни человека и животных. **Вирусология**, 2004; 49(5): 4–12.
4. Лакин Г.Ф. **Биометрия**. М.: Высш. школа, 1990. 352 с.
5. Лапач С.И., Губенко А.В., Бабиц П.П. **Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel**. Киев: Морион, 2000. 319 с.
6. Лопина О. Д. Взаимодействие каталитической субъединицы Na/K -АТФ-азы с клеточными белками и другими эндогенными регуляторами. **Биохимия**, 2001; 66(10): 1389–1400.
7. Новак В.П., Мельниченко А.П. **Цитологія, гістологія, ембріологія**: навч. посібник. Біла Церква, 2005. 256 с.
8. Остапченко Л.І., Михайлик І.В. **Біологічні мембрани: методи дослідження структури та функцій**. К.: ВПЦ Київський університет, 2006. 215 с.
9. Тица Н. **Энциклопедия клин. лаб. тестов**. Москва: Лабинформ, 1997. С. 225–226.
10. Шкундина И.С., Тер-Аванесян М.Д. Прионы. **Успехи биол. химии**, 2006; 46: 3–423.
11. Alper T., Haig D.A., Clarke M.C. The exceptionally small size of the scrapie agent. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 1966; 22(3): 278–284.
12. Caetano F.A., Lopes M.H. Endocytosis of Prion Protein Is Required for ERK1/2 Signaling Induced by Stress-Inducible Protein 1. **Journ. of Neuroscience**, 2008; 28(26): 6691–6702.
13. Jorgensen P. L. Purification of $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase: enzyme sources, preparative problems, and preparation from mammalian kidney. **Methods in Enzymology**, 1988; 156: 29–43.
14. Hope J., Reekie L., Hunter N. et al. Fibrils from brains of cows with new cattle disease contam scrapie-associated protein. **Nature**, 1988; 336: 390–392.
15. Kingsbury D.T., Smeltzer D.A., Gibbs C.J., Gajdusek D.C. Evidence for normal cell-mediated immunity in scrapie-infected mice. **Infect. Immun**, 1981; 32: 1176–1180.
16. Kovacs G., Budka H. Prion Diseases: From Protein to Cell Pathology. **Am. Journ. of Pathology**, 2008; 172(3): 555–565.
17. Krammer C., Vorberg I., Schatzl H.M., Gilch S. Therapy in Prion Diseases: From Molecular and Cellular Biology to Therapeutic Targets. **Infections Disorders – Drug Targets**, 2009; 9: 3–14.
18. Kuehnel W. **Color Atlas of Cytology, Histology and Microscopic Anatomy**. New York: Thieme Stuttgart, 2003. 534 p.
19. Lowry O.N., Rosenbrough N.I., Forr A.R. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem**, 1951; 193(1): 265–275.
20. Linden R, Martins V.R., Prado M.A. Physiology of the Prion Protein. **Physiol Rev**, 2008; 88: 673–728.
21. Prusiner S.B. Genetic and infectious prion diseases. **Arch. Neurol**, 1993; 50: 1129–1153.
22. Tessier P., Lindquist S. Unraveling infectious structures, strain variants and species barriers for the yeast prion [PSI⁺]. **Nature Structural & Molecular Biology**, 2009; 16(6): 598–605.
23. Westergard L., Christensen H., Harris D. The cellular prion protein (PrP^C): its physiological function and role in disease. **Biochim. Biophys. Acta**, 2007; 1772: 629–644.
24. Weissmann C. The state of the prion. **Nat. Rev. Microbiol**, 2004; 2: 861–871.
25. Will R.G. The spongiform encephalopathies. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiat**, 1991; 54: 761–763.

