

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

**МАТЕРИАЛЫ
МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ, ПОСВЯЩЕННОЙ 80-ЛЕТИЮ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ**



**Национальная академия наук Беларуси
Отделение медицинских наук НАН Беларуси
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЦЕНТР
«ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И БИОХИМИИ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»**

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

**Материалы
международной научной конференции,
посвященной 80-летию Национальной
академии наук Беларуси**

(Гродно, 25-26 сентября 2008 г.)

**Гродно
ГрГУ им. Я.Купалы
2008**

УДК 577.1:615(063)

ББК 52.81

M75

Редакционная коллегия:

*П.С.Пронько (ответственный редактор),
В.А.Аверин, В.В.Виноградов, С.С.Чумаченко, Л.М.Караедова,
А.Н.Бородинский, И.В.Зверинский*

Молекулярная и биохимическая фармакология :
М 75 материалы междунар. науч. конф., посвящ. 80-лет. НАНБ
(Гродно, 25-26 сент. 2008 г.) / ГУ «НПЦ «Ин-т фармакол. и
биохим. НАНБ»»; редкол.: П.С.Пронько (отв. ред.) [и др.]. –
Гродно : ГрГУ, 2008.– 95 с.
ISBN 978-985-515-082-5

В сборнике представлены материалы международной научной конференции, отражающие результаты фундаментальных и прикладных исследований ученых из Беларуси, России, Азербайджана, Армении, Польши и Германии по актуальным направлениям молекулярной и биохимической фармакологии.

Материалы конференции представляют интерес для биохимиков, фармакологов, физиологов, организаторов здравоохранения и медицинских работников, специалистов в области технологии и производства лекарственных препаратов, а также преподавателей, аспирантов, магистрантов и студентов факультетов медико-биологического профиля.

УДК 577.1:615(063)

ББК 52.81

ISBN 978-985-515-082-5

© Государственное учреждение
«Научно-производственный центр
«Институт фармакологии и биохимии
Национальной академии наук Беларуси»», 2008

Ц.И. Адамян, Э.С. Геворкян, К.Р. Оганесян

*УО «Ереванский государственный университет», факультет биологии,
кафедра физиологии человека и животных,
0025 г. Ереван, ул. Ал. Манукян, 1
E-mail: Esgevorkyan@yahoo.com*

СДВИГИ РЯДА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА

В последние годы в биосфере периодически происходят различные электромагнитные процессы, распределенные по всему электромагнитному спектру частот. При этом предполагается, что любой участок этого спектра играет определенную роль в процессе жизнедеятельности организмов. Человеческая цивилизация добавила к естественным электромагнитным полям (ЭМП) новый техногенный фактор – ЭМП искусственного происхождения (в диапазоне промышленных и радиочастот). Известно, что электромагнитные излучения разных частотных диапазонов могут оказывать как сходное, так и специфическое влияние на нейроэндокринную и иммунную системы организма, регуляторные структуры человека и животных. Накоплен обширный экспериментально-теоретический материал, освещающий биологические эффекты низкоинтенсивного миллиметрового излучения при профилактике и лечении различных заболеваний. Установлено, что воздействие ряда экологических и техногенных факторов приводит к изменению показателей периферической крови, окислительного гомеостаза, важным звеном которых являются антиперекисные ферменты, относящиеся к основным антиоксидантным ферментам. Последние в значительной степени определяют адаптационные возможности организма. В токсикологических исследованиях в качестве маркера состояния окислительно-восстановительных процессов в организме изучается ферментативная активность каталазы. Последняя широко распространена в организме человека и животных, причем наибольшее количество фермента обнаружено в эритроцитах. В данной работе представлены результаты изучения изменений показателей периферической крови, хронотропной функции сердца и активности каталазы крови кроликов при однократном воздействии электромагнитного излучения (ЭМИ) миллиметрового диапазона. В качестве источника излучения использовался высокочастотный генератор ГЧ-141, перекрывающий область частот 37,5-53,5 ГГц. Облучение осуществлялось в режиме непрерывной генерации в течение 60 минут с расстояния 40 см. Кровь бралась из краевой вены уха кролика до и через 5, 30, 60 и 90 минут после однократного облучения. Определяли количество эритроцитов, уровень гемоглобина, цветной показатель, ЧСС. Количество каталазы определялось манганометрически, по уровню разложения перекиси водорода. Ферментативная активность каталазы оценивалась по каталазному индексу ($K_{и}$) и каталазному числу ($K_{ч}$).

Проведенные исследования показали, что на 5 минуте после однократного влияния ЭМИ наблюдается повышение $K_{ч}$ и $K_{и}$ на 16,9% и 31,4% по сравнению с

нормой. Абсолютное количество эритроцитов периферической крови при этом снижалось на 11,5%, гемоглобин - на 8,0%, цветной показатель увеличивался до 0,76 ед, при 0,73 в норме. При этом характер изменения активности каталазы не зависел от изменения общего количества эритроцитов. В последующие 30, 60, 90 минут отмечалось понижение показателей K_c и K_n , однако K_n во все указанные сроки все же находился на относительно высоком уровне: на 30 минуте на 17,2%, 60 - 16,8%, 90 -14,3% выше исходного значения. На фоне постепенного понижения K_n и K_c наблюдалось также достоверное уменьшение количества эритроцитов и гемоглобина, составляющее на 30 минуте 10,5% и 11,2% соответственно. На 60 и 90 минутах исследования понижение количества эритроцитов (на 13,4% и 13,6% соответственно) сопровождалось некоторым увеличением уровня гемоглобина, что, в свою очередь, обуславливало колебание цветного показателя на уровне тенденции. Во все указанные сроки наблюдалось разной степени выраженности понижение ЧСС кроликов, что, по всей вероятности, может быть обусловлено тем, что ЭМИ миллиметрового диапазона приводит к изменению биохимических процессов в клетках сердца, которое выражается в повышении метаболической активности миокардиоцитов и в изменении кальций-аккумулирующей способности их внутриклеточных мембран, необходимой для обеспечения нормального ритма сердца. Согласно данным литературы, при воздействии на организм разнообразных факторов активность каталазы может меняться разнонаправлено. Наблюдаемая в наших экспериментах активация пероксисомального фермента каталазы, обусловленная однократным воздействием ЭМИ миллиметрового диапазона, направлена на повышение мощности антиоксидантной системы организма, что, по всей вероятности, является следствием развития окислительного стресса.

Таким образом, эффект кратковременного влияния ЭМИ миллиметрового диапазона может быть использован для повышения резистентности организма в стресс-ситуациях.

М.В. Анисович, Л.Н. Николаевич, Е.В. Шафрановская

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
220141, г. Минск, ул. Купревича, 2, e-mail: nikolarisa@tut.by*

ВЛИЯНИЕ ЛИКОПИНА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЖИВОТНЫХ

Ликопин входит в группу каротиноидов – природных пигментов, синтезируемых микроорганизмами и растениями [1]. Каротиноиды – это 40-углеродные молекулы, двучленные, с симметрично соединенными полиметилбутADIенами, чья совокупность сопряженных двойных цепей делает их исключительно эффективными при инактивации свободных радикалов и придает им антиоксидантные свойства. Некоторые каротиноиды (включая каротины) являются провитаминами – предшественниками одного из основных микронутриентов – ретинола (витамин А). Антиоксидантные свойства

каротиноидов были показаны разными методами в системах *in vitro* [2]. Кроме того, антиоксидантная и провитаминная активности каротиноидов определяют такие их биологические функции и фармакологические свойства, как ингибирование канцерогенеза, возрастных изменений, предотвращение развития катаракты, радиационных поражений, сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2].

Цель настоящего исследования заключалась в оценке степени воздействия ликопина в различных дозах на морфометрические и биохимические характеристики экспериментальных животных.

Работа выполнена на крысах (самцы и самки) линии Wistar (экспериментально-биологическая клиника ИФБ НАН Беларуси) в возрасте 3 месяцев со средней массой – 170-200 г. В эксперименте было использовано 85 животных, в каждой группе по 5 особей. Животным вводили ликопин перорально зондом в желудок согласно рекомендациям [3]. Использовали 10 %-ю суспензию ликопина на кукурузном масле (производитель DSM Nutritional Products Ltd. France). Ликопин вводили животным в дозах 0,07, 0,14 и 0,36 мг/кг/сутки в течение 14 дней. Общие дозы составили: 1-я группа – кукурузное масло (контроль); 2-я – 1 мг/кг; 3-я – 2 мг/кг; 4-я - 5 мг/кг. Каждая группа содержала по 5 особей. Забор материала проводили на 1-е сутки после завершения эксперимента.

Изучали морфометрические (массу тела, абсолютную и относительную массу тимуса и селезенки) и биохимические показатели (общий белок, альбумин, глюкозу, аспаратаминотрансферазу, аланинаминотрансферазу, мочевины, холестерол, лактатдегидрогеназу, креатинкиназу, холинэстеразу, щелочную фосфатазу) у контрольных и опытных животных. Достоверность оценивали по критерию *t*-Стьюдента с учетом дисперсии (*F*-тест).

Анализ массы тела и органов животных, которым в течение 14 суток перорально вводили ликопин, показал, что по мере увеличения дозы наблюдается тенденция снижения массы тела у самок крыс и увеличения у самцов.

Обнаружены половые различия в изменении относительной массы селезенки: по мере увеличения дозы ликопина (1; 2; 5 мг/кг) у самцов этот показатель увеличивается, а у самок, напротив, увеличение относительной массы селезенки наблюдается при дозе ликопина 1 мг/кг и снижается при 2 мг/кг массы животного по сравнению с контролем. Абсолютная и относительная массы тимуса у животных, получавших ликопин в дозах 1; 2; 5 мг/кг не отличались от контрольного уровня.

Биохимический анализ показал, что в сыворотке крови самцов при всех изученных дозах ликопина наблюдается стабильный уровень общего белка, аспарат- и аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы (доза ликопина 2 мг/кг), а у самок – щелочной фосфатазы (доза ликопина 2 мг/кг), лактатдегидрогеназы (доза ликопина 5 мг/кг) по сравнению с контролем. По мере увеличения дозы ликопина отмечено снижение на 35-40% уровня холинэстеразы в крови опытных крыс по сравнению с контролем. Среди

индикаторных ферментов сыворотки крови крыс, получавших ликопин, наблюдается тенденция снижения уровня лактатдегидрогеназы у самцов и увеличения у самок. Показатели уровня глюкозы в сыворотке крови опытных животных были стабильными, что свидетельствует об отсутствии побочного действия ликопина на функциональное состояние поджелудочной железы. По мере увеличения дозы ликопина уровень холестерина у самцов и самок опытных животных не отличался от контрольного, что свидетельствует об отсутствии влияния ликопина на липидный обмен. Установлено повреждающее действие ликопина на экскреторную функцию почек подопытных животных: уровень мочевины у самцов повышается до 31%, у самок – до 20% по сравнению с контролем. Кроме того, при введении ликопина в различных дозах наблюдается тенденция снижения уровня креатинкиназы у самцов (на 40%), а у самок, наоборот, повышения (на 43%).

Таким образом, установлено, что ликопин оказывает влияние на ряд биохимических показателей и функцию почек животных. Наиболее выраженные эффекты наблюдаются у самцов по сравнению с самками крыс.

Однако в связи с различиями механизмов метаболизма человека и млекопитающих выявленные эффекты могут быть незначительны для человека.

Список литературы

1. Isler, O. Carotenoids / O. Isler. – Basel, 1997.
2. Капитанов, А.Б. Каротиноиды как антиоксидативные модуляторы клеточного метаболизма / А.Б. Капитанов, А.М. Пименов // Успехи современной биологии. – 1996. – № 2. – С. 179–193.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. проф. Р.У. Харбиева. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.

А.В. Башилов, Е.В. Спиридович, В.А. Тимофеева

*Центральный ботанический сад НАН Беларуси,
г. Минск, ул.Сурганова 2в, anton.bashilov@gmail.com*

КОРРЕКЦИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ПОЧЕК ЭКСТРАКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ *BEGONIA ERYTHROPHYLLA* HORT.

Расширение ассортимента лекарственных растений, произрастающих в Беларуси и обладающих не изученными ранее фармакологическими свойствами, является актуальной задачей в плане насыщения фармацевтического рынка Республики безопасными, эффективными и доступными лекарственными средствами.

Лекарственные растения входят в арсенал медикаментозных средств, используемых в современной врачебной практике. Несмотря на наличие в лечебных учреждениях широкого ряда синтетических препаратов, интерес к лекарственным растениям не снижается, что обусловлено мягкостью их действия, отсутствием токсических проявлений при применении. Несомненным

достоинством растительного сырья является также разнообразие физиологически активных веществ, которые способны обеспечить поливалентность фармакологических эффектов [1].

Анализ развития тенденции в разработке новых препаратов показывает, что в последнее десятилетие во всем мире наблюдается повышенный интерес к фитопрепаратам. Такая динамика характерна не только для стран, традиционно использующих лекарственные растения (Индия, Китай, Вьетнам), но и для государств с высокоразвитой химико-фармацевтической промышленностью (США, Германия), имеющих большие возможности для проведения работ в области синтеза лекарственных веществ.

В настоящее время физиологически активные вещества, используемые в фармацевтической промышленности, выделяют из тканей растений, часто принадлежащих к редким видам. В связи с этим идет активный поиск новых источников получения биологически активных соединений растительного происхождения, важное место среди которых занимают таксоны тропических растений, в частности семейство бегониевых (*Begoniaceae*) [2].

В рамках выполнения Государственной научно-технической программы «Фитопрепараты» (2001 – 2005 гг.) в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси разработана и внедрена на научно-производственном республиканском унитарном предприятии «Диалек» концерна «Белбиофарм» технология получения лекарственного препарата «Бегонифрил» из растительного сырья листьев бегонии краснолистной (*Begonia erythrophylla hort.*).

«Бегонифрил» оказывает иммуномодулирующее, азотемическое, противовоспалительное и антиоксидантное действие, увеличивает диурез, выделение натрия и в меньшей степени калия, усиливает экскрецию с мочой азотистых веществ. Эффективен при острых и хронических нефритах, сопровождающихся гиперазотемией, а также при внепочечной азотемии.

Экстракт из листьев *Begonia erythrophylla hort.* оказывает повышение фагоцитарного показателя и числа нейтрофилов в отношении *S. aurtus* при их совместной инкубации. Препарат усиливает метаболическую активность нейтрофилов в NST-тесте, угнетает их хемотаксис, индуцированный казеином, способствует снижению спонтанной реакции бласттрансформации лимфоцитов. В целом, экстрактивные вещества бегонии краснолистной, а также препараты, полученные из нее, снижают выраженность воспалительных реакций, угнетая, в частности, миграцию нейтрофилов к очагу воспаления. Стимуляция митогенного эффекта коэнзима А низкими дозами экстракта листьев *Begonia erythrophylla hort.* свидетельствует о возможном наличии веществ, активирующих Т-супрессоры иммунной системы.

«Бегонифрил» улучшает функции почек и печени, обладает мембранно-стабилизирующими свойствами. Клинические испытания доказали эффективность и безопасность препарата. Полученные результаты указывают на перспективность растений семейства *Begoniaceae* в качестве источника растительного сырья для получения лекарственных препаратов [3].

Список литературы

1. Li, S.C. Medicinal Plants: Culture, Utilization and Phytopharmacology / Boca Raton: CRC Press, 2000. – 517 p.
2. Грюнвальд, Г. Комнатные растения: особенности роста в домашних условиях и в природе / Г. Грюнвальд. – СПб.: СЗКЭО «Кристалл», 2006. – С. 13.
3. Продукция научно-производственного республиканского предприятия «Диалек» // Научно-производственное республиканское предприятие «Диалек» [Электронный ресурс]. – 2008. – Режим доступа: <http://www.dialek.by/info> – Дата доступа: 22.04.2008.

A.V. Bashilov

*Central Botanical Garden of the NAS of Belarus,
Minsk, Surganova, 2v, anton.bashilov@gmail.com*

CHARACTERISTICS OF BIOCHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF REPRESENTATIVES *FILIPENDULA* MILL. AND *POLEMONIUM* L.

Aim of the research: to investigate antioxidant activity and characteristics of biochemical composition of *F. hexapetala* Gilib., *F. ulmaria* (L.) Maxim. and *P. caeruleum* L. with following extraction of practical reference to storage and storing of medicinal material, as well as with the purpose of using extract as safe inhibitor of lipid peroxidase process. Equipment used: spectrophotometer «Agilent 8453 UV – visible» (USA), gas-liquid chromatograph «Agilent 6850» (USA) with detector «Agilent 5975» (USA). Obtained results and their novelty: it has been identified, that the contents of salicylates, tannins, flavonoids in plant raw material of *F. ulmaria* (L.) Maxim. and *F. hexapetala* Gilib., as well as the contents of saponins, flavonoids in *P. caeruleum* L. depend on phase of vegetation. The most of active substances is in line with phase of vegetation of buding and flowering in conditions of the central agroclimatic zone of Belarus. It has been identified, that during two-and-half-years process of plant raw material storing, decrease of the contents of salicylates, saponins, tannins, flavonoids in air-dried plant raw material is not more than 5,25% for representatives of sort *Filipendula* Mill. and not more than 6.5% for *P. caeruleum* L.

Extract from medicinal plant raw material of flowers, leaves, subterranean organs, as well as *F. hexapetala* Gilib., *F. ulmaria* (L.) Maxim. and *P. caeruleum* L. of various shelf life have an inhibiting effect on process of plant raw (flax oil) lipid peroxidation and animal (mitochondrial fraction of rats' hepatocytes) lipid peroxidation. Application recommendations: practical reference to storage and storing of medicinal plant raw material on optimal time constraints has been presented. Extractive substances of presented plants may be recommended as inhibitors of peroxidation.

It is proposed to use the finding results in development of new types of foodstuffs with enhanced biological value and scientifically validated methods of quality control of medicinal plant and related phytopreparations.

С.Е. Богушевич, С.В. Матвейчук, Г.Н. Лысенко

*Институт физико-органической химии НАН Беларуси,
г. Минск, e-mail: bse@ifoch.bas-net.by; msv@ifoch.bas-net.by*

ВЛИЯНИЕ СТАБИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ НА АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Одним из основных механизмов повреждения клеток при различных заболеваниях является изменение процессов свободно-радикального окисления липопротеинов плазмы крови и фосфолипидов биомембран, что сопровождается нарушением их строения и функциональных свойств. Среди физиологически активных веществ природного происхождения, способных тормозить цепную реакцию свободно-радикальных превращений и восстанавливать антиоксидантное равновесие организма, корректируя тем самым его патологическое состояние, большое значение имеют флавоноиды. Этот класс полифенольных соединений, содержащихся в экстрактах лекарственных растений, характеризуется наличием в составе молекул бензопиранового гетероцикла и гидроксильных групп, взаимодействующих с агрессивными радикалами с образованием малоактивных радикалов семихинонного типа. От количества гидроксильных групп зависят индивидуальные антиоксидантные свойства флавоноидов. Однако, семихинонные радикалы (СР), способные стабилизироваться в получаемых препаратах, также должны оказывать влияние на антиоксидантную активность (АОА) последних. Рассмотрению этой проблемы и посвящена представляемая работа.

Методом ЭПР-спектроскопии исследованы сухие экстракты коры дуба, шелухи репчатого лука и толокнянки, полученные из неполярного (хлороформ) и полярных (воды и этанола) растворителей. Еще в исходном растительном сырье обнаружены парамагнитные центры, характеризующиеся псевдоизотропным сигналом ЭПР с шириной линии $\Delta H=0,6$ мТ и g-фактором $g(\text{iso})=2,0050$, отнесенные к СР. Показано, что последние переходят в перечисленные экстракты с малыми изменениями спектральных параметров ($g(\text{iso})=2,0045$; $\Delta H=0,5-1,0$ мТ). При этом их содержание, определенное в относительных единицах (отн. ед.), уменьшается: в водном экстракте коры дуба – в 2, этанольном – в 3, хлороформном – в 4 раза; в водном экстракте луковой шелухи – в 5, этанольном – в 10, хлороформном – в 12 раз; в этанольном и хлороформном экстрактах толокнянки – в 2 раза. Напротив, при хранении водных экстрактов луковой шелухи и коры дуба в виде раствора количество СР по сравнению с исходным резко возрастает. Через 3 недели для первого образца оно увеличивается в 5 раз, через 5 недель – почти в 30; для второго через 5 недель – в 4 раза. Причем, СР достаточно стабильны. Согласно данным ЭПР, их отжиг наблюдается выше 40 °С. Завершающего этапа этого процесса зафиксировать не удастся, поскольку в этот же период на плече соответствующей им спектральной линии появляется новый сигнал с $g(\text{iso})=2,0040$, обусловленный формирующейся конденсированной

углеродной системой. Интенсивность его быстро возрастает, и в окрестности 80 °С он уже полностью перекрывает сигнал от СР.

Методом спектрофотометрии исследована АОА вышеуказанных экстрактов. В основу положен способ кинетических измерений гибели стабильного радикала дифенилпикрилгидразила (ДФПГ) при взаимодействии с ними, по изменению оптической плотности раствора. Реакционной средой служил этанол, в качестве растворителя для сухих экстрактов использовали либо этанол, либо водно-этанольную смесь (1:1). Концентрация ДФПГ в этаноле составляла 10^{-3} моль/л. Сделано предположение, что СР, образующиеся из фенольных и полифенольных компонентов растительного экстракта, должны ухудшать его антиоксидантные свойства. Однако, несмотря на малое содержание СР в экстрактах, полученных с помощью хлороформа, они почти не проявляют АОА. Как показывают данные ИК-спектроскопии, это является следствием весьма незначительного присутствия в них фенольных и полифенольных соединений. Противоположная картина наблюдается для этанольных и водных экстрактов, в спектрах которых присутствуют интенсивные полосы поглощения в области колебаний группы С=О у бензопиранового гетероцикла ($\sim 1613 \text{ см}^{-1}$) и фенольных гидроксильных групп (~ 1270 и $\sim 1240 \text{ см}^{-1}$). Причем, наиболее интенсивная бесструктурная полоса, отнесенная к фенольным ОН-группам, регистрируется в области $\sim 1210 \text{ см}^{-1}$ для этанольного экстракта толокнянки. Именно поэтому последний восстанавливает ДФПГ с большей скоростью, нежели чем этанольные экстракты луковой шелухи и коры дуба. Концентрации СР в этанольных экстрактах невелики, не сильно различаются между собой (кора дуба – 18, луковая шелуха – 10, толокнянка – 8 отн. ед.) и, вероятно, не могут повлиять на антиоксидантные свойства указанного ряда. Однако, накопление в водных экстрактах коры дуба и луковой шелухи значительного количества СР (через 5 недель – 228 и 525 отн. ед. соответственно) после выдерживания их на воздухе при 20 °С в виде водного раствора приводит к ухудшению их АОА как с течением времени, так и по сравнению с этанольными экстрактами. Обнаружено, что при хранении этанольного экстракта луковой шелухи в этих же условиях в сухом виде концентрация СР в нем практически не изменяется, а для водного в сухом виде увеличивается через 60 суток примерно в 1,5 раза. Это говорит о слабом протекании окислительных процессов в водных экстрактах, хранящихся даже в высушенном состоянии.

Таким образом, накопление СР в водных растительных экстрактах свидетельствует об уменьшении концентрации полифенольных соединений и ухудшении антиоксидантных свойств изучаемых систем. Это явление необходимо учитывать при создании специальных условий хранения изготавливаемых на их основе лекарственных препаратов.

А.Н. Бородинский, В.В. Бородинская, О.В. Коноваленко
ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАНБ»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50,
e-mail: office@biochem.unibel.by

МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ ПРИ ДИАБЕТОГЕННОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ПАНТЕНОЛОМ И L-КАРНИТИНОМ

Печень играет важную роль в поддержании гомеостаза глюкозы, благодаря балансу и регуляции интенсивно протекающих в ней процессов гликолиза, глюконеогенеза и пентозофосфатного пути (ПФП). Обнаруженная повышенная активность полиолового пути при сахарном диабете приводит к истощению запасов НАДФН, используемого в реакциях детоксикации, что приводит к повреждениям гепатоцитов. Хорошо известно, что пантенол и L-карнитин обладают гепатопротекторными свойствами. Комбинация обоих препаратов может обладать более выраженным гепатопротективным действием, чем отдельно вводимые препараты. Мало изучен вопрос о влиянии пантенола и L-карнитина на обмен углеводов как метаболитов, занимающих центральное положение во взаимосвязях различных метаболических путей.

Диабетогенное поражение печени крыс массой 250 гр. вызывали однократным внутрибрюшинным введением аллоксана (170 мг/кг). В экспериментах были использованы животные с уровнем гликемии от 20 до 33 ммоль/л. Опытные животные внутрижелудочно в течение 10 суток получали пантенол (100 мг/кг) и L-карнитин (100 мг/кг), смесь обоих препаратов в той же дозе. В центрифугатах гомогенатов печени спектрофотометрически определяли активность гексокиназы (ГК), пируваткиназы (ПК), обеих дегидрогеназ ПФП. Содержание глюкозы и глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф) анализировали в безбелковых центрифугатах. В плазме крови с помощью коммерческих наборов определяли активность АЛТ, АСТ и γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП). Статистическую обработку полученных результатов проводили по Рокицкому.

Как показали результаты наших исследований, аллоксановый диабет сопровождается повышением на 70 % активности ГГТП в плазме крови, с другой стороны, не наблюдается выхода АЛТ и АСТ в кровь при одновременном повышении их активности в печени. Таким образом, наиболее ранним биохимическим маркером диабетогенного повреждения гепатоцитов является изменение активности ГГТП. Введение L-карнитина и смеси его с пантенолом снизило активность АЛТ и АСТ печени до контрольных величин, а активность ГГТП на 25 %. Аллоксановый диабет сопровождается снижением более чем в 2 раза активности ГК и ПК, а также обеих дегидрогеназ ПФП. Результатом снижения ГК явилось снижение концентрации Г-6-Ф и повышение глюкозы. Введение L-карнитина и смеси обоих препаратов снизило содержание этих метаболитов. Кроме того, смесь препаратов нормализовала активность ГК, ПК и дегидрогеназ ПФП. Таким образом, L-карнитин с пантенолом устраняют метаболические нарушения в печени, вызванные аллоксановым диабетом, что следует учитывать в комплексной терапии сахарного диабета.

**В.У. Буко, Е.Б. Белоновская, О.Я. Лукивская, Е.Е. Нарута, И.А. Николаева,
Т. Хенер¹, Кирко С.Н.**

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50;*

¹Кафедра физиологической химии, Ульмский университет, Ульм, Германия

КОРРЕКЦИЯ АЛКОГОЛЬНОГО И НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТОВ НОВЫМИ ИНГИБИТОРАМИ ЦИТОХРОМА P-450 2E1

Поиск новых ингибиторов кислородных радикалов имеет насущное значение для дальнейшей разработки гепатопротективных средств. Основным источником свободных кислородных радикалов в печени является микросомальная система цитохрома P-450, причём его этанол-индуцируемая изоформа 2E1 активирована не только при алкогольном поражении печени, но и при стеатогепатитах неалкогольного происхождения. Мы попытались оценить гепатопротективную эффективность двух производных имидазолила с ожидаемыми свойствами угнетать реактивные формы кислорода, 12-имидазолил-1-додеканол (ИДДЛ) и имидазолилдодекан (ИДД) у крыс с (АСГ) и неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ). Ранее нами была продемонстрирована способность этих соединений угнетать активность этанол-индуцируемой изоформы цитохрома P-450 2E1.

Крысы-самки Вистар потребляли в течение 8 недель жидкую этанолсодержащую диету (ЭСД) для индукции АСГ и 16 недель – высокожировую диету (ВЖД) для индукции НАСГ. Крысы получали внутривенно оба ингибитора цитохрома P-450 2E1 (0,4, 4,0 и 40,0 мг/кг): 8 последних недель в модели АСГ и последние 4 недели при скормливании ВЖД.

Скормливание ЭСД вызывало макровезикулярную жировую дистрофию печени, некрозы, лимфоцитарную инфильтрацию и 4-кратное увеличение площади суданофилии, повышало активность АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы. Содержание фактора некроза опухолей (TNF α) сыворотки крови и уровень триглицеридов печени повышались соответственно в 3 и 2,3 раза. Крысы, потреблявшие ВЖД, имели менее тяжёлую жировую дистрофию с фокальными некрозами и интралобулярной лимфоцитарной инфильтрацией. У этих крыс повышались активность АЛТ и щелочной фосфатазы, TNF α сыворотки (в 3,8 раза) и триглицериды печени. Оба ингибитора РОС (40 мг/кг) улучшали гистологию в АСГ и НАСГ моделях, снижая стеатоз и признаки воспаления. Оба соединения нормализовали АСТ и АЛТ сыворотки и триглицериды печени, однако ИДД более эффективно снижал активность ЩФ и область суданофилии. TNF α сыворотки снижался у крыс, получавших оба компонента (4 и 40 мг/кг). У крыс с НАСГ наблюдалось снижение активности маркерных ферментов сыворотки под влиянием ИДДЛ и ИДД (40 мг/кг). Все дозы обоих соединений, за исключением ИДД (4 мг/кг), нормализовали содержание триглицеридов печени. ИДД (0,4 и 40 мг/кг) снижали площадь суданофилии у крыс с НАСГ. Снижение TNF α сыворотки обнаружено у крыс, получавших ИДДЛ (0,4 мг/кг) и ИДД (4 и 40 мг/кг). Оба соединения предотвращали падение уровня восстановленного глутатиона и

снижали содержание тиобарбитурат-реагирующих продуктов печени в обеих моделях.

Полученные результаты позволяют заключить, что оба исследуемых производных вызывают снижение аккумуляции жира и воспалительных явлений в печени крыс с АСГ и НАСГ, индуцированных скормливанием жидких диет, а также проявляют выраженный антиоксидантный эффект.

О.И. Валентюкевич¹, Л.И. Надольник²

¹УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28, e-mail: valentio@tut.by

²ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50

СОСТОЯНИЕ МОНООКСИГЕНАЗНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ КРЫС СО СНИЖЕННЫМ ТИРЕОИДНЫМ СТАТУСОМ ПОСЛЕ МНОГОКРАТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ КРАТКОВРЕМЕННОГО НЕИЗБЕГАЕМОГО ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

Микросомальная монооксигеназная система печени является одной из функциональных систем гомеостаза, так как в ней осуществляется метаболизм и инактивация ксенобиотиков, а также важных для сохранения постоянства внутренней среды организма эндогенных соединений. Функциональное состояние этой системы зависит от многих факторов. Полученные и опубликованные ранее данные свидетельствуют о том, что накопление продуктов ПОЛ, перекисей и гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот в тканях стрессированных животных приводит к деструкции цитохрома P-450 [1]. Установлено также, что тиреоидные гормоны регулируют транскрипцию НАДФН-цитохром P-450 редуктазы [2], а при их недостаточности наблюдается ингибирование компонентов системы цитохром P-450-зависимого переноса [3]. Влияние тиреоидной недостаточности на функциональную активность компонентов монооксигеназной системы печени стрессированных животных практически не изучалось.

Цель проведенного исследования – оценить функциональную активность монооксигеназной системы эндоплазматического ретикулума гепатоцитов у крыс со сниженным тиреоидным статусом после многократного воздействия кратковременного неизбежного психоэмоционального стресса (ПЭС).

Работа проведена на крысах-самцах Wistar массой 130–150 г. Для моделирования гипотиреоза использовали мерказолил, который вводили внутрижелудочно в дозе 2,5 мг/кг в сутки (в два приема по 1,25 мг/кг) в виде водной суспензии в течение четырех недель. Стресс моделировали, используя комбинацию электрокожного раздражения в специальной камере с электропроводящим полом и прерывистого шума и света в течение 20 минут ежедневно на протяжении 4 недель, животных декапитировали через 24 часа

после последнего воздействия. Для оценки функциональной активности монооксигеназной системы эндоплазматического ретикулума гепатоцитов крысы выделяли микросомальную фракцию печени и определяли электронтранспортную активность флавопротеидов редокс-цепей, а также содержание цитохромов b5 и P-450.

