

10. Случай дирофиляриоза в практике дерматовенеролога / Г. Н. Тарасенко [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. — 2007. — № 3. — С. 59–61.

11. Тихонова, Е. П. Случай дирофиляриоза в Красноярске / Е. П. Тихонова, Т. Ю. Кузьмина, Ю. С. Тихонова // Сибирское медицинское обозрение. — 2010. — Т. 63, № 3. — С. 99–101.

12. Быкова, Н. И. Дирофиляриоз [Электронный ресурс] / Н. И. Быкова. — Режим доступа: <http://www.medicalj.ru/diseases/>

infectious/1165-dirofilyarioz. — Дата доступа: 14.07.2016.

13. Дирофиляриоз человека / Г. Н. Чистенко [и др.]. // Медицинский журнал. — 2013. — № 3 (45). — С. 30–33.

14. Информационно-аналитический бюллетень «Здоровье населения и окружающая среда Гомельской области в 2015 году». Вып. 21 / под ред. А. А. Тарасенко; ГУ «Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья». — Гомель, 2016. — 62 с.

Поступила 21.10.2016

УДК 57.083.3:57.084:616.33/.34-092-002-02:664.022.32

## СОДЕРЖАНИЕ МОНОЦИТАРНОГО ХЕМОАТТРАКТАНТНОГО БЕЛКА 1 (MCP-1) ПРИ КАРРАГИНАН-ИНДУЦИРОВАННОМ ГАСТРОЭНТЕРОКОЛИТЕ

А. С. Ткаченко<sup>1</sup>, О. А. Наконечная<sup>1</sup>, Т. В. Горбач<sup>1</sup>,  
А. И. Онищенко<sup>1</sup>, Т. Н. Чубукова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина

<sup>2</sup>Гомельский государственный медицинский университет

**Цель:** изучить содержание MCP-1 при хроническом каррагинан-индуцированном гастроэнтероколите, а также роль данного белка в развитии и прогрессировании заболевания.

**Материалы и методы.** Тридцать крыс линии WAG были разделены на три группы по десять особей: 1) употребление 1 % раствора каррагинана в течение 14 дней; 2) употребление 1 % раствора каррагинана в течение 28 дней; 3) контрольная группа. У животных первых двух групп развивался гастроэнтероколит. Уровни MCP-1 и ФНО- $\alpha$  измерялись в сыворотке крови с помощью иммуноферментного метода.

**Результаты.** Развитие каррагинан-индуцированного гастроэнтероколита сопровождалось повышением как MCP-1, так и ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови. Степень повышения обоих показателей была более выраженной при четырехнедельном употреблении пищевой добавки каррагинан.

**Вывод.** Повышенная продукция MCP-1 при каррагинан-индуцированном гастроэнтероколите может быть обусловлена непосредственно токсическим действием каррагинана на макрофаги желудочно-кишечного тракта, развитием оксидативного стресса, а также стимулирующим влиянием провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$ .

**Ключевые слова:** гастроэнтероколит, каррагинан, крысы, моноцитарный хемоаттрактантный белок 1, MCP-1.

## MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN-1 (MCP-1) CONCENTRATIONS IN CARRAGEENAN-INDUCED GASTROENTEROCOLITIS

A. S. Tkachenko<sup>1</sup>, O. A. Nakonechnaya<sup>1</sup>, T. V. Gorbach<sup>1</sup>,  
A. I. Onischenko<sup>1</sup>, T. N. Chubukova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>Gomel State Medical University

**Aim:** to study MCP-1 concentrations in chronic carrageenan-induced gastroenterocolitis and the role of this protein in the development and progression of the disease.

**Material and methods.** Thirty female WAG rats were divided into three groups (each group consisted of ten individuals): 1) introduction of 1% carrageenan solution for 14 days; 2) introduction of 1 % carrageenan solution for 28 days; 3) the control group. The animals of the first two groups were developing gastroenterocolitis. The MCP-1 and TNF- $\alpha$  concentrations were measured in the blood serum by ELISA.

**Results.** Development of carrageenan-induced gastroenterocolitis was accompanied by increased levels of both MCP-1 and TNF- $\alpha$  in the blood serum. The level of the increase of both the parameters was more evident after four-week oral taking of the food additive carrageenan.

**Conclusion.** The increased MCP-1 production in carrageenan-induced gastroenterocolitis may be directly due to the toxic effect of carrageenan on the macrophages of the gastrointestinal tract, development of oxidative stress, as well as due to the stimulating effect of the proinflammatory cytokine TNF- $\alpha$ .

