

ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ СРЕДСТВА

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ТРИ-ВИ-ПЛЮС НА ЭХИНОКОККОВУЮ ПАТОЛОГИЮ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ

А. В. Зангинян, Г. С. Казарян, Л. М. Овсепян¹

Целью настоящего исследования явилось изучение свободнорадикального окисления липидов, окислительной деструкции белков, содержания окиси азота при экспериментальном эхинококкозе и под влиянием препарата три-ви-плюс.

Ключевые слова: эхинококкоз; перекисное окисление липидов; окислительная модификация белка; окись азота (NO)

ВВЕДЕНИЕ

Эхинококкоз — паразитарное заболевание, распространенное во многих странах мира, продолжает оставаться серьезной медицинской и народно-хозяйственной проблемой. Эхинококкоз вызывается паразитом *Echinococcus granulosus*, который является одним из наиболее опасных паразитов человека и животных [1, 12]. Вызываемое им заболевание характеризуется хроническим течением, поражением печени, легких, почек и других органов, вызывая структурно-функциональные поражения в органах, в которых они обитают. Несмотря на интерес к данной проблеме остаются мало исследованными особенности молекулярно-биологических механизмов патогенеза и повреждения органов с множественными и осложненными эхинококковыми кистами органов.

В настоящее время считают, что значительную роль в патогенезе метаболических и структурных нарушений при различных патологических состояниях занимают процессы перекисного, свободнорадикального окисления белков и липидов, приводящее к развитию окислительного стресса. Развитие окислительного стресса характеризуется нарушениями структуры клеточных мембран, микровязкости липидного бислоя, конформации мембранных белков, что отражается на функционировании ионных каналов, активности ферментов и в средстве рецепторов с лигандами [16].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования явилось исследование свободнорадикального окисления липидов, окислительной деструкции белков, содержания окиси азота при экспериментальном эхинококкозе и под влиянием препарата три-ви-плюс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При воспроизведении экспериментальной модели эхинококкоза был выбран метод внутрибрюшинного заражения белых инбредных крыс самцов массой 80 – 100 г протосколексами *E. granulosus*, [5] которые были получены от спонтанно инвазированных доноров оперированных в медицинском центре “Эребуни”. Протосколексы были извлечены в лаборатории молекулярной мембранологии института Молекулярной биологии НАН РА из интактных гидатидных цист из печени естественно инвазированных и оперированных больных [5, 6]. В качестве антиоксиданта и витаминно-минерального комплекса был выбран препарат три-ви-плюс, таблетка которой содержит бета каротина 5000 МЕ, альфа-токоферола, ацетата 30 МЕ, аскорбиновой кислоты 60 мг, оксида меди 2 мг, селена 40 мкг и цинка 40 мг.

Вскармливание животных препаратом три-ви-плюс проводили, растворяя одну таблетку в 200 мл воды на 7 животных. Для определения ПОЛ, окиси азота (NO) и окислительной модификации белка мы использовали цельную кровь забитых животных с центрифугированием и отделением сыворотки.

Об активности ПОЛ судили по количеству малонового диальдегида (МДА). МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [8]. Количество белка определяли по Лоури [14].

Содержание окиси азота определяли с помощью реактива Грисса (1 % сульфаниламида, 0,1 % нафтилендиамина, 2,5 % фосфорной кислоты), а абсорбцию раствора измеряли при длине волны 546 нм [3]. Уровень окислительной модификации белков в сыворотке крови оценивали по содержанию карбонильных производных аминокислот в белках. Метод основан на том, что конечные продукты свободнорадикального окисления белков могут количественно реагировать с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Карбонильные производные после растворения белкового осадка в 8 М мочеvine

¹ Лаборатория молекулярной мембранологии (зав. — Л. М. Овсепян) Институт молекулярной биологии Национальной академии наук Республики Армения, Ереван, 0014, ул. Асратяна, 7.

Уровень окислительной модификации белка, окиси азота и ПОЛ в сыворотке крови крыс, экспериментально зараженных эхинококком

Группа животных	Окислительная модификация белка, ед. опт. пл./мг белка	Окись азота (NO), мкмоль/л	ПОЛ, нмоль/мг белка
Первая группа	3,25 ± 0,5	5,2 ± 0,8	3,4 ± 0,5
Вторая группа	5,38 ± 0,8*	8,2 ± 1,3*	6,8 ± 1,06**
Третья группа	2,31 ± 0,4**	7,1 ± 1,1	4,8 ± 0,75*

* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$.

при 37 °С определяли при 363 нм, используя коэффициент молярной экстинкции $22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ см}$ [15].

Крыс подразделяли на 3 группы по 13 в каждой.

Первая группа — контроль-интактные животные, вторая группа — контроль-зараженные, третья группа — животные, получавшие препарат три-ви-плюс в течение 10 дней до заражения и на протяжении 50 дней после заражения. Вскрытие крыс проводили под общим эфирным наркозом на 60-й день после заражения.

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование показало, что после вскрытия у 7 из 13 крыс второй группы в брюшной полости обнаружены эхинококковые пузыри. Максимальный диаметр ларвоцист составил 5 мм. В третьей группе только у 4 из 13 крыс были обнаружены ларвоцисты.

Изучение процесса перекисного окисления липидов при экспериментальном эхинококкозе позволило обнаружить увеличение содержания МДА в сыворотке крови зараженных крыс по сравнению с интактными (3,4 нмоль в контроле, а при эхинококкозе 6,8 нмоль), что говорит об интенсификации свободнорадикальных реакций почти в 2 раза (таблица). У животных, получавших три-ви-плюс до и после заражения, этот показатель был выше, чем у интактных крыс, но ниже, чем у зараженных. Это может свидетельствовать о протекторном, антиоксидантном эффекте препарата.

