

Вплив кріоактивованого порошку аронії чорноплідної на стан енергетичного обміну щурів з гіпокінетичним стресом

Л.В.Савченкова, М.С.Акімова

ДЗ «Луганський державний медичний університет»
Луганськ, Україна

У щурів на тлі гіпокінетичного стресу виявлені істотні порушення енергетичного метаболізму, які проявились вірогідним зниженням вмісту АТФ, АДФ та компенсаторним підвищенням рівня АМФ. Застосування ж кріоактивованого порошку аронії чорноплідної сприяло відновленню балансу в системі АМФ-АДФ-АТФ, а також сприяло нормалізації основних показників енергетичного обміну.

Ключові слова: аронія чорноплідна, гіпокінетичний стрес, аденілові нуклеотиди.

ВСТУП

Відомо, що гіпокінетичний стрес (ГС) супроводжується істотними змінами поведінки, що обумовлено відповідними нейрохімічними перебудовами в головному мозку, які характеризуються активацією ГАМК-ергічної системи, а також певним дисбалансом між про- та антиоксидантними системами [1]. Важливим аспектом дії стресу на організм є глибоке порушення процесів аеробного гліколізу (окислювальне фосфорилування) з падінням вмісту в крові й тканинах основної макроергічної сполуки – АТФ [2].

Раніше нами було доведено позитивний вплив кріоактивованого порошку аронії чорноплідної на стан окисного гомеостазу щурів з ГС [3]. З вищезазначеного можна вважати доцільним пошук високоефективних лікарських засобів для усунення проявів стресу, вести серед препаратів, які здатні в тому числі нормалізувати процеси енергетичного обміну, що можливо розглядати як одну з найважливі-

ших стратегій патогенетичної терапії стресових станів різного генезу. Саме тому вивчення можливого впливу аронії чорноплідної на енергетичний обмін тварин з ГС і склало мету нинішньої роботи.

Робота є фрагментом науково-дослідницької роботи кафедри клінічної фармакології та фармакотерапії «Клініко-експериментальне обґрунтування застосування препаратів метаболічного типу дії» номер держ. реєстрації 01080001969 (2009-2012).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконано на 66 статевозрілих нелінійних щурах-самицях масою 160-180 г. Тварини були розподілені на чотири групи: 1 група – отримувала еквімолярний розчин води дистильованої (інтактні); 2 група – контроль, моделювання ГС; 3 група – на тлі ГС щури отримували референтний препарат фенібут у дозі 25 мг/кг *per os* протягом 10 діб; 4 група – в умовах ГС тварини отримували розчин кріоактивованого порошку аронії чорноплідної в дозі 149 мг/кг *per os* протягом 10 діб. ГС моделювали шляхом розташування щурів у тісні клітки-пенали протягом 24 годин [4]. Тварин утримували в стандартних умовах віварію при природному освітленні й вільному доступі до води та їжі. Усі дослідження проводили відповідно до міжнародних правил поводження з тваринами (Директива 86/309 Європейської спільноти від 24 грудня 1986 р.) та у повній відповідності до вимог Комісії з біоетики ДЗ «ЛДМУ» (наказ №6 від 02.09.2009 р.).

Визначення рівня АТФ, АДФ й АМФ у мозку щурів проводили методом тонкошарової хроматографії на силікагелевих пластинках «Silufol» фірми «Merk» (Німеччина) з використанням системи розчинників: ди-

ТАБЛИЦЯ 1

Вплив аронії чорноплідної на динаміку рівня аденілових нуклеотидів у мозку щурів при гіпокінетичному стресі (M±m)

Групи тварин	Терміни дослідження (доба)			
	1	5	10	15
АТФ				
Інтактна	3738,82±35,44			
Контроль (n=6)	2517,28±65,55*	2389,53±112,23*	2722,90±47,28*	2568,38±80,27*
Фенібут (n=6)		2457,67±67,32*	2921,22±64,96**/**	3163,33±121,07**/**
Аронія (n=6)		2580,55±136,90*	3473,58±157,62**/**	3310,55±94,60**/**
АДФ				
Інтактна	1670,00±149,66			
Контроль (n=6)	756,25± 42,70*	626,25±33,53*	675,00±95,51*	697,50±49,62*
Фенібут (n=6)		777,50±79,29*	816,25±56,88*	932,50±49,61**/**
Аронія (n=6)		1082,50±179,12**/**	1313,75±140,57**/**	1140,00±31,52**/**
АМФ				
Інтактна	442,23±24,59			
Контроль (n=6)	894,25± 35,66*	760,73±12,58*	622,30±21,61*	535,33±22,94*
Фенібут (n=6)		594,13±24,22**/**	535,33±49,35	482,65±75,63
Аронія (n=6)		507,15±38,62**	454,48±41,19**	445,90±36,74

Примітки: * – різниця вірогідна порівняно з групою інтактних тварин (p<0,05); ** – різниця вірогідна порівняно з групою контролю (p<0,05); *** – різниця вірогідна між дослідною та референтною групами (p<0,05).