Развитие ПЭС у животных на фоне тиреоидной недостаточности приводит к снижению уровней цитохромов P-450 (на 47,9%, $p < 0,0001$) и b5 (на 15,5%, $p < 0,05$), а также вызывает усиление электронтранспортных функций НАДН-зависимой редокс-цепи микросом печени крыс. На это указывает повышение активности НАД-специфического флавопротеида (НАДН-феррицианидредуктазы) (на 66,7%, $p < 0,001$), а также НАДН-зависимой оксидазы (на 44,8%, $p < 0,05$). Редуктазная активность начального компонента НАДФН-зависимой редокс-цепи (НАДФН-феррицианидредуктазы), а также активность НАДФН-зависимой оксидазы оставались на уровне контрольных значений.

Анализ полученных результатов свидетельствует о возникновении дисбаланса компонентов монооксигеназной системы печени: снижение уровней цитохромов P-450 и b5; повышение активности НАД-специфического флавопротеида (НАДН-феррицианидредуктазы), а также НАДН-зависимой оксидазы при неизменённой активности НАДФН-феррицианидредуктазы и НАДФН-зависимой оксидазы. Это, на наш взгляд, может создавать предпосылки для существенного нарушения детоксикационной функции микросомальной мембраны при хроническом стрессорном воздействии даже в условиях субклинического гипотиреоза.

Список литературы

1. Уголев, А.Т. Влияние эмоционально-болевого стресса на индукцию цитохрома P-450 в печени крыс / А.Т. Уголев [и др.] // БЭБиМ. – 1989. – № 7. – С. 48–50.
2. Li, H. Transcriptional induction of hepatic NADPH: cytochrome P 450 oxidoreductase by thyroid hormone / H. Li, D. Liu, D. Waxman // Mol. Pharmacol. – 2001. – Vol. 59. – P. 987–995.
3. Валентюкевич, О.И. Влияние мерказолил-индуцированного гипотиреоза на перекисное окисление липидов, антиоксидантный статус и систему цитохром P-450-зависимого переноса электронов в микросомах печени крыс / О.И. Валентюкевич [и др.] // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2008. – № 2. – С. 74–79.

О.Н. Василькова¹, А.В. Рожко, О.В. Черныш

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет»,

г. Гомель, ул. Ланге, 5, e-mail : medinst@mail.gomel.by

ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины
и экологии человека»,

г. Гомель, ул. Ильича, 230, e-mail: rcrm@tut.by

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО ОБМЕНА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА

Метаболический синдром в последние годы привлекает пристальное внимание эндокринологов, кардиологов, врачей общей практики. Выделение метаболического синдрома имеет большое клиническое значение, поскольку, с одной стороны, это состояние является обратимым, т.е. при соответствующем лечении можно добиться исчезновения или, по крайней мере, уменьшения выраженности основных его проявлений, с другой – оно предшествует возникновению таких болезней, как сахарный диабет 2 типа и атеросклероз, являющихся в настоящее время основными причинами повышенной смертности.

Задачи. Оценить состояние жировой ткани, липидных показателей крови и уровень провоспалительных факторов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Методы исследования. На базе ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (РНПЦ РМ и ЭЧ) обследовано 10 пациентов мужского пола с сахарным диабетом 2 типа в возрасте от 45 до 60 лет. Всем пациентам проводились антропометрические измерения (рост, вес, ИМТ, ОТ, ОБ, Т/Б) и исследовались уровни С-реактивного белка (СРБ), гликированного гемоглобина (HbA1c), а также липидные показатели крови (холестерин, триглицериды, ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП). Содержание жировой ткани измерялось при помощи двухэнергетической абсорбциометрии (DEXA).

Статистическая обработка материала производилась с использованием StatSoft Statistica 7,0 for Windows. Достоверными считались различия при $P < 0,05$. Данные представлены как средние и стандартные отклонения.

Результаты. Средний возраст составил $53,87 \pm 6,10$ лет (45-60), стаж диабета - $11,50 \pm 5,37$ лет (4-18), ИМТ – $31,91 \pm 4,78$ кг/м² (26-31), уровень HbA1c – $8,98 \pm 0,83$ % (7,9-10,4), уровень холестерина $5,92 \pm 0,84$ ммоль/л (4,4-7,2), уровень триглицеридов $3,05 \pm 2,87$ ммоль/л (1,5-10), содержание ЛПНП, ЛПВП – $3,32 \pm 0,75$ и $1,21 \pm 0,16$ ммоль/л соответственно. Масса жировой ткани в процентах составила $29,48 \pm 4,36$ (22,2-35,6).

По данным Health Professionals Follow-up study, концентрация CRP выше 3 мг/л ассоциируется с увеличением риска ИБС в 1,8 раза. Из 10 обследованных пациентов только у двоих уровень СРБ был ниже 3 мг/л, а 70% имели высокий сердечно-сосудистый риск. При этом 90% пациентов на момент осмотра уже в течение нескольких лет получали антигипертензивную терапию.

У 60% обследуемых было наличие признаков для верификации метаболического синдрома (по рекомендациям NCEP-ATP-III (2001)), а именно: абдоминальное ожирение, дислипидемия и сахарный диабет.

Выявлена положительная корреляция между ИМТ и уровнем ТГ ($r=0,771$, $p<0,05$), и между уровнем ТГ и СРБ ($r=0,880$, $p<0,05$). Кроме этого, СРБ положительно коррелировал с окружностью талии ($r=0,36$, $p<0,05$).

Не выявлено корреляции между уровнями холестерина, HbA_{1c} , возрастом в зависимости от метода лечения (инсулинотерапия или таблетированные сахароснижающие препараты).

Заключение. Снижение избыточной массы тела представляет один из важнейших терапевтических подходов в улучшении течения имеющегося диабета и профилактики осложнений у больных, страдающих этим заболеванием.

М.Г. Величко, О.Л. Карпова

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28

БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС СОБАК ПРИ СКАРМЛИВАНИИ НОВОГО КОРМА

Многочисленные исследования последних десятилетий в области кормления животных убедительно показали, что продукты питания содержат природные компоненты, обладающие не только пищевой ценностью для организма, но и регулирующие его многочисленные функции. В научных исследованиях обсуждаются вопросы не только рационального, но и так называемого оптимального (здорового) питания, которое предусматривает индивидуальный подбор пищи, в максимальной степени удовлетворяющей потребности в энергетических, пластических и регуляторных компонентах. При этом биологически активные вещества, содержащиеся в продуктах питания, при систематическом употреблении способны поддерживать и регулировать конкретные физиологические функции организма, биохимические и поведенческие реакции, что позволит сохранить здоровье, повысить устойчивость организма к заболеваниям [1].

На сегодняшний день на рынке преобладают корма для собак западных производителей, особенно сухие корма: «Pedigree», «Royal Canin», «Hill's», «Pronatur» и др., которые не всегда отвечают заявленным качествам.

В исследованиях, проводимых на территории Республики Беларусь в области кормления животных, недостаточно данных о разработке и использовании пищевых отходов и субпродуктов в рационах собак и влиянии их на гомеостаз [2-4]. Актуальность вышеизложенного явилась целью данной работы, которая заключалась в оценке биохимического статуса собак при скормливании нового корма.

Работа выполнялась в период с 2005 по 2008 годы на базе питомников служебных собак Гродненского областного управления Департамента охраны МВД Республики Беларусь, Комитета пограничных войск Республики Беларусь, частного питомника «Глория-Олмар» г. Гродно. Для опытов использовали 70 служебных собак в возрасте до 5 лет, средней живой массой 30-40 кг пород немецкая овчарка, американский стаффордширский терьер. В зависимости от

условий эксперимента животные получали традиционный корм (1-я группа), сухой корм (2-я группа) или разработанный новый корм «Бобик» (3-я группа). В опытных сериях экспериментов использовали животных одного возраста, индивидуальные массы в контрольных и подопытных группах колебались в пределах 10-15%. Животных содержали в вольерах (уличное содержание, температура окружающей среды соответственно сезону года), полы бетонного и деревянного покрытия. Животные до опыта получали стандартные рационы и свободный доступ к воде. Кормление производили 2 раза в день утром и вечером с учетом массы животного.

Все манипуляции с животными осуществляли в соответствии с «Правилами проведения научных исследований с использованием экспериментальных животных» (Приложение 4).

Активность ферментов (АЛТ, АСТ - ед/л), содержание альбумина, общего белка (г/л) глюкозы, холестерина, мочевины, фосфора, магния, кальция (ммоль/л), уровень общего билирубина, железа (мкмоль/л) определяли с использованием биохимического анализатора DIALAB AUTOLYSER (США). С использованием реактивов стандартных наборов производства фирм «CORMAY» (США) и «АнХ» (Беларусь).

За весь период скармливания нового корма уровень глюкозы находился в пределах 4,1 ммоль/л и не отличался от двух групп контроля. Несмотря на то, что в состав корма были введены субпродукты и кровь, количество общего билирубина в крови собак, содержащихся на разработанном корме составило 4,56 мкмоль/л, что было ниже, чем в первой и второй группе на 6,2% и 10,2% соответственно. Содержание мочевины в опытной группе было ниже, чем во второй на 6,8%, но выше по сравнению с первой группой на 6%. Следует отметить, что ни один корм не имеет преимуществ перед другим, т.к. все показатели находились в пределах физиологической нормы.

Новый корм способствует нормальному развитию животных, о чем свидетельствуют функциональные показатели, оптимизирует обменные процессы, протекающие в организме животных. Все биохимические, гематологические показатели не выходят за пределы физиологической нормы, что даёт основание считать об адаптированности корма «Бобик» к физиологическому состоянию животных, а также об отсутствии токсического эффекта у испытуемого корма на гемостаз, эритропоез и лейкопоез животных.

Список литературы

1. Хохрин, С.Н. Нормы кормления собак: справ. пособие / С.Н. Хохрин. – СПб., 1994. – 57 с.
2. Величко, М.Г. Усовершенствование биологических добавок на основе местного сырья для кормления собак / М.Г.Величко, О.Л. Карпова // Актуальные проблемы в животноводстве: материалы IV Междунар. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения академика РАСХН Н.А. Шманенкова, Боровск, 5-7 сентября 2006 г. / Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания с.-х. животных. – Боровск, 2006. – С. 22.

3. Карпова, О.Л. Разработка сбалансированного корма для служебных собак на основе местного сырья / О.Л. Карпова // Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы X Междунар. науч.-практ. конф., Гродно, 2007 г. / Гродненский государственный аграрный университет. – Гродно, 2007. – С. 224.

4. Рекомендации по использованию и влиянию отечественного корма на гомеостаз и этиологию собак: рекомендации / М.Г. Величко, О.Л. Карпова // Утверждены Главным управлением ветеринарии МСХиП Республики Беларусь 23.01.2008 г. – Гродно, 2007. – 12 с.

Э.А. Гараев

УО «Азербайджанский медицинский университет»,
г. Баку, e-mail: eldargar@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ ТРИТЕРПЕНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ SCABIOSA MICRANTHA, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В АЗЕРБАЙДЖАНЕ

С целью поиска новых источников биологически активных соединений нами были изучены химические компоненты *Scabiosa micrantha* – Скабиоза мелкоцветковая, сем. Dipsacaceae – Ворсянковые.

В настоящем сообщении представляем данные о тритерпеновых соединениях надземных частей (цветки, листья и стебли) *S. micrantha*, собранных на фазе цветения, на территории Гобустана Азербайджанской Республики.

0,5 кг высушенного и измельченного сырья экстрагировали 90 %-м этанолом при комнатной температуре, в соотношении 1:8 в течение суток. Экстракт декантировали, экстракцию повторяли еще 2 раза в соотношении 1:6. Экстракты объединили, упарили до водяного остатка с помощью водяного насоса на роторном испарителе. Водный остаток последовательно извлекали хлороформом и н-бутанолом, насыщенной водой. Из хлороформного извлечения после упаривания и перекристаллизации из этанола выделили олеаноловую кислоту, которую идентифицировали на основании физико-химических показателей и сравнением с достоверными образцами.

Фракцию н-бутанольного извлечения упаривали в условиях как указано выше. Остаток растворяли в 90 %-м этаноле и пропускали через слой алюминия оксида с целью очищения от полифенольных соединений. Колонку промывали 90 %-м этанолом до истощения сапонинов. Растворитель отгоняли до сухого остатка и подвергали кислотному гидролизу (8 %-я серная кислота, 5 ч).

Гидролизат охладили, выпавший осадок отфильтровали, промывали до нейтральной реакции и перекристаллизацией из этанола в качестве агликона получили олеаноловую кислоту. В маточном растворе (гидролизате) известными способами в качестве углеводов сапонинов обнаружили D-глюкозу, L-арабинозу и L-рамнозу.

Химические компоненты *S. micrantha*, произрастающие в Азербайджане, изучаются впервые. Исследования продолжаются.

П.В. Голышко, В.В. Виноградов

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: office@biochem.unibel.by*

ГИПЕРТРОФИЯ И ГИПЕРПЛАЗИЯ ТИРОЦИТОВ ПРИ ПЕРМАНЕНТНОМ СТРЕССЕ

Истошающий хронический стресс (нагрузка растяжением по Селье) блокирует секреторную функцию щитовидной железы (ЩЖ) экспериментальных животных [1]. 6-часовая иммобилизация крыс в положении на спине приводит к снижению концентрации T_3 и T_4 в крови, соответственно, на 46 и 62% ($p < 0,05$). Ежедневное кратковременное обездвиживание животных в течение 15 дней (по 15, 30 и 45 минут в первые 3 дня и по 60 минут в последующие 12 дней), приводящее к 38% повышению T_4 в крови, нивелирует сдвиги T_3 и T_4 при последующей многочасовой иммобилизации [2]. Следовательно, систематическое превентивное раздражение оказывает отчетливый адаптивный эффект. Целью настоящей работы является поиск морфологических доказательств формирования так называемого «структурного следа адаптации», обеспечивающего адекватное приспособление щитовидной железы к перманентному стрессу.

Влияние стресса на развертывание адаптационного процесса удобно исследовать после субтотальной струмэктомии, когда у крыс удаляется $\frac{3}{4}$ ЩЖ и к оставшемуся фрагменту предъявляются повышенные требования по части компенсации послеоперационного гипотиреоза за счет активации гормоносинтеза в тиреоидном остатке и усиления регенерации утраченного в результате оперативного вмешательства морфологического субстрата.

Барокамерная гипоксия (ежедневный 30-минутный «подъем» крыс на высоту 9 км в течение 1-3 месяцев) вызывает отчетливую гипертрофию клеток фолликулярного эпителия клеток тиреоидного остатка (1/4 щитовидной железы) после субтотальной струмэктомии, о чем свидетельствует существенное увеличение кариометрических параметров ядер оставленного фрагмента: через 2 месяца стрессорного гипоксического воздействия достоверно увеличилась площадь ($p < 0,03$) и периметр ($p < 0,029$), а через 3 месяца – диаметр и площадь ядер тироцитов ($p < 0,00001$ и $p < 0,006$).

Факт стимулирующего влияния перманентного стресса на функциональную гипертрофию щитовидной железы подтверждается гистологически: а) ежедневные 30-мин. тренировки в барокамере в течение 1-2-3 мес. не нарушают фолликулярную структуру тиреоидного остатка, но размеры (просветы) фолликулов в первые 2 мес. заметно уменьшаются, вероятно, из-за гипертрофии тироцитов, что свидетельствует о переводе мультিকлеточных комплексов из пассивного депонирующего («ортодоксального») в активное синтетическое («конденсированное») состояние; б) судя по снижению уровня фолликулярного ШИК-позитивного тиреоглобулина в первые 1-2 мес. тренировок секреторная функция тироцитов активизируется с постепенной нормализацией через 3 мес., что может отражать наступление адаптации. ШИК-положительная реакция

обусловлена нейтральным мукополисахаридом, входящим в состав тиреоглобулина, и поэтому может служить гистологическим маркером его содержания в фолликулах, которое зависит как от активности тироксиногенеза, так и от уровня экспорта тиреоидных гормонов в кровь, т. е. является важным показателем секреторной функции ЩЖ.

Процент двуядерных клеток в тиреоидном остатке при перманентном стрессе (ежедневное 30-мин. асинхронное раздражение крыс электрическим током, звуком и светом в течение 3 мес.) увеличивается в 2,7 раза по сравнению с контролем ($p < 0,00001$) и в 1,7 раза по сравнению с «чистой» струмэктомией ($p < 0,00001$), а в регенерате – в 1,2 раза ($p < 0,00001$).

Следовательно, дозированный стресс может быть медиатором пролиферационного эндомитоза тироцитов и, соответственно, их гиперплазии, что способствует формированию структурного следа адаптации и адекватного приспособления к функциональной нагрузке.

Выводы: 1. Дозированный периодический стресс вызывает умеренное возбуждение функциональной активности в тиреоидном остатке струмэктомизированных крыс. Ежедневные 30-мин. барокамерные и эмоционально-болевые раздражения в течение 1-3 мес. на самом деле действуют как промоторы адаптации, приводя к активации стресслимитирующих систем, контролирующей пролиферацию тироцитов и, соответственно, наращивая их функциональный потенциал (структурный след адаптации). Здесь может одновременно наблюдаться и гипертрофия одних секреторных элементов и пролиферация других, поскольку часть клеток (в силу действия генетического триггера) выводится из секреторного акта, т.е. из под контроля ТТГ и под воздействием инсулиноподобных модуляторов начинает активно пролиферировать.

2. Оптимизация стресса, т.е. перевод в терминах Селье разрушительного хирургического «дистресса» в категорию созидательного терапевтического «эустресса» может быть важным моментом врачебной тактики на до-, интра- и постоперационном этапах ведения струмэктомизированных больных с целью минимизации хирургической агрессии и компенсации приобретенного в результате оперативного вмешательства вторичного гипотиреоза.

Список литературы

1. Надольник Л.И., Емельянов Н.В., Виноградов В. В. // Бюлл. эксперим. биол. мед. 2000. – Т. 129, № 5. – С. 515–517.

2. Божко А.П., Солодков А. П. // Пробл. эндокринологии. 1990. – Т. 36, № 5. – С. 74–78.

П.В. Голышко, В.В. Виноградов

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: office@biochem.unibel.by*

ЖИЗНЕННЫЙ (СЕКРЕТОРНЫЙ) ЦИКЛ ТИРОЦИТОВ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

Сведения о влиянии стресса на функцию щитовидной железы в доступной литературе немногочисленны и крайне противоречивы. Показано активирующее, ингибирующее влияние либо его отсутствие при стрессе различной напряженности и длительности [1-3]. Ежедневная кратковременная иммобилизация крыс в положении на спине в течение 15 дней (по 15, 30 и 45 мин в первые 3 дня и по 60 мин. в последующие 12 дней) приводит к повышению концентрации тироксина (T_4) в крови, а непрерывное 6-часовое обездвиживание животных вызывает противоположный эффект [4].

Такой разнотой данных скорее всего указывает на фазовое влияние стресса на гормонообразующую функцию щитовидной железы. Это предположение проверено нами при моделировании хронического истощающего раздражения (иммобилизационный стресс по Селье – фиксация крыс в положении на спине), при котором воспроизводятся все фазы развития реакции напряжения (фаза тревоги – 1–12 ч опыта, фаза резистентности – 12–24 ч опыта, фаза истощения – 48–72 ч опыта) [5].

При истощающем хроническом раздражении уровень кортикостерона в крови крыс достигает максимума к 1-му часу опыта (фаза тревоги) и в дальнейшем остается достоверно повышенным. Максимум концентрации T_4 в крови крыс с характерным сдвигом вправо наблюдается в фазе тревоги (2–6 ч опыта), а затем резко снижается, документируя развитие глубокого стрессорного гипотиреоза из-за функционального перераздражения тироцитов уже в конце фазы резистентности (24 ч опыта) и в фазе истощения (48–72 ч опыта). Влияние стресса на активность гормонообразования в щитовидной железе можно оценить не только по интегральным биохимическим критериям (например, по уровню тиреоидных гормонов в крови), но и с помощью электронной микроскопии тироцитов, которая позволяет визуально наблюдать развертывание процессов биосинтеза, накопления и секреции гормональных продуктов в эндокринной паренхиме в динамике развития реакции напряжения. Этот же подход дает уникальную возможность понять причины и механизмы возникновения функциональной недостаточности щитовидной железы (т.е. стрессорного гипотиреоза) на завершающих этапах истощающего стресса.

В результате проведенных исследований синхронно изучена морфобиология тироцитов крыс при стрессе, а именно биохимические критерии и визуально наблюдаемые процессы жизнедеятельности секреторных клеток при функциональной нагрузке. Биохимически (по уровню T_4 в плазме крови) показано фазовое влияние иммобилизационного стресса на гормонообразующую функцию щитовидной железы. Морфологически (по изменению ультраструктуры) показано, что в фазе тревоги (1–6 ч опыта) повышение секреторной активности

тироцитов лимитируется преобладанием в клеточном спектре щитовидной железы светлых клеток, осуществляющих гормоносинтез, а ее снижение в фазу резистентности (12--24 ч опыта) и фазу истощения (48--72 ч опыта) – не тотальной деструкцией секреторных элементов в результате их функционального перераздражения (которая не превышает 10% даже в терминальную фазу стресса), а преобладанием регенерирующих темных клеток, выведенных из секреторного акта. Обсуждаются механизмы взаимопревращения клеток в рамках жизненного (секреторного) цикла тироцитов при иммобилизационном стрессе.

Список литературы

1. Levi L. // Therapiewoche. – 1976. – Bd. 26, N 1. – S. 24–26.
2. Положенцев Д. С. // Физиология человека. – 1992. – № 2. С. 155–157.
3. Надольник Л.И., Емельянов Н.В., Виноградов В.В. // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 2000. – Т. 129, № 5. – С. 515–517.
4. Божко А.П., Солодков А.П. // Пробл. эндокринол. – 1990. – Т. 36, № 5. – С. 74–78.
5. Виноградов, В.В. Стресс: Морфобиология коры надпочечников / В.В. Виноградов. – Минск. 1998.

Д.В. Гупенец¹, Ж.И. Балаш, Е.Ф. Радута, Н.П. Канунникова

¹ *ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, бульвар Ленинского комсомола, 50,*

e-mail: val@biochem.unibel.by

*УО «Гродненский государственный университет им. Я. Купалы»,
230009, г. Гродно, пер. Доватора, 3/1, e-mail: n.kanunnikova@qrsu.by*

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ДЕЙСТВИИ ХЛОРИСТОГО АЛЮМИНИЯ С ПОМОЩЬЮ ПАНТЕНОЛА, СУКЦИНАТА АММОНИЯ И КАРНИТИНА

Алюминий – высокотоксичный элемент, он играет важную роль в дегенерации нервных клеток в мозге человека и экспериментальных животных и вовлечен в этиологию серьезных патологий человека, подобных амиотрофическому латеральному склерозу, болезни Альцгеймера и др. Для всестороннего изучения патогенеза и молекулярных механизмов болезни Альцгеймера большое значение имеет создание адекватных моделей воспроизведения этой патологии. Одним из способов моделирования болезни Альцгеймера является алюминиевый нейротоксикоз, приводящий к повреждению нейрональных мембран продуктами окислительного стресса. Алюминиевый нейротоксикоз несколько имитирует болезнь Альцгеймера, хотя, как показывают литературные данные, алюминий не является причиной образования амилоидного перерождения нейронов. Точный механизм, посредством которого металл может оказывать воздействие на патологические

процессы, неизвестен, имеются данные о том, что воздействие алюминия обуславливает активацию оксидантного стресса и воспалительных процессов. Алюминий угнетает окислительный метаболизм глюкозы и пирувата в нервных окончаниях, преимущественно благодаря увеличению накопления кальция в их митохондриях, обусловленному ингибированием активности Na-Ca-транспортирующего канала митохондриальной мембраны ионами металла. Увеличение внутримитохондриального кальция обуславливает повышенный выход ацетил-CoA из митохондрий, в то же время возрастает потребление цитоплазматического ацетил-CoA для пополнения пула ацетилхолина, который истощается вследствие повышенного высвобождения нейромедиатора (ацетилхолина) из нейронов под действием алюминия. Применяющийся систематически $AlCl_3$ у экспериментальных животных аккумулируется на поверхности эндотелиальных клеток. Таким образом, $AlCl_3$ может не только действовать на проницаемость ГЭБ в плане свободной диффузии через эндотелиальные клетки мембраны, но может также селективно изменять насыщенность транспортных систем [1,2].

В эксперименте было использовано 50 крыс самок линии *Wistar* массой 200-220 г. У животных опытных групп вызывали окислительный стресс и нейродегенеративное поражение структур головного мозга путем внутрибрюшинного введения 10 %-го раствора хлорида алюминия (190 мг/кг) на 1-е и 3-и сутки от начала опыта. Всем животным, кроме контрольной группы, в течение 7 дней ежедневно до забоя внутрижелудочно вводили антивитамин – гомопантотеновую кислоту в дозе 300 мг/кг массы тела. На фоне данного введения и алюминиевого нейротоксикоза животные одной группы в течение 7 дней ежедневно до забоя подкожно получали раствор препаратов D-пантенола (200 мг/кг) и сукцината аммония (100 мг/кг), а животные другой – раствор этих же препаратов и L-карнитин (100 мг/кг).

Установлено, что при дозе гомопантотеновой кислоты в 300 мг/кг активность сукцинатдегидрогеназы достоверно снизилась и оставалась сниженной при комплексном введении гомопантотената, пантенола, сукцината аммония и карнитина на фоне алюминиевого нейротоксикоза, тогда как активность оксоглутаратдегидрогеназы достоверно повысилась в аналогичных условиях. Активность глутаминсинтетазы достоверно не изменилась ни в одной экспериментальной группе.

Исходный уровень тиобарбитуратреагирующих продуктов (ТБК-РП) в мозге оказался сниженным (но недостоверно) при хроническом введении гомопантотената, такой же эффект наблюдался при сочетанном воздействии гомопантотената и хлористого алюминия. Дополнительное введение пантенола с сукцинатом, а также пантенола с сукцинатом и карнитином, на фоне введения хлористого алюминия и гомопантотеновой кислоты привело еще к большему снижению исходного уровня ТБК-РП.

Таким образом, введение пантенола вместе с сукцинатом или сочетанное введение пантенола, сукцината и карнитина не проявили достаточной эффективности в коррекции нарушений энергетического метаболизма и

показателей окислительного стресса, которые развиваются при воздействии хлористого алюминия, в отличие от коррекции постишемической патологии этими препаратами [3].

Список литературы

1. Role of combined administration of Tiron and glutathione against aluminium-induced oxidative stress in rat brain / P. Sharma [et al.] / J. of trace elements in medicine and biology. – 2007. – Vol. 21. – P. 63–70.

2. Domingo, J.L. Reproductive and developmental toxicity of aluminium: a review / J.L. Domingo // Neurotoxicol. Teratol. – 1995. – Vol. 17. – P. 515–521.

3. Коррекция постишемических нарушений в больших полушариях мозга с помощью предшественников биосинтеза сукцинил-КоА / Н.З. Башун [и др.] / Нейрохимия. – 2007. – Т.24, №1. – С.60–64.

В.А. Гуринович, И.Н. Катковская, Д.В. Гупенец, Д.С. Дорофей, А.Г. Мойсеёнок

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,

230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: val@biochem.unibel.by

МОДЕЛЬ ИНТРАЦЕРЕБРАЛЬНОГО ПОГЛОЩЕНИЯ, СУБКЛЕТОЧНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И БИОТРАНСФОРМАЦИИ ПАНТЕТИНА

Биологический транспорт, внутриклеточное депонирование и биотрансформация предшественников биосинтеза кофермента А (КоА) являются сложной и во многом неясной проблемой современной биохимии. Определенный прогресс достигнут при исследовании данных процессов в ткани печени [1], однако в ЦНС они не изучались. В наших исследованиях использован предшественник КоА – пантетин (ПТ), который, по всей вероятности, является специфическим субстратом биосинтеза кофермента в головном мозгу.

В эксперименте на крысах-самках линии Вистар массой 105-125 г исследовали захват и биотрансформацию в субклеточных структурах головного мозга [³H]-ПТ при внутрибрюшинном его введении в дозе 1,36 мКи/кг (2 Ки/ммоль) сроком на 10, 30, 180 и 360 мин. Препарат [³H]-ПТ синтезировали на базе кафедры радиохимии МГУ. Плазму крови стабилизировали гепарином. Синаптосомально-митохондриальную фракцию головного мозга крыс выделяли методом дифференциального центрифугирования [2], применяя в качестве среды выделения 0,32 М раствор сахарозы, содержащий 0,5 мМ ЭДТА, 25 мМ тартрат Na (рН 7,4). Мозг быстро извлекали, промывали и гомогенизировали в вышеописанной среде выделения с разведением 1:4. Гомогенат центрифугировали 10 мин при 1700 g, осадок отбрасывали, а супернатант центрифугировали 20 мин при 10 000 g, получая постмитохондриальную фракцию и осадок, содержащий синаптосомально-митохондриальную фракцию, который ресуспензировали в среде выделения. Вся процедуру осуществляли при 4 °С. Полученные фракции замораживали при -70 °С.

Экстракты фракций мозга и плазмы крови исследовали с помощью метода ВЭЖХ в режиме изократической элюции на хроматографе «Ликвохром-2010» с

УФ-детектором (Венгрия), насос «LKB-2150» (Швеция), колонка Spherisorb 5 ODS 150x4,6 мм. В качестве подвижной фазы применяли 50 мМ калий-фосфатный буфер pH 5,0 – метанол, (95:5) (v/v) [3]. Для ВЭЖХ использовали хлорные экстракты, полученные добавлением 6% HClO₄ в соотношении 1:1 (масса/объем), содержащей 10 мМ дитиотрейтол, и последующим доведением до pH 4-5 с помощью 8 н КОН.

Фракции собирали со скоростью потока 1 мл/мин и определяли в них радиоактивность после внесения аликвоты полученного супернатанта во флаконы с диоксановым сцинтиллятором. Подсчет радиоактивности хлорнокислых и водных экстрактов осуществляли на жидкостном сцинтилляционном счетчике «Wallac-LKB» (Швеция). Содержание белка определяли по Лоури.

Накопление радионуклида в ЦНС (из расчета на целый мозг) характеризовалось прогрессивным увеличением к 180 мин эксперимента с последующим снижением до 80 % от достигнутого максимума. В период опыта 30-360 мин выход радиоактивности в водных экстрактах в 1,16-1,44 раза превышал таковую в хлорнокислых. Поглощение радионуклида тканью головного мозга из плазмы крови также возрастало во времени и достигало плато через 180-360 мин после инъекции препарата. Количество радионуклидных продуктов в постмитохондриальной фракции (хлорнокислые экстракты) составило 624±298, 1605±241, 3803±41, 2023±473 имп·мин⁻¹·мг⁻¹ белка, через 10, 30, 180, 360 мин, соответственно. Эти значения в митохондриальной фракции были значительно ниже: 207±69, 364±187, 760±118, 620±235 имп·мин⁻¹·мг⁻¹ белка, соответственно. Исследование соответствующих водных экстрактов образцов выявило не только более высокий выход радионуклида, но и прогрессирующее во времени уменьшение доли радионуклидного компонента, экстрагируемого хлорной кислотой в постмитохондриальной фракции головного мозга. Аналогичная закономерность проявляется и при анализе экстрактов плазмы крови подопытных животных.