Анализ окислительной модификации белков также обнаружил статистически достоверное увеличение образования карбонильных производных белков по сравнению с контрольными величинами (3,25 у контрольных крыс и 5,38 у зараженных).

Полученные данные показывают, что экспериментальный эхинококкоз сопровождается активированием свободнорадикальных процессов. В этой связи было проведено исследование по определению содержания в крови окиси азота. Молекула кислорода окиси азота имеет неспаренный электрон, поэтому окись азота относится к свободнорадикальным соединениям. Сведения, относящиеся к процессу свободнорадикального окисления белков крайне малочисленны. В ряде работ этот процесс рассматривался как одна из возможных причин инактивации ферментов, изменения структурной организации белков при состоянии окислительного стресса. В последнее десятилетие установлено,

что процессы модификации белка являются начальной реакцией клетки на изменение условий ее функционирования [13].

Как показали результаты исследования, содержание окиси азота в сыворотке крови интактных крыс составило 5,2 мкмоль/л, а у зараженных эхинококком крыс — 8,2 мкмоль/л.

Как известно, с одной стороны, увеличение содержания окиси азота играет важную роль в защите клеток от повреждающего действия токсических веществ. С другой стороны — избыток NO ухудшает функцию эндотелия, подавляет продукцию эндотелиального NO и угнетает нормальную функцию клеток [8].

Известно, что взаимодействие NO с активными формами кислорода вызывает генерацию высокотоксичных продуктов, в частности, пероксинитрита, что ведет к повреждению и гибели клеток. Окись азота может присоединяться атомом азота к белкам, имеющим в своем составе серосодержащие аминокислотные остатки. Цитотоксичность пероксинитрита проявляется в окислении, прежде всего, SH- и NH₂-групп белков, протеолипидов и ДНК [10].

Как показали результаты исследования, введение препарата три-ви-плюс приводит к уменьшению содержания количества окиси азота, что связано с антиокислительными свойствами препарата. Каждое из входящих в состав препарата три-ви-плюс компонентов, а именно бета-каротин, токоферол и аскорбиновая кислота, являются известными антиоксидантами, чем и объясняется его нормализующее действие.

ВЫВОД

Под влиянием препарата три-ви-плюс, который вводили крысам в течение 10 дней до заражения и на протяжении 50 дней после заражения эхинококкозом, наблюдалась тенденция к снижению уровней МДА, карбонильных соединений и содержания окиси азота.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Ш. Акбаев, *Паразитология и инвазионные болезни животных*, Москва (2002).
2. Ю. В. Бирюков, А. В. Стреляева, А. М. Шамсиев и др., *Иммунокоррекция при хирургическом лечении эхинококкоза легких*, № 1, 53 – 62 (2000).
3. П. П. Голиков, Н. Ю. Николаева, И. А. Гавриленко и др., *Бюл. exper. биол.*, № 7, 6 – 9 (2000).
4. В. К. Гостищев, А. В. Стреляева, Н. В. Чебышев и др., *Аналы хирургии*, № 6, 45 – 50 (1998).

5. Ф. П. Коваленко, А. И. Кротов, Н. Н. Новикова, *Мед. паразитол. и паразитарн. болезни*, № 1, 84 – 86 (1979).
6. Ф. П. Коваленко, *Дисс. докт. мед. наук*, Москва (1998).
7. В. П. Реутов, *Вестн. РАМН*, № 4, 35 – 41 (2000).
8. *Современные методы в биохимии*, Москва (1977).
9. Н. В. Чебышев, А. В. Стреляева, А. Г. Маленков и др., *Эхинококкоз органов грудной полости*, Медицина, Москва (2002).
10. N. M. Atucha, F. J. Nadal, D. Iyu, et al., *Curr. Vasc. Pharmacol.*, **3**(1), 81 – 85 (2005).
11. G. S. Brown, *Free Radic Biol Med.*, **33**(11), 1440 – 1450 (2002).
12. E. Brunetti, R. Mark, *Cystic Echinococcosis. Medicine Journal*, March 5, **5**(3) (2004).
13. B. Halliwell, J. M. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press (1999).
14. O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, et al., *J. Biol. Chem.*, **193**(1), 265 – 275 (1951).
15. C. Montoliu, E. Kosenko, J. A. Del Olmo, et al., *Liver Int.*, **25**(4), 787 – 795 (2005).
16. I. Nakashima, et al., *Redox-linked signal transduction pathways for protein tyrosine kinase activation. Antioxid Redox Signal. Jun*, **4**(3), 517 – 31 (2002).

Поступила 27.11.12

EFFECT OF TRI-V-PLUS PREPARATION ON EXPERIMENTAL ECHINOCCAL PATHOLOGY IN RATS

A. V. Zanginyan, G. S. Kazaryan, and L. M. Ovsepyan

Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences of Armenia, Asratyan st. 7, 0014 Yerevan, Armenia

The effects of Tri-V-Plus preparation in experimental rats with echinococcal pathology have been studied by monitoring the indices of free-radical oxidation of lipids, oxidative degradation of proteins, and variation of the content of nitric oxide during experimental echinococcosis and upon the introduction of Tri-V-Plus as a therapeutic agent.

Keywords: echinococcosis; free-radical oxidation of lipids; oxidative degradation of proteins; nitric oxide (NO)