

внутрибрюшинно). В качестве контроля были использованы интактные животные (серия VI).

Оценка активности L-пируваткиназы проводилась в цитозольной фракции печени, M1-изоформы – в цитозольной фракции мозга крыс как описано в [1]. Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью пакета программ Stadia 6.0.

Согласно полученным результатам, внутрибрюшинное введение куркумина в дозе 0,1–1,0 мг/кг приводит к достоверному снижению активности обеих изучаемых изоформ пируваткиназы. При этом наименьшая активность фермента печени (–70,7 % к контролю) достигается при введении куркумина в дозе 0,5 мг/кг. Максимальное же ингибирование куркумином M1-пируваткиназы наблюдается при его использовании в дозе 0,1 мг/кг и достигает 89,6 % к контролю.

Подобная картина наблюдалась и при исследовании эффекта доксициклина. В его присутствии активность пируваткиназы снижалась в печени до 32 %, а в мозге – до 10 % от контрольных значений. Иными словами, и куркумин, и доксициклин обеспечивали почти полное подавление последних стадий гликолитического пути.

Введение куркумина (0,5 мг/кг) в условиях доксициклин-индуцированного холестаза вызывает повышение активности L-изоформы в печени в 2,2 раза. Коррекции куркумином активности M1-пируваткиназы выявлено не было.

Таким образом, в ходе проведенной работы выявлен выраженный ингибиторный эффект доксициклина и куркумина на активность M1- и L-изоформ пируваткиназы. Показана возможность частичной коррекции активности L-фермента куркумином (0,5 мг/кг) в условиях доксициклин-индуцированного холестаза.

Литература

1. Kayne F.J. Pyruvate kinase // The enzymes.– 1973.– V. 8.– P.353–359.
2. Dombrackas J.D., Santarsiero B. D., Mesecar A.D. Structural basis for tumor pyruvate kinase M2 allosteric regulation and catalysis // Biochem.– 2005.– V.44.– P.9417–9429.
3. Zanella A., Fermo E., Bianchi P. et al. Pyruvate kinase deficiency: the genotype-phenotype association // Blood Rev.– 2007.– V.21.– P.217–231.
4. www.medline.ru
5. Raphael M.F., Van Wijk R., Schweizer J.J. et. al. Pyruvate kinase deficiency associated with severe liver dysfunction in the newborn // Am. J. Hematol.– 2007.– V.82.– P.1025–1028.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – Мн.: Беларусь, 1987.– Т.1.– С.89–92.

КСЕНОБИОТИКИ И АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ОРГАНИЗМОВ

С.С. Руденко, Т.В. Морозова

*Черновицкий национальный университет имени Юрия Федьковича, г. Черновцы, Украина
rud@chnu.cv.ua, tetmoros@rambler.ru*

Важным показателем устойчивости организмов к неблагоприятным факторам среды, в частности к ксенобиотикам, является состояние антипероксидантно-пероксидантной системы [1–3]. Целью исследований было выяснение специфики влияния X-облучения на данную систему. Влияние X-облучения на антиоксидантно-пероксидантный статус печени животных изучали на беспородных белых крысах, массой 180–200 г. Фракционное X-облучение проводили рентгеновским диагностическим аппаратом 12П6 на протяжении 14 дней в дозе $2,58 \text{ мКл} \cdot 10^{-1}$ ежедневно (кожно-фокусное расстояние – 40 см) с мощностью дозы $0,258 \text{ мКл} \cdot \text{с}^{-1}$. Указанные дозы X-облучения относятся к сублетальным при 14-дневном применении. Активность ферментов и интенсивность накопления продуктов ПОЛ в печени животных определяли по общепринятым методикам [4–10]. Содержание альбуминов и об-

щую активность лактадегидрогеназы в сыворотке крови крыс определяли на финском биохимическом анализаторе "KONE" в Черновицком областном медицинском диагностическом центре (ОМДЦ). Определение относительной активности изоферментов ЛДГ проводили в Черновицком ОМДЦ на аппарате BECKMAN Paragon путем электрофореза в полиакриламидном геле. Денситограммы анализировали, применяя специальную компьютерную программу.

Изучали влияние 14-дневной интоксикации животных X-облучением в сублетальных дозах на антиоксидантно-пероксидантный статус животных в летний период. Установлено, что X-облучение проявляет специфическое действие на концентрацию АП редокс-элементов в печени крыс. Так, 14-дневное X-облучение индуцирует накопление содержания в печени животных ферума, купрума и цинка. Ряд накопления редокс-элементов под влиянием X-облучения распадается в таком направлении: купрум>ферум>цинк. Показано, что X-облучение не влияет на содержание марганца в печени крыс. Заслуживает внимания способность X-облучения стимулировать аккумуляцию алюминия в печени даже при условии поступления нормального его количества в организм.

Значительное (на 316 %) повышение содержания купрума в печени животных при условии X-облучения происходит параллельно с повышением общей СОД-азной активности гепатоцитов, что позволяет допустить возможность активации именно Zn, Cu-зависимой изоформы этого фермента.

Хотя X-облучение не изменяет содержания селена в печени крыс, его влияние на активность селензависимой ГП является альтернативным – повышает ее на 29 %. Активацию ГП в печени крыс при X-облучении можно объяснить высоким уровнем образования ГПЛ.