В хлорнокислых экстрактах гомогената головного мозга и постмитохондриальной фракции в качестве доминирующего метаболита выявлена 4'-фосфо-пантотеновая кислота (ФПК). Другие идентифицированные радионуклидные соединения: пантотеновая кислота (ПАК), пантетеин (восстановленная форма ПТ), 4'-фосфо-пантетеин (ФПН), КоА и, вероятно, дефосфо-КоА. Накопление этих метаболитов имело максимум к 180 мин эксперимента и характеризует процесс доминирующей биотрансформации ПТ в цитозоле клеток ЦНС. При этом процесс биотрансформации ПТ, по всей вероятности, идет преимущественно по схеме: ПТ → ПАК → ФПК → ФПН → КоА, хотя определенная часть пантетеина может подвергаться прямому фосфорилированию.

Список литературы

1. Гуринович, В.А. Биотрансформация и протеидизация производных пантотеновой кислоты в печени животных / В.А. Гуринович // Автореф. дис... канд. биол. наук. – Гродно. – 2003. – 24 с.

2. Weiler, M.H. Choline uptake and acetylcholine synthesis in synaptosomes: investigations using two different labeled variants of choline / M.H. Weiler, C.B. Gundersen, D.J. Jenden // J. Neurochem. – 1981. – Vol. 32. – P. 1802–1812.

3. Распределение и биотрансформация [³H]-пантенола в отделах головного мозга в норме и при моделировании алюминиевого нейротоксикоза / В.А. Гуринович [и др.] // Весці НАН Беларусі. Серыя мед. навук – 2006. – №2. – С. 66–72.

Д.С. Дорофей, И.Н. Катковская, В.А. Гуринович

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,

230030, г. Гродно, БЛК, 50,

e-mail: val@biochem.unibel.by

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ МОДУЛЯЦИИ ФРАКЦИЙ КОФЕРМЕНТА А В МИОКАРДЕ ПРИ АЛЮМИНИЕВОМ ТОКСИКОЗЕ

Постоянное поступление кислорода является обязательным условием для жизнеспособности и выполнения сердцем своей функции. Сердце – аэробный орган, при нормальных физиологических условиях потребляет 8-15 мл O₂/мин/100 г ткани, однако это значение может увеличиться более чем в 4 раза при повышенной нагрузке. Поскольку кислород – главный детерминант и важный участник в формировании активных форм кислорода и азота, важнейшей задачей является изучение метаболических нарушений, которые происходят при окислительном стрессе (ОС) в сердечной мышце [1]. В миокарде утилизируются различные энергетические субстраты, включая жирные кислоты, глюкозу, лактат, пируват, кетоновые тела и аминокислоты, преобладающие при определенных физиологических или патологических условиях [1, 2]. Для реакций энергетического и пластического обмена необходима коферментная форма пантотеновой кислоты (ПАК) – кофермент ацетилирования (КоА). Наиболее важным источником энергетических субстратов в миокарде являются жирные кислоты, обеспечивающие 70-80% потребления O₂ при нормальных физиологических условиях. Ключевым физиологическим регулятором в окислении жирных кислот кардиомиоцитами является малонил-КоА – ингибитор карнитин-пальмитоилтрансферазы-I (КПТ-I). L-карнитин действует как акцептор остатков жирных кислот, перенося их от ацил-КоА с образованием длинноцепочечного ацил-карнитина, а также устраняя избыток ацетил-КоА из митохондрий [1, 2, 3].

В настоящей работе предпринята попытка показать модулирующие эффекты на структуру кислоторастворимой фракции КоА (включающей ацетил-КоА, малонил-КоА и другие короткоцепочечные ацил-КоА) в миокарде крыс двух производных ПАК – D-гомпантотеновой кислоты (ГПК) и D-пантенола (D-ПЛ), а также двух метаболических корректоров – L-карнитина (L-КТ) и сукцината аммония (СА) при их сочетанном введении в условиях окислительного стресса (ОС), обусловленного алюминиевым токсикозом (АТ).

В эксперименте было использовано 50 крыс-самок линии *Wistar* массой 200-220 г. Животные были разделены на 5 групп (n=10). I-я группа – контрольная, II-я группа получала кальциевую соль ГПК, у животных III-V групп вызывали ОС внутрибрюшинным введением 10 %-го раствора хлорида алюминия (AlCl₃) в дозе 190 мг/кг массы тела на 1-е и 3-и сут от начала эксперимента. Всем животным, кроме контрольной группы, в течение 7 дней ежедневно до забоя внутрижелудочно вводили ГПК в дозе 300 мг/кг массы тела. На фоне введения ГПК и АТ животным IV-й группы в течение 7 дней ежедневно до забоя подкожно сочетано вводили раствор препаратов D-ПЛ (200 мг/кг) и СА (100 мг/кг). Животным V-й экспериментальной группы сочетано вводили раствор этих же препаратов на фоне назначения ГПК и АТ, но совместно с L-КТ в дозе 100 мг/кг массы тела. Анализ уровня свободного кофермента А (КоА-SH) и короткоцепочечных ацил-КоА (ацетил-КоА и малонил-КоА) проводили в хлорнокислых экстрактах тканей миокарда методом ВЭЖХ на приборе «Agilent 1100/1200» (США). Гомогенаты тканей были приготовлены (в соотношении 1:4, масса:объем) с использованием 4 %-й HClO₄, содержащей 15 мМ тартрата натрия и 10 мМ дитиотрейтола. Для элюирования образцов использовали 100 мМ натрий-фосфатный буфер (рН 4,5) и градиент (5-27% метанола) на колонке Zorbax SB-C₁₈ размером 3x150 мм и размером частиц 3,5 мкм («Agilent Technologies», США) при температуре 22 °С и скорости потока 0,4 мл/мин. Регистрацию выхода фракций КоА осуществляли на диодно-матричном детекторе при 260 нм.

Результаты исследования показали достоверное (по отношению к группе контроля, p<0,05) снижение уровня КоА-SH и увеличение фракций ацетил-КоА и малонил-КоА в миокарде крыс при длительном назначении ГПК. Продолжительное введение ГПК на фоне АТ привело к достоверному (относительно группы контроля и ГПК) увеличению уровня двух кислоторастворимых фракций – КоА-SH (выше уровня контроля) и малонил-КоА. Уровень ацетил-КоА снижался до значений контрольной группы. Сочетанное назначение на фоне AlCl₃+ГПК комбинации препаратов D-ПЛ+СА и D-ПЛ+СА+L-КТ выявило существенное, близкое к группе с введением ГПК, падение уровня КоА-SH в миокарде подопытных животных. Уровень короткоцепочечных ацил-КоА, – ацетил-КоА и малонил-КоА, – у этих опытных групп существенно не изменился по сравнению с контролем, но имел тенденцию к росту относительно III-й группы (ацетил-КоА) или падению (малонил-КоА).

Полученные данные свидетельствуют о ранее неизвестном свойстве гомопантотената стабилизировать структуру фонда КоА при окислительном стрессе (АТ), возможно, за счет активации ацил-КоА-гидролазных реакций.

Список литературы

1. Giordano, F.J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure / F.J. Giordano // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P.500–508.
2. Lopaschuk, G.D. Signalling in cardiac metabolism / G.D. Lopaschuk, D.P. Kelly // Cardiovascular Research. – 2008. – Vol.79 (2). – P. 205–207.

3. Гуринович, В.А. Взаимодействие систем карнитина и биосинтеза кофермента А в энергообеспечении миокарда / В.А. Гуринович, Д.С. Дорофей, А.Г. Мойсеёнок // Нейрогуморальные механизмы регуляции функций в норме и патологии.: сб. научн. ст. / Гурин В.Н. (отв. ред.) [и др.]. – Минск: Бизнесофсет. – 2007. – С. 84–89.

А.И. Жмакин, И.В. Николаева, В.М. Шейбак

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

230015, г. Гродно, ул. Горького, 80

НОРМАЛИЗАЦИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА ЭКСТРАКТОМ КУКОЛОК КИТАЙСКОГО ДУБОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Микробиоценоз кишечника характеризуется определенным качественным и количественным соотношением популяций микроорганизмов (индигенных и условно-патогенных), поддерживающих биохимическое, метаболическое и иммунологическое равновесие организма хозяина, необходимое для сохранения его здоровья. Его состояние формируется в значительной степени под влиянием рациона млекопитающих, в том числе с учетом поступления в организм токсических или отрицательно влияющих на организм в целом продуктов. Соответственно, возрастает роль биологически активных соединений, способных увеличить противостояние микробиоценоза организма негативно действующим факторам. К мало изученным композициям относятся экстракты, полученные из куколок китайского дубового шелкопряда, содержащие богатый набор пептидов, аминокислот, биогенных аминов и других биологически активных соединений.

Целью работы явилось изучение влияния экстракта куколок на микробиоценоз кишечника в условиях хронической интоксикации этанолом. Животные массой 180-200 г были разделены на три группы: 1-я – контрольная, 2-я – внутрижелудочно получала этанол в дозе 4,5 г/кг массы 1 раз в сутки в течение 10 дней; 3-я – помимо этанола через 30 минут получала экстракт куколок китайского дубового шелкопряда в дозе 10 мл/кг. Полученные нами результаты показали, что у получавших этанол животных наблюдается увеличение общего количества анаэробов, повышается титр газообразующей микрофлоры, снижается общее количество быстрорастущих микроорганизмов, несколько больше становится содержание *E.coli*, особенно лактозонегативной, а также *Proteus vulgaris*. Одновременно введение этанола и экстракта куколок китайского дубового шелкопряда препятствует развитию ряда негативных изменений микрофлоры. Заметим, однако, что именно в группе получавших экстракт возросло содержание лактозонегативной *E.coli* и *Proteus vulgaris*. Последнее, вероятно, объясняется известными иммуномодулирующими свойствами изучаемого нами экстракта, формирующего при внутрижелудочном введении, в том числе, усиление антигенного ответа организма. Таким образом, полученные нами данные показывают, что экстракт куколок китайского дубового шелкопряда препятствует развитию дисбиотических нарушений в кишечнике, вызванных потреблением этанола.

И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов

Военно-медицинская академия МО РФ,

194044, г.Санкт-Петербург, ул. Лебедева, 6, e-mail: I.V.Zarubina@inbox.ru

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ КОРТАГЕНА У РАЗЛИЧНЫХ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОКСИИ ЖИВОТНЫХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Патогенез поражения церебральных структур при хронической ишемии головного мозга заключается в последовательном нарастании комплекса патобиохимических расстройств, обусловленных снижением уровня кислорода артериальной крови и воздействием интермедиатов недоокисленного кислорода. При этом окислительный стресс играет роль активного механизма деструкции мембран и гибели нейронов, что является основанием для дальнейшего поиска новых фармакологических средств, способных корректировать уровень свободнорадикальных метаболитов в мозге при ишемических состояниях. Известно, что степень восстановления метаболизма и функций высшей нервной деятельности при ишемии мозга зависит, в частности, от индивидуальной устойчивости организма к острой гипоксии [1]. В настоящее время механизмы вторичного повреждения мозга рассматриваются как потенциально обратимые [2]. В связи с этим возрастает значение вторичной нейропротекции, одним из перспективных направлений которой является применение нейроспецифических пептидов.

Целью работы явилось изучение антиоксидантных эффектов кортагена у высоко- и низкоустойчивых к гипоксии животных при хронической ишемии головного мозга.

Методы исследования. Опыты проведены на крысах-самцах массой 160-180 г, которых разделяли по устойчивости к острой гипоксии, поднимая в барокамере на высоту 12000 м со скоростью 50 м/с и экспозицией на высоте до возникновения агонального дыхания. Животные, выдерживающие воздействие гипоксии в течение 5-10 мин считались низкоустойчивыми (НУ), более 10 мин – высокоустойчивыми (ВУ). Неполную ишемию мозга моделировали, перевязывая под кратковременным тиопенталовым наркозом общие сонные артерии. Исследованы 3 группы, в каждой из которых были подгруппы ВУ и НУ животных: 1-я (контрольная) - ложноперированные животные; 2-я – животные, перенесшие ишемию; 3-я – животные, получавшие кортаген, который вводили сразу после окклюзии сонных артерий и далее на протяжении 7-и суток внутрибрюшинно в дозе 0,25 мг/кг массы тела. Контрольным животным вводили в равном объеме 0,9-% – й раствор натрия хлорида. О процессах перекисного окисления липидов (ПОЛ) в полушариях мозга судили по содержанию в замороженных в жидком азоте тканях диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА), о функциях антиоксидантных систем (АОС) – по активности супероксиддисмутазы (СОД), содержанию восстановленного глутатиона (ВГ) и SH-групп белков [3].

Результаты исследований обрабатывали статистически по общепринятым методам с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования. Различные по устойчивости к гипоксии животные исходно отличались по метаболическим показателям в головном мозге: у НУ крыс уровень продуктов липопероксидации был выше, а показатели АОС ниже, чем у ВУ. Подобные метаболические различия могут иметь решающее значение в условиях ишемии мозга. Ишемия головного мозга на 3-и сутки сопровождалась достоверным повышением в мозге ВУ и НУ крыс содержания ДК в 3 и 3,3 раза, МДА 4,9 и 5,7 раза. По сравнению с контрольными животными на 3-и сутки после ишемии наблюдалось достоверное снижение активности СОД у ВУ крыс на 77%, у НУ – на 85%, содержания SH-групп – на 69% и 88%, а также ВГ на 53% и 72%. На 7-е сутки после окклюзии общих сонных артерий повышенный уровень продуктов ПОЛ на фоне сниженной активности АОС в мозге крыс обеих групп сохранялся и был более выражен у НУ животных. Ведение кортагена в течение 3-х суток после ишемии сопровождалось уменьшением содержания диенов в мозге ВУ животных на 40%, а НУ – на 44%. Содержание МДА на фоне кортагена снижалось на 3-и сутки у ВУ крыс на 33%, у НУ на 38%, а на 7-е сутки – на 50% и 59% ($p < 0,05$). При введении кортагена в течение 3-х суток после окклюзии сонных артерий в мозге ВУ животных активность СОД возрастала на 149%, НУ – на 134%, а на 7-е сутки – на 62% и 94% ($p < 0,05$). Уровень SH-групп при введении кортагена на 3-и сутки в мозге ВУ и НУ животных увеличивался на 59% и 184%, а на 7-е сутки – на 80% и 123% по сравнению с нелечеными животными. Содержание ВГ на фоне действия кортагена возрастало на 3-и сутки у ВУ животных на 35%, у НУ на 64%, а на 7-е сутки – на 59% и 70% ($p < 0,05$). На фоне действия кортагена уровень продуктов ПОЛ и активность АОС достоверно не отличалась от значений в группе ложноперированных животных с соответствующей индивидуальной устойчивостью к гипоксии. Таким образом, при выборе средств фармакологической коррекции последствий хронической ишемии головного мозга необходимо учитывать индивидуальную чувствительность организма к гипоксии, которая определяет степень тяжести постишемических функционально-метаболических изменений. Уменьшение степени выраженности метаболических нарушений на фоне действия кортагена определяет его использование для повышения эффективности нейропротективной терапии хронического ишемического повреждения головного мозга.

Список литературы

1. Зарубина, И.В. Молекулярная фармакология антигипоксантов / И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов. – СПб.: Н-Л, 2004. – 368 с.
2. Зозуля, Ю.А. Свободно-радикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. – М.: Знание-М, 2000. – 344 с.
3. Путилина, Ф.Е. Практикум по свободнорадикальному окислению / Ф.Е. Путилина [и др.]. – СПб., Изд-во СПбГУ. – 2006. – С. 3–10.

**Л.М. Караедова, О.В. Артемова, А.Н. Бородинский, В.В. Лелевич¹,
Т.С. Третьякевич**

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАНБ»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50,
e-mail: office@biochem.unibel.by*

*¹ УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
230015, г. Гродно, ул. Горького, 80*

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ У ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Проблема наркомании относится к числу актуальных проблем современной медицины в связи с эпидемиологической и социальной опасностью данного заболевания. Наибольший интерес представляют сведения о специфическом изменении метаболизма при развитии морфиновой зависимости. Единой теории, объясняющей механизм развития физической зависимости, а также абстинентного синдрома, нет. Некоторые экспериментаторы считают, что общим и основным звеном патогенеза основных типов наркомании являются изменения в функционировании ряда нейромедиаторных систем ЦНС, осуществляемые под контролем опиоидных и других рецепторов [1]. Другие авторы полагают, что в развитии зависимости существенную роль играют нарушения метаболизма белков, углеводов и липидов, а также процессов перекисного окисления липидов [2]. Важным в практическом отношении является изучение действия наркотических препаратов на органы и системы, анализ многочисленных метаболических отклонений, поиск эффективных способов их коррекции.

Целью данной работы явилось изучение влияния морфина на некоторые показатели цикла Кребса (как энергетических источников для метаболических процессов). В эксперименте были воспроизведены основные состояния, наблюдаемые при развитии и формировании морфиновой наркомании. Основываясь на наиболее часто используемых сроках введения наркотика [2], хроническую морфиновую интоксикацию вызывали путем внутрибрюшинного введения гидрохлорида в течение 7, 14, 21 суток. Морфин вводили в возрастающей дозе дважды в сутки. Первые двое суток препарат вводили по 10 мг/кг массы тела, на 3-4-е сутки – по 20 мг/кг в сутки; в последующие сутки (5-7 суток – I группа, 5-14 суток – II группа; 5-12 суток – III группа) производили инъекцию морфина в суммарной дозе 40 мг/кг в сутки. Контрольные животные получали эквивалентное количество физиологического раствора хлорида натрия. Декапитацию производили через 1 час после последней инъекции наркотика. Определение активности дегидрогеназы янтарной кислоты (СДГ) проводили спектрофотометрически. Уровень α -кетоглутарата (α -КГ) оценивали энзиматически, глутамата и аммиака – методом жидкостной хроматографии.

При определении активности СДГ во все исследованные сроки установлена стабильность изучаемого показателя. После 7-дневной морфинизации уровень α -КГ не изменен по сравнению с контрольными животными. Увеличение морфиновой нагрузки до 14 суток привело к достоверному возрастанию

содержания α -КГ, с тенденцией к повышению этого же показателя у животных с 3-недельной морфиновой интоксикацией. Аналогичные изменения зарегистрированы и при определении содержания глутамата у этих же животных. По данным других авторов установлено, что при кратковременном (6 дней) введении морфина снижено содержание α -КГ и глутамата. Но с увеличением срока морфинизации (5 недель) изменения содержания α -КГ и глутамата этими исследователями не обнаружено [3]. Указанные отличия можно объяснить различиями в степени и длительности морфинизации, поскольку нами, в отличие от предыдущих авторов, использовалось введение наркотика в возрастающей дозе. На основании константы равновесия и содержания компонентов глутаматдегидрогеназной реакции рассчитан один из регуляторных факторов дегидрогеназ ЦТК – редокс-потенциал. Установлено, что окислительно-восстановительное состояние зависит от дозы и продолжительности морфиновой интоксикации. У животных с семидневным сроком введения морфина редокс-потенциал снижен на 23 % по сравнению с контрольными животными. Через 14 суток после начала эксперимента он увеличен на 25 %. Наиболее выраженные изменения (возрастание степени окисленности НАД на 62 %) зарегистрированы у животных с самым длительным сроком введения морфина (21 сутки).

Таким образом, наиболее информативным из определенных показателей при морфиновой интоксикации является окислительно-восстановительное состояние митохондрий.

Список литературы

1. Фридман, Л.С. Наркология / Л.С. Фридман. – М.: Бином, 2000.
2. Метаболические нарушения при наркоманиях / В.В. Лелевич [и др.] // *Вопр. мед. химии.* – 1999. – Т. 45, № 5. – С. 357–367.
3. Гулый, М.Ф. Особенности метаболических нарушений в печени при морфиновой интоксикации различной длительности / М.Ф. Гулый [и др.] // *Вопр. мед. химии.* – 1992. – Т. 38, № 3. – С. 48–50.

Л.М. Караедова, Т.С. Третьякевич

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50,
e-mail: office@biochem.unibel.by*

ВЛИЯНИЕ L-АРГИНИНА И ТАУРИНА НА УРОВЕНЬ ЦИТРАТА В ПЕЧЕНИ КРЫС

За последние два десятилетия опубликовано значительное количество работ, посвященных анализу роли оксида азота в физиологических и патофизиологических процессах. Интерес к оксиду азота обусловлен разнообразием его функций в организме. Одним из источников оксида азота является аминокислота L-аргинин. Опубликовано большое количество работ, касающихся биологических, физиологических, фармакологических аспектов функционирования этой аминокислоты, обладающей, в частности, и липотропным, и сосудорасширяющим действием. Имеется значительное

количество экспериментальных данных, указывающих на антиатерогенное действие L-аргинина. Установлено, что L-аргинин замедляет возникновение атеросклеротических отложений в аорте и артериях, снижает адгезию моноцитов к эндотелию у больных с ангиографически доказанным атеросклерозом, а также при экспериментальной гиперхолестеринемии. Антиатерогенное действие L-аргинина является специфичным, экзогенные доноры оксида азота не обладают таковым [1]. Сосудорасширяющее действие также присуще таурину – серосодержащей аминокислоте, являющейся продуктом метаболизма цистеина. Оно связано с повышением содержания простаглицина, а улучшение кровообращения – с антиагрегантным эффектом. Важным свойством таурина является его гипохолестеринемическое действие, обусловленное уменьшением биосинтеза холестерина и ускорением его утилизации.

Регуляторная роль ЦТК на биосинтез липидов проявляется влиянием лимонной кислоты на ацетил-КоА-карбоксилазу – фермент, катализирующий первую ступень биосинтеза жирных кислот, цитрат действует и на ацил-КоА-синтетазу – фермент, активирующий карбоксильные группы жирных кислот путем образования ацилов КоА. Стимулирующий эффект цитрата на ацетил-КоА-карбоксилазу обусловлен смещением равновесия от неактивной к каталитически активной форме фермента, а также индуцированием конформационных изменений вблизи биотиновой простетической группы. Для ацил-КоА-синтетазы цитрат служит ингибитором, следовательно, чем ниже концентрация цитрата в клетке, тем интенсивнее будет протекать окисление жирных кислот. Таким образом, концентрация лимонной кислоты регулирует соотношение скоростей процессов липогенеза и липолиза. Поскольку таурин может участвовать в катаболизме трикарбоновых кислот, изменяя редокс-потенциал в митохондриях, представлялось интересным исследовать влияние аргинина и таурина на уровень цитрата.

Эксперимент проводили на крысах-самцах линии Wistar, массой 160 - 180 г. Животных разделили на 3 группы. Первой опытной группе вводили интрагастрально L-аргинин в дозе 100 мг/кг массы в течение 14 суток, второй – таурин – (доза 50 мг/кг) аналогичным образом. Контрольные животные получали в эквивалентном количестве воду. Цитрат в ткани печени определяли химическим методом [2]. После введения таурина изменения уровня цитрата не зарегистрировано. L-аргинин вызывал достоверное возрастание уровня цитрата у экспериментальных животных. Повышение содержания лимонной кислоты является результатом либо усиленного синтеза, либо снижения ее катаболизма. Нами показано [3], что L-аргинин вызывает активацию НАДФ-изоцитратдегидрогеназы, 2-оксоглутаратдегидрогеназы – энзимов, участвующих в катаболизме исследуемой трикарбоновой кислоты. Ускоренное использование восстановленной формы НАДФ – НАДФН, являющейся продуктом дегидрогеназной реакции, в качестве первого субстрата NO-синтазной реакции, может являться пусковым механизмом активации НАДФ – ИДГ. Таким образом, учитывая вышесказанное, возрастание уровня цитрата, зарегистрированное нами в эксперименте, вероятнее всего, является результатом усиления его биосинтеза.

Список литературы

1. Шебеко, В.И. L-аргинин и дисфункция эндотелия при атеросклерозе / В.И. Шебеко, Ю.Я. Родионов // Медицинские новости. – 1999. – № 6. – С. 14–17.
2. Ещенко, Н.Д. Определение количества трикарбоновых кислот и активности НАД-изоцитратдегидрогеназы / Н.Д. Ещенко // Методы биохимических исследований / под ред. М.И. Прохоровой. – Л-д, Изд-во ЛГУ. – 1982. – С. 195–202.
3. Влияние предшественника монооксида азота - L-аргинина и блокаторов NO-эргической системы на активность дегидрогеназ ЦТК и сопряженные с ним реакции / Л.М. Караедова [и др.] // Матер. межд. симп. «Активные формы кислорода, азота и хлора в регуляции клеточных функций в норме и при патологии». – 2006. – С. 98–104.

О.Л. Карпова, М.Г. Величко

*УО «Гродненский государственный аграрный университет»
230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28*

НОВЫЕ КОРМА КАК СРЕДСТВА КОРРЕКЦИИ ПОВЕДЕНИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМА СОБАК

Для выполнения всех своих служебных функций собакам необходимо поддерживать на должном уровне работоспособность, здоровье и адекватное проявление поведенческих характеристик. Они могут быть достигнуты и сохранены только при условии полного удовлетворения физиологических потребностей животного, надлежащего содержания и ухода, полноценного кормления. При нарушении вышеперечисленных условий отмечается изменение поведения, которое проявляется в форме патофизиологических нарушений (агрессивность, произвольное мочеиспускание, нечистоплотность, страх, отклонения от нормы в приеме пищи и др.) [1].

В собаководстве в настоящее время непременным условием формирования здорового животного является сбалансированное кормление. Степень обеспеченности организма энергией и целым набором (в первую очередь незаменимых) ингредиентов формирует нормальный рост и развитие организма, адаптацию к воздействию окружающей среды, иммунитет, физическую работоспособность, поведение животного. В исследованиях, проводимых на территории Республики Беларусь в области кормления и содержания собак нет достаточно объективной информации о влиянии кормов на гомеостаз, микробиоценоз, поведение и работоспособность собак, что явилось основанием для создания импортозамещающего корма для собак на основе местного сырья с разработкой рекомендаций по его использованию. Кроме того, разработка нового корма в Республике Беларусь обосновывается увеличением пищевых отходов при изготовлении и употреблении продуктов питания для людей; проблемой питания постоянно увеличивающихся популяций домашних животных в городах; необходимостью снижения трудозатрат при приготовлении пищи для

домашних животных [2-4].

Целью настоящего исследования явилась разработка оптимальных рационов, за счет их сбалансированности по основным компонентам, определяющим кормовую ценность (белки, жиры, углеводы, витамины, минеральные элементы), энергии, основанная на оценке влияния корма на физиологический статус и поведение животных.

Все опыты были выполнены на 70 служебных собаках в возрасте до 3-5 лет, средней живой массой 30-40 кг пород немецкая овчарка, американский стаффордширский терьер на базе питомников Гродненского областного управления Департамента охраны МВД Республики Беларусь, Комитета пограничных войск Республики Беларусь, частного питомника «Глория-Олмар» г. Гродно. Оценку эффективности корма определяли по общему физиологическому состоянию и поведению. Ежедневно в течение опыта (90 дней) проводили клиническое наблюдение за животными: визуальную оценку изменений общего состояния, аппетита, работоспособности и 7 форм поведения, которые свойственны собакам: пищевое (принятие корма и воды); исследовательское (наблюдение и ходьба); игровое (бег, прыжки и игры); комфортное (сон, отдых); территориальное (подача звукового сигнала при охране территории, мечение территории); служебное (поведение на подачу команды); половое (поиск полового партнера, рефлексы полового акта). Хронометраж для составления этограмм проводился в течение 9 часов: с 9⁰⁰ до 18⁰⁰ с интервалом в 15 минут и повторялся через три месяца после начала эксперимента.

Оценка работоспособности собак осуществлялась на основе этологических показателей характеризующих работоспособность: выносливость, быстрота, сила, ловкость по шестибалльной системе. По нашим данным средняя масса собак, содержащихся на корме «Бобик», увеличилась на 0,3 кг за всё время проведения опыта – с 37,4 до 37,7 кг. На основании проведенных исследований установлено, что корм «Бобик» благоприятно влияет на рабочие качества собаки и позволяет проводить коррекцию поведения.

Вывод: разработанный корм соответствует принципам рационального кормления и отвечает следующим требованиям:

- энергетическая ценность рациона покрывает энергозатраты организма;
- химический состав оптимально сбалансирован по пищевым веществам;
- хорошо усваивается;
- обладает высокими органолептическими свойствами;
- создаёт чувство насыщения;
- соответствует санитарно-эпидемическим нормативам и безвреден.

Список литературы

1. Санин, А. Пойми Друга: справочник по поведению собак / А. Санин, Л. Чебыкина. – М.: ЛОКИД-Пресс, 2005.– 301 с.
2. Карпова, О.Л. Использование кормовых добавок в рационах собак для улучшения питания и лечения / О.Л.Карпова, М.Г. Величко // Сельское хозяйство - проблемы и перспективы. Сборник научных трудов / Гродненский государственный аграрный университет – Т.3., Гродно, 2006. – С. 29–33.

3. Карпова, О.Л. Применение «Биотина» в рационах собак для повышения выносливости / О.Л.Карпова, М.Г.Величко // Вісник аграрної науки Причорномор'я. Випуск 4(38). – Миколаїв. – 2006. – С. 236–240.

4. Карпова, О.Л. Влияние различных кормов на поведение и работоспособность служебных собак / О.Л.Карпова // Журнал ветеринария и кормление. – 2008. - №3. – С. 30–31.

**И.Н. Катковская, М.А. Ельчанинова, А.А. Шевалье, Т.А. Пеховская,
И.Л. Коваленчик, Е.Ф. Радута, А.Г. Мойсеёнок**

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»

230030, г. Гродно, БЛК, 50

E-mail: val@biochem.unibel.by

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ D-ПАНТЕНОЛА ПРИ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Поиск средств метаболической активности при ишемическом поражении головного мозга является актуальной задачей современной фармакологии. В этом плане важно сочетание антигипоксических, антиокислительных, мембранопротекторных и энергостимулирующих свойств противоишемического препарата, которыми обладает D-пантенол [1]. В более ранних исследованиях было показано, что пантенол стимулирует биосинтез ацетилхолина, выступает в качестве антидота неполяризующих миорелаксантов и может быть использован в комплексном лечении поражения ЦНС при алкоголизме [2]. Предполагается, что пантенол, как предшественник коферментной формы пантотеновой кислоты – кофермента А (КоА), может активно влиять на систему глутатиона и редокс-статус тканей, в том числе в ЦНС. Проверка этого предположения осуществлена в настоящем эксперименте, который выполнен на базе лаборатории функциональной нейрохимии Института нейрофизиологии и высшей нервной деятельности РАН в рамках договора о научном сотрудничестве.

Модель фокальной ишемии вызывалась окклюзией средней мозговой артерии животных на фоне введения ксенобиотического предшественника биосинтеза кофермента – пантенола. Крысы-самцы линии Wistar (BW) из питомника «Столбовая» РАМН весом 250-300 г были анестезированы и подвергнуты 2-часовой перевязке средней мозговой артерии, используя метод внутрилюминального шва [3]. Контрольные животные подвергались идентичной операции без фактического пережатия артерии. Части животных экспериментальной группы вводили D-пантенол внутривентриально в дозе 200 мг/кг по схеме, обеспечивающей оптимальную биотрансформацию препарата в ЦНС. Декапитацию осуществляли через 7 сут. после оперативного вмешательства.

Проведенные исследования показали, что назначение пантенола в модели ишемического повреждения головного мозга крыс приводит к изменению показателей окислительного стресса в крови. Достоверно возрастает содержание высокомолекулярных сульфгидрильных соединений. Падает количество

тиобарбитуратреагирующих продуктов, что наблюдается и в группе с ишемией мозга без назначения исследуемого препарата. Активность лактатдегидрогеназы в плазме крови достоверно снижается в случае ишемического повреждения, что не корректируется назначением пантенола. Данные изменения наблюдаются на фоне стабильных значений показателя количества продуктов окислительного стресса, реагирующих с N,N-метил-p-фенилдиамином, и активности глутатионпероксидазы, анализируемой с 2-мя субстратами (t-BOOH и H₂O₂).