**Key words:** gastroenterocolitis, carrageenan, rats, monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1.

### Введение

Каррагинаны представляют собой высокомолекулярные гидроколлоиды полисахаридной природы, которые экстрагируются из красных морских водорослей Rhodophyceae [1]. На протяже-

нии многих десятилетий каррагинан используется в пищевой промышленности в качестве пищевой добавки благодаря своим гелеобразующим свойствам и способности выступать в роли загустителя. Среди продуктов, содержащих наибольшее

количество каррагинана, следует отметить колбасные изделия, мороженое, йогурты, молочные десерты [2]. Несмотря на многолетний опыт использования данного загустителя в пищевой промышленности, вопросы безопасности его употребления остаются актуальными. В частности, многочисленные работы Д. Тобакман демонстрируют наличие токсического влияния каррагинана на организм лабораторных животных при пероральном введении как при постановке острого, так и хронического эксперимента [2, 3]. Несмотря на публикации, демонстрирующие способность каррагинана индуцировать воспалительные процессы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) при введении *per os* [4–7], данная пищевая добавка до сих пор считается безопасной и ее употребление не лимитируется.

Активное коммерческое использование каррагинанов и неоднозначность данных о безопасности их употребления стимулируют дальнейшие исследования, направленные на изучение токсикологических свойств каррагинана и его взаимодействия с макроорганизмом. Появляются работы, описывающие механизмы развития каррагинан-индуцированного воспаления, однако некоторые факторы патогенеза все еще не исследованы. В частности, отсутствуют научные публикации, отражающие вопросы о характере хемокинового спектра при каррагинан-индуцированном воспалении желудочно-кишечного тракта.

Хемокины представляют собой семейство цитокинов, которые способны стимулировать таксис клеток иммунной системы [8], а именно: моноцитов, нейтрофилов и лимфоцитов. В настоящее время идентифицировано и выделено около 50 различных хемокинов, которые поделены на четыре подсемейства: СХС, СС, СХЗС, и С [8, 9]. Хемокины секретируются в ответ на сигналы от провоспалительных цитокинов и вовлекают иммунокомпетентные клетки, экспрессирующие соответствующие рецепторы хемокинов, в воспалительный процесс. Таким образом клетки двигаются в сторону высоких локальных концентраций хемокинов [8]. Одним из хемокинов подсемейства СС, содержание которого при каррагинан-индуцированном воспалении кишечника не изучалось, является моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 (MCP-1). Он представляет собой протеин, состоящий из 76 аминокислотных остатков и имеющий молекулярную массу 13 кДа [8, 9]. Данный хемокин экспрессируется различными клетками (моноциты, фибробласты, эндотелиоциты, эпителиоциты и т. д.) в ответ на следующие стимулы: окислительный стресс, действие провоспалительных цитокинов и факторов роста [8]. Одной из основных функций данного хемокина является способность активировать направленную миграцию моноцитов в зону воспаления.

### **Цель исследования**

Изучить содержание хемокина MCP-1 в сыворотке крови в динамике развития хронического каррагинан-индуцированного гастроэнтероколита, а также роль данного белка в развитии и прогрессировании заболевания.

### **Материалы и методы**

Тридцать половозрелых крыс-самок линии WAG массой 150–180 г были использованы для проведения исследования. Лабораторные животные содержались в стандартных условиях вивария Харьковского национального медицинского университета. Животные были разделены на три равные группы по десять особей в каждой. Крысы из первой группы употребляли пищевую добавку  $\lambda$ -каррагинан, который представляет собой гетерополисахарид, состоящий из чередующихся остатков D-галактозы-2-сульфата и D-галактозы-2,6-дисульфата, в течение 14 дней. Вторая группа включала животных, которые употребляли 1% раствор каррагинана в питьевой воде ежедневно в течение 28 дней. Третья группа являлась контрольной и включала интактных животных, которые находились на стандартном рационе питания и употребляли питьевую воду без каррагинана.

У всех животных первых двух групп морфологически и биохимически подтверждено наличие гастроэнтероколита. Повышение концентраций молекул средней массы и гастринина, а также понижение уровня глюкозы в сыворотке крови расценивали в качестве биохимического подтверждения наличия гастроэнтероколита [4].

Эксперименты проводили в соответствии с «Общими этическими принципами проведения экспериментов на животных», принятыми Первым Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2001), которые согласуются с положениями Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и VIII Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Крыс всех групп декапитировали под тиопенталовым наркозом. Проводился забор крови с последующим получением сыворотки. Содержание MCP-1 в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью набора реактивов фирмы «eBioScience» (Вена, Австрия). Для определения уровня ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови использовали иммуноферментный набор фирмы «Вектор БЕСТ» (Российская Федерация). Для определения концентрации вышеуказанных показателей использовали стриповый иммуноферментный анализатор StatFax 303 + фирмы «Awareness Technology Inc» (США).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы «GraphPad Prism», 5. Нормальность распределения изучаемых показателей определяли с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Анализ различий в двух независимых группах по количественным показателям проводили с использованием критерия Стьюдента. Делали поправку на непрерывность выборки. Данные представлены в виде  $M \pm m$ . Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение**