оксан – вода – аміак або діоксан – ізопропанол – вода – аммоніак (4:2:4) [5].

Показники, що характеризують стан енергетичного обміну, розраховували за формулами: енергетичний заряд (ЕЗ) – $EЗ = (АТФ + S АДФ) / (АТФ + АДФ + АМФ)$; порівняльний коефіцієнт ($K_{пор}$) – $K_{пор} = (АТФ + АМФ) / АДФ$; індекс фосфорилування (ІФ) – $ІФ = АТФ / (АДФ + АМФ)$; термодинамічний контроль дихання (ТКД) – $ТКД = АДФ / АМФ$ [6-8]. Дослідження проводили в динаміці: на 1, 5, 10 та 15 добу спостереження. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням критерію t Стьюдента [9]. Обробка даних проводилась за допомогою пакетів програм Microsoft Excel XP, Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених досліджень наведені в табл.1, з якої видно, що при формуванні стрессактивованого стану у тварин спостерігається чітко виражений зсув балансу рівня аденілових нуклеотидів у мозку щурів, які принципово характеризувалися зниженням вмісту АТФ і АДФ та відповідним підвищенням концентрації АМФ.

Так, доведено, що формування ГС призводить до вірогідного (p<0,05) зниження рівня АТФ в мозку щурів на 27-36% у різні терміни

спостереження, з максимально вираженими змінами на 5 добу дослідження. Курсове ж застосування кріоактивованого порошку аронії чорноплідної призводить до відновлення рівня зазначеного показника, що проявляється підвищенням рівня АТФ на 8-29% порівняно з контролем у різні строки дослідження. Ефективність препарату порівняння коливалась в межах 3-23% у різні терміни спостереження. Більш виражені зміни відмічались відносно вмісту АДФ в тканині мозку щурів при ГС. Доведено вірогідне (p<0,05) і суттєве (на 55-63%) зниження зазначеного показника протягом усього періоду експерименту. Слід відмітити, що у тварин, які отримували потенційний стрес протектор, відмічається підвищення рівня АДФ порівняно з контрольними щурами на 5,10 та 15 добу спостереження на 73%, 95% і 63%, відповідно. У той же час ефективність референтного препарату була вірогідно (p<0,05) меншою, ніж у дослідній групі, та складала 29-74% порівняно з тваринами, що отримували кріоактивований порошок аронії чорноплідної.

Примітна тенденція відмічається і при вивченні вмісту АМФ, за умов експерименту, що вивчали. Доведено тривале та вірогідне (p<0,05) підвищення вмісту АМФ в структурах мозку за умов формування ГС (табл. 1). Очевидно, що підвищення його рівня в мозку щурів з ГС (в 1,2-2 разу) може мати неоднозначний характер

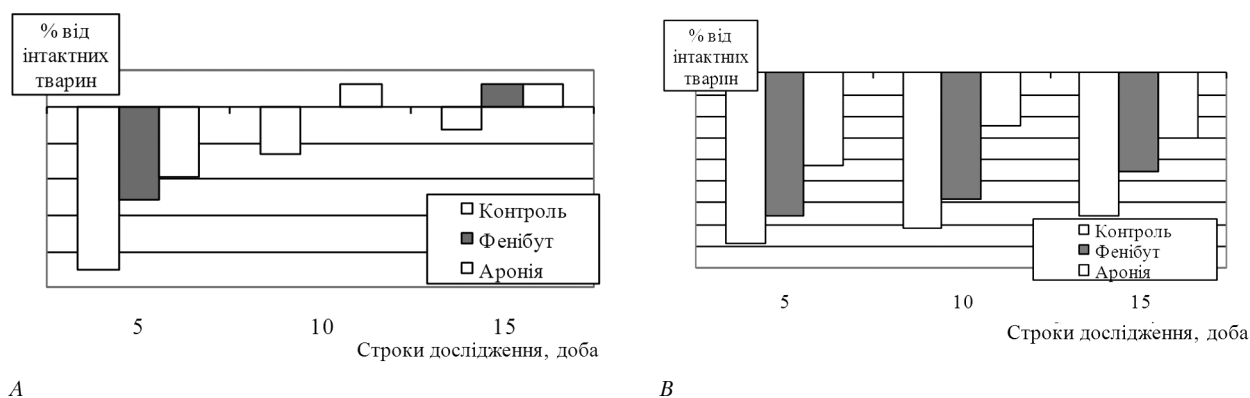


Рис. 1. Вплив кріоактивованого порошку аронії чорноплідної на показники енергетичного потенціалу (А) та термодинамічного контролю дихання (В) тварин за умов гіпокінетичного стресу.