Содержание селена в плазме крови ишемизированных животных падает с 329,7±11,6 мкг/л до 265,8±12,6 (p<0,05), а назначение пантенола полностью восстанавливает этот показатель до контрольных значений (324,4±17,5 мкг/л).

Установлено, что в стволе головного мозга ишемическое поражение приводит к некоторому изменению соотношения уровня небелковых, белковых и общих тиоловых групп. Назначение пантенола приводило к значительному росту небелковых сульфгидрильных групп на фоне стабильного уровня белковых и общих тиоловых групп данной нейроструктуры. Эти изменения не сопровождались динамикой активности мембраносвязанного тиол-содержащего фермента – ацетилхолинэстеразы. Введение пантенола вызывало существенное активирование глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Активность глутатион-трансферазы, как и уровень тиобарбитуратреагирующих продуктов, в стволе головного мозга не претерпевали изменений во всех случаях воздействия.

В мозжечке подопытных животных активность дегидрогеназ пентозофосфатного цикла активировалась в обеих опытных группах, причем дополнительное увеличение активности 6-фосфоглюконатдегидрогеназы наблюдалось при назначении пантенола.

Полученные данные свидетельствуют, что пантенол может рассматриваться как потенциальный протектор нейронов при ишемии головного мозга и выступать в качестве модулятора редокс-состояния небелкового и белкового тиол-дисульфидного равновесия в структурах.

Работа выполнена при поддержке РФФИ-БРФФИ (проект №Б08Р-106).

Список литературы

1. Мойсеёнок А.Г. (ред.) // Пантенол и другие производные пантотеновой кислоты: биохимия, фармакология и медицинское применение. Матер. междунар. симпозиума – Гродно. – 1998. – 232с.
2. Мойсеёнок А.Г. (ред.) // Биохимия, фармакология и клиническое применение производных пантотеновой кислоты. Сб. научн. статей – Гродно. – 2003. – С. 107–114.
3. Reversible middle cerebral artery occlusion without crainectomy in rats / E. Longa [et al.] // Stroke.– 1989.– Vol. 20.– P. 84–91.

С.Н. Кирко¹, А. Ручинска², Т. Габриляк², В.У. Буко¹

¹ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: hepatology@biochem.unibel.by

²Кафедра общей биофизики, Университет г. Лодзь, 90-237 Лодзь, Польша

АНТИОКСИДАНТНЫЙ ЭФФЕКТ ГЕНИСТЕИН-8С-ГЛИКОЗИДА НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ЛИНИИ СНО

Биофлавоноиды являются продуктами вторичных метаболических путей у растений многих видов. В последнее время на эту группу соединений обращено особое внимание по причине их фармакологического и биохимического действия. Обнаружено противовоспалительное, противовирусное, и, в первую очередь, противоопухолевое действие этих веществ. Очень много публикаций, появляющихся в последнее время, посвящены антиокислительному действию изофлавонов, выделенных из растений. Защитное действие этих соединений основывается, прежде всего, на связывании реактивных форм кислорода, таких как гидроксильный радикал или синглетный кислород. Однако флавоноиды оказывают сильное мутагенное действие, что и является основной причиной возрастающего интереса в изучение молекулярных механизмов их биологической активности.

Целью наших исследований было изучение влияния различных концентраций (1-290 μM) генистеин-8с-гликозида на иммортализацию фибробластов китайского хомячка линии СНО (*Cricetulus griseus*). Для экспериментов использована гликозилированная форма генистеина, генистеин-8с-гликозид, изолированный из цветов Люпина желтого (*Lupinus luteus L.*). Оценка антиоксидантных свойств соединения была проведена в присутствии пероксида водорода (10-150 μM) и витамина С (10 и 30 μM). Цитотоксичное действие генистеина оценено по методу с трипаном синим. Повреждения ДНК изучены с использованием метода «Comet assay». Уровень свободных радикалов измеряли в присутствии флюорохрома DCF.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что генистеин в концентрациях более 10 μM , в отличие от более низких концентраций, оказывает цитотоксичное и генотоксичное действие. Более того, низкие концентрации генистеина (менее 10 μM) оказывают защитное действие на ДНК и уменьшают концентрацию свободных радикалов, индуцированных перекисью водорода. Кроме этого, генистеин повышает антиокислительную активность витамина С, вероятней всего, за счет уменьшения его окисления.

Суммируя итоги данной работы, можно сказать, что гликозилированная форма генистеина в концентрациях до 10 μM ведет себя как антиоксидант, защищая клетки линии СНО от окислительного стресса.

П.А. Киселев¹, Н.А. Бовдей¹, В.-Х. Шунк², Д. Шварц²

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

г. Минск, e-mail: kiselev@iboch.bas-net.by

²Центр молекулярной медицины им. М. Дельбрюка, Берлин, Германия,

e-mail: schunck@mdc-berlin.de

ГЕНОТИП-ЗАВИСИМАЯ МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ БЕНЗ(а) ПИРЕНА И РОЛЬ В ЭТОМ ПРОЦЕССЕ КВЕРЦЕТИНА

В настоящее время считается, что индивидуальная предрасположенность к химическому канцерогенезу, по крайней мере частично, может быть обусловлена генетической вариабельностью ферментов, участвующих в метаболических превращениях физиологически активных веществ эндогенного и экзогенного происхождения. Так, не вызывает сомнений существенная роль в химическом канцерогенезе цитохрома P-4501A1 человека, что связывают с его уникальной метаболической активностью в отношении полициклических ароматических соединений, обладающих промутагенными и проканцерогенными свойствами. К широко известным представителям этого ряда относится бенз(а)пирен (Б(а)П). Между тем, в последние годы обнаружена полиморфность гена цитохрома P-4501A1. Наряду с основным типом гена, обозначаемым *CYP1A1*1A* (соответствующий белок - CYP1A1.1), идентифицированы 10 его вариантов, в некоторых из которых замена нуклеотидов приводит к точечной замене аминокислот (см. www.imm.ki.se/Cyp_alleles). В случае двух из них проведены эпидемиологические исследования. Речь идет о гене *CYP1A1*2B*, кодирующем белок CYP1A1.2, в котором изолейцин в положении 462 заменен на валин, и гене *CYP1A1*4*, которому соответствует белок CYP1A1.4, имеющий вместо треонина в положении 461 аспарат. Распространенность мутантных генов *CYP1A1*2B* и *CYP1A1*4* зависит от вида человеческой популяции, этнических и региональных особенностей и варьируется в пределах от 5 до 33%. На основании эпидемиологических исследований сделан вывод о взаимосвязи между наличием генов *CYP1A1*2B* и *CYP1A1*4* и повышенным риском раковых заболеваний легких и молочной железы. С другой стороны, эпидемиологические исследования позволили также установить, что пища, обогащенная кверцетином, может защищать от возникновения некоторых видов рака легкого. Этот протекторный эффект, в частности, кверцетин (из лука), был максимальным в отношении плоскоклеточной карциномы легких (плоские клетки альвеол несут исключительно *CYP1A1*2*-аллели).

Целью настоящей работы стала характеристика генотип-зависимого превращения Б(а)П в его абсолютно канцерогенное производное – r-7,t-8-дигидрокси-t-9,10-эпокси-7,8,9,10-тетрагидробенз(а)пирен (ДЕ2) и установление роли в этом процессе кверцетина. Для этого были сконструированы бакуловирусные плазмиды, включающие ген дикого типа – *CYP1A1*1* и два его наиболее часто встречающихся мутированных варианта – *CYP1A1*2* и *CYP1A1*4*, и проведена экспрессия соответствующих белков в клетках линии насекомых *Spodoptera frugiperda*. Каталитическая активность полученных рекомбинантных

белков охарактеризована в отсутствии и в присутствии кверцетина в реакции образования ДЕ2. Найдено, что все варианты CYP1A1 катализировали реакцию образования ДЕ2, а кверцетин оказывал заметное влияние на процесс:

Табл. 1. Величины IC_{50} и константы ингибирования кверцетином активностей разных аллельных вариантов CYP1A1 человека в катализируемых ими реакциях эпексидирования (\pm)-транс-7,8-дигидро-7,8-дигидрокси-бенз[а]пирена (7,8-диол-Б[а]П)

Варианты P450	7,8-диол-Б[а]П – эпексидирование ^a		
	IC_{50} (мкМ) ^b	K_i (мкМ) ^c	Тип ингибирования ^d
CYP1A1.1	$1,6 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,4$	Смешанный тип
CYP1A1.2	$4,4 \pm 0,5$	$6,4 \pm 0,6$	Смешанный тип
CYP1A1.4	$7,0 \pm 1,0$	$9,3 \pm 2,4$	Смешанный тип

Примечание: ^a Активности эпексидирования (образование ДЕ2) определяли в системе, включающей варианты CYP1A1 и НАДФН-цитохром-P450-редуктазу. Конечная концентрация цитохрома P-450 во всех случаях была равна 10 нМ. Для анализа продуктов реакции использовали жидкостную хроматографию высокого давления.

^b Эксперименты по определению IC_{50} проводили при концентрации субстрата, равной 2 мкМ. Данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$) для трех независимых определений.

^c Константы ингибирования находили при концентрациях кверцетина в диапазоне от 0 до 10 мкМ и концентрации субстрата равной: 0, 0,5, 1, 2, 4 и 5 мкМ; величины K_i и стандартная ошибка ($M \pm SE$) определены методом нелинейной аппроксимации с использованием пакета программы Sigma Plot-Enzyme Kinetics.

^d Для всех вариантов аппроксимационный анализ приводил к лучшим результатам в рамках модели ингибирования смешанного типа, в сравнении с таковой для конкурентного и значительно лучше, чем неконкурентного типа.

Из таблицы видно, что кверцетин заметно ингибирует реакцию синтеза канцерогена всеми тремя вариантами CYP1A1. Однако наиболее эффективное воздействие оказывает на CYP1A1.1-фермент дикого типа ($IC_{50} = 1,6 \pm 0,3$ мкМ, $K_i = 2,0 \pm 0,4$ мкМ) и примерно в 2-4 раза более слабое на аллельные варианты P450.

Полученные данные обсуждены с точки зрения роли полиморфизма монооксигеназ в риске возникновения и развития химически индуцируемых раковых опухолей и возможных путей профилактики этих патологий.

Н.В. Коновалова, А.Ю. Опарин, Т.П. Пилецкая, И.И. Степура
ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50

ОБРАЗОВАНИЕ ДИТИРОЗИНА И 3-НИТРОТИРОЗИНА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ДИОКСИДА АЗОТА НА ВОДНЫЕ РАСТВОРЫ ТИРОЗИНА

Оксоферрильные формы гемоглобина окисляют тирозин до тирозинильных радикалов, которые взаимодействуют между собой с образованием дитиروزина [1]. Параметры флуоресценции дитиروزина сильно отличаются от параметров флуоресценции тирозина. Поэтому можно легко регистрировать малые концентрации дитиروزина в присутствии высоких концентраций тирозина. Выход дитиروزина возрастает при добавлении в инкубационную смесь трет-бутилгидропероксида (ТБГП) вместо пероксида водорода. Цитохром с и пероксидаза хрена катализировали образование дитиروزина, как в присутствии пероксида водорода, так и в присутствии ТБГП. Каталаза ускоряла образование дитиروزина только в присутствии ТБГП, но не пероксида водорода.

Табл. 1. Образование дитиروزина после инкубации тирозина с гемопротеинами и пероксидом водорода или ТБГП. Концентрация гемопротеинов 1 мкМ, концентрация L-Tyr (или D-Tyr), пероксида водорода или трет-бутилгидропероксида 2 мМ. Принятые сокращения - Hb(III)-метгемоглобин человека, ПОХ-пероксидаза хрена.

Состав раствора	Выход дитиروزина (мкМ)
Hb(III) + D- Tyr + H ₂ O ₂	1,8
Hb(III) + D- Tyr + ТБГП	2,5
ПОХ + L-Tyr + ТБГП	45,9
ПОХ + D-Tyr + ТБГП	17,5
ПОХ + L-Tyr + H ₂ O ₂	13,5
ПОХ + D-Tyr + H ₂ O ₂	8,1

После добавления нитрита к водному раствору, содержащему Hb(III), пероксид водорода и тирозин, наблюдали образование дитиروزина и 3-нитротирозина (табл. 2).

Мы предполагаем, что диоксид азота, генерируемый оксоферрильными формами гемоглобина в присутствии нитрита, при воздействии на тирозин вызывает образование дитиروزина и 3-нитротирозина. Реакция нитрования тирозина, катализируемая оксоферрильными формами гемопротеинов, представляет согласованный двухступенчатый механизм, включающий на первом этапе окисление молекулы тирозина до радикала тирозина, а молекулы нитрита до диоксида азота соответственно. 3-нитротирозин образуется вследствие взаимодействия диоксида азота с тирозильными радикалами.

Табл. 2. Образование дитиروزина и 3-нитротироина после инкубации D-тироина с Hb(III) и пероксидом водорода в присутствии (2-4,6) и в отсутствие нитрита (1 и 5) в 0,05 М калий-фосфатном буфере, рН 7,4. Время инкубации 20 мин. Концентрация Hb(III) 1 мкМ для проб (1-4) и 100 мкМ для проб (5 и 6) Концентрация пероксида водорода была равной 1 мМ для проб (1-4) и 10 мМ для проб (5 и 6).

№		Концентрация нитрита (мМ)	Концентрация дитиروزина (мкМ)	Концентрация 3-нитротироина
1	Hb(III) + Tyr + H ₂ O ₂	0	1,8	0
2	Hb(III) + Tyr + NaNO ₂ +H ₂ O ₂	0,075	2,9	Не определялась
3	Hb(III) + Tyr + NaNO ₂ + H ₂ O ₂	0,2	3,6	Не определялась
4	Hb(III) + Tyr + NaNO ₂ + H ₂ O ₂	1,0	4,9	Не определялась
5	Hb(III) + Tyr + H ₂ O ₂	0	225	0
6	Hb(III) + Tyr + H ₂ O ₂ + NaNO ₂	80	210	255

Разделение тироина, дитиروزина и нитротироина на индивидуальные соединения проводили методом гельфильтрации. Раствор, содержащий Hb(III), тирозин, нитрит и пероксид водорода, после инкубации наносили на колонку с сефадексом G-25, уравновешенную 0,05 М фосфатным буфером рН 7,5. В процессе элюции фосфатным буфером наблюдали последовательный выход четырех отдельных неперекрывающихся пиков, принадлежащих Hb(III), тирозину, дитирозину и 3-нитротирозину. 3-Нитротирозин идентифицировали по наличию полосы поглощения с максимумом в области длин волн 428-430 при рН больше 9,0.

Полученные результаты позволяют заключить, что оксоферрильные формы гемопротеинов и диоксид азота играют важную роль в окислительной трансформации салицилатов, других фенолсодержащих соединений, в образовании межбелковых сшивок с участием тирозильных остатков.

Список литературы

1. Степура, А.И. Тиамин ингибирует образование дитиروزина, специфического маркера окислительного стресса, в реакциях катализируемых оксоферрильными формами гемоглобина / А.И. Степура [и др.] // Биохимия. – 2008. – Т. 73, №9. – С. 1281–1293.

Е.В. Кравченко

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
220141, г. Минск, ул. Акад. Купревича, 2*

E-mail: pharmcenter@it.org.by

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ В РАЗРАБОТКЕ НООТРОПНЫХ СРЕДСТВ

Введение. В последние годы усилия исследователей сосредоточены на изучении поведенческих, фармакологических, генетических и иных аспектов взаимодействия памяти, тревожности, аффективных состояний. Направленность анксиолитического эффекта в зависимости от определенного фенотипа эмоционально-стрессовой реакции убедительно продемонстрирована для бензодиазепинов, афобазола, агонистов центральных холецистокениновых рецепторов, ноопепта и психостимулятора ладастена [1, 2]. Проблема разработки фармакогенетических подходов в терапии ноотропами, несмотря на ее высокую актуальность, до настоящего времени не получила должного развития. Мы предположили возможность качественных различий действия ноопепта (современного дипептидного ноотропного препарата с полимодальным терапевтическим действием, разработанного в ГУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН [3]) или его структурного аналога у животных с генетически обусловленными различиями поведения (вероятно, объясняющимися разницей в функционировании ГАМК- и дофаминергической нейротрансмиттерных систем).

Цель исследования – изучение межлинейных различий в действии ноотропных дипептидов.

Методы исследования. Исследование межлинейных различий в действии ноопепта проводили с использованием инбредных мышей-самцов BALB/c (характеризующихся высоким уровнем тревожности и отвечающих застыванием, испугом на эмоционально-стрессирующее воздействие) и C57Bl/6 (у которых стрессовый ответ сопровождается активацией деятельности и ее продуктивности [1]), и аутбредных мышей-самцов ICR (не имеющих четко выраженных особенностей фенотипа эмоционально-стрессовой реакции). Оценку межлинейных различий в эффектах структурного аналога дипептида проводили с использованием инбредных крыс-самцов SHR (генетически предрасположенных к развитию синдрома дефицита внимания/гиперактивности) и August (без соответствующей наследственной патологии). Влияние ноопепта на процессы габитуации исследовали у мышей ICR и BALB/c, проводя 30-минутную актометрию в условиях групповой высадки в камерах, характеризующихся низкой и повышенной стрессогенностью. Изменения эмоционального статуса под действием ноопепта изучали в Tail suspension test (модель «поведенческого отчаяния») у инбредных мышей BALB/c, C57Bl/6 и аутбредных ICR при 6-минутной экспозиции. Влияние аналога ноопепта на двигательную активность (ДА) крыс SHR и August изучали при индивидуальной 5-минутной актометрии в камерах, характеризующихся повышенной стрессогенностью. Ноопепт вводили в дозе

0,5 мг/кг, однократно, внутривенно, а его структурный аналог - в той же дозе, с использованием того же пути введения 4-кратно.

Результаты. Ноопепт в условиях как низкой, так и повышенной «опасности» экспериментальной камеры облегчает неассоциативное обучение у аутбредных особей, а дисгабитуация у животных с повышенным индивидуальным уровнем тревожности (УТ) поддается терапии только в «безопасных» условиях. Вероятно, в последнем случае имеет место «мягкое» повышение УТ мышей BALB/c, и соответствующая «поломка» неассоциативного обучения в определенной степени (только габитуация локомоций) нивелируется под действием ноопепта, сочетающего ноотропную и анксиолитическую активность. Однако при резком росте анксиогенных реакций в «опасной» обстановке эффективность препарата недостаточно выражена. Ноопепт способствует достоверному увеличению латентного периода наступления первой иммобилизации в условиях неизбежного стресса у «тimidных» мышей BALB/c, что указывает на снижение у них под действием дипептида склонности к депрессивным реакциям. Отмечены качественные различия в эффектах ноопепта на поведение инбредных особей BALB/c и C57Bl/6, аутбредных мышей ICR в тесте «поведенческого отчаяния».

Структурный аналог ноопепта вызывает повышение горизонтальной ДА крыс линии August на 147,1% от уровня контроля (крысы August, плацебо), наряду с этим – снижает соответствующие показатели у инбредных крыс SHR до 80,4% от уровня контроля (крысы SHR, плацебо).

Заключение. Имеющиеся данные показывают, что эффекты ноотропных дипептидов наиболее отчетливы у инбредных животных с генетически нарушенным поведением (мыши линии BALB/c и крысы линии SHR). Поскольку поведенческий ответ опосредуется специфичными для фенотипа нейрохимическими изменениями [1], то у субъектов с генетически обусловленной патологией имеются соответствующие молекулярные мишени для фармакологической коррекции. Учет генетических факторов является необходимым звеном в рационализации фармакотерапии ноотропными средствами.

Список литературы

1. Середенин, С.Б. Фармакология тревожно-стрессовых расстройств /С.Б. Середенин // Актуальные вопросы кардиологии, неврологии и психиатрии. – Москва. – 2007. – С. 242–263.
2. Поведение мышей разных линий – модификации под влиянием ноопепта / А.П. Бельник [и др.] // Журн. высш. нервн. деят. – 2007. – Т. 57, № 5. – С. 613–617.
3. Synthesis and antiamnesic activity of a series of N-acylprolyl-containing dipeptides / Т.А. Gudasheva [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 1996. – Vol. 31, № 2. – P. 151–157.

Е.В. Кравченко, Л.В. Максимова

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»

220141, г. Минск, ул. Купревича, 2, e-mail: 401_behavdpt@bk.ru

ВЛИЯНИЕ ЗООСОЦИАЛЬНОГО ФАКТОРА НА ГАБИТУАЦИЮ ЛОКОМОЦИИ У ЛИНЕЙНЫХ МЫШЕЙ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ТРЕВОЖНОСТИ

Габитуация (привыкание) – одна из наиболее элементарных форм неассоциативного обучения, одним из проявлений которой является ослабление во времени исследовательско-ориентировочной реакции на новую обстановку вследствие ее оценки как биологически незначимой. Нарушения габитуации характерны для ряда патологических процессов. Нейрохимические, психофармакологические, нейрогенетические исследования показали многоуровневое взаимодействие мнестических функций, устойчивости к стрессу и тревожности. С целью изучения особенностей габитуации при патологически повышенной тревожности целесообразно проведение экспериментов на животных с генетически обусловленными нарушениями тревожно-фобического статуса. Учитывая, что мыши – социальные животные, представляет интерес установить роль зоосоциального фактора в габитуации у животных, отличающихся фенотипом эмоционально-стрессовой реакции.

Цель исследования – сравнительный анализ габитуации локомоции у инбредных мышей BALB/c (обладающих патологически высоким уровнем тревожности и предложенных в качестве модели генерализованных тревожных расстройств) и C57Bl/6 (низкотревожных) в условиях зоосоциальных взаимодействий и при индивидуальной актометрии.

Методы исследования. Исследования проведены на мышах-самцах в возрасте 2-3-х месяцев. Для изучения процесса габитуации в условиях зоосоциальных взаимодействий использовано 3 группы животных линии BALB/c и 6 групп мышей линии C57Bl/6, по 10 особей в каждой группе. Эксперименты при индивидуальной актометрии проведены на 7-и мышах BALB/c и 17-и мышах C57Bl/6.

Оценку показателей габитуации локомоции проводили на протяжении 60 мин с помощью многоканального регистратора двигательной активности в камерах с высокой стрессогенностью (большая камера – 41 см x 44 см x 32 см, без опилок, поилки, кормушки). В качестве основного критерия, характеризующего неассоциативное обучение, использовали коэффициент угашения горизонтальной двигательной активности ($K_{\text{угаш. ГДА}}$), рассчитанный как отношение числа горизонтальных движений за последние 5 мин. к числу горизонтальных движений за первые 5 мин.

Процесс габитуации описывали с помощью уравнения линейной регрессии; для построения прямой $y=a+bx$ использовали натуральные логарифмы значений ГДА, полученных в результате актометрии. При этом коэффициент a характеризует исходный уровень ГДА (чем выше a , тем выше начальная локомоторная активность), а коэффициент b отражает выраженность привыкания (чем ниже значения b , тем более выражено неассоциативное обучение).

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием методов непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни и критерий Фридмана с post-hoc анализом по Ньюмену-Кейлсу). При оценке достоверности различий коэффициентов уравнений линейной регрессии использовали t критерий Стьюдента. Обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения Origin 6.1, Statistica 6.0, Biostat.

Результаты. Анализ $K_{\text{угаш. гДА}}$ на протяжении всего периода регистрации показал существенные межлинейные различия габитуации локомоции. У мышей BALB/c по сравнению с животными C57Bl/6 отмечены достоверные нарушения неассоциативного обучения в последние 10 мин наблюдения при обоих режимах эксперимента ($p < 0,05$; критерий Манна-Уитни). При индивидуальной актометрии у мышей линии BALB/c статистически значимых изменений $K_{\text{угаш. гДА}}$ относительно исходного уровня на всем протяжении опыта отмечено не было ($p > 0,05$; критерий Фридмана). В то же время у C57Bl/6 в тех же условиях продолжительность периода выраженной габитуации, когда названный критерий достоверно снижался относительно исходных цифр, составил 54,6% от общего времени регистрации (ОВР) ($p < 0,05$; критерий Фридмана с post-hoc анализом по Ньюмену-Кейлсу).

При групповой высадке период выраженной габитуации, сопровождающийся существенным снижением $K_{\text{угаш. гДА}}$, составил 18,2% от ОВР у мышей линии BALB/c и 45,5% – у C57Bl/6 ($p < 0,05$; критерий Фридмана с post-hoc анализом по Ньюмену-Кейлсу). Полученные данные показывают, что габитуация у особей C57Bl/6 более выражена, чем таковая у BALB/c, как в отсутствие, так и на фоне зоосоциальных взаимодействий. Зоосоциальный фактор оказывает отчетливое облегчающее влияние на габитуацию у мышей BALB/c в условиях повышенной «опасности» экспериментальной камеры, что может объясняться снижением уровня ее стрессогенности на фоне внутривидовых контактов.

Анализ полученных результатов с применением метода линейной регрессии подтвердил наличие значительных нарушений неассоциативного обучения у мышей линии BALB/c в сравнении с особями линии C57Bl/6 как при индивидуальной актометрии, так и в условиях действия зоосоциального фактора. Углы наклона прямых, описывающих процесс габитуации (значения коэффициента b), у инбредных мышей обеих линий при высадке поодиночке существенно больше таковых в групповом эксперименте ($p < 0,001$; критерий Стьюдента), что указывает на усиление габитуации при групповой высадке.

Заключение. Полученные данные позволяют сделать вывод о сниженной способности к неассоциативному обучению у инбредных мышей BALB/c в сравнении с C57Bl/6 как в отсутствие, так и на фоне зоосоциальных взаимодействий. Зоосоциальный фактор оказывает значимое влияние на габитуацию локомоции у мышей обеих использованных линий, более выраженное у особей BALB/c, характеризующихся генетически обусловленным патологически высоким уровнем тревожности.

Е.В. Кравченко, Л.М. Ольгомец

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,

220141, г. Минск, ул. Акад. Купревича, 2

E-mail: pharmcenter@it.org.by

РАЗВИТИЕ ДЕСИНХРОНОЗА У СУБМИССИВНЫХ МЫШЕЙ ПОСЛЕ МНОГОКРАТНЫХ ДИАДНЫХ АГОНИСТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Введение. Изучение ритмических процессов в организме, в том числе – выявление устойчивых закономерностей и определение степени выраженности нарушений ритмов при патологиях различной этиологии – одна из наиболее актуальных задач медицины. Известно, что стрессирование, невротические состояния сопровождаются дезорганизацией биологических ритмов [1, 2]. Основываясь на имеющихся данных, можно предположить, что стресс агонистических контактов, модулирующий реактивность доминантных и субмиссивных особей [3], существенно влияет на их циркадные ритмы двигательной активности (ЦР ДА). Разработка средств коррекции нарушений ЦР ДА осложняется отсутствием соответствующей методологической базы; до настоящего времени не предложены валидированные модели развития десинхроноза, вызванного агрессивными контактами.

Цель исследования – оценка влияния многократно повторяющегося зоосоциального стресса на ЦР ДА и развитие десинхроноза у мышей.

Методы исследования. Исследования проведены на взрослых аутбредных белых мышах-самцах ICR массой 37-49 г. Исследование состояло из 5-и стадий: 1-я (подготовительная) стадия – отбор субмиссивных особей с использованием «парадигмы колонии»; 2-я стадия – помещение животных в камеры актометров и 3-суточная адаптация их к условиям бокса (*день 1-3*); 3-я стадия - непрерывная регистрация показателей, характеризующих ЦР ДА, на протяжении 7 суток (*день 4-10*); 4-я стадия – ежедневное 4-суточное моделирование внутривидового агрессивного поведения в диадном тесте по общепринятой схеме «резидент – интродер», где все субмиссивные животные (интродеры) выступали в роли «жертвы», с ежедневной регистрацией ЦР ДА (*день 11-14*); 5-я стадия – регистрация ЦР ДА на протяжении 1 суток через 24 часа после окончания стрессирующего воздействия (*день 15*). Формировали 2 экспериментальных группы: 1) группа 1 – субмиссивные животные, не подвергавшиеся стрессу агонистических взаимодействий (СAB), n=7; 2) группа 2 – субмиссивные животные, пережившие СAB, n=7. Диадный тест проводили в 11.30 – 12.30 в условиях физического контакта резидента (доминантный самец) и интродера (субмиссивный самец) в темноте при свете красной лампы на протяжении 10 минут; самцы - резиденты находились в знакомой им «домашней» пластиковой клетке, подстилку перед тестированием не меняли по меньшей мере 3 часа. Каждый самец-резидент взаимодействовал ежедневно только с 2-мя субмиссивными самцами, ни с одним из которых до этого не встречался. В качестве базисных критериев, характеризующих моторику животных, использовали показатели «горизонтальная двигательная активность» (ГДА) и

«вертикальная двигательная активность» (ВДА), оцениваемые с помощью многоканального регистратора двигательной активности. Высадку мышей в камеры актометров осуществляли в 12.20, запись биоритмов осуществляли на протяжении 24 часов в темноте при свободном доступе к воде и пище.

Результаты исследования. Показано, что исходно (до САВ) ЦР ДА в группах сравнения сопоставимы: статистически достоверные межгрупповые различия по показателю ГДА отмечены только в единичном случае, по показателю ВДА – отсутствуют. САВ ведет к выраженному снижению ГДА и ВДА и к нарушению ЦР ДА у животных 2-й экспериментальной группы. Так, межгрупповые различия уровня ГДА статистически значимы в 1-е – 4-е сутки – в двух, четырех, четырех и одном интервалах регистрации, а ВДА - в одном, трех, одном и одном интервалах регистрации, соответственно (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$). Спустя сутки после САВ, несмотря на отсутствие зоосоциального конфликта накануне актометрии, межгрупповые различия уровня ГДА статистически значимы в трех, ВДА – в двух интервалах регистрации (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$). Уровень локомоции и число вертикальных стоек в период «пиковой» активности ЦР ДА (19.20 – 23.20) у мышей 2-ой экспериментальной группы в период САВ всегда ниже контрольных значений, однако межгрупповые различия не достигают уровня статистической значимости.

Заключение. Многократно повторяющийся стресс агонистических взаимодействий ведет к выраженному снижению двигательной активности и десинхронозу у субмиссивных особей, участвовавших в них.

Список литературы

1. Дубровина, Н.И. Дофаминергические механизмы памяти и внимания / Н.И. Дубровина, Л.В. Лоскутова // СО РАМН. – Новосибирск. – 2003.
2. Арушанян, Э.Б. Тофизопам и мелатонин ослабляют перестройку ритма суточной подвижности крыс при инъекционном стрессе / Э.Б. Арушанян, А.В. Попов // Эксп. и клин. фармакол. – 2006. – Т.69, № 2. – С. 14–17.
3. Вековищева, О.Ю. Реактивность лабораторных мышей в фармакологических тестах в зависимости от зоосоциального статуса / О.Ю. Вековищева, Э.Э. Звартау // Эксперим. и клинич. фармакол. – 1999. – Т. 62, № 1.– С. 6–11.