X-облучение индуцирует GST-азную активность на 221 %. Это можно объяснить тем, что наряду с GST-азной, при действии X-облучения значительно повышена ГП-азная активность. Таким образом, при X-облучении ГП та GST синергически дополняют действие друг друга. При этом содержание восстановленного глутатиона в печени поддерживается на уровне интактного контроля при действии X-облучения.

При действии X-облучения отмечена разбалансированность ФАПСТ. Сума изменений АПА в печени крыс, которые перенесли 14-дневное X-облучение выше на 378 %.

Хотя, несмотря на высокие значения суммы изменений АПА в печени животных, которые поддавались X-облучению, уровень ГПЛ повышен на 791 % по сравнению с содержанием ГПЛ в печени животных интактного контроля.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о более высоком уровне образования АФК под влиянием X-облучения. Несмотря на трижды повышенную GST-азную активность и повышенную на 29 % ГП-азную, содержание ГПЛ при действии X-облучения повышено в 8 раз. Таким образом, 3-ья линия АП защиты, которая отвечает за обезвреживание ГПЛ, через 14 дней после X-облучения уже не в состоянии противостоять высокому пулу ГПЛ. Ферменты этой линии пребывают в данный момент на стадии убывания их активности. Подтверждением этого служит пониженное содержание МДА, которое на фоне повышенного содержания ГПЛ свидетельствует о том, что стадия пика активности АП ферментов уже миновала и началась вторичная активация ПОЛ. Последнее подтверждается повышенным уровнем окисления белковых SH-групп и повышенным уровнем относительной активности такого маркера цитолиза гепатоцитов, как ЛДГ₄ в сыворотке крови (табл.1).

**Состояние маркеров структурно-функционального статуса печени крыс,
которые претерпели 14-дневное влияние X-облучение (n = 8–10)**

Группы животных, условия эксперимента	Содержание SH-гр. в белках печени, мкмоль · мг ⁻¹ белка	Активность маркерных изоферментов ЛДГ печени в сыворотке крови, %				Mg-АТФ-азная активность митохондрий печени, ммоль Р · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ белка	Содержание альбуминов в сыворотке крови, г/л
		ЛДГ ₄		ЛДГ ₅			
		Удельная		Относительная			
Интakтный контроль (в летний период)	0,456±0,027	75,9±5,7	489±42	11,8±0,7	76,1±4,3	0,441±0,024	17,3±0,7
X-облучение	0,338±0.022*	188±14.9*	775±58*	16,5±0,7	68,0±4,3	0,155±0.011*	14,5±1,4

На основании полученных данных можно сделать такие выводы: при действии X-облучения наблюдается более высокий уровень функционирования как антипероксидантной так и пероксидантной системы. X-облучение индуцирует аккумуляцию редокс-элементов – ФАПС в печени. При действии X-облучения активность АП-ферментов от 1-ой до 3-ей линии защиты возрастает. Истощение ферментативной АП системы печени при действии X-облучения обуславливается истощением защиты АТФ, необходимого для синтеза этих ферментов, кроме того, более интенсивным уровнем окисления белковых SH-групп, что выступает главной причиной снижения активности СОД. После 14-дневного X-облучения в сублетальной дозе вторичная активация ПОЛ находится на стадии необратимых цитологических изменений. Токсический эффект продуктов ПОЛ более выражен при действии фактора, который ускоряет истощение резерва АТФ и обуславливает окисления SH-групп, чем при действии фактора, который влияет на антипероксидантно-пероксидантный статус через снижение содержания редокс-элементов ФАПС. Очевидно, дефицит АТФ и пониженный уровень SH-групп, выступают ранними индукторами липопероксидации, в то время как дефицит редокс-элементов начинает влиять на активность АП-ферментов печени не сразу, а при достижении определенного критического предела. Последнее обусловлено тем, что печень является депо резервного ферума, купрума, цинка и марганца, и поэтому уровень этих элементов начинает влиять на ферментативное звено АП защиты после истощения этого резервного фонда.

Литература

1. Руденко С.С. Аутокологічний аспект дослідження процесу пероксидного окислення ліпідів // Наук. вісник Чернівецького ун-ту. – Вип. 39: Біологія. – 1999. – С.99–113.
2. Руденко С.С. Нові методичні аспекти дослідження антиоксидантно-пероксидантного статусу організмів // Вісник Тернопільського пед. ун-ту: Наукові записки. Серія: Біологія. – 1999. – №1 (4). – С.114–116.
3. Руденко С.С. Алюміній у природних біотопах: біохімічна адаптація тварин. – Чернівці: Рута, 2001. – 300 с.
4. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале // Лаб. дело. – 1985. – №11. – С.678–681.
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С.16–18.
6. Кругликова Г.О., Штутман Ц.Н. Глутатіонпероксидазна та глутатіонредуктазна активність печінки щурів після введення селеніту натрію // Укр. біохім. журн. – 1976. – Т.48, № 2. – С.223–228.
7. Власова С.Н., Шабуніна Е.И., Переслегіна И.А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // Лаб. дело. – 1990. – №8. – С.19–21.
8. Ellman G.Z. Tissue sulphydryl groups // Arch. Biochem. – 1959. – V. 82. – P.70–77.
9. Верева И.В., Точилкина А.И., Попова Н.А. Колориметрический метод определения SH-групп и S-S-связей в белках при помощи 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной) кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. акад. АМН СССР Ореховича В.Н. – М.: Медицина, 1977. – С. 223–231.
10. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. акад. АМН СССР Ореховича В.Н. – М.: Медицина, 1977. – С.66–68.