і бути пов'язаним як з підвищеним розпадом макроергічних сполук більш високоенергетичного рівня (АТФ і АДФ), так і з компенсаторним синтезом АМФ з аденілу [7]. Принаймні в будь-якому випадку таке підвищення свідчить про значні розлади енергетичного метаболізму у тварин з ГС, що потребує відповідної фармакокорекції. Курсове ж застосування кріоактивованого порошку аронії чорноплідної призводить практично до повної нормалізації рівня АМФ, коли вже на 5 добу спостереження виявлені зміни не мають вірогідних ($p > 0,05$) відмінностей від таких у інтактних щурів, тоді як фенібут не проявив зазначеного ефекту і його ефективність склала лише 10-22% порівняно з контрольними щурами.

Підводячи підсумок отриманих результатів, слід зазначити, що кріоактивований порошок аронії чорноплідної проявляє виражену фармакотерапевтичну ефективність щодо порушень аденілнуклеотидного обміну в тканині мозку тварин за умов ГС.

Як відомо, для коректної оцінки стану енергетичного обміну не є достатнім вивчення лише абсолютного вмісту в тканинах рівня аденілових нуклеотидів. Саме тому нами було проаналізовано параметри енергообміну, наведені на рис. 1, 2.

Здатність клітини виконувати енергозалежні процеси, наприклад транспорт іонів та біосинтез, визначає величина ЕЗ [7]. Встановлено, що у тварин контрольної групи протягом усього експерименту спостерігається вірогідне ($p < 0,05$) зниження параметра, що вивчається, на тлі формування ГС, що характеризується зниженням ступеня заповнення системи АТФ-АДФ-АМФ високоенергетичними фосфатними зв'язками. Важливо відзначити, що на фоні застосування аронії чор-

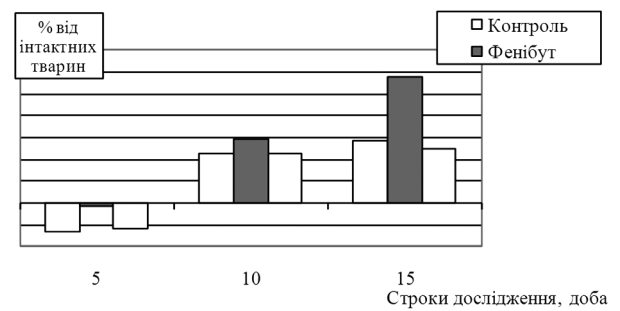
ноплідної відмічається повна нормалізація ЕЗ вже на 10 добу експерименту, що може бути пов'язано з компенсаторною активацією ферментів, які утилізують АТФ з утворенням АДФ або АМФ, й інактивацією реакцій протилежного характеру [2, 7]. Ефективність препарату порівняння була значно нижчою за досліджуваний лікарський засіб. У тварин референтної групи спостерігається незначне збільшення величини ЕЗ.

При вивченні показника ТДК, що вказує на залежність швидкості дихання не від концентрації окремих компонентів аденілнуклеотидної системи, а від стану фосфорилування, встановлено, що при формуванні ГС відмічається вірогідне ($p < 0,05$) зниження цього показника на 66-78% протягом усього періоду експерименту (рис. 1). Курсове застосування кріоактивованого порошку аронії чорноплідної в умовах модельованої патології сприяє збільшенню швидкості мітохондріального дихання, про що свідчить збільшення величини ТДК протягом усього терміну дослідження в 2,0-2,7 разу порівняно з контрольними тваринами. Необхідно зазначити, що ефективність референтного препарату в різні строки спостереження була нижчою (на 14-41%) порівняно з дослідними тваринами.

Не менш інформативним показником енергетичного обміну є $K_{пор}$, що дає уявлення про співвідношення прямої та зворотної реакції перетворення АДФ. З рис. 2 видно, що при ГС спостерігається вірогідне ($p < 0,05$) збільшення показника, що вивчається, на 96-195% порівняно з інтактними тваринами, що може свідчити про пригнічення прямої реакції перетворення АДФ, яка протікає з перевагою синтезу АТФ над його розпадом, та прискорення зворотної реакції перетворен-



A



B

Рис. 2. Вплив кріоактивованого порошку аронії чорноплідної на динаміку змін коефіцієнта порівняння (А) та індекс фосфорування (В) щурів за умов гіпокінетичного стресу.