Е.В. Кравченко, И.В. Понтелева

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»
220141, г. Минск, ул. Акад. Купревича, 2, e-mail: pharmcenter@it.org.by*

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ОЛИГОПЕПТИДОВ В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ЭПИЛЕПСИИ

Актуальность проблемы терапии эпилепсии не вызывает сомнений из-за широкой распространенности заболевания, ее тяжелой социальной и экономической стигматизации не только для больного и его родственников, но и для общества в целом. Сочетание эпилептических припадков с нарушениями в

высшей психической сфере (когнитивные нарушения; эпилептические психозы; изменения эмоционально-аффективной сферы) препятствует социальной адаптации пациентов, накладывает печать на их поведение и ухудшает качество жизни. У большинства больных эпилепсией отмечаются мнестико-интеллектуальные дефекты: расстройства внимания и памяти, снижение умственной работоспособности и способности к обучению, снижение запаса представлений, олигофазия, эпилептическая деменция. Имеющиеся данные позволяют предположить, что комбинированное использование антиэпилептических препаратов (АЭП) с олигопептидами, характеризующимися ноотропной активностью, может в определенной степени нивелировать когнитивные нарушения, вызываемые течением основного заболевания, а также развивающиеся вследствие применения АЭП, повысить их эффективность и снизить побочные действия.

Цель исследования – анализ литературных данных и результатов собственных исследований для определения перспектив применения олигопептидов в комплексной терапии эпилепсии.

Возросший интерес клиницистов к применению пептидов как психотропных средств обусловлен их нейротрансмиссивной, модулирующей и регуляторной активностью в отношении центральной нервной системы. Многие средства олигопептидной природы (органопрепараты – церебролизин, кортексин, малые концентрации антител к биологически значимым эндогенным субстанциям – пропротен-100, тенотен, синтетические пептиды – семакс, селанк, дельтаран, алапид, ноопепт) нашли применение в клинике в составе комплексной и монотерапии [1].

В исследованиях последних лет показана роль веществ пептидной природы в процессе ингибирования эпилептической активности [1]. Нейропептиды являются важнейшими межклеточными регуляторами и ко-медиаторами (модуляторами) в нервной системе; они могут выполнять как функцию понижения возбудимости (тиролиберин, тахикинины, мелатонин) нейронов головного мозга и нервных сетей, так и провоцировать судорожные припадки (эндотелины, кортиколиберин и др.). Получены приоритетные данные о блокировании галанином (эндогенным антиконвульсантом, действующим посредством галаниновых рецепторов) корково-таламического рекрутирования пик-волновых разрядов при генетически обусловленных абсансах у крыс линии WAG/Rij [2]. С использованием моделей фебрильных и аудиогенных судорог, а также судорог, инициированных максимальным электрошоком и пентилентетразолом, установлено противосудорожное действие аргинин-вазопрессина, пептида, активирующего аденилатциклазу гипофиза (PACAP), пептидов из клеток паука *Hysteroecates gigas*, селективно блокирующих кальциевые каналы класса E, и конопептидов. Показано, что интраназальное введение в ультрамалых дозах тиролиберина вызывает торможение судорожной активности мозга, что осуществляется только при действии полной молекулы, но не его метаболита His-Pro. Отмечено усиление противосудорожных эффектов

карбамазепина при его сочетанном применении с дельта-сон индуцирующим пептидом.

Учитывая вышесказанное, а также появление ноотропных средств пептидной природы, перспективна разработка комплексных схем терапии, включающих, наряду с АЭП, пептиды с ноотропной активностью, особенно короткие (ди-тетра-) пептиды, улучшающие высшие интегративные функции мозга. Ноопепт – современный ноотропный препарат, разработанный в НИИ фармакологии РАМН [3]. Дипептид ноопепт обладает антиоксидантными, нейропротективными, противовоспалительными, иммуномодулирующими свойствами, что имеет большое значение на ранних стадиях нейродегенеративного процесса. На первом этапе экспериментальных исследований, проведенных ГУ НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси» совместно с НИИ фармакологии РАМН, показана способность ноопепта усиливать противосудорожное действие малых доз вальпроевой кислоты.

Заключение. Литературные данные и результаты собственных исследований указывают на целесообразность дальнейшего углубленного изучения возможности потенцирования олигопептидами противосудорожного действия АЭП, снижения побочных эффектов АЭП и устранения мнестико-интеллектуального дефекта у больных эпилепсией.

Список литературы

1. Шабанов, П.Д. Пептидные нейропротекторы / П.Д. Шабанов // Психофармакол. биол. наркол. – 2007. – Т. 7, Спец. вып. Ч. 2. – С. 2.
2. Galanin modulation of seizures and seizure modulation of hippocampal galanin in animal models of status epilepticus / A.M. Mazarati [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 1998. – Vol.18 (23). – P. 10070–10077.
3. Synthesis and antiamnesic activity of a series of N-acylprolyl-containing dipeptides / T.A. Gudasheva [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 1996. – Vol. 31, № 2. – P. 151–157.

Е.В. Кравченко, А.И. Суrowец

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»

220141, г. Минск, ул. Акад. Купревича, 2, e-mail: 401_behavdpt@bk.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ДИПЕПТИДА А-702 НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ АУТБРЕДНЫХ МЫШЕЙ ICR

В последние десятилетия для коррекции нарушений психической деятельности используют лекарственные средства пептидной природы. Высокий интерес к использованию олигопептидов как возможных психотропных средств обусловлен их нейротрансмиссивной, модулирующей и регуляторной активностью в отношении центральной нервной системы. Особенно важно, что зачастую небольшие фрагменты молекул нейропептидов характеризуются той же биологической активностью, что и их эндогенный предшественник. В связи с

этим, а также с учетом технологических соображений и вопросов стабильности, перспективным является изучение фармакологических свойств коротких пептидов. Многие препараты пептидной природы нашли применение в клинике в составе комплексной и монотерапии психических заболеваний (церебролизин, кортексин, семакс, селанк, дельтаран, алапид, ноопепт и др.). Интенсифицировалась разработка средств пептидной природы (в том числе – производных холецистокинина) для фармакологической коррекции состояний тревоги, депрессии и астении [1 - 3]. Вместе с тем, до настоящего времени до конца не решена проблема разработки высокоэффективного средства, применяемого для терапии психоэмоциональных расстройств, на основе олигопептидов.

Целью исследования является оценка влияния соединения А-702 на двигательную активность (ДА) и уровень тревожности (УТ) аутбредных мышей-самцов ICR.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 40 аутбредных мышах-самцах ICR массой 37-45 г. В качестве базисных критериев оценки двигательной активности (ДА) использовали следующие показатели: горизонтальная двигательная активность (ГДА, усл. ед.) и вертикальная двигательная активность (ВДА, усл. ед.), время неактивности (ВН, с), продолжительность нахождения животных в угловых зонах от общего времени, проведенного в камере актометра (УЗ, %), в боковых зонах (БЗ, %), в центральной зоне (ЦЗ, %), а также время нахождения в этих зонах (УЗ, с; БЗ, с; ЦЗ, с; соответственно). Маркером повышенной тревожности считали снижение относительно контроля показателя ЦЗ (%), ЦЗ (с).

Оценка показателей ГДА и ВДА проводилась на протяжении 60 мин в многоканальных регистраторах двигательной активности отечественного производства. Размеры камеры автоматического регистратора составляют 32 см х 22 см х 19 см. Поведенческие реакции оценивали в обогащенной среде обитания (подстилка, кормушка, поилка). Эксперименты проведены с 10.30 до 12.30, в зимний период года.

Формировали 4 экспериментальных группы: мышам групп 1-3 применяли внутрибрюшинно за 1 час до актометрии соединение А-702 в дозах 0,01 мг/кг, 0,5 мг/кг, 5,0 мг/кг; особям группы 4 назначали плацебо по той же схеме. Статистическую обработку при соответствии показателей критериям «нормальности» вели с применением однофакторного дисперсионного анализа ANOVA, в противном случае использовали ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса с последующим множественным сравнением с помощью критерия Дана или критерий Манна-Уитни. При обработке результатов экспериментов использовали статистические программы Statistica 6.0, Biostat, Excel-2000.

Результаты. Показано, что соединение пептидной природы А-702 дозозависимо изменяет ДА и УТ аутбредных мышей-самцов ICR. При введении дипептида в низкой дозе (0,01 мг/кг) отмечено статистически значимое повышение, в высокой (5,0 мг/кг) и промежуточной дозе (0,5 мг/кг) –

достоверное снижение значений ВН относительно контроля в первые 5 мин регистрации ($p < 0,05$, ANOVA). Существенное снижение значений названного критерия имеет место и при введении дипептида в дозе 0,5 мг/кг при 60-минутном наблюдении.

Введение дипептида в дозе 0,01 мг/кг сопровождается статистически значимым снижением продолжительности нахождения животных в ЦЗ – в 3,1 раза относительно контроля ($p < 0,05$, ANOVA), что может указывать на определенный анксиогенный эффект соединения А-702 в этой дозе. Вместе с тем, при использовании в дозах 0,5 мг/кг и 5,0 мг/кг действие соединения в отношении названного критерия имеет противоположную направленность. Статистически значимые различия выявлены между эффектами дипептида при его назначении в дозах 0,01 мг/кг и 0,5 мг/кг по критериям ВН за 5 мин и за 60 мин, УЗ (%) за 30 мин и УЗ (с) за 30 мин, БЗ (%) за 30 мин и БЗ (с) за 30 мин, а при введении в дозах 0,01 мг/кг и 5,0 мг/кг – по критериям ВН за 5 мин и за 60 мин.

Заключение. Полученные данные указывают на целесообразность дальнейшего экспериментального исследования влияния соединения А-702 на психоэмоциональный статус с использованием расширенной батареи поведенческих тестов.

Список литературы

1. Середенин, С.Б. Фармакология тревожно-стрессовых расстройств / С.Б. Середенин // Актуальные вопросы кардиологии, неврологии и психиатрии, М., 2007. – С. 242–263.
2. Fink, H. Major biological actions of ССК – a critical evaluation of research findings / H. Fink [et al.] // *Experim. Brain Res.*, 1998. – V. 123, № 1-2. – P. 77–83.
3. Gudasheva, T.A. Design and synthesis of cholecystokinin-4 dipeptide analogues with anxiolytic and anxiogenic activities / T.A. Gudasheva [et al.] // *Rus. Journal of Bioorganic Chemistry*, 2007. – V. 33, № 4. – P. 383–389.

О.Я. Лукивская, Ю.В. Попов, В.У. Буко

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50*

ВЛИЯНИЕ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА И СТАТИНОВ НА РАЗРЕШЕНИЕ ТИОАЦЕТАМИДНОГО ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

Обратимость фиброза печени зависит от этиологических факторов, продолжительности процесса и топографии фиброза. Тиоацетамидный (ТАА) фиброз трудно обратим спонтанно, тогда как можно достигнуть его обратимости фармакологическим путём. Таким образом, разрешение фиброза может служить хорошей моделью для тестирования потенциальных антифибротических средств. В настоящем исследовании мы изучали, насколько пентоксифиллин (ПТФ), ингибитор главного профиброгенного цитокина TNF α , и статины, симвастатин (СИМ) и флувастатин (ФЛУ), способны обратить развившийся фиброз печени.

Крысы-самцы линии Вистар, весом 230-240 г, получали ТАА (200 мг/кг, в/бр) в течение 12 нед., 2 раза в неделю для развития фиброза/цирроза. После отмены ТАА, животным, 6 группам, получавшим ТАА вводили ПТФ (10 и 20 мг/кг), СИМ (5 и 10 мг/кг), ФЛУ (10 мг/кг) или физраствор (плацебо) в течении 8 недель через желудочный зонд. Степень фиброза оценивали морфометрией срезов печени, окрашенных по Азан-Мэллори, определением оксипролина (ОП). Экспрессию мРНК проколлагена 1, коллагеназы MMP-13 и её ингибитора TIMP-1 определяли в общей РНК печени методом QRT-PCR используя технику TaqMan. Уровень сывороточного TNF α определяли методом ELISA.

3-месячное введение ТАА вызывало микро/макронодулярный фиброз печени с выраженным и завершённым формированием септ. Площадь соединительной ткани, окрашенной по Азан-Мэллори повышалась у этих крыс почти в 7 раз, относительный уровень ОП в печени более, чем в 2,5 раза а содержание TNF α сыворотки - более, чем в 2 раза. Отмена ТАА приводила к умеренной регрессии фиброза, о чём свидетельствует снижение площади соединительной ткани, тогда как содержание ОП в печени и TNF α в сыворотке не изменялись. Обе дозы ПТФ уверенно снижали накопление соединительной ткани в печени, при этом только высокая доза ПТФ (20 мг/кг) достоверно снижала содержание ОП в печени и TNF α в сыворотке. Обе дозы ПТФ сходным образом повышали экспрессию интерстициальной коллагеназы MMP-13, тогда как экспрессия проколлагена 1 и TIMP-1 не изменялись. Введение большей дозы СИМ (10 мг/кг) значительно снижало площадь соединительной ткани, окрашенной по Азан-Мэллори по сравнению с плацебо, тогда как низкая доза СИМ (5 мг/кг) и ФЛУ не влияли на этот показатель. Изучаемые статины не изменяли содержание общего и относительного ОП в печени, но снижали экспрессию мРНК проколлагена 1, TIMP-1 и TGF β 1, и транскрипты MMP-3 и MMP-2. Интересно, что обе дозы СИМ повышали уровень экспрессии мРНК интерстициальной коллагеназы, MMP-13, тогда как ФЛУ не влиял на этот показатель.

ПТФ в дозе 20 мг/кг усиливает частичную регрессию фиброза печени, вызванного ТАА. Статины со сходными липидснижающими свойствами имеют различную противофиброзную активность. Симвастатин проявляет более выраженный, чем у флувастатина умеренный проивофиброзный эффект. Этот феномен может быть связан с различиями в индукции MMP-13. Результаты свидетельствуют о противофиброзном потенциале ПТФ и СИМ, которые могут быть применены у пациентов для предотвращения прогрессирования фиброза печени.

С.В. Лупачик, Л.И. Надольник

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК-50, e-mail: lnadolnik@tut.by*

ВЫДЕЛЕНИЕ И СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТИРЕОГЛОБУЛИНА ИЗ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС, ПОТРЕБЛЯВШИХ НОРМАЛЬНЫЕ И ПОВЫШЕННЫЕ КОЛИЧЕСТВА ЙОДА

Тиреоглобулин, основной белок щитовидной железы (ЩЖ), депонируется в люмене тиреоидных фолликулов как растворимый димер (19S, 2×330 кДа), тетрамер (27S, 4×330 кДа) или нерастворимый мультимер, является предшественником тиреоидных гормонов (Т₃ и Т₄). Йодирование тирозильных остатков тиреоглобулина и их сочетание катализируется ТПО. Впервые ингибирующий эффект йодида на собственное включение в структуру тиреоглобулина у крыс был отмечен Wolff и Chaikoff в 1948 году. Введение йодида крысам, содержащимся на йод-дефицитной диете, приводило к увеличению содержания йода в тиреоглобулине уже через 1 час [1]. Ингибирование йодидом собственного окисления и органификации является временным эффектом, биосинтез тиреоидных гормонов восстанавливается через несколько часов или дней. Продолжительное введение ВДЙ является причиной увеличения биосинтеза 19S тиреоглобулина и содержания в нем моно-, дийодтирозина и тироксина [2]. Следует отметить, что повышение содержания атомов йода в молекуле тиреоглобулина усиливает ее иммуногенность и считается одним из патогенетических факторов, способствующих развитию аутоиммунного тиреоидита [3,4]. С другой стороны, отмечается также снижение экспрессии мРНК тиреоглобулина при длительном потреблении избыточных доз йодида [5].

Цель проведенного исследования: выделить высокоочищенный тиреоглобулин из ЩЖ контрольных и получавших высокие дозы йода крыс, оценить влияние повышенного потребления йодида калия на степень йодирования белка.

Для выделения тиреоглобулина из ЩЖ были использованы следующие стадии: сульфат аммонийное фракционирование, гель-хроматография на TSK-gel Toyopearl HW-60F. Исходным материалом для выделения белков служили ЩЖ крыс (масса 150-200 мг): – контрольных и получавших 10 суточных доз йодида калия (СДЙ) в течение 2-х недель. В работе использовали выделенную цитозольную фракцию ЩЖ, содержащую растворимые белки. Для гель-хроматографии использовалась цитозольная фракция 40-50% насыщения сульфатом аммония. В пробах проводили определение белка по методу Лоури, содержание йодида определяли каталитическим церий-арсенитным методом.

Установлено, что степень йодирования тиреоглобулина выделенного из ЩЖ контрольных животных, составила 3,33±0,06 мкг йодида на мг белка, степень йодирования тиреоглобулина, выделенного из ЩЖ крыс, получавших 10 суточных доз йодида калия на протяжении 2 недель, увеличилась в 1,6 раза и

равнялась $5,4 \pm 0,30$ мкг йодида на мг белка. При электрофоретическом исследовании тиреоглобулина в 5% ПААГ были получены доказательства его высокой степени очистки – одна белковая полоса свидетельствует об электрофоретической гомогенности выделенного тиреоглобулина.

Список литературы

1. Valenta, L.J. Acute effects of iodine on the stimulated rat thyroid / L.J. Valenta, W.C. Florsheim, B.S. Sharma // *Endocrinology*. – 1982. – Vol. 111, № 5. – P. 1721–1727.
2. Tarutani, O. The effect of iodide administration on hog thyroid gland and the composition of thyroglobulin and 27-S iodoprotein / O. Tarutani, T. Kondo, K. Horiguchi-Sho // *Endocrinol. Jpn.* – 1975. – Vol. 22, № 5. – P. 389–397.
3. Induction of autoimmune thyroiditis in chickens by dietary iodine / N. Bagchi [et al.] // *Science*. – 1985. – Vol. 230, № 4723. – P. 325–327.
4. Iodide induces thyroid autoimmunity in patients with endemic goitre: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial / G.J. Kahaly [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 1998. – Vol. 139, № 3. – P. 290–297.
5. Increased expression of tumor necrosis factor- α and decreased expression of thyroglobulin and thyroid peroxidase mRNA levels in the thyroids of iodide-treated BB/Wor rats / K. Mori [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 1998. – Vol. 139, № 5. – P. 539–545.

**Ю.З. Максимчик¹, Е.Ю. Судникович¹, И.К. Дремза¹, В.Т. Чещевик²,
С.В. Забродская¹, Т.Ф. Ларина¹, Е.А. Лапшина¹, И.Б. Заводник^{1,2}**

¹ГУ «НПЦ «Институт биохимии и фармакологии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50

²Гродненский государственный университет им. Я. Купалы,
230009, г. Гродно, пер. Доватора, 3/1

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ МЕЛАТОНИНА ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОМ И ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

Целью настоящих исследований является разработка способов направленной коррекции диабетических и токсических поражений органов и тканей с целью снижения риска долговременных осложнений указанных патологических состояний. Продолжая поиск способов коррекции окислительных повреждений при диабете, интоксикации, воспалении мы протестировали метаболические эффекты мелатонина, гормона эпифиза, антиоксидантные и радикал-скэвенджерные свойства которого широко исследуются. Ранее нами было показано, что мелатонин является эффективным скэвенджером алкоксильных и пероксильных радикалов, ингибирует реакции перекисного окисления липидов в модельных системах, обладает цитопротекторными свойствами.

Введение мелатонина (10 мг/кг массы тела, внутривентриально, 18 дней) экспериментальным животным при диабете не влияло на уровень

гипергликемии или гликозилированного гемоглобина, оказывало малый эффект на активности антиоксидантных ферментов. В то же время введение мелатонина частично восстанавливало активность ферментов пентозофосфатного пути, G6PDH и транскетолазы, и каталазы в печени крыс. Наиболее значимым является факт уменьшения уровня окиси азота в плазме крови и аорте после введения мелатонина диабетическим крысам. Поскольку введение мелатонина диабетическим крысам приводило к значительному уменьшению повышенной концентрации окиси азота, в экспериментах *in vitro* мы оценили возможность взаимодействия мелатонина с окисью азота, высвобождаемой молекулой NO-донора, нитрозоглутатиона, и показали образование нитрозомелатонина. Полученные результаты указывают на то, что регуляция биодоступности монооксида азота является одним из возможных механизмов защитного действия мелатонина, который способен выступать либо в качестве скэвенджера оксида азота либо ингибировать одну из изоформ NO-синтазы. Полученные нами данные позволяют сделать вывод о том, что мелатонин можно рассматривать в качестве фактора, регулирующего при диабете активность ферментов метаболизма глюкозы (G6PDH), и фактора, регулирующего редокс-баланс тканей и биодоступность NO.

Острое токсическое поражение печени крыс тетрахлорметаном (2,5 мл/кг веса тела животного) сопровождалось развитием окислительного стресса и дисфункцией митохондрий, которая проявлялась в полном разобщении процессов окисления и фосфорилирования и резком уменьшении скорости потребления кислорода, сопряженного с фосфорилированием, что, вероятно, связано с нарушением целостности внутренней митохондриальной мембраны образующимися свободными радикалами. Одновременно мы наблюдали уменьшение уровня восстановленного глутатиона в митохондриях печени крыс (на 25%, $p < 0,05$), возрастание активности глутатионпероксидазы (на 50%, $p < 0,05$), выраженную инактивацию сукцинатдегидрогеназы (комплекс II дыхательной цепи) (на 35%, $p < 0,05$), возрастание содержания окиси азота в плазме крови (на 45%, $p < 0,05$). Ведение мелатонина (10 мг/кг, 3 раза в сутки в/б) животным на фоне интоксикации приводило к увеличению дыхательной активности митохондрий (скорость фосфорилирующего окисления при сукцинат-зависимом дыхании возрастала на 30%, $p < 0,05$), деполяризации митохондрий, но не предотвращало в значительной степени развитие дисфункции митохондрий. Мелатонин, как мы продемонстрировали, снижал накопление окиси азота в плазме крови крыс при интоксикации и препятствовал развитию некротических и дистрофических изменений в печени крыс.

Таким образом, мелатонин способен регулировать клеточные, в том числе митохондриальные процессы, уменьшая степень структурных и функциональных нарушений ткани печени при диабете и интоксикации.

В.В. Михеев, П.Д. Шабанов

Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова,

г. Санкт-Петербург, e-mail: pdshabanov@mail.ru

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОЛЕПТИКА СУЛПИРИДА НА МЕЖПОЛУШАРНУЮ АСИММЕТРИЮ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ МЫШЕЙ ДВУХ ЛИНИЙ

Цель работы. Исследование влияния селективного антагониста D₂-рецепторов дофамина на индивидуальное поведение мышей двух линий в условиях функционирования целого мозга и при временном выключении одного из полушарий. **Материалы и методы.** Опыты проводили на взрослых половозрелых самцах мышей линий C57BL/6 и DBA/2 (n=50 в обоих случаях). «Открытое поле» представляло собой квадратную площадку (60 x 60 см) с 9 отверстиями, диаметром 20 мм. Запись этограммы проводилась с помощью персонального компьютера по программе OPEN FIELD. В течение 3 мин. регистрировали суммарную продолжительность локомоции, подъёмов на задние лапы, заглядываний в отверстия, движения на месте и груминга [1]. Временную инактивацию одного из полушарий достигали с помощью метода распространяющейся депрессии [2]. Для этого за двое суток до начала опытов в кости черепа над соответствующим полушарием высверливалось отверстие диаметром около 1 мм. За 20 мин до опыта через это отверстие на кору мозга апплицировали кусочек фильтровальной бумаги, смоченной 25% раствором калия хлорида. Сулпирид вводили внутривентрикулярно в дозе 10 мг/кг, объёмом 0.1 мл на 10 г массы животного за 15 мин до начала эксперимента [3]. Контрольные особи получали аналогичное количество изотонического раствора натрия хлорида. Полученные данные обрабатывали статистическими методами с использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты исследований. У контрольных мышей линии C57BL/6 суммарная продолжительность локомоции составила 94.2 ± 7.77 с, а у особей линии DBA/2 – 57.8 ± 5.58 с, то есть имели место межлинейные различия ($p < 0.01$). В то же время продолжительность движения на месте была больше у мышей линии DBA/2 по сравнению с C57BL/6 – 54.6 ± 5.09 с и 14.5 ± 4.12 с соответственно ($p < 0.01$). Различий между линиями по подъёмам на задние лапы, заглядываниям в отверстия и грумингу выявлено не было. Сулпирид несколько снизил продолжительность локомоции у мышей линии C57BL/6 (79.1 ± 5.67 с) ($p > 0.05$) и несколько повысил её у особей линии DBA/2 (68.2 ± 9.01 с) ($p > 0.05$). Тем не менее, в результате таких разнонаправленных, пусть и недостоверных изменений, исчезли межлинейные различия по общей продолжительности локомоции. У мышей линии DBA/2 препарат достоверно снижал продолжительность движения на месте до 38.6 ± 6.61 с, а у самцов C57BL/6 не оказывал существенного влияния (13.7 ± 3.06). При этом межлинейные различия, как и до применения сулпирида, были достоверными ($p < 0.01$). На подъёмы на задние лапы, заглядывания в отверстия и груминг сулпирид достоверного влияния не оказывал как у одной, так и у другой линии. Результаты экспериментов в условиях изолированного функционирования одного из полушарий до и после введения сулпирида показали следующее.

Временное выключение коры левого полушария достоверно снижало продолжительность подъёмов на задние лапы у мышей обеих исследованных линий и существенно не влияло на остальные регистрируемые компоненты индивидуального поведения. Инактивация правой гемисферы достоверно уменьшала длительность локомоции и подъёмов на задние лапы у самцов линии C57BL/6. У особей линии DBA/2 аналогичная процедура снижала только продолжительность движения на месте. Сравнение эффектов инактивации показало, что у мышей линии C57BL/6 правое полушарие доминирует в регуляции локомоции, а у мышей линии DBA/2 – в регуляции движения на месте. Левая гемисфера доминировала в регуляции общей продолжительности подъёмов на задние лапы у особей линии DBA/2. При этом сразу подчеркнем, что доминирующим мы считаем то полушарие, при активном состоянии которого исследуемый показатель был ближе к исходному уровню, то есть в условиях функционирования обеих гемисфер. Во всех остальных случаях наблюдалась эквипотенциальность полушарий. Введение сулпирида нивелировало межполушарные различия в регуляции локомоции у мышей линии C57BL/6 за счёт более сильного влияния на доминирующую правую гемисферу. В то же время у самцов линии DBA/2 за счёт более сильного влияния на левое полушарие именно по параметру локомоции выявилось доминирование правой гемисферы. Аналогичная картина наблюдалась и в отношении подъёмов на задние лапы. Кроме того, за счёт более сильного влияния на правое полушарие сулпирид сделал ведущей эту гемисферу в отношении груминга.

Заключение. Подводя итог данной серии экспериментов, можно сделать некоторые обобщающие выводы. Во-первых, у самцов мышей имеет место функциональная межполушарная асимметрия, паттерн которой у линий C57BL/6 и DBA/2 различен и, в том числе отличается от такового у беспородных животных. Во-вторых, в подавляющем большинстве случаев кора, как левого, так и правого полушария не принимает значимого участия в реализации элементов индивидуального поведения. В-третьих, антагонист D₂-рецепторов дофамина сулпирид влияет на продолжительность поведенческих элементов незначительно. В-четвертых, такое незначительное влияние препарата на поведение в условиях функционирования целого мозга приводит к существенному изменению паттерна функциональной межполушарной асимметрии, выявляемому с помощью унилатеральной корковой инактивации. В-пятых, D₂ рецепторы дофамина играют значительную роль в формировании паттерна функциональной межполушарной асимметрии головного мозга в регуляции элементов индивидуального поведения.

Список литературы

1. Михеев, В.В. Фармакологическая асимметрия мозга / В.В. Михеев, П.Д. Шабанов. – СПб.: Элби-СПб, 2007. – 384 с.
2. Функциональная межполушарная асимметрия: хрестоматия. – М.: Научный мир, 2004. – 728 с.
3. Шабанов, П.Д. Дофамин и подкрепляющие системы мозга / П.Д. Шабанов, А.А. Лебедев, Ш.К. Мещеров. – СПб.: Лань, 2002. – 208 с.

Е.А. Мойсеёнок

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
230015, г. Гродно, ул. Горького 80,
ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: remar@tut.by*

НЕОБХОДИМОСТЬ НАЗНАЧЕНИЯ СЕЛЕНОСОДЕРЖАЩИХ БИОКОРРЕКТОРОВ У ЖЕНЩИН В ПРЕГРАВИДАРНОМ ПЕРИОДЕ

В 1977 г. установлена роль микроэлемента селена (Se) как фактора, важного для физиологического течения беременности, а позже был выявлен низкий уровень селенемии у женщин, имеющих в анамнезе выкидыши. С открытием роли Se-цистеинсодержащих белков в ферментативном звене антиоксидантной защиты и стабилизации внутриклеточного уровня глутатиона было предположено, что ранняя потеря беременности может быть связана с развитием окислительного стресса (поражение белков, биологических мембран и ДНК) на фоне низкой активности Se-зависимых глутатионпероксидаз [1]. Выявлена корреляция между уровнем Se материнской и пуповинной крови, а также в плаценте, что подтверждает активный трансплацентарный транспорт микроэлемента. Предложена формула, прогнозирующая уровень Se в крови к родовому периоду, исходя из их догравидарного микронутриентного статуса и выявлен феномен значительного падения селенемии у родильниц [2].

С целью выяснения уровня обеспеченности Se у женщин репродуктивного возраста и родильниц, проживающих в гродненском регионе были проведены исследования уровня Se в плазме крови у 111 женщин в возрасте от 17 до 39 лет (средний возраст – 25,4 лет) из числа студенток и сотрудников Гродненского государственного медицинского университета, а также у 42 родильниц в возрасте от 17 до 37 лет (средний возраст – 24,7 лет), родивших здоровых детей с нормальной массой тела, и в соответствующем количестве образцов пуповинной крови. Паритет беременности: 1-я – у 24 женщин, 2-я – у 10, 3-я и более – у 8. Условиями участия в исследовании были случайный отбор, добровольное согласие и анонимность обследования. Кроме анализа крови проводилось анкетирование с целью выявления особенностей питания, наличия вредных привычек, приема поливитаминно-минеральных комплексов и других факторов, влияющих на микронутриентный статус.

Кровь, взятая у обследуемых натощак, после стабилизации и центрифугирования, использовалась для получения плазмы, которая подвергалась немедленному замораживанию при -70°C . Исследование уровня Se осуществлялось посредством метода атомной абсорбционной спектрометрии [3]. Статистическая обработка данных осуществлена с использованием пакета статистических программ SPSS 15.0 for Windows.

Установлено, что средний уровень Se в плазме крови молодых женщин составляет $59,6 \pm 1,04$ мкг/л ($0,75 \pm 0,013$ мкмоль/л), родильниц – $41,03 \pm 1,86$ мкг/л ($0,52 \pm 0,023$ мкмоль/л) и в плазме пуповинной крови $35,58 \pm 1,66$ мкг/л ($0,45 \pm 0,021$ мкмоль/л). Первые два показателя удовлетворительно описываются формулой

$y = x - 0,25$, где они соответствуют значениям x и y , соответственно [2]. Аналогичной формулой $\lg y = \lg x - 0,2$ описываются соотношения концентрации Se в пуповинной крови (y) и крови роженицы (x). В нашем случае – расчетная величина $\lg x = 1,41$, что соответствует уровню селенемии в пуповине (y) 26 мкг/л. Выявленная более высокая аналитическая величина свидетельствует о роли плацентарного барьера в обеспечении гомеостаза Se-цистеинсодержащих систем тканей плода в условиях потребления диеты, недостаточной по содержанию микроэлемента.

Данные статистической обработки полученных результатов свидетельствуют, что значение медианы во всех трех объектах исследования близки к средним арифметическим величинам. При этом доверительные интервалы 5-95 центилей колеблются в пределах 41,48-79,56 мкг/л Se у молодых женщин и 20,24-60,46 мкг/л у родильниц. Соответственно, 85% потенциальных матерей и 98% родильниц имеют уровень селенемии ниже 70 мкг/л, что является критическим порогом развития глубокого дефицита Se.

