

ЛИТЕРАТУРА

1. Lactoferrin induces concentration-dependent functional modulation of intestinal proliferation and differentiation / V. Buccigrossi [et al.] // *Pediatric Research*. — 2007. — Vol. 61, № 4. — P. 410–414.
2. Lactoferrin reduces colitis in rats via modulation of the immune system and correction of cytokine imbalance / J. Togawa [et al.] // *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*. — 2002. — Vol. 283, № 1. — P. 187–195.
3. Acute experimental colitis decreases colonic circular smooth muscle contractility in rats / B. S. Myers [et al.] // *Am. J. Physiol.* — 1997. — Vol. 273, № 4, Pt. 1. — P. 928–936.
4. A comparative analysis of two models of colitis in rats / Y. Yamada [et al.] // *Gastroenterology*. — 1992. — Vol. 102, № 5. — P. 1524–1534.
5. Goat milk oligosaccharides are anti-inflammatory in rats with hapten-induced colitis / A. Daddaoua [et al.] // *J. Nutr.* — 2006. — Vol. 136. — P. 672–676.

УДК 576.311.347+591.436.2]:614.876+577.16

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ДЫХАНИЯ ПРЕПАРАТОВ ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ СКАРМЛИВАНИЯ ЗАГРЯЗНЕННОЙ РАДИОЦЕЗИЕМ ПИЩИ И КОМПЛЕКСА ВИТАМИНОВ А, Е, С

Сергеенко С. М., Коваль А. Н., Грицук А. И.

Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Потребленный организмом кислород расходуется на процессы, известные как митохондриальное, микросомальное и пероксидное окисление, при этом митохондриальное окисление является доминирующим. При микросомальном окислении кислород утилизируется микросомальной системой цитохрома P450. Печень является ключевым органом метаболизма липидов и жирорастворимых витаминов. Избыток образования прооксидантов способствует развитию ряда патологий, реализующихся через активацию пероксидных путей, в первую очередь жирных кислот.

Цель исследования

Изучение митохондриального дыхания препаратов печени при добавлении в рацион белых крыс растительного масла, антиоксидантного комплекса витаминов и пищи, загрязненной радионуклидами ^{137}Cs .

Методы исследования

В работе использовались беспородные белые крысы массой 220–250 г. В эксперименте учтены рекомендации Рабочей группы Федерации европейского сообщества по науке о лабораторных животных [1]. Животные были распределены на контрольную и 4 экспериментальные группы, в рацион которых добавляли следующие компоненты (таблица 1).

Таблица 1 — Формирование групп животных

Группы животных	Условия заорма животных
Контроль	Стандартный рацион вивария
Группа «АОК»	Витамины (разовая доза): С — 0,2; А — 0,002; Е — 0,08 мг/г веса крысы
Группа «Масло»	Растительное подсолнечное масло (0,002 мл/ г веса крысы)
Группа 1	1,3 г мяса кабана/сут; на 5, 7, 9, сутки АОК (АС _с = 56256 Бк/кг, D = 9600 мкГр)
Группа 2	0,1 г мяса кабана/сут; на 5, 7, 9, сутки АОК (АС _с = 1256 Бк/кг, D = 21 мкГр)

Примечание. АС_с — конечная удельная активность ^{137}Cs в тушках крыс; D — рассчитанная поглощенная доза от β -излучения инкорпорированного ^{137}Cs .

График введения витаминов, масла и ^{137}Cs показан в таблице 2. При этом жирорастворимые витамины вводились в виде раствора в растительном масле, витамин С — в виде водного раствора [1]. Животные 1 и 2 групп получали мясо дикого кабана с удельной активностью по ^{137}Cs 600 Бк/г. Антиоксидантный комплекс витаминов вводились

перорально с помощью пищеводного металлического зонда. Забой животных путем декапитации производили на 10-е сутки эксперимента.

Таблица 2 — График заорма экспериментальных животных

Группы животных	Дни эксперимента									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
«АОК» и «Масло»	АОК (масло)	—	АОК (масло)	—	АОК (масло)	—	АОК (масло)	—	АОК (масло)	Забой
1 и 2	¹³⁷ Cs + АОК	¹³⁷ Cs	¹³⁷ Cs + АОК	¹³⁷ Cs	¹³⁷ Cs + АОК					

Прижизненное измерение потребления кислорода и выделения углекислого газа животными было описано ранее [3]. Для оценки митохондриального окисления после декапитации животных, извлеченную печень немедленно освобождали от соединительнотканых элементов, промывали в охлажденном физиологическом растворе и пропускали через плунжер с диаметром отверстий 0,5 мм. Полученные тканевые препараты помещались в среду Хенкса, затем в термостатируемую полярографическую ячейку объемом 2 мл при +25°C, где с помощью закрытого электрода Кларка, подключенного к полярографу ПУ-1 (Беларусь), фиксировали потребление кислорода тканевым препаратом в нмоль O₂×мин/мг белка. С момента забоя животного до начала записи полярограммы проходило не более 3–5 минут. Исследовали следующие показатели митохондриального окисления: скорости дыхания, выраженные в нмоль O₂/(мин×мг белка): V_{энд} — на эндогенных субстратах, V_{як} — при добавлении сукцината (янтарной кислоты), V_{днф} — при внесении 2,4-ДНФ, а также рассчитывали показатели CДяк = V_{як}/V_{энд} и CД_{днф} = V_{днф}/V_{як}. Содержание белка в тканевых препаратах определяли биуретовым методом.

Статистическую обработку полученных данных производили с использованием программы «GraphPad Prism» v. 5.00, с использованием параметрических (однофакторный дисперсионный анализ [ANOVA] и тесты множественных сравнений Бонферрони и Даннета) и непараметрических (Манна-Уитни) критериев в зависимости от результатов теста на нормальное распределение экспериментальных данных (тесты Колмогорова-Смирнова, Д'Агостино и Пирсона, Шапиро-Уилка) [4].

