

ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Величко М.Г.¹, Леднёва И.О.², Петушок Н.Э.²

*Гродненский государственный аграрный университет¹,
Гродненский государственный медицинский университет²,*

Актуальность. Широкое использование антибиотиков в медицине имеет ряд негативных последствий (появление антибиотикорезистентных штаммов, негативное влияние на макроорганизм). В связи с этим проблема создания новых антибактериальных препаратов остается по-прежнему чрезвычайно актуальной. В этом плане весьма перспективными являются серебросодержащие препараты. Серебро обладает выраженным антисептическим действием [1], причем активность его наноразмерных частиц намного выше, чем у серебросодержащих ионов, молекул и так называемого «блочного», крупного серебра. Главным механизмом, за счет которого наночастицы серебра проявляют свои антибактериальные свойства, в настоящее время считается его проникновение в клеточную стенку и модулирование сигналов с помощью дефосфорилирования [2].

Цель. Изучение эффектов наночастиц серебра на патологические процессы в организме экспериментальных животных, индуцированные введением бактериального липополисахарида, по показателям состояния системы глутатиона.

Методы исследования. Эксперимент был проведен на белых крысах-самках линии Wistar массой 130-150 г. Бактериальную интоксикацию моделировали путем подкожного введения раствора липополисахарида. Крысы 1-й группы (контроль) получали инъекции NaCl (0,9 %) в режиме, аналогичном экспериментальным группам. Крысы 3-й и 4-й групп получали подкожно инъекцию раствора бактериального липополисахарида (ЛПС) в объеме 0,5 мл из расчета 0,4 мг/кг массы тела за 48 часов до декапитации. Крысам 2-й и 4-й групп за 72 часа до декапитации вводили раствор наночастиц серебра в объеме 0,5 мл внутривентриально 1 раз в сутки в течение 3-х дней (в суммарной дозе 6,7 нмоль/кг массы тела). В крови крыс определяли уровень тиоловых соединений (восстановленного глутатиона – GSH, белковосвязанных SH-групп) по модифицированному методу J.Sedlak и R.Lindsay [3]. Активность глутатионпероксидазы (ГПО) определяли по методу, описанному Л.Кругликовой и Ц.Штутман [4] с некоторыми модификациями. О количестве тиобарбитурат-реагирующих продуктов (ТБК-РП) судили по интенсивности окрашивания, возникающего при реакции с тиобарбитуровой кислотой. Статистическая обработка полученных результатов производилась с помощью методов вариационной статистики, достоверность различий значений групп по сравнению с контрольной группой определялась по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Результаты наших исследований (табл. 1) показали, что введение животным ЛПС не вызвало изменений показателей редокс-статуса (белковых SH-групп и GSH) в крови животных. При введении наночастиц серебра достоверных изменений изучаемых показателей также не было выявлено. Одновременно при введении ЛПС на фоне инъекций наночастиц серебра достоверно увеличивался уровень белковых SH-групп в расчете как на мл плазмы, так и на мг белка плазмы. При этом уровень GSH у животных данной группы от контрольных показателей достоверно не отличался. Подобные изменения могут указывать на то, что при таком типе воздействия изменился спектр белков плазмы, и в нём появилось больше белков, содержащих SH-группы.

Таблица 1. – Содержание тиоловых групп в крови крыс при введении липополисахарида на фоне введения наночастиц серебра (Ag) (M ± m)

Группа/показатели	контроль	ЛПС	Ag	Ag +ЛПС
Белковые SH-группы мкмоль/мл плазмы	165,6±8,3	178,2±4,8	185,1±5,3	211,3±3,6*
Белковые SH-группы мкмоль/мг белка	2,90±0,25	2,76±0,13	2,83±0,21	3,57±0,34*
GSH, мкмоль/г Hb	2,90±0,26	2,96±0,19	2,67±0,14	2,45±0,19

Примечание –* – p<0,05 по отношению к контролю

В то же время нами отмечено повышение уровня ТБК-РП в плазме крови животных всех трех экспериментальных групп (на 37% при введении ЛПС, на 53% при введении серебра и на 61% при совместном применении серебра и ЛПС), хотя интенсивность процессов перекисного окисления липидов в эритроцитах при этом не изменялась (табл. 2). Подобная разнонаправленность изменений не позволяет однозначно утверждать, что имеет место развитие окислительного стресса. Обнаруженное нами в плазме крови повышение концентрации ТБК-РП наиболее вероятно связано с увеличением количества сиаловых кислот. Этот класс соединений также даёт цветную реакцию при взаимодействии с тиобарбитуровой кислотой. А избыточная экспрессия сиаловых кислот характерна для процессов воспаления [5].

Для оценки состояния ферментативного звена антиоксидантной защиты мы определяли активность ГПО в плазме крови. В качестве субстрата использовали H₂O₂ или трет-бутилгидропероксид (t-BOOH), что позволяло выявить активность фермента как в отношении перекиси водорода, так и в отношении органических гидроперекисей. Однако достоверных изменений данного показателя выявлено не было (табл. 3).