В результате проведенного исследования установлено, что развитие хронического каррагинан-индуцированного гастроэнтероколита у крыс сопровождается повышением содержания хемокина МСР-1. У животных первой группы его уровень в три раза превышает аналогичный

показатель контрольной группы (таблица 1). При дальнейшем прогрессировании заболевания концентрация МСР-1 в сыворотке крови продолжает повышаться и достигает 523,7 пг/мл у животных второй группы, что в 10,5 раз превышает показатель животных контрольной группы. Подобные результаты свидетельствуют о существенной роли МСР-1 в поддержании интенсивности воспалительного процесса путем рекрутирования все новых и новых моноцитов.

Направленность изменений концентрации ФНО-α в динамике каррагинан-индуцированного гастроэнтероколита соответствовала изменениям уровня МСР-1 (таблица 1). У животных обеих опытных групп уровень ФНО-α в сыворотке крови был достоверно повышен по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе (соответственно, в 5,5 и 7 раз).

Таблица 1 — Содержание МСР-1 и ФНО-α в сыворотке крови крыс с хроническим каррагинан-индуцированным гастроэнтероколитом ( $M \pm m$ )

Показатели, единицы измерения	Животные контрольной группы	Животные с гастроэнтероколитом, вызванным употреблением каррагинана в течение 14 дней	Животные с гастроэнтероколитом, вызванным употреблением каррагинана в течение 28 дней
	n = 10	n = 10	n = 10
МСР-1 (пг/мл)	50,72 ± 0,88	149,40 ± 1,20**	527,30 ± 13,54**
ФНО-α (пг/мл)	4,14 ± 0,70	23,55 ± 3,66*	29,47 ± 5,24*

\* — Различия статистически значимы по сравнению с данными контрольной группы,  $p < 0,001$ ; \*\* — различия статистически значимы по сравнению с данными контрольной группы,  $p < 0,001$

Известно, что каррагинаны не расщепляются ферментами пищеварительного тракта и не всасываются в кишечнике [3, 10]. Однако перорально поступившие молекулы каррагинана поглощаются макрофагами кишечника, что приводит к активации клеток и секреции провоспалительных цитокинов [10]. Таким образом, повышение уровней МСР-1 и ФНО-α может быть обусловлено непосредственным стимулирующим влиянием каррагинана на макрофаги кишечника. Помимо этого

продемонстрирована способность каррагинана индуцировать генерацию активных форм кислорода (АФК) в макрофагах, что приводит к развитию окислительного стресса, наличие которого при каррагинан-индуцированном гастроэнтероколите обнаружено нами в предыдущих работах (повышение уровня малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в сыворотке крови животных и снижение общей антиоксидантной активности сыворотки крови) [11].

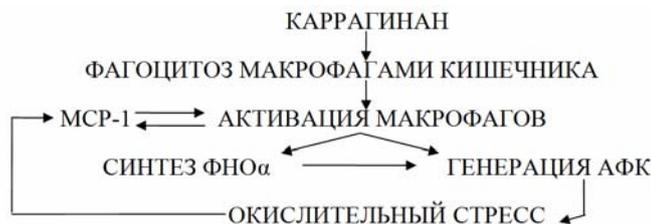


Рисунок 1 — Фрагмент патогенеза каррагинан-индуцированного гастроэнтероколита

Таким образом, инициаторным звеном воспаления кишечника является поглощение каррагинана макрофагами кишечника, которые не имеют ферментативных систем для гидролиза гликозидных связей в молекулах данного гетерополисахарида. Фагоцитированный каррагинан вызывает активацию синтеза провос-

палительных цитокинов МСР-1 и ФНО-α и генерацию АФК. ФНО-α также вносит вклад в продукцию АФК макрофагами. Развивающийся окислительный стресс стимулирует синтез новых молекул МСР-1, что приводит к вовлечению в патологический процесс новых макрофагов. Формируется порочный круг (рису-

нок 1). Данный механизм рекрутирования новых макрофагов приводит к хронизации воспалительного процесса, о чем свидетельствует более выраженное повышение МСР-1 у животных, которые употребляли каррагинан в течение 4 недель (таблица 1).

#### Выводы

1. Повышенная продукция МСР-1 при изучаемом заболевании может быть обусловлена непосредственно токсическим действием каррагинана на макрофаги ЖКТ, развитием оксидативного стресса, а также стимулирующим влиянием провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$ .

