

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- α .

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 α -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.

Results. As a result of the research it has been found out that the most significant contribution to the formation of the amino acid imbalance in blood plasma as a result of the long-term intake of lead acetate according to the value of the Fisher test is caused by changes in the concentrations of α -aminobutyric acid, isoleucine, aspartate, arginine, glycine, serine, histidine, and methionine.

Conclusion. The long-term intake of lead acetate with drinking water leads to a statistically significant increase of general content of free amino acids and their nitrogen-containing metabolites, as well as to a decrease of the concentration the essential amino acid threonine in blood plasma.

Key words: lead acetate, blood plasma, free amino acids.

Стремительная урбанизация и постоянное загрязнение окружающей среды солями тяжелых металлов заставляет живые организмы адаптироваться к новым условиям, что сопровождается модуляцией многих метаболических путей [1]. Относительно низкие дозы ксенобиотиков и достаточно длительное воздействие могут маскировать их негативные эффекты. Одним из комплексных подходов к проблеме идентификации, обнаружения негативных эффектов на ранних стадиях является анализ большого количества относительно независимых показателей, характеризующих отдельные метаболические пути (метабономика). Известно, что индивидуальная восприимчивость к поступлению в организм млекопитающих солей свинца существенно различается, но по степени воздействия на живые организмы свинец отнесен к классу высокоопасных веществ наряду с мышьяком, кадмием, ртутью, селеном, цинком и фтором [2]. Негативные эффекты катионов свинца для человека обусловлены его способностью накапливаться в организме [3].

Интегративный анализ показателей в плазме крови позволяет получить информацию о процессах, протекающих в различных органах и тканях. При этом если объектом исследования является пул свободных аминокислот в плазме крови, то многочисленность компо-

нентов и использование современных подходов для его анализа позволяет получить информацию о развивающихся негативных явлениях в организме на ранних стадиях, до возникновения четко выраженной патологии [4].

Свободные аминокислоты в физиологических жидкостях в большей степени выполняют функции метаболических регуляторов, тогда как их метаболизм в клетке чрезвычайно обширен, поскольку их количество существенно превышает число аминокислот, задействованных в биосинтезе белка [5].

Цель исследования

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

Материалы и методы

Эксперименты проведены на белых беспородных крысах-самцах, начальной массой 140–160 г, содержащихся в стандартных условиях вивария и получавших сбалансированный рацион. Животные были разделены на три группы ($n = 7$). Среднее потребление раствора ацетата свинца в сутки в расчете на одно животное составило 8 мл, расчеты показывают, что животные первой группы за время эксперимента получили суммарное количество ацетата свинца 0,67 г, что составило 4,2 г/кг, второй — 1,12 г, или 7 г/кг.

Таблица 1 — Условия эксперимента

Сутки эксперимента	Группа 1 ($n = 7$)	Группа 2 ($n = 7$)	Контроль ($n = 7$)
1–7	Питьевая вода	0,2 % раствор ацетата свинца в питьевой воде	Питьевая вода
8–14	0,2 % раствор ацетата свинца в питьевой воде	0,4 % раствор ацетата свинца в питьевой воде	Питьевая вода
15–21	0,4 % раствор ацетата свинца в питьевой воде	0,6 % раствор ацетата свинца в питьевой воде	Питьевая вода
22–28	0,6 % раствор ацетата свинца в питьевой воде	0,8 % раствор ацетата свинца в питьевой воде	Питьевая вода
29	Декапитация	Декапитация	Декапитация

Для анализа использовали плазму крови. Определение свободных аминокислот в плазме крови проводили методом обращеннофазной ВЭЖХ с *o*-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Определение ароматиче-

ских аминокислот (тирозина и триптофана) проводили методом ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции (280/320 нм для тирозина и 280/340 нм — для триптофана). Все определения проводили с помощью хроматографической системы Agilent 1100, прием и обработка данных — с помощью про-

граммы «Agilent ChemStation A10.01». Статистическая обработка данных (описательная статистика и дискриминантный анализ) реализована при помощи программы «Statistica», 6.0.