Если исходить из оптимальной референтной величины содержания Se в крови беременных в I триместре беременности, равной 103-104 мкг/л, то ей соответствует потребление Se в количестве более 60 мкг в сутки. Такой уровень потребления характерен для беременных женщин Великобритании, Скандинавских стран, Германии и, после тотального обогащения Se минеральных удобрений, в Финляндии. На основании полученных нами данных, исходя из уровня содержания Se в плазме крови, можно рассчитать суточное потребление $Se = 1,62$ уровня потребления (мкг/сут) + 3,1, т.е. для женщин детородного возраста $59,6 = 1,62x + 3,1$, где $x = 34,58$, а у родильниц – 25,32 мкг. Полученные результаты свидетельствуют о глубоком дефиците Se в организме женщин репродуктивного возраста и родильниц и обосновывают необходимость коррекции недостаточности микроэлемента для устранения риска развития окислительного стресса и иных осложнений беременности и родов.

Список литературы

1. Rayman, M.P. The importance of selenium to human health / M.P. Rayman // *Lancet*. – 2000. – Vol. 356. – P. 233–241.
2. Селен в организме человека: метаболизм антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе / В.А. Тутельян [и др.]. – М.: Издательство РАМН, 2002. – С. 79–83.
3. Jacobson, B.E. Direct determination of selenium in serum by graphite-furnace atomic absorption spectrometry with deuterium background correction and a reduced palladium modifier: age-specific reference ranges / B.E. Jacobson, G. Lockitch // *Clin. Chem*. – 1988. – Vol. 34. – P. 709–714.

Л.И. Надольник, С.В. Лупачик, И.К. Дремза

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: lnadolnik@tut.by*

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO* АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «ОКСИДАТ ТОРФА»

Оксидат торфа – биологически активный препарат, содержащий в своем составе гуминовые кислоты (50%), фульвовые (20%) и аминок- (16%) кислоты, а также ряд микроэлементов: К, Са, Mg, Se, Zn, Со, I. Установлено, что данный препарат оказывает разностороннее действие на организм, в том числе обладает общеукрепляющими, противовоспалительными, противовирусными, регенерирующими, антиаллергическими свойствами.

Цель исследования: провести тестирование антиоксидантных свойств оксидата торфа *in vitro*. Для тестирования антиоксидантных свойств данного препарата были использованы несколько методов: Тест №1 Ингибирование НАДФН-зависимой активации ПОЛ микросомальных мембран печени крыс; Тест №2 Тушение НАДФН зависимой хемилюминесценции (люцигенин) микросомальных мембран печени крыс; Тест №3 Тушение НАДН-зависимой хемилюминесценции (люцигенин) митохондрий печени крыс. Микросомальную фракцию печени выделяли дифференциальным центрифугированием постмитохондриального супернатанта на центрифуге VAC-602 (Германия) по методу И. И. Карузиной и А. И. Арчакова. Осадок ресуспендировали в 0,1М трис-НСl буфере (рН 7,4) и разводили до концентрации 0,5 мг белка в 1 мл. Скорость перекисного окисления оценивали по наработке малонового диальдегида в суспензии микросом. Проведено исследование препарата оксидата торфа, а также его осветленной фракции. Препарат перед внесением в пробу разводили в 50-9000 раз. Добавление оксидата торфа в пробу (разведения в 50-9000 раз) вызывало ингибирование НАДФ зависимой активации ПОЛ в миксомальной фракции печени крыс, наработка МДА снизилась на 7,75-20,69%. При использовании осветленного препарата ингибирующий эффект составил 8,3-25,76%. Тушение НАДФН зависимой хемилюминесценции микросомальных мембран печени крыс наиболее значительно проявлялось при разведении препарата в 100-250 раз и составляло соответственно 48,62% и 76,70%. При более значительных разведениях препарата (в 500 и более раз) ингибирование хемилюминесценции не наблюдалось. Осветленный препарат торфа не оказывал влияния на интенсивность хемилюминесценции микросомальных мембран печени. Было обнаружено тушение НАДН-зависимой хемилюминесценции (люцигенин) митохондрий печени крыс на 13,66-16,82% при добавлении оксидата торфа (разведение в 500-900 раз).

Полученные *in vitro* данные свидетельствуют об антиоксидантных свойствах препарата «оксидат торфа». Представляет значительный интерес исследование влияния данного препарата на антиоксидантный статус и активность процессов перекисного окисления липидов при тестировании *in vivo* в условиях индуцированного окислительного стресса.

Л.И. Надольник, С.В. Лупачик, С.С. Чумаченко, С.С. Яськевич, Д.А. Горева

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,

230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: lnadolnik@tut.by

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ СТРЕССА НА МЕТАБОЛИЗМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ ЙОДНОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТЬЮ

Механизмы влияния глюкокортикоидов на метаболизм клеток щитовидной железы (ЩЖ) до настоящего времени не установлены. Изменение функции ЩЖ зависит от длительности стрессорного воздействия и имеет двухфазный характер. После двухминутной иммобилизации в крови крыс повышается концентрация тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3) и тиреотропина (ТТГ) [1]. Через 6 и 8 часов иммобилизации, после длительного повторяющегося стрессорного воздействия [2], отмечено снижение уровня T_4 , T_3 в крови и T_3 в мозге, а также T_4 -5'-деиодиназной активности в печени и почке. На фоне йодной недостаточности у крыс нарушается суточный ритм секреции кортикостерона, отмечается ослабленный ответ на стрессорное воздействие [4].

Цель работы: провести исследование эффектов неизбежного кратковременного ежедневного стрессорного воздействия на функциональную активность щитовидной железы крыс, содержащихся на нормальной, низкоййодной и высокоййодной диетах. Исследования выполнены на 6 группах крыс Вистар, содержащихся на низкоййодной диете (2 группы), получавших дополнительно 3 суточных дозы йодида калия (2 группы) и получавших диету с нормальным содержанием йода – контроль (2 группы); одна из 2 групп подвергалась воздействию стресса в течение 20 минут на протяжении 3 месяцев.

Показано, что стрессорное воздействие на фоне недостаточности йода в диете вызывает повышение массы ЩЖ на 70,63% ($p < 0.0003$) по сравнению с интактным контролем и на 43,92% ($p < 0.0006$) – по сравнению с группой животных, содержащихся на низкоййодной диете (НЙД), но не подверженных стрессу. У животных, содержащихся на высокоййодной диете, на фоне стрессорного воздействия отмечено снижение массы ЩЖ на 18,31% ($p < 0.02$) по сравнению с интактным контролем и на 10,5% ($p < 0.02$) – по сравнению с группой животных, содержащихся на высокоййодной диете, но не подверженных стрессу.

В ЩЖ крыс после многократного воздействия кратковременного неизбежного стресса отмечено снижение в группе животных, содержащихся на низкоййодной диете, концентрации общего йодида на 53,15% и белковосвязанного йодида – на 46,89% по сравнению с животными, содержащимися на НЙД, но без воздействия стресса. Следствием стрессорного воздействия явилось снижение активности тиреопероксидазы (ТПО) в щитовидной железе крыс, содержащихся на высокоййодной диете, на 24,3% и повышение активности ТПО в ЩЖ крыс, содержащихся на низкоййодной диете, на 44,72% и наиболее значимо – 103,47% у крыс с односторонней тиреоидэктомией. В ЩЖ крыс, содержащихся на низкоййодной диете, отмечено повышение эффективности органификации йода (соотношение $I_{\text{свободный}}/I_{\text{белковосвязанный}}$ снизилось в 3,6 раза); в ЩЖ крыс, содержащихся на

высокойодной диете, соотношение свободный/белковосвязанный повысилось в 1,6 раза. Только у крыс, содержащихся на низкойодной диете, стресс индуцировал развитие гипотиреоза, о чем свидетельствует снижение активности тиреоидиндуцированной НАДФ-малатдегидрогеназы в печени крыс на 25,03% ($p < 0.0082$).

Стресс индуцировал снижение концентрации йодида в сыворотке крови крыс, получавших высокойодную диету (ВЙД), в 1,43 раза (соответственно $120,4 \pm 12,8$ и $83,97 \pm 7,19$ мкг/л, $p < 0.0001$). Впервые при гель-фильтрации сыворотки крови крыс, получавших ВЙД, на Toyopearl HW-55F показано, что в крови крыс, стрессированных на фоне ВДЙ, йодируются белки двух белковых фракций крови (фракция, содержащая альбумин и фракция более низкомолекулярных белков); степень йодирования белков составляет 20-30 мкг йодида/мг белка. Предполагается, что йодирование белков крови – следствие их окислительной модификации в условиях стресса, поскольку у крыс, получавших ВДЙ и не подвергавшихся стрессу, йодирования белков крови не наблюдалось.

Полученные данные свидетельствуют, что неизбегаемый кратковременный ежедневный стресс может индуцировать нарушение метаболизма ЩЖ. Наиболее выраженные стресс-индуцированные изменения тиреоидного статуса проявляются в условиях йодного дефицита:

- стрессорное воздействие увеличивает степень гипертрофии ЩЖ;
- стресс индуцирует развитие гипотиреоза (показана недостаточность тиреоидных гормонов на клеточном уровне);
- стресс снижает содержание йода в ЩЖ и крови, увеличивая степень его дефицита в организме.

Предполагается, что стрессорное воздействие может вносить вклад в развитие эндемического зоба или усугублять его течение, что представляется актуальным, учитывая высокий уровень дефицита йода во многих регионах мира.

Список литературы

1. Beliakova, E.I. Adrenocortical and thyroid systems of rats at the initial stage of nociceptive influence / E.I. Beliakova, A.M. Mendzheritskii // *Russ. Fiziol. Zh. Im. I.M. Sechenova.* – 2005. – Vol. 91. – P. 611–615.
2. Armario, A. Effect of acute and chronic psychogenic stress on corticoadrenal and pituitary-thyroid hormones in male rats / A. Armario, J.M. Castellanos, J. Balasch // *Horm. Res.* – 1984. – Vol. 20. – P. 241-245.
3. Peripheral triiodothyronine (T_3) levels during escapable and inescapable footshock / D.L. Helmreich [et al.] // *Physiol. Behav.* – 2006. – Vol. 87. – P. 114–119.
4. Chronic iodine deprivation attenuates stress-induced and diurnal variation in corticosterone secretion in female Wistar rats / L.A. Nolan [et al.] // *J. Neuroendocrinol.* – 2000. – Vol. 12. – P. 1149–1159.

Е.Е. Нарута, И.А. Николаева, С.Н. Кирко, Р.Е. Лис, В.У. Буко
*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50*

ФАРМАКОТЕРАПИЯ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА (НАСГ) У КРЫС МЕТФОРМИНОМ

Актуальность проблемы НАСГ признана во всем мире, однако в настоящий момент нет общепринятых схем для лечения этого заболевания. Выделяют несколько направлений в терапии НАСГ, среди которых наиболее перспективным считается применение антиоксидантов, цитопротекторов и антигиперлипидемических агентов, а также средств для коррекции инсулиновой резистентности. К последним относится метформин, препарат, широко используемый в клинике для лечения диабета 2 типа. Целью данной работы явилось изучение гепатопротективной эффективности метформина у крыс с неалкогольным стеатогепатитом, вызванным длительным содержанием их на метионин-холин дефицитной диете.

НАСГ вызывали у крыс скормливанием в течение 10 нед. высокожировой диеты, дефицитной по холину и метионину (МХДД). Контрольная группа получала диету с нормальным содержанием холина и метионина. Эксперимент состоял из двух моделей с аналогичными условиями. В первой животные получали в/ж в течение последних 4 недель опыта, монопрепарат метформина (МЕТ) (100 мг/кг); во второй – МЕТ в той же дозе, но в комбинации с урсодезоксихолевой кислотой (УДХК, 30 мг/кг), которая применяется в клинике для лечения холестатических поражений печени. Повреждения печени оценивали морфологически и с помощью биохимических методов. В сыворотке определяли активность аланин- (АлТ) и аспартатаминотрансфераз (АсТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание инсулина, глюкозы, билирубина, TNF- α , лептина и адипонектина, в печени – содержание триглицеридов, холестерина, фосфолипидов и ТБКРС, в микросомах печени – НАДФН-зависимую хемилюминесценцию.

После 6 нед. содержания крыс на МХДД (базовый срок для начала введения препаратов) отмечалось увеличение относительной массы печени, сопровождавшееся выраженным стеатогепатитом (почти 75% паренхимы развивало стеатоз, баллонную дистрофию и некроинфламаторные процессы). Функциональные параметры печени – АлТ, АсТ, ЩФ возрастали в 2-5 раз, как и концентрация печеночных триглицеридов. В то же время наблюдался значительный рост в сыворотке провоспалительного цитокина TNF- α , лептина, глюкозы и снижение уровня инсулина и адипонектина. Морфометрическая оценка срезов печени, окрашенных Суданом черным, показала, что применение комбинации МЕТ с УДХК приводит к снижению аккумуляции липидов, что подтверждалось результатами биохимических исследований: в печени достоверно снизилось содержание триглицеридов. Также отмечена относительная нормализация активности АлТ, АсТ, ЩФ, уровня глюкозы,

инсулина и TNF- α . Кроме того, УДХК в сочетании с МЕТ снижала интенсивность НАДФН-индуцируемой хемилюминесценции, усиленной люцигенином, как и уровень ТБКРС. Эффективность монопрепарата МЕТ на аккумуляцию липидов в печени была менее выраженной, чем у комбинации. В то же время МЕТ эффективно снижал уровни глюкозы крови, инсулина и лептина сыворотки, повышая содержание сывороточного адипонектина. Существенного влияние на свободно-радикальные процессы монопрепарат МЕТ не оказывал.

Полученные результаты свидетельствуют об умеренной гепатопротективной активности монопрепарата МЕТ при коррекции экспериментального НАСГ у крыс. В то же время использование МЕТ в комбинации с УДХК было более эффективным, что позволяет предположить рациональность использования этой комбинации у пациентов с НАСГ, сопровождающимся выраженным синдромом инсулинорезистентности.

Л.Н. Николаевич, М.В. Анисович, А.Е. Машкович

*ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
220141, г. Минск, ул. Купревича, 2, e-mail: nikolarisa@tut.by*

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЛИКОПИНА

Более мощным антиоксидантом, по сравнению с бета-каротином, является каротиноид ликопин (lycopene), чья активность по отношению к синглетному кислороду в 2 раза выше, чем у β -каротина [1,2]. В отличие от β -каротина, ликопин ($C_{40}H_{56}$) представляет собой полиизопреновую цепь без шестиатомных алициклических радикалов, не вызывает гипервитаминоза, не обладает токсическим действием, а его содержание особенно велико в арбузах, гуаве, папайе, паприке и томатах [3]. В многочисленных экспериментальных работах было показано, что ликопин, также как и α -токоферол и β -каротин, активно встраиваются в структуру липопротеидов и ингибируют перекисное окисление липидов (ПОЛ), предотвращая их перекисную модификацию [4].

В экспериментах на животных показана способность ликопина за короткий период (7 дней) существенно снизить уровень липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) [5]. Однако, несмотря на выраженную антиоксидантную и антимуtagenную активность, каротиноиды обладают рядом особенностей, которые следует учитывать при создании и применении лекарственных и профилактических препаратов на основе данных соединений.

Целью работы явилось изучение влияния ликопина на гематологические показатели крови экспериментальных животных.

Работа выполнена на крысах (самцы и самки) линии Wistar (экспериментально-биологическая клиника ИФБ НАН Беларуси) в возрасте 3 мес и средней массой 170-200 г. В эксперименте было использовано 85 животных (41 самка, 44 самца). Каждая группа содержала по 5 особей. Ликопин вводили

животным в дозах 0,07, 0,14 и 0,36 мг/кг/сутки в течение 14 дней перорально зондом в желудок согласно рекомендациям [6]. Общие дозы составили: 1-я группа – кукурузное масло (контроль); 2-я – 1 мг/кг; 3-я – 2 мг/кг; 4-я – 5 мг/кг. Использовали 10% суспензию ликопина на кукурузном масле (производитель DSM Nutritional Products Ltd. France). Контрольным животным вводили кукурузное масло. Материал забирали на 1-е сутки после окончания эксперимента.

Изучали гематологические показатели крови крыс: количество эритроцитов, гематокрит, средний объём эритроцитов, долю лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов, количество гемоглобина, количество тромбоцитов, абсолютные значения лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов. Забор крови проводили из боковой хвостовой вены крыс, к 20 μ л крови добавляли 200 μ л изотонического раствора (готовый раствор пр-во Human GmbH, Германия). Полученные образцы анализировали на гемоанализаторе «HumaCount» (Германия). Достоверность оценивали по критерию *t*-Стьюдента с учетом дисперсии (F-тест).

Проведенные исследования показали зависимость гематологических показателей от пола животных и дозы ликопина. В крови самок крыс по мере увеличения дозы ликопина снижается количество лейкоцитов и увеличивается количество эритроцитов по сравнению с контролем. Кроме того, возрастает уровень гематокрита, гемоглобина, количество тромбоцитов и снижается доля гранулоцитов, количество лимфоцитов, гранулоцитов, моноцитов по сравнению с контролем. У самцов, напротив, по мере снижения дозы ликопина наблюдается увеличение количества лейкоцитов по сравнению с контрольным уровнем. Такие показатели как количество эритроцитов, гематокрит, средний объём эритроцитов, гемоглобин, количество гранулоцитов не отличаются от контрольного уровня. Выявлена дозовая зависимость в снижении доли гранулоцитов, увеличении количества лимфоцитов и моноцитов по сравнению с контролем. Следует отметить, что повышение количества лейкоцитов в крови опытных животных сопровождается увеличением количества лимфоцитов.

Таким образом, выявлены дозовые и половые различия в характеристике гематологических показателей крови животных после перорального введения ликопина в организм. Наблюдаемые разнонаправленные эффекты свидетельствуют об особенностях действия ликопина на клетки крови.

Список литературы

1. Капитанов, А.Б. Каротиноиды как антиоксидантные модуляторы клеточного метаболизма / А.Б. Капитанов, А.М. Пименов // Успехи современной биологии. – 1996, № 116 (вып.2). – С. 179–193.
2. Антиокислительные свойства ликопина / Г.И. Клебанов [и др.] // Биологические мембраны. – 1998, № 15(2). – С. 227–237.
3. Томатол – новая пищевая добавка антиоксидантного действия / Г.И. Клебанов [и др.] // Medicina Alyera. – 2001, № 5. – С. 13–15.
4. Distributions of carotinoids and alphanatocopherol among lipoproteins do not change when human plasms is incubated in vitro / J.E. Romanchick [et al.] // J. Nutr. – 1995, Vol. 125(10). – P. 2610–2617.

5. Мутагенмодифицирующие эффекты бета-каротина *in vivo* / А.Д. Дурнев [и др.] // Генетика.– 1997, №5.– С.717–721.

6. Juhasz, P. *Clinical laboratory diagnostics* / P. Juhasz. – Springer Science, 2000.– 365 p.

С.Н. Омелянчик, Д.С. Дорофей, И.Н. Катковская, В.А. Гуринович

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,

230030, г. Гродно, БЛК, 50,

e-mail: val@biochem.unibel.by

МОДУЛЯЦИЯ СТРУКТУРЫ ФОНДА КОФЕРМЕНТА А В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ D-ГОМОПАНТОТЕНОВОЙ КИСЛОТЫ, ХЛОРИСТОГО АЛЮМИНИЯ И СТИМУЛЯТОРОВ БИОСИНТЕЗА КОФЕРМЕНТА

В предыдущих исследованиях было показано, что хроническое введение хлористого алюминия (ХА), приводящее к алюминиевому токсикозу (АТ), или D-гомопантотеновой кислоты (ГПК), конкурентного ингибитора ключевого фермента биосинтеза КоА – пантотенаткиназы, вызывает падение фракции КоА-SH в печени подопытных животных и модуляцию соотношения свободного КоА и короткоцепочечных ацил-КоА (КЦ-КоА). В недавних исследованиях [1] установлено, что ГПК при хроническом введении может стабилизировать уровень КоА в ткани, поскольку обладает способностью активировать ацил-КоА-гидролазную реакцию.

В настоящем исследовании изучены влияние сочетанного субхронического введения ХА и ГПК на уровень и фракции КоА (с использованием различных методов анализа) в печени белых крыс, а также возможность модуляции фонда кофермента стимуляторами его биосинтеза – сукцинатом аммония (СА), D-пантенолом (ПЛ) и L-карнитином (КТ).

Эксперимент был проведен на 50 крысах-самках линии *Wistar* массой 200-220 г. Животные были разделены на 5 групп (n=10). I-я группа – контрольная, II-я группа получала кальциевую соль ГПК, у животных III-V группы вызывали АТ внутрибрюшинным введением 10% раствора ХА в дозе 190 мг/кг массы тела на 1-е и 3-и сут от начала эксперимента. Всем животным, кроме контрольной группы, в течение 7 дней ежедневно до забоя внутрижелудочно вводили ГПК в дозе 300 мг/кг массы тела. На фоне введения ГПК и ХА животным IV группы в течение 7 дней ежедневно подкожно сочетано вводили ПЛ (200 мг/кг) и СА (100 мг/кг), животным V-й экспериментальной группы – эти же препараты совместно с КТ в дозе 100 мг/кг массы тела.

Замороженную при -80 °С печень гомогенизировали на холоду в 0,4 М растворе хлорной кислоты с добавлением 1 мМ ЭДТА в разведении 1:10, гомогенат центрифугировали при 25000 g в течение 15 минут. Супернатант нейтрализовали до pH 6,5 добавлением 2,5 М раствора гидрокарбоната калия на 0,07М трис-буфере (pH=9,6) и центрифугировали (700 g) при охлаждении в

течение 10 минут. Для определения кислоторастворимого КоА 500 мкл супернатанта инкубировали с аналогичным количеством 5 мМ раствора дитиотрептола (ДТТ) в течение 30 мин при 60 °С с последующим охлаждением до 0 °С и доведением до pH 5,4 раствором 0,8 н соляной кислоты. Для определения КЦ-КоА к 500 мкл супернатанта вносили N-этилмалеимид (1 мкмоль) и инкубировали 5 мин при 30 °С, затем добавляли 1 ммоль ДТТ и продолжали инкубацию 5 мин с последующим охлаждением и проведением фосфотрансацетилазной реакции [2].

Параллельно, анализ уровня свободного КоА (КоА-SH) и КЦ-КоА (ацетил-КоА и малонил-КоА) проводили в хлорнокислых экстрактах ткани печени методом обращенно-фазной ВЭЖХ на приборе «Agilent 1100/1200» (США). Гомогенаты тканей готовились на холоду (в соотношении 1:4, масса:объем) с использованием 4 %-й HClO₄, содержащей 15 мМ тартрата натрия и 10 мМ ДТТ, с последующим центрифугированием 15 мин при 16000 g и 4°C («Biofuge Fresco», США), pH супернатанта довели до 3-4 путем добавления 20% NaOH. Для элюирования образцов использовали 100 мМ натрий-фосфатный буфер (pH=4,5) и градиент (5-27% метанола) на колонке Zorbax SB-C₁₈ размером 3x150 мм и размером частиц 3,5 мкм («Agilent Technologies», США) с температурой 22°C, скоростью потока 0,4 мл/мин. Регистрацию пиков осуществляли на диодно-матричном детекторе при 260 нм. Вводимый объем пробы – 20 мкл.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что сочетанное воздействие ГПК и ХА приводит к падению уровня КоА-SH в печени, Одновременно, наблюдается снижение КЦ-КоА (фосфотрансацетилазный метод) и ацетил-КоА (ВЭЖХ) с последующей тенденцией к нормализации этих показателей при назначении модуляторов биосинтеза КоА. Отмечено значительное падение уровня малонил-КоА у животных IV-й группы. Абсолютные значения КоА-SH оказались существенно разными при использовании 2-х способов пробоподготовки и измерения: 162±11 нмоль/г ткани (в ферментативном методе анализа), 246,70±22,95 нмоль/г ткани (ВЭЖХ). В тоже время уровни КЦ-КоА и фракции ацетил-КоА+малонил-КоА практически совпадали. Указанные результаты свидетельствуют о необходимости совершенствования пробоподготовки в экспериментах с модулированием структуры фонда КоА. Выявленные изменения фракций КоА-SH и КЦ-КоА показывают, что субхроническое назначение ГПК не приводит к нарушению структуры фонда кофермента в печени и не препятствует действию стимуляторов биосинтеза КоА в условиях алюминиевого токсикоза.

Список литературы

1. Chemical knockout of pantothenate kinase reveals the metabolic and genetic program responsible for hepatic coenzyme A homeostasis / Y.M. Zhang [et al.] // Chem. Biol. – 2007. – Vol. 14, N3. – P. 291–302.
2. Омелянчик, С.Н. Варианты использования ацетил-КоА ортофосфат ацетил-трансферазы для количественного определения кофермента А / С.Н. Омелянчик // Ферменты в биологических анализах. – Вильнюс. – 1984, ч. I. – С. 110–111.

Т.А. Пеховская

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: val@biochem.unibel.by

АКТИВИРОВАНИЕ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ СЕЛЕНСОДЕРЖАЩИМИ ПРЕПАРАТАМИ ПРИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Глутатион-трансферазы (КФ 2.5.1.18, ГТ) – ферменты детоксикационной системы организма отчетливо реагируют на введение бактериального липополисахарида, проявляя зависимость с динамикой общего цитохрома P450. Отношение показателей активности ПОЛ/ГТ может быть использовано для оценки антиоксидантного статуса [1], по всей вероятности в связи с участием этих ферментативных систем в регуляции внутриклеточного редокс-состояния глутатиона. В отличие от индуцибельных ферментов семейства глутатионпероксидаз (КФ 1.11.1.9), содержащих Se-цистеин и прямо причастных к регуляции редокс-статуса глутатиона [2], изменение активности ГТ под воздействием Se-содержащих препаратов изучено недостаточно. Известно, что при моделировании эндотоксемии с использованием бактериального липополисахарида в печени подопытных животных наблюдалось снижение активности ГТ (субстрат 1-хлор-2,4-динитробензол) и глутатионпероксидазы (субстрат H₂O₂) [2].

Нами проведен эксперимент на половозрелых крысах-самках линии Wistar. Животным опытных групп вводили интрагастрально препараты селена в виде селенита натрия, диметилдипиразолилселенида (ДПС), обогащенных селеном дрожжей (биоселена), 2-фенилоктагидроселеноксанта (селенопирана), обогащенной селеном спироулины (Se-спироулины) или селенометионина (SeMet) в дозе 10 мкг Se/кг/день на протяжении 42 дней. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду. За 24 ч до декапитации половине животных каждой группы подкожно инъецировали липополисахарид (ЛПС) *Escherichia coli* OIII:B4 (Sigma, США) в дозе 400 мкг/кг массы тела и контролировали развитие эндогенной интоксикации, наблюдая развитие гипертермии. У крыс выделяли печень и слизистую оболочку 12-перстной, тонкой и толстой кишки, которые немедленно промывали в охлажденном изотоническом растворе NaCl. В гомогенатах печени и слизистой отделов кишечника измеряли активность ГТ в реакции с 1-хлор-динитробензолом [3].

После введения селеновых препаратов без назначения ЛПС уровень активности ГТ в печени опытных животных оставался на уровне контрольной группы, за исключением группы получавшей SeMet. В последней наблюдался рост активности фермента на 15%. ГТ слизистой оболочки 12-перстной кишки оказалась более чувствительной к введению Se-содержащих субстанций. В группе животных, получавших селенит натрия рост активности составил 128%, ДПС – 117%, селенопиран – 130%, Se-спироулину – 136,9%, SeMet – 147,8%. В тонком кишечнике активирование фермента наблюдалось после введения органических носителей селена – биоселена, Se-спироулины и SeMet. В слизистой толстого

кишечника рост активности наблюдался как после введения селенита натрия, так и биоселена.

При моделировании эндогенной интоксикации активность ГТ резко снижалась в печени крыс на 18,2-25,7%, тогда как в слизистой оболочке кишечника такого падения не наблюдалось. Исключение составляет 12-перстная кишка, в которой имелась тенденция к снижению активности фермента. В группах животных, получивших инъекцию ЛПС после предварительного введения селеновых препаратов, активность ГТ оставалась на достоверно высоком уровне как в печени, так и в слизистой оболочке 12-перстной кишки.

Полученные результаты свидетельствуют, что селеносодержащие препараты при длительном назначении в физиологических дозах являются стабилизаторами активности глутатион-S-трансфераз при иницировании эндотоксемии, а у нормальных животных стимулируют активность фермента.

Список литературы

1. Давыдовский, А.Г. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантные процессы в печени при бактериальной эндотоксемии / А.Г. Давыдовский. – Мн.: ООО «Ковчег», 2004. – 104 с.
2. Состояние ферментативных и неферментативных антиоксидантных систем в печени крыс при эндотоксемии / И.В. Семак [и др.] // Здоровье и окружающая среда. – 2002. – Т.2. – С. 240–244.
3. Rice-Evans, C.A. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research / C.A. Rice-Evans, A.T. Diplock, M.C.R. Symons. – Elsevier. 1991.

Н.В. Прокопенко, О.П. Рапацевич

*УО «Международный государственный экологический университет
имени А.Д. Сахарова», 220070, г. Минск, ул. Долгобродская, 23
E-mail: natavprokopenko@mail.ru, torraz@gmail.com*

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ДИПЕПТИДОВ НА УРОВЕНЬ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА В КЛЕТКАХ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

При воздействии на организм неблагоприятных факторов окружающей среды нарушается баланс между про- и антиоксидантными системами, в клетках накапливаются продукты свободнорадикального окисления, изменяется структура цитоплазматической мембраны клеток и мембран внутриклеточных органелл, что вызывает нарушение их нормального функционирования. Эти процессы являются основой патогенеза различных заболеваний.

В этой связи в настоящее время изучаются свойства уже известных антиоксидантов и ведется поиск новых соединений, которые способны уменьшать повреждающий эффект процессов перекисного окисления биомолекул и их метаболитов на клетку. К таким веществам относятся низкомолекулярные дипептиды [1]. Имеются немногочисленные сведения о том,

что синтетические дипептиды, аналоги природных, могут изменять физико-химические свойства мембран, в частности, интенсивность перекисного окисления липидов и микровязкость липидного компонента [2]. Однако механизмы этих процессов к настоящему времени во многом остаются неясными.

Целью данной работы было изучение действия синтетических дипептидов α -Glu-Trp и γ -Glu-Trp на содержание малонового диальдегида в клетках иммунной системы в экспериментальной модели «окислительного стресса».

Материалы и методы. Исследования проводили на тимоцитах крыс. Синтетические дипептиды α -Glu-Trp и γ -Glu-Trp (ФГУП «ГосНИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, г. Санкт-Петербург) в концентрациях 10^{-12} , 10^{-10} , 10^{-6} и 10^{-4} моль/л добавляли к суспензии тимоцитов (10^6 клеток/мл) и инкубировали 30 минут. Окислительный стресс моделировали путем инкубации (60 минут) тимоцитов с экзогенной перекисью водорода в концентрации 10^{-5} моль/л. Уровень МДА определяли по стандартной методике в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Измерения проводили на спектрофотометре «SOLAR» при длине волны 532 нм. Результаты были обработаны статистически с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждения. Известно, что малоновый диальдегид является информативным показателем деградации липидов в норме и при патологии.

Уровень МДА в контроле составил $0,15 \pm 0,01$ нмоль/ 10^6 клеток.