2. Хемокин МСР-1 играет важную роль в развитии и прогрессировании хронического каррагинан-индуцированного гастроэнтероколита.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Weiner, M. L. Food additive carrageenan: Part II: A critical review of carrageenan in vivo safety studies / M. L. Weiner // Crit. Rev. Toxicol. — 2014. — Vol. 44, № 3. — P. 244–269.
2. Cytotoxicity effect of degraded and undegraded kappa and iota carrageenan in human intestine and liver cell lines / S. H. Ariffin [et al.] // ISCMR. — 2014. — Vol. 14. — P. 508.
3. Tobacman, J. K. Review of harmful gastrointestinal effects of carrageenan in animal experiments / J. K. Tobacman // Environmental Health Perspectives. — 2001. — Vol. 109, № 10. — P. 983–994.

4. Пат. 97322 Украина, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання хронічного гастроентероколіту / Т. О. Іваненко [та інш.]; Заявник Харківський національний медичний університет. — № заяв. а201014510

5. Губина-Вакулик, Г. А. Морфологическое состояние тонкого кишечника при длительном употреблении пищевой добавки каррагинан / Г. А. Губина-Вакулик, А. С. Ткаченко, М. А. Орлова // Вісник проблем біології і медицини. — 2014. — Т. 3 (109), Вип. 2. — С. 252–256.

6. Damage and regeneration of small intestinal enterocytes under the influence of carrageenan induces chronic enteritis / G. I. Gubina-Vakyulyk [et al.] // Comparative Clinical Pathology. — 2015. — Vol. 24 (6). — P. 1473–1477.

7. Pricolo, V. E. Effects of lambda-carrageenan induced experimental enterocolitis on splenocyte function and nitric oxide production / V. E. Pricolo, S. M. Madhere, S. D. Finkelstein // J. Surg. Res. — 1996. — Vol. 66, № 1. — P. 6–11.

8. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview / S. L. Deshmane [et al.] // J. Interferon. Cytokine Res. — 2009. — Vol. 29 (6). — P. 313–326.

9. Panee, J. Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes / J. Panee // Cytokine. — 2012. — Vol. 60(1). — P. 1–12.

10. Соколова, Е. В. Изучение in vitro и ex vivo антиоксидантной активности каррагинанов-сульфатированных полисахаридов красных водорослей / Е. В. Соколова, А. О. Барабанова, В. А. Хоменко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2010. — Т. 150, № 10. — С. 398–401.

11. Ткаченко, А. С. Стан прооксидантно-антиоксидантної системи при хронічному експериментальному гастроентероколіті / А. С. Ткаченко, В. Г. Гопкалов // Вісник проблем біології і медицини. — 2014. — Т. 1, Вип. 1 (106). — С. 194–198.

Поступила 31.03.2017

УДК 612.015.2:546.815

## СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ КАК ИНТЕГРАЛЬНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ МАЛЫХ ДОЗ АЦЕТАТА СВИНЦА

В. М. Шейбак, А. Ю. Павлюковец, В. Ю. Смирнов

Гродненский государственный медицинский университет

**Цель:** проанализировать пул свободных аминокислот и их азот-содержащих метаболитов плазмы крови животных, получавших ацетат свинца в течение 21 или 28 суток.

**Материал и методы.** Эксперименты проведены на белых беспородных крысах-самцах, начальной массой 140–160 г. Животные группы 1 за время эксперимента получили суммарное количество ацетата свинца 0,67 г (21 день), группы 2 — 1,12 г (28 дней). Определение свободных аминокислот в плазме крови проводили методом обращеннофазной ВЭЖХ.

**Результаты.** В результате исследования установлено, что наиболее значимый вклад в формирование аминокислотного дисбаланса в плазме крови в результате длительного поступления ацетата свинца по значению критерия Фишера вносит изменение концентраций  $\alpha$ -аминомасляной кислоты, изолейцина, аспартата, аргинина, глицина, серина, гистидина и метионина.

**Заключение.** Длительное поступление ацетата свинца с питьевой водой приводит к статистически достоверному увеличению в плазме крови общего содержания свободных аминокислот и их азот-содержащих метаболитов, а также снижению концентрации незаменимой аминокислоты треонин.

**Ключевые слова:** ацетат свинца, плазма крови, свободные аминокислоты.

## FREE AMINO ACIDS OF BLOOD PLASMA AS AN INTEGRAL PARAMETER OF METABOLIC DISORDERS IN A LONG-TERM INTAKE OF SMALL DOSES OF LEAD ACETATE INTO THE ORGANISM

V. M. Sheybak, A. Y. Pavliukovets, V. Yu. Smirnov

Grodno State Medical University

**Objective:** to analyze the pool of free amino acids and their nitrogen-containing metabolites of blood plasma of animals being administered lead acetate for 21 or 28 days.

**Material and methods.** The experiments were carried out on white male rats with the initial weight of 140–160 g. During the experiment the animals received a total amount of 0.67 g of lead acetate (21 days), the second group — 1.12 g (28 days). The determination of free amino acids in blood plasma was performed by the method of reversed-phase HPLC.