26. Winklhofer K.F., Heske J., Heller U. et al. Determinants of the *in vivo* folding of the prion protein. A bipartite function of helix 1 in folding and aggregation. **J. Biol. Chem**, 2003; 278(17): 14961–14970.
27. Yuan J., Xiao X., McGeehan J. et al. Insoluble aggregates and protease-resistant conformers of prion protein in uninfected human brains. **J. Biol. Chem**, 2006; 281: 34848–34858.
28. Yuan J., Kinter M., McGeehan J. et al. Concealment of epitope by reduction and alkylation in prion protein. **Biochem. Biophys. Res. Commun**, 2005; 326: 652–659.
29. Zanata S.M., Lopes M.H., Mercadante A.F. et al. Stress-inducible protein 1 is a cell surface ligand for cellular prion that triggers neuroprotection. **EMBO J**, 2002; 21: 3307–3316.
30. Zou W.Q., Langeveld J., Xiao X. et al. PrP conformational transitions alter species preference of a PrP-specific antibody. **J. Biol. Chem**, 2010; 285: 13874–13884.
31. Zou W.Q., Puoti G., Xiao X. et al. Variably protease-sensitive prionopathy: a new sporadic disease of the prion protein. **Ann. Neurol**, 2010; 68: 162–172.
32. Zou W.Q., Zhou X., Yuan J., Xiao X. Insoluble cellular prion protein and its association with prion and Alzheimer diseases. **Prion J**, 2011; 5: 172–178.
33. www.videotest.ru.

LOCALIZATION OF THE PHYSIOLOGICAL PRION AND $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase ACTIVITY IN TISSUES OF RATS PRION-REPLICATING SYSTEM

M. V. Kushkevych, V. V. Vlizlo, Y. V. Martyn

*Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine, 38, Stus St., Lviv 79034, Ukraine
e-mail: m_kushkevych@ukr.net*

Immunohistochemical studies of prion-replicating tissues, in six months rats, showed presence of the physiological prion in small intestine, particularly in cells of the jejunum villi own plate – lymphocytes and monocytes. In spleen, physiological prion localization was found in red pulp lymphocytes, located near the capsule and trabecules. In cells of white pulp the physiological prion was not found. Instead, most of it was located in microglueocytes of medulla oblongata. The $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase activity and the concentration of sodium and potassium ions in rat prion-replicating organs were determined. Enzyme activity was highest in the medulla oblongata, and the concentration of ions – in spleen. A direct positive correlation between the amount of physiological prion and the activity of $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase was established.

Keywords: prion-replicating organs, physiological prion, $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase, sodium and potassium ions.

ЛОКАЛІЗАЦІЯ ФІЗІОЛОГІЧЕСЬКОГО ПРИОНА І $\text{Na}^+\text{-K}^+$ АТФ-АЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ТКАНЯХ ПРИОН-РЕПЛІЦІРУЮЩОЇ СИСТЕМИ КРИС

М. В. Кушкевич, В. В. Влизло, Ю. В. Мартин

*Інститут біології тварин НААН України, ул. Стуса, 38, Львів 79034, Україна
e-mail: m_kushkevych@ukr.net*

Імуногістохімічне дослідження тканин прион-реплікуючої системи крис в візмі шести місяців виявило фізіологічний прион в тонкому ки-

щечнике, в частности в клетках собственной пластинки ворсинок тощей кишки – лимфоцитах и моноцитах. В селезенке локусы физиологического приона обнаружены в лимфоцитах красной пульпы, которые локализованы вблизи капсулы и трабекул. В клетках белой пульпы физиологический прион не обнаружили. Зато наибольшее его количество содержится в микроглиоцитах продолговатого мозга. Определены активность $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФазы и концентрация ионов натрия и калия в тканях прион-реплицирующих органов крыс. Активность фермента была крупнейшей в продолговатом мозге, а концентрация ионов – в селезенке. Установлена прямая положительная корреляция между количеством физиологического приона и активностью $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФазы.

Ключевые слова: прион-реплицирующие органы, физиологический прион, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФаза, ионы натрия и калия.

Одержано: 11.11.2011