Результаты

Длительное поступление в организм животных ацетата свинца в течение как 21, так и 28 суток вызывало увеличение в плазме крови пула свободных аминокислот и их азот-содержащих производных на 41 и 23 % соответственно (таблица 2). При этом в плазме крови животных опытных групп существенно возросло суммарное количество протеиногенных аминокислот (на 40 и 26 % соответственно) вследствие увеличения, главным образом,

заменимых аминокислот (на 34 и 44 % соответственно) (таблица 2). Между тем индекс заменимые/незаменимые аминокислоты был существенно выше в плазме крови крыс, получавших ацетат свинца в течение 28 суток (таблица 2), что отражает отсутствие, в отличие от животных группы 1, значительного увеличения общего количества незаменимых аминокислот. В отличие от группы 1 у животных, получавших ацетат свинца в течение 28 суток регистрировали более низкое общее количество азот-содержащих производных аминокислот (на 19 %), незаменимых аминокислот (на 18 %), а также серосодержащих аминокислот (на 17 %) (таблица 2).

Таблица 2 — Структура и индексы аминокислотного пула плазмы крови крыс, получавших с питьевой водой ацетат свинца в течение 21 или 28 суток, $M \pm m$

Показатели	Контроль	Ацетат свинца, группа 1	Ацетат свинца, группа 2
Общее количество аминокислот и их производных, нмоль/мл	1965 ± 69	2761 ± 103*	2419 ± 152*
Общее количество протеиногенных аминокислот, нмоль/мл	1523 ± 50	2137 ± 90*	1913 ± 115*
Общее количество азотсодержащих производных аминокислот, нмоль/мл	442 ± 25	624 ± 21*	506 ± 40
Общее количество заменимых аминокислот, нмоль/мл	466 ± 22	624 ± 21*	670 ± 53*
Общее количество незаменимых аминокислот, нмоль/мл	1056±46	1513 ± 80*	1244 ± 73
Общее количество серосодержащих аминокислот, нмоль/мл	404 ± 20	557 ± 19*	464 ± 37
Индекс заменимые/незаменимые аминокислоты	0,45 ± 0,03	0,42 ± 0,02	0,54 ± 0,03*

* — Статистически значимые различия со значениями в контрольной группе ($p < 0,05$); + — статистически значимые различия со значениями в группе 1 ($p < 0,05$)

Таким образом, как продолжительность поступления катионов свинца с питьевой водой, так и увеличение его содержания в водном растворе существенно влияют на структуру аминокислотного пула плазмы крови. Данный эффект может быть результатом многочисленных изменений в органном метаболизме азота, вероятно, в значительной степени индуцированных воздействием свинца на ткани желудочно-кишечного тракта [6].

Анализ концентраций в плазме крови незаменимых аминокислот, которые зависят во многом от абсорбтивных возможностей энтероцитов тонкого и отчасти толстого кишечника, а также внутритканевого протеолиза, показывает статистически значимое снижение треонина в группах 1 и 2 опытных животных (на 30 и 25 % соответственно) (таблица 3). Эта незаменимая аминокислота является наиболее востребованной в синтезе белков муцина [7]. Аналогичным образом в плазме крови животных группы 1 выявлено снижение содержания триптофана (на 29 %) и изолейцина (на 30 %) (таблица 3). Поскольку падение уровней этих аминокислот сопоставимо (около 30 %), возможно, это следствие нарушений процессов

абсорбции пищевых аминокислот, а также изменений со стороны микробиома тонкого и толстого кишечника, активно синтезирующего незаменимые аминокислоты.

Одновременно в плазме крови животных группы 1 обнаружено увеличение концентраций гистидина (на 50 %), метионина (на 24 %), а также лизина (на 85 %) (таблица 3). Повышение уровней этих аминокислот, вероятно, отражает нарушение баланса между биосинтезом белка и процессами мышечного протеолиза, а также торможение их утилизации печенью [8].

Влияние ацетата свинца на фонд свободных аминокислот и их азот-содержащих метаболитов в плазме крови можно проследить при дискриминантном анализе, позволяющем перейти к рассмотрению малого набора переменных (корней дискриминантных функций). По значению показателя лямбды Уилкса (0,00680) можно судить о хорошей дискриминации, а на основании классификационной матрицы можно сделать вывод о 100 % корректности обучающих выборок для всех групп. Наиболее значимыми соединениями по значению критерия Фишера (вносящими наибольший вклад в общую дисперсию) были уровни α -аминомасля-

ной кислоты, изолейцина, аспартата, аргинина, глицина, серина, гистидина, метионина ($F = 11,96; 8,88; 31,88; 11,69; 24,78; 29,94; 15,18; 3,75$ соответственно). Из проекции пространства показателей на плоскость двух главных компонент (рисунок 1) видно, что пул изучаемых показателей опытных групп отличался от анало-

гичного у контрольной группы животных (расстояние D2-Махаланобиса: ацетат свинца группа 1 = 81,6; ацетат свинца группа 2 = 37,9). Очевидно, что увеличение срока введения ацетата свинца животным вызывает адаптивные сдвиги в аминокислотном пуле, которые направлены на стабилизацию метаболических нарушений.