Анализ полученных данных по действию тестируемых дипептидов на тимоциты показал, что они вызывают изменение содержания МДА в тимоцитах. Было установлено, что дипептид α -Glu-Trp в самых низких и высоких концентрациях (10^{-12} , 10^{-11} и 10^{-4} моль/л) приводил к активации процессов ПОЛ, что отражалось в повышении уровня МДА в 1,5 -2,5 раза по сравнению с контролем. В то же время, в диапазоне средних концентраций (10^{-10} – 10^{-5} моль/л) происходило незначительное уменьшение уровня МДА. При инкубации же тимоцитов с γ -Glu-Trp в исследуемом концентрационном диапазоне отмечено достоверное повышение (в 1,1 – 1,3 раза) анализируемого показателя.

Далее нами было изучено действие синтетических дипептидов α -Glu-Trp и γ -Glu-Trp на процессы ПОЛ в условиях экспериментального «окислительного стресса». В клетке такое состояние развивается при чрезмерном образовании и накоплении АФК, пероксидов и их метаболитов, связанном с усилением процессов перекисного окисления липидов и сопровождается рядом нарушений в свойствах биологических мембран и функционировании клеток [3]. Так уровень МДА в тимоцитах при «окислительном стрессе» составил $0,29 \pm 0,03$ нмоль/ 10^6 клеток.

Установлено, что α -Glu-Trp оказывает антиоксидантное действие. Данный дипептид в концентрации 10^{-12} моль/л вызывал снижение МДА на 29 %, а в концентрациях 10^{-10} , 10^{-6} и 10^{-4} моль/л в среднем на 48 %. Однако в тимоцитах, обработанных γ -Glu-Trp, не обнаружено достоверного изменения уровня МДА по сравнению с контролем. Возможно, за 30 минут прединкубации тимоцитов с γ -Glu-Trp не достигается тот уровень баланса между про- и антиоксидантной

системами клетки, который затем будет препятствовать развитию окислительных повреждений мембран клеток.

Заключение. Таким образом, установленное нами изменение уровня МДА в тимocyтах под влиянием дипептидов γ - и α - Glu-Trp дает основание предполагать, что первичный механизм их действия на клетку сопряжен с модификацией состояния липидного компонента плазматических мембран. Наблюдаемый нами разнонаправленный характер действия тестируемых дипептидов, может быть, связан с типом связи между аминокислотными остатками глутамина и триптофана. Отмеченный антиоксидантный эффект действия дипептидов открывает новые возможности применения их для регуляции метаболизма, восстановления гомеостаза и нормального функционирования клеток иммунной системы.

Список литературы

1. Морозов, В.Г. Пептидные тимомиметики / В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин. – СПб.: Наука, 2000. – 158 с.
2. Пигарева, Н.В. Характеристика иммуностимулирующего действия синтетического дипептида «бестим» / Н.В. Пигарева, Н.М. Калинина, А.С. Симбирцев // Медицинская иммунология. – 1999. – Т. 1, № 3 – 4. – С. 127.
3. Бурлакова, Е.Б. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты / Е.Б. Бурлакова, Н.Г. Храпова // Успехи химии. – 1998. – Т. 52, № 9. – С. 540 – 558.

П.С. Пронько¹, Т.И. Хомич, Л.Р. Бардина¹, В.И. Сатановская¹, Р.Е. Лис²

¹ *ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: office@biochem.unibel.by*
*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
230015, г. Гродно, ул. Горького, 80*

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПОРАЖЕНИЕ ПЕЧЕНИ, ВЫЗВАННОЕ ЭТАНОЛОМ И ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ

Поражение печени у крыс при хронической алкогольной интоксикации обычно проявляется в виде стеатоза или стеатогепатита. Было показано, что четыреххлористый углерод (CCl_4) усиливает тяжесть повреждения печени, вызываемого этанолом, приводя к развитию фиброза на фоне стеатогепатита. В связи с этим для моделирования хронического алкогольного гепатита мы использовали комбинацию алкогольной интоксикации с введением CCl_4 . Поскольку активация свободнорадикальных процессов играет важную роль в повреждающем действии этанола и CCl_4 , нами изучены эффекты глутамина, N-ацетилцистеина, этаноламина и липоевой кислоты, влияющих на метаболизм этанола и ацетальдегида и обладающих антиоксидантными свойствами, на гепатотоксичность этанола и CCl_4 .

В эксперименте использованы крысы-самцы Wistar. Одна из групп животных получала в течение 4 недель этанол (4 г/кг, в/ж, ежедневно) и CCl₄ (0,1 мл/100 г веса, в/ж 2 раза в неделю), другие группы, кроме этанола и CCl₄, со второго дня эксперимента получали ежедневно ацетилцистеин (100 мг/кг, в/ж), или глутамин (340 мг/кг, в/ж), или липоевую кислоту (40 мг/кг, в/ж), или этаноламин (100 мг/кг, в/ж). Хроническая интоксикация этанолом в сочетании с CCl₄ повысила активность АЛТ в сыворотке крови, снизила активность альдегиддегидрогеназы, каталазы и микросомальной этанолюкисляющей системы в печени. Морфологические исследования выявили мостовидные порто-портальные и порто-центральные некрозы; средне- и мелкокапельную жировую дистрофию, баллонную дистрофию; порто-портальные соединительнотканые септы. Все исследованные соединения предупреждали повышение активности АЛТ плазмы крови и развитие жировой дистрофии печени, повышали активность глутатионредуктазы. Глутамин предупреждал снижение активности каталазы и альдегиддегидрогеназы печени, а липоевая кислота и этаноламин – каталазы. Глутамин повысил активность глутатионпероксидазы печени.

Таким образом, показана эффективность применения глутамина, этаноламина, N-ацетилцистеина и липоевой кислоты с целью предупреждения развития метаболических нарушений и жировой дистрофии в печени при хронической интоксикации этанолом и CCl₄, вероятно, в результате активации ферментативной антиоксидантной системы. Эти данные указывают на фармакологический потенциал вышеуказанных соединений в лечении алкогольных поражений печени.

P.S. Pronko¹, T.I. Khomich¹, L.R. Bardina¹, V.I. Satanovskaya¹, R.E. Lis²

¹*Institute of Pharmacology and Biochemistry, NAS of Belarus, Grodno;*

²*Grodno State Medical University, Grodno*

EFFECT OF NATURAL BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS ON ETHANOL- AND CARBON TETRACHLORIDE-INDUCED LIVER INJURY

Glutamine, ethanolamine, N-acetylcysteine and lipoic acid were demonstrated to be effective in preventing development of liver metabolic injuries and fatty degeneration in chronic ethanol and CCl₄ intoxications in rats, possibly due to the activation of the enzymatic antioxidant defence system. These data support the pharmacological potential of the above substances in the management of alcoholic liver injury.

Г.Н. Романов

ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, ул. Ильича, 290, rcrm@tut.by

ЭНДОКАНАБИНОИДНАЯ СИСТЕМА В РЕГУЛЯЦИИ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА

Эндоканабиноидная система является сложной сигнальной системой организма, влияющая на многие метаболические процессы. В последние

десятилетия в литературе опубликованы результаты исследований по изучению роли нейроэндокринных взаимодействий и нейротрансмиттеров в процессе костного ремоделирования [1].

Эндоканабиноидная система состоит из эндогенных канабиноидов (эндоканабиноиды), канабиноидных рецепторов (CB) и ферментов синтеза/деградации эндоканабиноидов. Первым идентифицированным эндоканабиноидом был арахидоновый этаноламид (анандамид). С 1992 года до настоящего времени верифицировано 5 эндоканабиноидов, которые связываются со специфическими рецепторами CB. Синтез, клеточный транспорт и распад эндоканабиноидов является высокочувствительным процессом. В отличие от классических нейротрансмиттеров и нейропептидов, эндоканабиноиды не накапливаются внутриклеточно, а синтезируются «по требованию», тем самым оказывая клеточные эффекты. Эндоканабиноидные рецепторы экспрессированы в основном в головном мозге, однако обнаружены и в других органах, таких как печень, жировая ткань, желудочно-кишечный тракт, скелетная мускулатура и в других тканях, вовлеченные в энергетический гомеостаз. CB рецепторы относятся к суперсемейству G-протеинсвязанных рецепторов и подразделяются на два подкласса: CB₁ и CB₂. Наиболее распространенными канабиноидными класса G-протеинсвязанных рецепторов являются CB₁ рецепторы. Кроме головного мозга, рецепторы CB₁ в небольшом количестве обнаружены на остеобластах и их предшественниках, а также на симпатических нервных терминалах в костной ткани, что максимально приближено к остеобластам и преостеобластам. Ген, кодирующий CB₁ рецепторы, расположен на хромосоме 5q15, где выявляется полиморфизм одиночных нуклеотидов, ассоциированных с фенотипом остеопороза. На линии мышей с инактивированным рецептором CB₁ показано увеличение костной массы, несмотря на удаление яичников, что подтверждает гипотезу о роли эндоканабиноидных рецепторов в костном метаболизме [2]. Другая разновидность канабиноидных рецепторов CB₂, открытых и клонированных позже, обнаружена на остеобластах и их предшественниках. Кроме этого, выявлено, что ген, кодирующий CB₂ рецепторы расположен на хромосоме 1p36 и ассоциирован с низкой костной массой у женщин. Таким образом, существует два пути воздействия на костную массу: либо с помощью антагонистов CB рецепторов для ингибирования остеокластов, либо через стимуляцию костной резорбции с помощью агонистов.

Кроме ключевых CB рецепторов идентифицированы в скелете другие представители эндоканабиноидной системы. Анандамид и 2-арахидонил-глицерол (2-АГ) обнаружены в костной ткани в такой же концентрации, как и в головном мозге. Так как концентрация анандамида и 2-АГ в крови значительно ниже, то вероятнее всего они синтезируются непосредственно в костной ткани. Кроме этого, α и β -диглицерол липазы, ключевые ферменты, вовлеченные в биосинтез 2-АГ, экспрессированы на остеобластах и остеоцитах костной ткани. Существуют прямые клинические доказательства влияния ЦНС на остеогенез. У пациентов с травмой головного мозга и переломами процесс оссификации и формирования костной мозоли идет быстрее, чем у пациентов без

травматических повреждений мозга, что можно объяснить повышенным уровнем 2-АГ в сравнении с контролем.

Так как СВ₁ рецепторы представлены на остеобластах не в таком большом количестве как СВ₂ рецепторы, поэтому агонисты СВ₁ рецепторов не вызывают значительного влияния на костеобразования. В то же время, агонисты СВ₂ рецепторов приводят напрямую к активации преостеобластической популяции. На линии мышей, лишенных СВ₂ рецепторов показано, что они имеют существенно ниже костную массу чем контрольная группа. Это осуществляется через непосредственную стимуляцию стромальных клеток/osteобластов и ингибирование моноцитов/osteокластов.

СВ₁ рецепторы вовлечены в процесс модуляции аппетита в сочетании с гормоном грелином. При системном лечении антагонистами СВ₁ рецепторов отмечено снижение уровня грелина в плазме на 35% в сравнении с контролем. С другой стороны, гормон грелин увеличивает дифференцировку остеобластов, повышает активность щелочной фосфатазы и накопление кальция в матриксе, тем самым стимулирует костеобразование. Уровень гипоталамических эндоканабиноидов находится под контролем другого гормона жировой ткани лептина. Одновременно лептин является независимым предиктором снижения минеральной плотности костной ткани и кортикальных параметров кости. Можно предположить о существовании опосредованной связи между уровнем лептина, грелина и гипоталамических эндоканабиноидов и нарушением минеральной плотности костной ткани.

Таким образом, исследования последних нескольких лет показали, что эндоканабиноидная система может играть важную роль в регуляции костного метаболизма. Рецепторы СВ₁ и СВ₂, эндоканабиноиды и межклеточные сигнальные взаимодействия действуя сообща, оказывают эффект на процессы резорбции и костеобразования. Суммируя вышесказанное, дальнейшие исследования должны быть направлены на разработку новых стратегий антирезорбтивной/анаболической терапии остеопороза с учетом эндоканабиноидных взаимодействий, а также поиска полиморфизма генов, ответственных за синтез и экспрессию компонентов эндоканабиноидной системы.

Список литературы

1. Bab, I. Endocannabinoids and the regulation of bone metabolism / I. Bab, O. Ofek, J. Rehnelt, A. Zimmer // Journal of Neuroendocrinology. – 2008. – Vol. 20, №1. – P. 69-74.
2. Tam, J. Involvement of Neuronal Cannabinoid Receptor CB1 in Regulation of Bone Mass and Bone Remodelling / J. Tam // Mol. Pharmacol. – 2006. – Vol. 70, № 3. – P. 786–792.

В.А. Хазанов

НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН

634028, Томск, пр. Ленина, 3, e-mail: vkh@pharm.tsu.ru

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА

Описанный во второй половине XX столетия механизм образования, аккумуляции и использования энергии в живых организмах заложил основу создания биоэнергетической фармакологии. Вскрытие участия митохондрий (МХ) в обеспечении функциональной активности клеток, процессах катаболизма и анаболизма, терморегуляции, ионного гомеостаза, кислотно-щелочного равновесия, продукции свободных радикалов и NO, биотрансформации ксенобиотиков обозначило возможность фармакологического воздействия на упомянутые процессы посредством изменения активности МХ. Установленная зависимость состояния системы энергообеспечения и старения организма указала на обоснованность поиска путей профилактики преждевременного старения организма посредством нормализации энергообеспечения клеток. Исследования последних двух десятилетий в НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН позволили выделить общую закономерность развития адаптивных и дезадаптивных реакций в МХ различных органов независимо от природы действующего фактора. Выдвинуты и получили экспериментальное подтверждение гипотезы первичной реакции системы энергопродукции организма на всякое воздействие и суммации на уровне МХ воздействий на различные системы (МХ – системный интегратор организма). Предложено, независимо от специфики патологии, выделять фазные состояния системы энергопродукции, соответствующие фазам тревоги, резистентности и истощения общего адаптационного синдрома. Для каждой фазы установлены особенности метаболизма МХ, что в значительной степени изменило представление об энергообеспечении адаптивных реакций организма, и создало предпосылки для разработки концепции фармакологической регуляции энергетического обмена. Показано, что резистентность МХ к нагрузке, независимо от ее характера, базируется на активности быстрого метаболического кластера, который обеспечивает интенсивное окисление субстратов в обход медленных участков цикла трикарбоновых кислот. Истощение компенсаторных возможностей системы энергообеспечения переводит заинтересованный орган или систему на энергодефицитный баланс, что ограничивает функциональные возможности и способствует развитию в наиболее «перегруженных» клетках каскада патологических реакций, ведущих к апоптозу. Высказано предположение, что хронизация патологий, развитие терминальных состояний (если «перегрузка» затронула жизненно важные органы и системы), локальные деструктивные изменения с последующим фиброзом, формирование «старческого» типа метаболизма в значительной мере обусловлены развивающимся в клетках энергодефицитом. Установлена возможность развития локального энергетического дефицита в отдельных МХ на фоне достаточного валового уровня продукции макроэргов в организме вследствие формирования локальных

диспропорций скоростей расходования и выработки АТФ. Предложено выделять два вида энергодефицита – кинетический и стационарный. Первый является предтечей патологии и ему сопутствует гиподисфункция той или иной системы организма, а второй – в большей степени характерен для глубоких патологических либо терминальных состояний. В эксперименте (стресс, судорожные припадки, интоксикации, ишемия, гипоксия, физические перегрузки) показана возможность устранять явления энергодефицита, повышать либо восстанавливать резистентность МХ с помощью веществ природного происхождения (субстраты цикла трикарбоновых кислот, аминокислоты, флавоноиды). На основе полученных экспериментальных данных выдвинута гипотеза взаимосвязи основных неинфекционных заболеваний человека с развивающимся дефицитом обеспечения энергией систем поддержания гомеостаза. Постулирована возможность повышения резистентности организма человека к действию патогенных факторов различной природы посредством поддержания адекватного нагрузки уровня продукции АТФ в клетках, вовлеченных в ответную реакцию органов и систем. Впервые продемонстрирована зависимость кинетики лекарственных средств в организме от состояния системы энергопродукции. Экспериментально доказана возможность изменения отклонений от нормы фармакокинетического профиля лекарственного средства с помощью препаратов, влияющих на митохондриальные процессы. На основе субстратов МХ (янтарная, яблочная и глутаминовая кислоты) и содержащих флавоноиды растительных экстрактов разработаны препараты – регуляторы энергетического обмена (РЭО). Расширенные клинические испытания показали, что поддержка резистентности системы энергопродукции с помощью РЭО позволяет справиться с различными патологическими состояниями в терапевтической, кардиологической, пульмонологической, неврологической, педиатрической, акушерско-гинекологической клиниках, в профилактике и лечении профессиональных заболеваний, острых респираторных вирусных инфекций и гриппа, в интенсификации физиотерапевтической терапии. Фармакоэкономический анализ использования препаратов РЭО показал целесообразность их внедрения в лечебную практику в качестве средств, повышающих эффективность, снижающих проявление побочных эффектов, сокращающих сроки и стоимость терапии различных категорий больных.

Т.И. Хомич¹, Л.Р. Бардина¹, А.В. Гайшманова¹, Р.Е. Лис², П.С. Пронько¹

¹ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,
230030, г. Гродно, БЛК, 50, e-mail: office@biochem.unibel.by

²УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
230015, г. Гродно, ул. Горького, 80

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ФОЛИНАТА КАЛЬЦИЯ И БЕТАИНА У КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Алкоголь, наряду с вирусной инфекцией, является основным этиологическим фактором хронических заболеваний печени. Этанол представляет собой гепатотоксин, метаболизм которого вызывает глубокое нарушение функции печеночных клеток. При острой алкогольной интоксикации наблюдается нарушение процессов всасывания в кишечнике. Это касается, прежде всего, фолатов, D-ксилозы, воды, солей и длинноцепочечных жирных кислот. Дефицит фолатов вызывает развитие вторичных повреждений слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, усиливая нарушение процессов кишечной абсорбции. При хронической алкогольной интоксикации эти нарушения значительно усугубляются. Показано, что алкогольное поражение печени сопровождается повышением уровня гомоцистеина в плазме крови, снижением концентрации S-аденозилметионина в печени и активацией пероксидации липидов. В случае нарушений фолатного цикла (состояние недостаточности, подавление метотрексатом) участие бетаина в преобразовании гомоцистеина в метионин становится решающим.

Нами исследовано влияние на гепатотоксичность этанола фолината кальция, бетаина и их композиции в эксперименте на крысах линии Wistar. Животным в течение месяца вводили 25% раствор этанола в/ж в дозе 4,0 г/кг 2 раза в день. Далее на протяжении 10 дней на фоне этанола вводили фолинат кальция в дозе 2 мг/кг, или бетаин –100 мг/кг, или оба препарата вместе. Результаты исследований показали, что назначение бетаина или сочетания бетаина с фолинатом кальция противодействовало развитию окислительного стресса, предупреждало увеличение уровня малонового диальдегида в крови крыс, вызванное хронической алкогольной интоксикацией. В условиях эксперимента при алкогольной интоксикации были активированы основные ферменты антиоксидантной системы в печени: супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и каталаза. Достоверных изменений в активности этих ферментов при введении исследуемых препаратов не выявлено.

После хронической алкоголизации в печени крыс наблюдались морфологические признаки поражения печени: центрлобулярный диффузный лимфоцитоз, баллонная дистрофия по периферии дольки, признаки микровезикулярного стеатоза в перипортальной зоне. У интактных животных признаков жировой дистрофии нет. После 10-дневного введения животным фолината кальция, на фоне алкогольной интоксикации у большинства животных

происходит частичная нормализация картины печени, уменьшается выраженность микровезикулярного стеатоза, уменьшается в 2 раза относительная площадь, приходящаяся на суданофильную область. Более эффективным было введение животным фолината кальция совместно с бетаином – в 2/3 случаев наблюдается нормальная картина печени. Введение опытным крысам фолината кальция совместно с бетаином предупреждало развитие признаков жировой дистрофии. Относительная площадь суданофильных областей у них не отличалась от интактного контроля.

T.I. Khomich¹, L.R. Bardina¹, A.V. Gaishmanova¹, R.Ye. Lis², P.S. Pronko¹

¹*Institute of Pharmacology and Biochemistry, NAS of Belarus, Grodno;*

²*Grodno State Medical University*

STUDIES ON HEPATOPROTECTIVE ACTIVITIES OF CALCIUM FOLINATE AND BETAINE IN RATS WITH CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

The paper summarizes the results of studies on the effects of calcium folinate and betaine on the antioxidant system as well as histological and histochemical indices of liver injury in chronic alcohol intoxication in rats.

О.В. Черныш, О.Н. Василькова

ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, ул. Ильича 230

E-mail: rcrm@tut.by

КЛИНИЧЕСКАЯ И ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТФОРМИНА У БОЛЬНЫХ С АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ

Цель работы: оценить влияние метформина на динамику клинических, гормонально-метаболических показателей у больных с абдоминальным ожирением.

Материалы и методы. Обследовано 40 больных (20 женщин и 20 мужчин, средний возраст 44,15±1,88 лет) с абдоминальным ожирением (ИМТ=35,95±0,69 кг/м², ОТ (муж.) 115±2,59 см, ОТ (жен.) 117±4,42 см, ОТ/ОБ (муж.) 1,03±0,01, ОТ/ОБ (жен.) 0,98±0,03) до и после 6 месяцев приема метформина в дозе 1000 мг 2 раза в день в сочетании с диетотерапией. Оценивались антропометрические (ИМТ, ОТ, ОБ, ОТ/ОБ) и гормонально-метаболические показатели (базальные уровни глюкозы крови, инсулина, проинсулина, расчетного индекса НОМА-IR, холестерина ЛПВП и триглицеридов).

Результаты. На фоне терапии метформином клинически значимое снижение массы тела (более 5% от исходной) было достигнуто у 78% пациентов (снижение массы в среднем на 7,4±1,5 кг, ИМТ на 8%, ОТ – 10,8%, ОТ/ОБ –2%, p<0,05). Гликемия натощак снизилась в среднем на 12% (p<0,05), концентрация инсулина в сыворотке крови – на 22%, индекс НОМА-IR – на 32%, проинсулина – на 64% (p<0,001). Уровни ЛПВП повысились на 16,2%, триглицериды снизились на 6%.

Заключение. Использование метформина в сочетании с диетотерапией у больных с абдоминальным ожирением способствует снижению гиперинсулинемии (инсулинорезистентности), гиперпроинсулинемии, снижению массы тела, ОТ, ОБ, ОТ/ОБ и улучшению показателей липидного обмена, что может способствовать снижению риска развития сахарного диабета типа 2 и сердечно-сосудистых заболеваний.

А.А. Чиркин¹, Е.О. Данченко¹, О.Ю. Абакумова²

¹УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»,
210038, г. Витебск, Московский пр., 33, e-mail: chirkin@vsu.by; chir@tut.by

²НИИ Биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича,
119121, г. Москва, ул. Погодинская, 10, e-mail: inst@ibmh.msk.su

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ

Оценка цитотоксичности фармацевтических субстанций может быть важным этапом доклинических испытаний в рамках правил GLP. Рассмотрим особенности методологии определения цитотоксичности для многокомпонентных субстанций, нормированных по ведущим в фармакодинамике компонентам, и монокомпонентных субстанций известного химического строения.

При анализе цитотоксичности многокомпонентных субстанций природного происхождения целесообразно проводить первичный анализ на культурах клеток, возможных мишенях для фармацевтической субстанции. Желательно фракционирование таких субстанций с целью выделения фракций, обогащенных основным для фармакодинамики компонентом. Например, оценивая цитотоксичность водного экстракта куколок дубового шелкопряда, как потенциального компонента для мягких лекарственных форм накожного применения, нормированного по содержанию аминокислот, были применены клетки фибробластов здорового человека. В данном случае определяется количество жизнеспособных клеток с помощью МТТ-теста. При анализе более 50 фракций данного экстракта не удалось выявить повреждения здоровых фибробластов человека. На втором этапе анализа цитотоксичности подобных препаратов был применен МТТ-тест на трансформированных клетках (клетки карциномы молочной железы, MCF7, HeLa, НГУК-1). Оказалось, что определенные фракции водного экстракта куколок дубового шелкопряда способны как подавлять жизнеспособность трансформированных клеток, так и повышать ее. На основании подобных экспериментов были отобраны для анализа именно те фракции, которые не подавляли жизнеспособность клеток. Кроме того, такой скрининг позволяет отобрать фракции природной субстанции для дальнейшего исследования ее противоопухолевой или биостимулирующей активности. Описанная методология целесообразна при первичном скрининге фармацевтических субстанций природного происхождения.

Для определения цитотоксичности веществ с известной фармакодинамикой, например, гепатопротекторов, можно использовать три подхода: 1) оценку

цитотоксичности *in vitro* посредством оригинального трехэтапного метода последовательного применения клеток с редуцированным эндоплазматическим ретикулумом, перитонеальных макрофагов и гепатоцитов; 2) определение скрытой цитотоксичности *in vivo* в митотическую фазу регенерации печени после ее повреждения; 3) выявление цитотоксических эффектов гепатотропных веществ через их влияние на интегральные показатели метаболизма. Исследованы три гепатопротектора: монопрепараты – урсодезоксихолевая кислота (УДХК), относительно гидрофобная желчная кислота, широко применяемая в гепатологии и тауроурсодезоксихолевая кислота (ТУДХК), гидрофильная желчная кислота, рассматриваемая как перспективная фармакологическая субстанция в гепатологии, а также поликомпонентный природный препарат – экстракт солянки холмовой (ЭСХ), эффективный гепатопротектор народной медицины.

Разработана методика исследования цитотоксичности свободных и иммобилизованных гепатотропных препаратов с использованием изолированных гепатоцитов [1]. Гепатоциты крыс ($0,5 \times 10^6$ клеток/мл) в присутствии препаратов инкубировали в покрытых коллагеном 12-луночных культуральных плашках при 37 °С в атмосфере с 5% CO₂. Выраженность некроза оценивали по активности свободной и общей лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в культуральной среде. Морфологическое выявление некроза гепатоцитов осуществляли путем окраски клеток пропидиум йодидом и флюоресцентной микроскопией. Апоптоз исследовали по фрагментации ДНК методом электрофореза. Через 4 часа инкубации гепатоцитов с препаратами клетки промывали и лизировали. Затем добавляли протеиназу К (20 мг/мл) и смесь инкубировали в течение ночи при 56 °С. ДНК экстрагировали дважды смесью фенол/хлороформ/изоамиловый спирт (25:24:1), промывали 70% этанолом, высушивали, суспензировали в 10 мМ Трис-НСl и обрабатывали рибонуклеазой А (10 мг/мл) в течение 30 минут при 37 °С. Электрофорез ДНК (5 мкг) осуществляли в 1,5% агарозном геле, окрашенном SYBR Green II, при 35 V в течение 4 ч. Наличие апоптоза оценивали по межнуклеосомной фрагментации ДНК. Морфологические признаки апоптоза выявляли путем определения конденсации хроматина с использованием флюоресцентного микроскопа после окраски гепатоцитов Hoechst 33342.

На основании проведенных исследований предложена классификация гепатотропных препаратов на 1) не обладающие цитотоксичностью и 2) обладающие разной степенью цитотоксичности в терапевтическом диапазоне доз. Установлено, что препарат УДХК в дозах, выше 100 мкг/мл, обладает цитотоксическими эффектами на культурах клеток L929, L41, НГУК-1, проявляющимися подавлением биосинтеза ДНК, белков и роста клеток в монослое; препарат ТУДХК обладает цитотоксичностью в дозах, превышающих 400 мкг/мл; препарат ЭСХ не обладает прямой цитотоксичностью в дозах до 1000 мкг/мл, а в дозах 50-200 мкг/мл проявляет инсулиноподобные эффекты (стимуляция биосинтеза белка в клетках L929 и L41 и липидов из меченой глюкозы в жировых эпидидимальных клетках). Показано, что препараты желчных кислот и ЭСХ не обладают опосредованной цитотоксичностью *in vitro* и не

стимулируют секрецию цитокинов перитонеальными макрофагами мышей. В экспериментах *in vitro* определены диапазоны доз гепатотропных препаратов, способных модулировать процессы апоптоза и/или некроза в гепатоцитах. Обнаружено, что препараты УДХК и ТУДХК обладают антиапоптозогенным действием (50-200 мкг/мл) при индукции апоптоза гликохенодезоксихолевой кислотой. Препараты ТУДХК (50-200 мкг/мл) и ЭСХ (200 мкг/мл) оказывают антинекрозогенный эффект [2].

Установлено, что гепатотропные препараты, обладающие определенной степенью цитотоксичности в терапевтическом диапазоне доз, вызывают единичные микроповреждения гепатоцитов, что стимулирует митотическое деление клеток и обеспечивает оптимальное протекание репаративной регенерации печени после частичной гепатэктомии, а также частичной и полной ишемии органа (УДХК – повреждения отдельных гепатоцитов, ТУДХК – повреждение мембранных внутриклеточных структур). В результате препарат УДХК обеспечивает синхронизацию митотического деления гепатоцитов, что регистрируется выявлением сдвига пика включения [³H]тимидина в ДНК на 3-6 часов к моменту операции частичной гепатэктомии. Гепатотропные препараты, не обладающие цитотоксичностью (ЭСХ), могут проявлять опосредованное гепатопротекторное действие через инсулиноподобные эффекты на печень путем оптимизации метаболизма в клетке. Препарат ЭСХ увеличивает включение [³H]тимидина в ДНК на протяжении всей митотической фазы регенерации печени без сдвига пика включения. Оба препарата оптимизируют течение метаболических процессов в гипертрофическую фазу регенерации печени [3].

Таким образом, оценка цитотоксичности потенциальных фармацевтических субстанций может ускорить проведение доклинических испытаний, обеспечивая их эффективный скрининг и адресность при проведении нормативных исследований по токсичности и фармакодинамике разрабатываемых препаратов.

Список литературы

1. Чиркин А.А., Данченко Е.О. Исследование цитотоксичности гепатотропных препаратов с использованием клеточных культур. Инструкция на метод № 160-00-11. Утверждена МЗ Беларуси. 08.02.2001 г.
2. Effect of bile acids on the proliferative activity and apoptosis of rat hepatocytes / E. Danchenko [et al.] // *Exp. Toxic. Pathol.* – 2001. – Vol. 53. – P. 227–233.
3. Чиркин, А.А. Репаративная регенерация печени и цитотоксичность гепатотропных препаратов / А.А. Чиркин, В.В. Петров, Е.О. Данченко // 11 Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». – М., 2004. – С. 820.

А.А. Чиркин¹, О.Ю. Абакумова², Д.И. Паршонок¹

¹УО «Витебский государственный университет им. П.М.Машерова»,
210038, г. Витебск, Московский пр., 33, e-mail: chirkin@vsu.by; chir@tut.by

²НИИ Биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича,
119121, г. Москва, ул. Погодинская, 10, e-mail: inst@ibmh.msk.su

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА КУКОЛОК ДУБОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Гидрофильные компоненты водного экстракта куколок дубового шелкопряда (ВЭКШ) обладают многогранным биостимулирующим действием. Для использования их в качестве фармацевтических субстанций необходимо оценить их токсичность. Целью работы было определение цитотоксичности ВЭКШ и его фракций на культуре клеток нормальных фибробластов человека. Для достижения поставленной цели работа включала два этапа: 1) получение ВЭКШ и его фракционирование; 2) определение цитотоксичности ВЭКШ и его фракций на культуре клеток нормальных фибробластов человека.