Данные о потреблении кислорода и выделении углекислого газа животными были опубликованы ранее [3]. При этом в экспериментальных группах отмечался рост потребления кислорода и выделения углекислого газа в группе «Масло» по сравнению с контрольной группой.

Результаты полярографических исследований приведены в таблицах 3-7. Распределение соответствует нормальному только для показателя V_{энд}, табличные данные представлены в виде «среднее ± ошибка среднего». Во всех остальных таблицах характер распределения данных отличался от нормального, поэтому данные приведены в виде медианы и квартилей (25 и 75 %).

Таблица 1 — Скорость потребления кислорода печенью белых крыс V_{энд} на эндогенных субстратах (n = 16÷31)

Показатели	Контроль	«Масло»	АОК	Гр1	Гр2
V _{энд}	8,05 ± 0,72	8,18 ± 0,52	6,49 ± 0,46*	6,26 ± 0,33*	6,61 ± 0,35*

Примечание. Здесь и далее: уровень значимости различий экспериментальных групп по отношению к контрольной: * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001.

Таблица 4 — Скорость потребления кислорода печенью белых крыс V_{як} при добавлении сукцината (n = 4÷8)

Показатели	Контроль	«Масло»	АОК	Гр1	Гр2
25 % процентиль	7,97	12,6	12,3	15,6	12,1
Медиана	11,2	15,1	14,8	22,5*	12,5
75 % процентиль	12,8	20,1	17,6	26,2	14,6

Таблица 5 — Скорость потребления кислорода печенью белых крыс $V_{\text{днф}}$ при добавлении 2,4-ДФ (n=4÷8)

Показатели	Контроль	«Масло»	АОК	Гр1	Гр2
25 % процентиль	8,218	11,96	13,79	16,95	11,70
Медиана	11,91	19,25	14,28**	25,86*	13,37
75 % процентиль	12,69	23,52	18,50	27,08	15,18

Таблица 6 — Коэффициент $СД_{\text{як}}$ печени белых крыс (n = 4÷8)

Показатели	Контроль	«Масло»	АОК	Гр1	Гр2
25 % процентиль	1,09	1,41	1,57	2,30	1,52
Медиана	1,41	1,92	2,40	2,96**	1,81
75 % процентиль	1,50	2,87	2,75	3,31	2,18

Таблица 7 — Коэффициент $СД_{\text{днф}}$ печени белых крыс (n = 4÷8)

Показатели	Контроль	«Масло»	АОК	Гр1	Гр2
25 % процентиль	0,953	1,02	0,963	1,01	0,958
Медиана	0,985	1,07	1,08	1,12	1,04
75 % процентиль	1,16	1,30	1,14	1,18	1,06

Скорость потребления кислорода тканевым препаратом печени на эндогенных субстратах не изменяется у животных группы «Масло». В группах «АОК», 1 и 2 выявлено значимое снижение $V_{\text{энд}}$ в сравнении с контрольной группой. Возможная причина этого феномена — угнетение функционирования дыхательной цепи митохондрий. Показатель $V_{\text{як}}$ повышен в группе 1, $V_{\text{днф}}$ — в группах 1 и «АОК». Для показателя $СД_{\text{як}}$ характерно значимое увеличение в группе 1, в то время как изменения показателя $СД_{\text{днф}}$ в группах по сравнению с контролем незначимы.

Выводы

1. Введение в рацион животных растительного масла и АОК вызывает усиление газообмена животных в группах «Масло» и «АОК», с более значимыми различиями в группе «Масло».

2. Скорость потребления кислорода препаратами печени не изменяется в группе «Масло», в то время как для остальных групп отмечено значимое снижение этого показателя, что, вероятно, указывает на угнетение функции дыхательной цепи при поступлении АОК и радионуклидов ^{137}Cs . Снижение $V_{\text{энд}}$ в группе «АОК», предположительно, связано с уменьшением расходования кислорода на перекисные процессы.

3. Значимое увеличение показателя $СД_{\text{як}}$, наблюдаемое в группе 1, можно объяснить возрастанием роли янтарной кислоты в метаболизме животных, подвергшихся инкорпорации ^{137}Cs . Возможное объяснение механизма этого феномена лежит в увеличении расходования α -кетоглутарата на синтез глутамата и глутатиона как естественного антиоксиданта, что приводит к снижению образования сукцинил-КоА и сукцината в цикле Кребса.

4. При указанных экспериментальных воздействиях не наблюдается значимого усиления разобшения окисления и фосфорилирования, о чем указывает стабильный характер показателя $СД_{\text{днф}}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Копаладзе, Р. А. Методы эвтаназии экспериментальных животных — этика, эстетика, безопасность персонала / Р. А. Копаладзе // Успехи физиол. наук. — 2000. — Т. 31, № 3. — С. 79–90.
2. Характеристика митохондрий и ультраструктура миокарда крыс в условиях продолжительной инкорпорации радионуклидов ^{137}Cs / А. И. Грипук [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. — 2002. — № 4. — С. 50–44.
3. Сергеевко, С. М. Изменение показателей печени крыс при воздействии инкорпорации радионуклидов ^{137}Cs и антиоксидантного комплекса витаминов / С. М. Сергеевко, В. Т. Свергун, А. Н. Коваль // Экспериментальная и клиническая фармакология: матер. 3-й междунар. науч. конф., Минск, 23–24 июня 2009 г. / Ин-т фармакологии и биохимии НАН Беларуси; редкол.: П.Т. Петров [и др.]. — Минск, 2009. — С. 99–100.
4. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. — М., 1998. — 459 с.