Таблица 3 — Концентрации свободных протеиногенных аминокислот в плазме крови крыс (нмоль/мл), получавших с питьевой водой ацетат свинца в течение 21 или 28 суток, $M \pm m$

Показатели	Контроль	Ацетат свинца, группа 1	Ацетат свинца, группа 2
Глутамат	308 ± 10	313 ± 13	387 ± 24 ⁺
Аспарагин	51 ± 2	68 ± 3 [*]	70 ± 5 [*]
Серин	283 ± 12	313 ± 32	337 ± 17 [*]
Глутамин	473 ± 17	545 ± 19 [*]	615 ± 29 [*]
Гистидин	64 ± 3	96 ± 7 [*]	107 ± 6 [*]
Глицин	384 ± 51	995 ± 79 [*]	597 ± 32 ⁺
Треонин	342 ± 21	239 ± 32 [*]	258 ± 15 [*]
Аргинин	288 ± 7	378 ± 16 [*]	348 ± 15 [*]
Аланин	466 ± 22	624 ± 21 [*]	691 ± 47 [*]
Валин	164 ± 6	181 ± 15	190 ± 10 [*]
Метионин	49 ± 1	61 ± 4 [*]	61 ± 2 [*]
Триптофан	62 ± 5	44 ± 4 [*]	75 ± 6 ⁺
Изолейцин	74 ± 3	52 ± 6 [*]	86 ± 6
Лизин	451 ± 44	838 ± 54 [*]	389 ± 33 ⁺

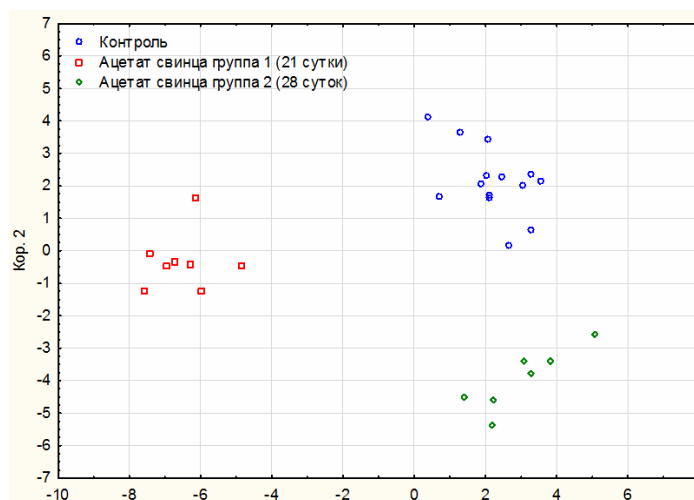


Рисунок 1 — Диаграмма рассеяния канонических значений для пар значений дискриминантных функций 1 и 2

Заключение

Таким образом, наиболее значимый вклад в формирование аминокислотного дисбаланса в плазме крови в результате длительного поступления ацетата свинца по значению критерия Фишера вносит изменение концентраций α-аминомасляной кислоты, изолейцина, аспартата, аргинина, глицина, серина, гистидина, метионина. Длительное поступление ацетата свинца с питьевой водой приводит к статистически достоверному увеличению в плазме крови общего содержания свободных аминокис-

лот и их азот-содержащих метаболитов, а также снижению концентрации незаменимой аминокислоты треонин.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals / M. Jaishankar [et al.] // Interdiscip Toxicol. — 2014. — Vol. 7, № 2. — P. 60–72.
2. Abdou, Z. A. Protective effect of citric acid and thiol compounds against cadmium and lead toxicity in experimental animals / Z. A. Abdou, M.H. Attia, M.A. Raafat // J Biol Chem Environ Sci. — 2007. — Vol. 2, № 2. — P.481–497.
3. Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat / M. I. Nabil [et al.] // Asian Pac J Trop Biomed. — 2012. — Vol. 2, № 1. — P. 41–46.