Для получения ВЭКШ жидкость двух куколок помещали в стакан с 10 мл 0,9 %-го раствора хлорида натрия и смесь гомогенизировали на магнитной мешалке 10 минут. Гомогенат центрифугировали 10 минут при 15000 об/мин до получения трех слоев. Для анализа использовали средний слой, а верхнюю липидную пленку и нижний осадок отбрасывали. ВЭКШ в количестве 2,5 мл пропускали через хроматографическую колонку, заполненную сефадексом G25 fine (высота колонки 25 см, диаметр 2,5 см, объем 125 см³; буфер – 0,01 М раствор бикарбоната натрия). Материал после хроматографии содержался в пробирках 1-53. Анализ элюированных веществ во фракциях 1-53 проводили спектрофотометрически при длинах волн 260 нм и 280 нм и содержание веществ рассчитывали по формуле $A_{280} \times 1,55 - A_{260} \times 0,76$ (мг/мл). В результате хроматографического разделения ВЭКШ получены 3 пика, содержащие вещества (вероятно, пептидной и полинуклеотидной природы): 1 пик – фракции 6-13, 2 пик – фракции 14-32 и 3 пик – фракции 33-53. Уже в 46-й фракции ВЭКШ определялись только следы веществ.

Для определения цитотоксичности суммарного водного экстракта и его фракций были взяты нормальные фибробласты кожи здорового человека. Клетки культивировали в пластиковых матрасах (25 см²) в CO₂-инкубаторе при 37°C в среде DMEM (Gibco) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco) и антибиотиков бензилпенициллина и стрептомицина.

Для определения цитотоксичности фракций ВЭКШ клетки в логарифмической ростовой фазе пассировали в 96-луночные планшеты в объеме 100 мкл. Клетки преинкубировали в планшетах 24 часа для их стабилизации перед добавлением ВЭКШ. Затем к клеткам добавляли 0,15 мкл фракций ВЭКШ и через 72 часа проводили определение цитотоксичности, то есть анализировали количество выживших клеток с помощью МТТ-теста. МТТ-тест основан на том, что дегидрогеназы митохондрий только живых клеток образуют из тиазолия синего

тетразолия бромида (МТТ) кристаллы формазана. Таким образом определяется количество выживших клеток.

Методика проведения МТТ-теста включает в себя добавление 50 мкл 0,5% МТТ-реагента (ДиаЭм) в лунки через 72 часа инкубации клеток с фракциями ВЭКШ и помещение планшетов в CO₂-инкубатор. После этого из лунок аккуратно и тщательно убирается среда, а к клеткам для растворения кристаллов формазана, образовавшегося из МТТ-реагента, добавляется 100 мкл DMSO. Планшеты для быстрого растворения при встряхивании помещают на Titramax 101, после чего интенсивность окраски измеряют на мультискане EX Labsystems при длине волны 540 нм. Количество выживших клеток рассчитывают в процентах к контролю, которым являются клетки, культивированные без добавления фракций ВЭКШ.

Установлено, что ни ВЭКШ ни его фракции не оказали цитотоксического действия на культуру клеток нормальных фибробластов человека. Результаты проведенного исследования позволяют предложить использование водного экстракта куколок дубового шелкопряда или его фракций для оптимизации функционирования клеток кожи человека.

П.Д. Шабанов¹, А.А. Лебедев²

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,
194044, г. Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 6;

²Институт экспериментальной медицины РАМН,

197376, г. Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12; pdshabanov@mail.ru

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ В АМИГДАЛЯРНО-ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ (АМГГИНА) СИСТЕМЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ НАРКОГЕНОВ

В опытах на крысах психостимулятор фенамин, наркотический анагетик морфин и барбитурат этаминал-натрий активировали, а астрессин, неселективный антагонист рецепторов кортиколиберина, угнетал реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса через вживленные электроды. Блокада экстрагипоталамических (в центральном ядре миндаины) рецепторов кортиколиберина астрессинном меняла действие разных наркогенов на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса. На этом фоне этаминал-натрий и в меньшей степени фенамин сохраняли выраженный психоактивирующий эффект на реакцию самостимуляции, а у морфина умеренный стимулирующий эффект менялся на депрессантный. Пентапептид лей-энкефалин при этом вызывал стойкий депрессантный эффект, потенцируя действие астрессина. Блокада гипоталамических (в паравентрикулярной области) рецепторов кортиколиберина астрессинном в меньшей степени меняла действие наркогенов на реакцию самостимуляции латерального гипоталамуса. При этом фенамин, этаминал-натрий и морфин проявляли свой активирующий эффект, а лей-энкефалин не влиял на реакцию самостимуляции. Потенцирование астрессинном угнетающего

действия лей-энкефалина на самостимуляцию мозга, по-видимому, связано с временным выключением активирующего влияния центрального ядра миндалины на гипоталамус.

Во второй серии исследований показано, что форсированное (в течение 4 дней в возрастающих дозах) введение фармакологических агентов, обладающих наркогенной активностью, не активировало экспрессию мРНК аргинил-8-вазопрессина в гипоталамусе и миндалине мозга крыс и лишь выборочно активировало экспрессию мРНК кортиколиберина в гипоталамусе (этаминал натрия >> этанол > фентанил) и миндалине (дексаметазон >> этаминал натрия > фентанил).

Для объяснения полученных результатов предложена гипотеза гиперциркуляции в амигдаларно-гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (АМГГИНА) системе. В реализации наркогенного эффекта изученных веществ ведущую роль играют центральные кортиколибериновые механизмы миндалины и гипоталамуса. Гипофиз посредством тропных гормонов управляет синтезом и высвобождением стрероидных гормонов (глюкокортикоидов) из коры надпочечников [1]. Глюкокортикоиды по механизму обратной связи могут угнетать синтез АКТГ в гипофизе, а также синтез кортиколиберина в гипоталамусе, но активировать его синтез в центральном ядре миндалины. Миндалина оказывает прямое управляющее действие на кортиколибериновые механизмы гипоталамуса, опосредуя эффекты наркогенов [2, 3]. Функциональное выключение миндалины приводит к невозможности реализации подкрепляющего действия наркогена. Именно центральное ядро миндалины определяет, разовьется ли адекватный подкрепляющий ответ наркогена или нет. Несмотря на разные нейрохимические механизмы, вовлекаемые в реализацию подкрепляющего действия наркогенов, ведущую роль играет дофаминергическая система мозга переднего мозгового пучка [1]. Она определяет положительную эмоционально-мотивационную реакцию наркогена. Центральное ядро миндалины модулирует эффекты фармакологических средств, обладающих наркогенным потенциалом. При этом миндалина выполняет роль «побудителя» (incentive agent), запускающего подкрепляющие дофаминергические механизмы гипоталамуса [2]. Схематически такая система может быть представлена следующей цепочкой: миндалина → гипоталамус (+) → гипофиз (+) → надпочечники (+) → гипофиз (-), гипоталамус (-), миндалина (+). Как видно из представленной схемы, принципиальное ее отличие от существующих представлений в том, что повышенный уровень глюкокортикоидов по-разному влияет на мозговые образования: подавляет активность гипоталамуса и гипофиза, но активирует миндалину. Это позволяет поддерживать гиперактивность всей системы при неоднократном (хроническом) введении наркогена. Подобная гиперциркуляция в системе АМГГИНА составляет суть перестроек гормональных систем в поддержании патологического ответа на вводимый наркоген. Разорвать данную систему гиперциркуляции можно путем выключения одного из звеньев, входящих в систему АМГГИНА. В силу того, что основные физиологические ответы гипофизарно-надпочечниковой системы

жестко детерминированы, наиболее просто разорвать звено, регламентирующее взаимоотношения между миндалиной и гипоталамусом. В частности, это могут быть лекарственные средства, блокирующие рецепторы кортиколиберина преимущественно в миндалине и контролирующие биосинтез АКТГ и тревожность (антагонисты CRF-R₁ рецепторов). Поскольку в настоящее время препараты системного действия на данный механизм не выявлены, перспектива создания избирательных антагонистов CRF-R₁ рецепторов видится как важная задача для решения проблемы подавления наркотической мотивации и лечения зависимости. Поддержано грантом РФФИ №07-04-00549а.

Список литературы

1. Шаляпина, В.Г. Основы нейроэндокринологии / В.Г. Шаляпина, П.Д. Шабанов. – СПб.: Элби-СПб, 2005. – 468 с.
2. Блокада рецепторов кортиколиберина в миндалине астрессинном устраняет подкрепляющие эффекты фенамина, морфина и лей-энкефалина на самостимуляцию мозга / П.Д. Шабанов [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол. – 2006. – Т.69, №3. – С.14–18.
3. Shabanov, P.D. The extended amygdala CRF receptors regulate the reinforcing effect of self-stimulation / P.D. Shabanov // Int. J. Addiction Res. 2008. – Vol. 1, №1. – P. 200–204.

Е.В. Шафрановская, Н.В. Глушаченко

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»

220141, г. Минск, ул. Купревича, 2, e-mail: pharmcenter@academpharm.by

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ЛИНИИ WAG ПРИ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И ХИМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛЮТАМИНА

В последние годы отмечается значительное увеличение числа патологических состояний, сопровождающихся острыми и хроническими болевыми синдромами, а также в результате развития гипоксии. В связи с этим большое значение придается целенаправленной разработке новых эффективных и рациональных средств обезболивания и восстановления. Поэтому актуальным представляется изучение изменений биохимических параметров сыворотки крови и гомогенатов тканей при экспериментальных патологиях, а также эффектов, вызванных введением в организм лекарственных средств, в том числе аминокислот. Глутамин является важным компонентом различных метаболических процессов. Организм имеет большой резерв глутамина и в норме может синтезировать его в достаточных количествах. При состояниях гиперкатаболизма, связанных с сепсисом, травмой, хирургическим вмешательством и другими критическими состояниями, развивается глубокий дефицит глутамина, т.к. его потребление резко возрастает, и синтез становится

недостаточным. Тем более этот процесс может усугубиться при онкологической предрасположенности.

Целью данного исследования явилось изучение характера сдвигов в активности ряда ферментов и в содержании субстратов крови белых крыс-самцов линии WAG в условиях гипоксии (Г) и висцеральной боли и попытка фармакологической коррекции выявленных отклонений с помощью глутамин.

Исследования выполнены на белых крысах-самцах линии WAG массой 120-150 грамм, содержащихся в виварии института фармакологии и биохимии НАН Беларуси. Всех животных распределяли на шесть равноценных групп по 5 особей в каждой. Животные первой группы подвергались внутрибрюшинной инъекции физиологического раствора (0,9 %-го раствора NaCl – 1 мл на 100 грамм веса) и служили контролем. Крысам второй группы вводили нитрит натрия в дозе 40 мг/кг для создания гемической гипоксии. У животных третьей группы экспериментально вызывали висцеральную боль путем инъекции 0,7 %-го раствора уксусной кислоты в брюшную полость (1 мл на 100 грамм). Животным четвертой группы внутрибрюшинно вводили раствор глутамин в течение трех дней (200 мг/кг, pH 7,0). Пятая группа – крысы после острой гипоксии на фоне предшествующего трехдневного введения глутамин. Шестая группа – крысы после острой висцеральной боли на фоне трехдневного введения глутамин. Отбор крови осуществляли через 30 минут после введения уксусной кислоты и нитрита натрия. Изучали состояние ряда биохимических параметров в сыворотке крови экспериментальных животных и АТФазную активность эритроцитов. Обработку и анализ экспериментальных данных проводили с помощью ANOVA.

Создание гемической гипоксии на фоне предшествующего введения глутамин показало достоверное увеличение содержания общих белков и альбуминов в сравнении с гипоксией без глутамин и нормализацию по отношению к контролю. Отмечено повышение концентрации креатинина, мочевины, активностей креатинкиназы, ЛДГ относительно параметров интактных животных, и крыс с гипоксией без глутамин. Не обнаружено восстановительного действия глутамин при гипоксии на активность АЛТ. Эритроцитарная АТФазная активность достоверно не отличается от контроля и в этом случае действие гипоксии нивелируется поступлениями глутамин.

Действие глутамин на фоне химического ожога привело к снижению активности сердечной креатинкиназы и ЛДГ по сравнению с действием только уксусной кислоты: уровни вышеуказанных ферментов практически вернулись к таковым в контрольной группе. Достоверно повысилась концентрация мочевины относительно контроля и ожогового опыта. Отмечено повышение АТФазной активности на 90% относительно контроля и на 540% в сравнении с ожоговым опытом. Таким образом, включаясь в различные метаболические процессы, глутамин усиливает синтез белков, мочевины и креатинина, а также нормализует работу общей АТФазы эритроцитов, демонстрируя протективные свойства при гемической гипоксии; в случае ожога уксусной кислотой наблюдается приоритетное восстановление концентрации сердечной креатинкиназы в крови до уровня нормы и стимуляция синтеза пуринов.

В.М. Шейбак

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

230015, г. Гродно, ул. Горького, 80

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПОЗИЦИИ «ТАУЦИНК»

На основе таурина создан ряд лекарственных препаратов – таблетки «Таурин», «Таукард», глазные капли «Тауфон» (4 % раствор таурина). Препараты, созданные на основе таурина имеют широкие показания к применению и практически не имеют противопоказаний. Широкое распространение аминокислоты таурин и микроэлемента цинка в биологических системах, сопряженность их участия во многих реакциях метаболизма, позволили нам предположить, что они являются физиологическими синергистами.

Нами разработана композиция, условное название «тауцинк», биологическая активность, которой была исследована на животных при различных способах введения и разного возраста.

Доказано, что исследуемая композиция усиливает регенераторный и секреторный потенциал тонкого кишечника, модулирует состояние иммунной системы. При внутрижелудочном введении тауцинка усиливается утилизация незаменимых аминокислот тканями. Возрастает количество субстратов, используемых в углеводном и энергетическом обменах. Результаты наших экспериментов показали, что введение тауцинка:

- ✓ резко повышает проницаемость клеточных мембран;
- ✓ ведет к обеднению аминокислотного пула в плазме;
- ✓ вызывает серьезный дисбаланс в системе нейромедиаторных аминокислот в отделах мозга.

Проведенные в динамике исследования показали отсутствие кумулятивного эффекта, что позволяет предполагать возможность длительного применения препарата.

Всё выше указанное, позволяет рассматривать тауцинк как основу для создания лекарственного средства, обладающего широким спектром биологической активности и возможной цитопротекторной, гепато- и нейропротекторной активностью.

V.M. Sheibak

Grodno State Medical University

RESULTS OF INVESTIGATION OF BIOACTIVITY «TAUZINC»

The designed composition, consisting of taurine and zinc of the sulphate («tauzinc»), possessing high biological activity. The considered results experiment, allowing consider tautinc as base to making the medicine, possessing hepato- and neuroprotection activity.

А.Г. Шляхтун

ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»,

230030, г. Гродно, БЛК, 50,

e-mail: office@biochem.unibel.by

ВЛИЯНИЕ ГЛУТАМИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ НА РАЗВИТИЕ ПРИЗНАКОВ ОТМЕНЫ ЭТАНОЛА

В настоящее время не существует оптимального средства для проведения терапии при отравлениях этанолом и в постинтоксикационный период. Одним из актуальных направлений в области разработки новых антиалкогольных препаратов является их поиск среди субстанций природного происхождения. Перспективными в этом смысле являются аминокислоты и их производные, поскольку они обладают низкой токсичностью и высоким терапевтическим индексом. На сегодняшний день выполнено большое количество экспериментальных и клинических работ по изучению эффективности некоторых производных глутамина, в частности его дипептидов, при ряде патологических состояний, однако попытки использования производных глутамина при алкогольной интоксикации не предпринимались.

Материалы и методы исследования. В эксперименте были использованы крысы-самцы линии Wistar в возрасте 6-7 мес. со средней массой 280 ± 30 г. Животные содержались в кондиционируемом помещении ($22 \pm 3^\circ\text{C}$) при смешанном освещении, группами по 6 особей в каждой клетке, на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде.

Были использованы следующие реактивы: 0,9 %-й раствор натрия хлорида для инфузий, спирт-ректификат марки «Люкс», глицилглутамин (Sigma, США), аланилглутамин (Applichem, Германия), глутамин (Sigma, США), глицин (Riedel - de Haën, Германия).

Алкоголизация крыс проводилась методом интрагастральных интубаций в течение 5 дней с 12 часовыми интервалами (1-е введение в 8^{00} , последнее в 20^{00}). Для введения использовался 30 %-й (в/о) раствор этанола. Подбор индивидуальных доз этанола и оценку тяжести синдрома отмены этанола у крыс проводили по методу А.Х. Абдрашитова [1].

Наблюдение за животными и оценку выраженности признаков отмены этанола начали проводить через 13 часов после его последнего введения. Животные были разделены на 5 групп по выраженности признаков отмены этанола. Препараты в дозах 1 мМ/кг вводили внутривентриально через 14 и 16 часов после отмены алкоголя. Контрольным животным вводили эквивалентное количество физиологического раствора.

Сравнение достоверности различий между группами проводилось с помощью t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при значении $p < 0,05$.

Результаты исследования. В контрольной группе животных в период после отмены этанола отмечается достоверное увеличение тяжести симптомов абстиненции. Полученные данные показывают, что глутамин, глицилглутамин и

глицин в использованных дозах достоверно уменьшают выраженность признаков отмены этанола у крыс по сравнению с контролем.

Таблица 1. – Влияние глутамина, глицилглутамина, аланилглутамина на динамику развития признаков отмены этанола у крыс (баллы, $M \pm S.E.M$)

Часы отмены	Контроль n=10	Аланил-глутамин n=10	Глицил-глутамин n=10	Глутамин n=10	Глицин n=10
13	64.0±6.0	60.0±4.9	65.0±5.0	61.0±7.5	64.0±7.6
13.30	72.0±4.2	74.0±3.4	77.0±4.0	75.0±4.0	76.0±4.8
14	1-е введение препаратов				
15	100.0±8.0#	77.0±7.6	64.0±6.0**	72.0±4.9**	61.0±5.9**
16	2-е введение препаратов				
17	82.0±7.9	61.0±9.9	49.0±8.9*	65.0±5.6	50.0±5.8**

Примечание: * – $p < 0.05$ – по сравнению с контролем, ** – $p < 0.01$ – по сравнению с контролем, # – $p < 0.01$ – по сравнению с 13 часом отмены

Список литературы

1. Сравнительная характеристика методов форсированной алкоголизации крыс / А.Х. Абдрашитов [и др.] // Фармакол и токсикол. – 1983. – № 6. – С. 94–98.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абакумова О.Ю. 80, 83
Адамян Ц.И. 3
Анисович М.В. 4, 65
Артёмова О.В. 31
Балаш Ж.И. 22
Бардина Л.Р. 72, 78
Башилов А.В. 6, 8
Белоновская Е.Б. 12
Бовдей Н.А. 39
Богушевич С.Е. 9
Бородинская В.В. 11
Бородинский А.Н. 11, 31
Буко В.У. 12, 38, 52, 64
Валентюкевич О.И. 13
Василькова О.Н. 15, 79
Величко М.Г. 16, 34
Виноградов В.В. 19, 21
Габриляк Т. 38
Гайшманова А.В. 78
Гараев Э.А. 18
Геворкян Э.С. 3
Глушаченко Н.В. 86
Гольшко П.В. 19, 21
Горева Д.А. 62
Гупенец Д.В. 22, 24
Гуринович В.А. 24, 26, 67
Данченко Е.О. 80
Дорофей Д.С. 24, 26, 67
Дремза И.К. 55, 61
Ельчанинова М.А. 36
Жмакин А.И. 28
Забродская С.В. 55
Заводник И.Б. 55
Зарубина И.В. 29
Канунникова Н.П. 22
Караедова Л.М. 31, 32
Карпова О.Л. 16, 34
Катковская И.Н. 24, 26, 36, 67
Кирко С.Н. 12, 38, 64
Киселев П.А. 39
Коваленчик И.Л. 36
Коноваленко О.В. 11
Коновалова Н.В. 41
Кравченко Е.В. 43, 45, 47, 48, 50
Лапшина Е.А. 55
Ларина Т.Ф. 55
Лебедев А.А. 84
Лелевич В.В. 31
Лис Р.Е. 64, 72, 78
Лукивская О.Я. 12, 52
Лупачик С.В. 54, 61, 62
Лысенко Г.Н. 9
Максимова Л.В. 45
Максимчик Ю.З. 55
Матвейчук С.В. 9
Машкович А.Е. 65
Михеев В.В. 57
Мойсеёнок А.Г. 24, 36
Мойсеёнок Е.А. 59
Надольник Л.И. 13, 54, 61, 62
Нарута Е.Е. 12, 64
Николаева И.В. 28
Николаева И.А. 12, 64
Николаевич Л.Н. 4, 65
Оганесян К.Р. 3
Ольгомец Л.М. 47
Омельянчик С.Н. 67
Опарин А.Ю. 41
Паршонок Д.И. 83
Пеховская Т.А. 36, 69
Пилецкая Т.П. 41
Понтелеева И.В. 48
Попов Ю.В. 52
Прокопенко Н.В. 70
Пронько П.С. 72, 78
Радута Е.Ф. 22, 36
Рапацевич О.П. 70
Рожко А.В. 15
Романов Г.Н. 73
Ручинска А. 38
Сатановская В.И. 72
Спиридович Е.В. 6

Степуро И.И. 41
Судникович Е.Ю. 55
Суровец А.И. 50
Тимофеева В.А. 6
Третьякевич Т.С. 31, 32
Хазанов В.А. 76
Хенер Т. 12
Хомич Т.И. 72, 78
Черныш О.В. 15, 79
Чещевик В.Т. 55

Чиркин А.А. 80, 83
Чумаченко С.С. 62
Шабанов П.Д. 29, 57, 84
Шафрановская Е.В. 4, 86
Шварц Д. 39
Шевалье А.А. 36
Шейбак В.М. 28, 88
Шляхтун А.Г. 89
Шунк В.-Х. 39
Яськевич С.С. 62

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Адамян Ц.И., Геворкян Э.С., Оганесян К.Р.</i> Сдвиги ряда показателей крови при воздействии электромагнитного излучения миллиметрового диапазона	3
<i>Анисович М.В., Николаевич Л.Н., Шафрановская Е.В.</i> Влияние ликопина на морфометрические и биохимические характеристики животных	4
<i>Башилов А.В., Спиридович Е.В., Тимофеева В.А.</i> Коррекция патологических состояний почек экстрактивными веществами <i>Begonia erythrophylla hort.</i>	6
<i>Bashilov A.V.</i> Characteristics of biochemical composition and antioxidant activity of representatives <i>Filipendula Mill.</i> and <i>Polemonium L.</i>	8
<i>Богушевич С.Е., Матвейчук С.В., Лысенко Г.Н.</i> Влияние стабильных радикалов на антиоксидантные свойства экстрактов лекарственных растений	9
<i>Бородинский А.Н., Бородинская В.В., Коноваленко О.В.</i> Метаболизм углеводов при диабетогенном поражении печени и его коррекция пантенолом и L-карнитином.....	11
<i>Буко В.У., Белоновская Е.Б., Лукивская О.Я., Нарута Е.Е., Николаева И.А., Хенер Т., Курко С.Н.</i> Коррекция алкогольного и неалкогольного стеатогепатитов новыми ингибиторами цитохрома P-450 2E1	12
<i>Валентюкевич О.И., Надольник Л.И.</i> Состояние монооксигеназной системы печени крыс со сниженным тиреоидным статусом после многократного воздействия кратковременного неизбежного психоэмоционального стресса ..	13
<i>Василькова О.Н., Рожко А.В., Черныш О.В.</i> Клинико-лабораторная оценка липидного обмена при сахарном диабете 2 типа	15
<i>Величко М.Г., Карпова О.Л.</i> Биохимический статус собак при скармливании нового корма	16
<i>Гараев Э.А.</i> Изучение тритерпеновых соединений <i>Scabiosa micrantha</i> , произрастающих в Азербайджане	18
<i>Гольшко П.В., Виноградов В.В.</i> Гипертрофия и гиперплазия тироцитов при перманентном стрессе	19
<i>Гольшко П. В., Виноградов В.В.</i> Жизненный (секреторный) цикл тироцитов при иммобилизационном стрессе	21
<i>Гупенец Д.В., Балаш Ж.И., Радута Е.Ф., Канунникова Н.П.</i> Коррекция нарушений энергетического метаболизма и окислительного стресса при действии хлористого алюминия с помощью пантенола, сукцината аммония и карнитина..	22
<i>Гуринович В.А., Катковская И.Н., Гупенец Д.В., Дорофей Д.С., Мойсеёнок А.Г.</i> Модель интрацеребрального поглощения, субклеточного распределения и биотрансформации пантетина	24
<i>Дорофей Д.С., Катковская И.Н., Гуринович В.А.</i> Исследование возможности модуляции фракций кофермента А в миокарде при алюминиевом токсикозе	26
<i>Жмакин А.И., Николаева И.В., Шейбак В.М.</i> Нормализация микробиоценоза кишечника экстрактом куколок китайского дубового шелкопряда	28

<i>Зарубина И.В., Шабанов П.Д.</i> Антиоксидантные эффекты кортагена у различных по устойчивости к гипоксии животных при хронической ишемии головного мозга	29
<i>Караедова Л.М., Артемова О.В., Бородинский А.Н., Лелевич В.В., Третьякевич Т.С.</i> Некоторые показатели энергетического состояния у животных в условиях хронической морфиновой интоксикации	31
<i>Караедова Л.М., Третьякевич Т.С.</i> Влияние L-аргинина и таурина на уровень цитрата в печени крыс.....	32
<i>Карпова О.Л., Величко М.Г.</i> Новые корма как средства коррекции поведения и функциональных возможностей организма собак	34
<i>Катковская И.Н., Ельчанинова М.А., Шевалье А.А., Пеховская Т.А., Коваленчик И.Л., Радута Е.Ф., Мойсеёнок А.Г.</i> Исследование нейротропной активности D-пантенола при фокальной ишемии головного мозга.....	36
<i>Кирко С.Н., Ручинска А., Габриляк Т., Буко В.У.</i> Антиоксидантный эффект генистеин-8с-гликозида на культуре клеток линии СНО	38
<i>Киселев П.А., Бовдей Н.А., Шунк В.-Х., Шварц Д.</i> Генотип-зависимая метаболическая активация бенз(а)пирена и роль в этом процессе кверцетина ...	39
<i>Коновалова Н.В., Опарин А.Ю., Пилецкая Т.П., Степура И.И.</i> Образование дитирозина и 3-нитротирозина при воздействии диоксида азота на водные растворы тирозина	41
<i>Кравченко Е.В.</i> Перспективы развития фармакогенетических подходов в разработке ноотропных средств	43
<i>Кравченко Е.В., Максимова Л.В.</i> Влияние зоосоциального фактора на габитуацию локомоции у линейных мышей с различным уровнем тревожности	45
<i>Кравченко Е.В., Ольгомец Л.М.</i> Развитие десинхроноза у субмиссивных мышей после многократных диадных агонистических взаимодействий	47
<i>Кравченко Е.В., Понтелеева И.В.</i> Перспективы применения олигопептидов в составе комплексной терапии эпилепсии.....	48
<i>Кравченко Е.В., Суровец А.И.</i> Исследование влияния дипептида А-702 на двигательную активность и уровень тревожности аутбредных мышей ICR	50
<i>Лукивская О.Я., Попов Ю.В., Буко В.У.</i> Влияние пентоксифиллина и статинов на разрешение тиацетамидного фиброза печени.....	52
<i>Лупачик С.В., Надольник Л.И.</i> Выделение и сравнительное исследование тиреоглобулина из щитовидной железы крыс, потреблявших нормальные и повышенные количества йода	54
<i>Максимчик Ю.З., Судникович Е.Ю., Дремза И.К., Чещевик В.Т., Забродская С.В., Ларина Т.Ф., Лапшина Е.А., Заводник И.Б.</i> Метаболические эффекты мелатонина при диабетическом и токсическом поражении печени.....	55
<i>Михеев В.В., Шабанов П.Д.</i> Влияние нейролептика сулпирида на межполушарную асимметрию индивидуального поведения мышей двух линий	57
<i>Мойсеёнок Е.А.</i> Необходимость назначения селеносодержащих биокорректоров у женщин в прегравидарном периоде	59
<i>Надольник Л.И., Лупачик С.В., Дремза И.К.</i> Исследование <i>in vitro</i> антиоксидантных свойств препарата «оксидат торфа»	61

<i>Надольник Л.И., Лупачик С.В., Чумаченко С.С., Яськевич С.С., Горева Д.А.</i> Исследование эффектов стресса на метаболизм щитовидной железы крыс с различной йодной обеспеченностью	62
<i>Нарута Е.Е., Николаева И.А., Курко С.Н., Лис Р.Е., Буко В.У.</i> Фармакотерапия неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) у крыс метформином	64
<i>Николаевич Л.Н., Анисович М.В., Машкович А.Е.</i> Характеристика гематологических показателей животных после введения ликопина	65
<i>Омельянчик С.Н., Дорофей Д.С., Катковская И.Н., Гуринович В.А.</i> Модуляция структуры фонда кофермента А в печени крыс при введении D-гомопантотеновой кислоты, хлористого алюминия и стимуляторов биосинтеза кофермента.....	67
<i>Пеховская Т.А.</i> Активирование глутатион-S-трансферазы селенсодержащими препаратами при эндогенной интоксикации.....	69
<i>Прокопенко Н.В., Рапацевич О.П.</i> Влияние синтетических дипептидов на уровень малонового диальдегида в клетках иммунной системы в условиях окислительного стресса.....	70
<i>Пронько П.С., Хомич Т.И., Бардина Л.Р., Сатановская В.И., Лис Р.Е.</i> Влияние природных биологически активных соединений на поражение печени, вызванное этанолом и четыреххлористым углеродом	72
<i>Романов Г.Н.</i> Эндоканабиноидная система в регуляции костного метаболизма.....	73
<i>Хазанов В.А.</i> Фармакологическая регуляция энергетического обмена.....	76
<i>Хомич Т.И., Бардина Л.Р., Гайшманова А.В., Лис Р.Е., Пронько П.С.</i> Исследование гепатопротекторной активности фолината кальция и бетаина у крыс при хронической алкогольной интоксикации	78
<i>Черныш О.В., Василькова О.Н.</i> Клиническая и гормонально-метаболическая эффективность метформина у больных с абдоминальным ожирением	79
<i>Чиркин А.А., Данченко Е.О., Абакумова О.Ю.</i> Оценка цитотоксичности фармацевтических субстанций.....	80
<i>Чиркин А.А., Абакумова О.Ю., Паршонок Д.И.</i> Оценка цитотоксичности водного экстракта куколок дубового шелкопряда.....	83
<i>Шабанов П.Д., Лебедев А.А.</i> Функциональная организация амигдаларно-гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (АМГГИНА) системе при действии наркогенов.....	84
<i>Шафрановская Е.В., Глушаченко Н.В.</i> Биохимическая характеристика сыворотки крови крыс линии WAG при гемической гипоксии и химическом ожоге на фоне введения глутамина	86
<i>Шейбак В.М.</i> Результаты изучения биологической активности композиции «тауцинк».....	88
<i>Шляхтун А.Г.</i> Влияние глутамина и его производных на развитие признаков отмены этанола	89
<i>Авторский указатель</i>	91

Научное издание

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Материалы
международной научной конференции,
посвященной 80-летию Национальной академии наук Беларуси

(Гродно, 25-26 сентября 2008 г.)

Ответственный за выпуск: *М.В. Вахмянина*

Компьютерная верстка: *В.А. Гуринович*

Дизайн обложки: *В.А. Гуринович*

Подписано в печать 15.10.2008. Формат 60x84/16.

Бумага офсетная. Гарнитура Calibri. Печать RISO.

Усл. печ. л. 5,58 Уч.-изд. л. 7,30 Тираж 80 экз. Заказ 0114

Издатель и полиграфическое оформление:

Учреждение образования «Гродненский государственный
университет имени Янки Купалы»

ЛИ № 02330/0133257 от 30.04.2004 г.

ЛП № 02330/0056882 от 30.04.2004 г.

Пер. Телеграфный, 15а, 230023, Гродно.

ISBN 978-985-515-082-5



9 789855 150825 >