Таблица 2. – Концентрация тиобарбитурат-реагирующих продуктов в плазме и гемолизате крови крыс при введении липополисахарида на фоне введения наночастиц серебра ($M \pm m$)

Группа	Плазма	Гемолизат	
	нмоль/мл плазмы	нмоль/мл взвеси эритроцитов	нмоль/г гемоглобина
Контроль	1,61±0,14	3,66±0,4	0,014±0,001
Ag	2,21±0,13*	3,61±0,27	0,013±0,002
ЛПС	2,47±0,25*	3,63±0,28	0,013±0,001
Ag+ЛПС	2,59±0,52*	4,05±0,27	0,014±0,001

Примечание – * – $p < 0,05$ по отношению к контролю

Таблица 3. – Активность глутатионпероксидазы в плазме крови крыс при введении липополисахарида на фоне введения наночастиц серебра ($M \pm m$)

Группа	ГПО (t-BOOH), мкмоль GSH/мг белка плазмы/ мин	ГПО (H ₂ O ₂), мкмоль GSH/ мг белка плазмы / мин
	Контроль	7,82 ± 0,64
Ag	8,84 ± 0,94	5,60 ± 0,84
ЛПС	7,95 ± 0,72	5,20 ± 0,90
Ag + ЛПС	8,79 ± 0,69	5,81 ± 1,15

Примечание – * – $p < 0,05$ по отношению к контролю

Как известно, активность ГПО зависит от количества образованных в живой системе пероксидов, то есть от прогрессирования окислительного стресса. В нашем эксперименте такого не наблюдалось. Это согласуется с выводами, сделанными нами при трактовке изменений содержания ТБК-РП в крови.

Выводы. Таким образом, данные, полученные нами при исследовании состояния системы глутатиона в модели бактериальной интоксикации на фоне введения наночастиц серебра, показали, что использованные нами дозы и режимы введения липополисахарида и серебра не оказывают влияния на прооксидантно/антиоксидантное равновесие. Наиболее вероятно, что присутствие ионов металла блокирует пути трансдукции сигнала (p38 митоген активированная протеинкиназа, факторы транскрипции AP-1 и NF-κB), чувствительные к окислительно-восстановительному потенциалу [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Серебро в медицине, биологии и технике : сб. науч. ст. / Институт клинической иммунологии СО РАМН ; науч. ред. П.П. Родионова. Новосибирск, 1996. – 224 с.
2. Серебро в медицине / Е.М. Блажитко [и др.] ; под общ. ред. Е.М. Блажитко

– Новосибирск : Наука-Центр, 2004. – 254 с.

3. Sedlak, J. Estimation of total proteinbound and nonprotein sylfhydryl group in tissues with Ellman's reagent / J.Sedlak, R.Lindsay // Anal. Biochem. – 1968. – Vol. 25, № 1. – P. 192–205.

4. Кругликова, А.А. Глутатионпероксидазная и глутатионредуктазная активность печени крыс после введения селенита натрия / А.А. Кругликова, Ц.М. Штутман // Укр. биохим. журн. – 1976. – Т. 48, № 2. – С. 223–228.

5. One-pot three-enzyme chemoenzymatic approach to the synthesis synthesis of sialosides containing natural and non-natural functionalities / Hai Yu [et al.] // Nature Protocols. – 2006. – Vol. 1. – P. 2485–2492.

6. Wilcox, C.S. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? / C.S. Wilcox // Am. J. Physiol. – Regul Integr Comp Physiol. – 2005. – Vol. 289. – P. 913–935.

СИНТЕЗ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В МОЗЖЕЧКЕ ГОЛОВНОМ МОЗГЕ В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ТРИПТОФАНА И ТАУРИНА И ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭТИХ СОСТОЯНИЙ

Виницкая А.Г.

Гродненский государственный медицинский университет

Актуальность. Дефицит триптофана в питании неблагоприятно влияет на рост организма и, особенно – развитие центральной нервной системы. Нейромедиаторные аминокислоты ГАМК (гамма-аминомасляная кислота) и глутамат активно задействованы в формирование апогехiа nervosa и состояний, связанных с резкой потерей веса [1]. Имеются сведения о роли ГАМК в осуществлении двигательных функций, стрессорных и эмоциональных реакций, в механизмах мотивационного приема пищи [1], привыкания к психоактивным веществам и отмене алкоголя [2].

Синтез ГАМК происходит в нейроне в аксоплазме синаптического окончания и тела нейрона путем декарбоксилирования L-глутамата глутаматдекарбоксилазой (ГДК: L-глутамат-1-карбоксилиаза, КФ 4.1.1.15) [3]. Известно, что не менее 10% глутаминовой кислоты в ЦНС превращается в ГАМК [4]. Причем в ГАМК-ергических нейронах были обнаружены две изоформы ГДК-65 и ГДК-67, различающиеся как по распределению в аксонах и окончаниях нейронов, так и по регуляции активности [5].

Цель. Изучение особенностей синтеза ГАМК в мозжечке головного крыс при моделировании недостаточности триптофана (НТрп) на фоне введения бета-аланина, триптофана, витамина В6 и композиции аминокислот Тритарг.

Методы исследования. Эксперименты были выполнены на белых