4. Roth, E. Plasma amino acid imbalance: dangerous in chronic diseases? / E. Roth, W. Druml // Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care. — 2011. — Vol. 14, № 1 — P. 67–74.

5. Biochemical and physiological bases for utilization of dietary amino acids by young Pigs / R. Rezaei [et al.] // J Anim Sci Biotechnol. — 2013. — Vol. 4, № 1. — P. 7.

6. Needleman, H. Lead poisoning. / H. Needleman // Annu. Rev. Med. — 2004. — Vol. 55. — P. 209–222.

7. Intestinal threonine utilization for protein and mucin synthesis is decreased in formula-fed preterm pigs. / P. J. Puiman [et al.] // Journal of Nutrition. — 2011. — Vol. 141, № 7. — P. 1306–1311.

8. Protein turnover, amino acid requirements and recommendations for athletes and active populations / J. R. Poortmans [et al.] // Braz J Med Biol Res. — 2012. — Vol. 45, № 10. — P. 875–890.

Поступила 28.04.2017

УДК 582.284.3:616-006-085

БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ ГРИБОВ *HERICIUM ERINACEUS*

Н. И. Тимохина¹, С. Н. Сушко¹, Н. Н. Вейalkina¹,
С. В. Гончаров¹, В. В. Трухоновец²

¹Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель,

²Гомельский государственный университет имени Ф. Скорины

В экспериментальных моделях на мышах линии Af оценены биологически-активные свойства водных экстрактов *Hericium erinaceus*.

Установлено увеличение резистентности лабораторных мышей линии Af к перевивке асцитной карциномы Эрлиха при потреблении водных экстрактов исследуемого гриба, 19-суточная выживаемость повышалась до 31,8 % при приеме грибного экстракта в концентрации 4 г/л (p = 0,049). Показано положительное влияние профилактического приема водного экстракта *H. erinaceus* перед радиационным и химическим воздействием в экспериментальной модели спонтанных и индуцированных аденом легких.

Экспериментальные данные свидетельствуют о перспективности применения исследуемых экстрактов в качестве пищевых добавок для повышения сопротивляемости организма негативным факторам, предотвращения и профилактики заболеваний.

Ключевые слова: *H. erinaceus*, водные экстракты, асцитная карцинома Эрлиха, аденома легкого.

THE BIOACTIVE PROPERTIES OF AQUEOUS EXTRACTS OF CULTURED MUSHROOMS *HERICIUM ERINACEUS*

N. I. Timokhina¹, S. N. Sushko¹, N. N. Veyalkina¹,
S. V. Goncharov¹, V. V. Truhonovets²

¹Institute of Radiobiology of National Academy of Sciences of Belarus, Gomel,

²F. Skorina Gomel State University

The biologically active properties of the aqueous extracts of *Hericium erinaceus* were evaluated on the Af line mice using experimental models. It was found that consuming of the aqueous extracts of the studied fungus led to an increase in the resistance of the Af line laboratory mice to the transplantation of Ehrlich ascites carcinoma. The 19-day survival rate grew up to 31.8 % after consuming the fungus extract in a concentration of 4 g/l (p = 0.0049). The positive effect of the preventive intake of the aqueous extract of *H. erinaceus* before the radiation and chemical exposure in the experimental model of spontaneous and induced lung adenomas was shown.

The experimental data testify to the prospects of using the studied extracts as food supplements to increase the body's resistance to the negative factors, as disease prevention and prophylaxis.

Key words: *H. erinaceus*, water extracts, ascites carcinoma of Ehrlich, lung adenoma.

Введение

Базидиальные грибы являются ценными пищевыми продуктами и при этом содержат целый ряд биологически-активных веществ с потенциальным лечебным действием. В последние годы проведен ряд экспериментальных и клинических исследований, направленных на выявление механизмов антиканцерогенного и противоопухолевого действия веществ и препаратов, полученных из экстрактов плодовых тел и мицелия культивируемых базидиальных грибов [1, 2, 3]. Эти исследова-

ния проведены в нескольких направлениях: оценка возможности монотерапии, увеличения эффективности и снижения токсичности противоопухолевой химиотерапии, а также ускорения реабилитации после химиотерапии.

Гериций шиповатый, или гребенчатый, *Hericium erinaceus* — хорошо известный съедобный лекарственный гриб с характерным внешним видом, произрастающий на старой или мертвой древесине. Данный вид гриба широко используется для пищевых целей и в традиционной медицине Китая и Японии [4].