ня АТФ, результатом чого є збільшення концентрації АМФ на тлі зниження рівня АДФ й АТФ. Важливо відмітити, що при застосуванні потенційного стреспротектора відмічається вірогідне ($p < 0,05$) зниження $K_{пор}$ в 1,6-2,3 рази порівняно з контрольними щурами протягом усього періоду експерименту, що можна розцінювати як свідчення відновлення реакцій ресинтезу АТФ. Ефективність препарату порівняння в зазначених умовах дослідження була значно меншою, ніж у дослідній групі тварин (рис. 2).

У подальшому проводили аналіз динаміки змін ІФ, показника, що визначає здатність клітини синтезувати АТФ з АМФ. Експериментально встановлено, що формування ГС призводить до зниження зазначеного показника лише в перші строки спостереження. У подальшому на 10-15 добу експерименту зазначений показник збільшувався, як в контролі, так і в дослідних групах, що може свідчити про компенсаторне прискорення синтезу АТФ після фази депресії. Слід також зазначити, що індукуючий вплив аронії чорноплідної відносно зазначеного показника був значно вищий, ніж самого стресорного чинника, чи препарату порівняння.

ВИСНОВОК

Курсове застосування кріоактивованого порошку аронії чорноплідної в дозі 149 мг/кг протягом 10 діб в умовах гіпокінетичного стресу проявляє виражену протекторну дію щодо енергетичного обміну в тканині мозку щурів, що реалізується нормалізацією рівня всіх компонентів аденилової системи й відновленням основних показників енергетичного обміну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кутько И.И. Влияние энтеросорбции и антраля на показатели энергетического обмена и уровень «средних молекул» у больных параноидной шизофренией / И.И.Кутько, В.М.Фролов, Г.С.Рачкаускас // Український медичний альманах. — Т.9, №1. — 2006. — С. 77-82.
2. Радионова С.И. Состояние энергетического метаболизма у больных фебрильной шизофренией / С.И.Радионова, Г.С.Рачкаускас // Український медичний альманах. — 2007. — Т.10, №4. — С. 140-147.
3. Савченкова Л.В. Вплив аронії чорноплідної на стан окисного гомеостазу щурів при гіпокінетичному стресі / Л.В.Савченкова, М.С.Акімова // Український журнал клінічної та лабораторної діагностики. — 2011. — Т.6, №3. — С. 127-131.
4. Коваленко Е.А. Гипокинезия / Е.А.Коваленко, Н.Н.Гуровский. — М.: Медицина, 1980. — 307 с.
5. Захарова Н.Б. Тонкослойная хроматография нуклеотидов эритроцитов на пластинках силуфол / Н.Б.Захарова, В.И.Рубин // Лабораторное дело. — 1980. — №12. — С. 735-738.
6. Мецлер Д. Биохимия / Д.Мецлер. — В 3 т., пер. с англ. — М.: Мир, 1980. — Т.2. — 606 с.
7. Орлова О.А. Вплив парафармацевтика «Він-Віта» на стан енергетичного обміну у дорослих щурів / О.А.Орлова, О.О.Лазарчук // Український медичний альманах. — 2009. — Т.12, №5. — С. 124-126.
8. Рубин В.И. Обмен адениловых нуклеотидов и методы его исследования. Метод. пособие для врачей-лаборантов / В.И.Рубин, Н.Б.Захарова, Н.И.Целик. — 1992. — 32 с.
9. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С.Гланц; пер с англ. — М.: Практика, 1999. — 459 с.

Л.В.Савченкова, М.С.Акімова. Влияние кріоактивированного порошка аронии черноплодной на состояние энергетического обмена у крыс при гипокинетическом стрессе. Луганск, Украина.

Ключевые слова: арония черноплодная, гипокINETИЧЕСКИЙ стресс, адениловые нуклеотиды.

У крыс на фоне гипокINETИЧНОГО стресса обнаружены существенные нарушения энергетического метаболизма, которые проявились достоверным снижением содержания АТФ, АДФ и компенсаторным повышением уровня АМФ. Применение же криоактивированого порошка аронии черноплодной способствовало восстановлению баланса в системе АМФ-АДФ-АТФ, а также привело к нормализации основных показателей энергетического обмена.

L. V. Savchenko, M. S. Akimova. The influence of cryoactive powder Aronia melanocarpa on the state of energy metabolism in rats during hypokinetic stress. Lugansk, Ukraine.

Key words: Aronia melanocarpa, hypokinetic stress, adenine nucleotides.

In rats on the background of hypokinetic stress significant disorders of energy metabolism were revealed, which accompanied by significant reduction of ATP, ADP, and compensatory increased levels of AMP. The application of Aronia melanocarpa helped to restore the balance in the AMP-ADP-ATP, and also led to normalization of the main indicators of the energy metabolism.

Надійшла до редакції 15.01.2012 р.