

*glycogen level in skeletal muscles, removing lactoacidosis, activation of the lipolysis as the energy source and normalization of pro- and antioxidant balance in the animal organism in the conditions of the 15-daily physical loading. As a result, the physical endurance of rats increased.*

**Key words:** *derivative of adamantane, bemithyl, actoprotective action, metabolic processes.*

Стаття надійшла до редакції 12.10.2012р.

© Качула С.О.

УДК: 577.125.33:612.391:599.323.4

Качула С.О.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра біологічної та загальної хімії (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

## БІОХІМІЧНИЙ СТАТУС ТА СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОЛОДУВАННЯ

**Резюме.** В експерименті над тваринами з моделюванням голодування встановлено, що позбавлення щурів їжі здійснює різнобічний вплив на біохімічний статус в крові та в печінці, зокрема зменшується рівень глюкози в крові та глікогену в печінці, зростає рівень жирних кислот та кетонових тіл в крові та активність глюкозо-6-фосфатази печінки. Виявлено подальший вплив цих порушень на активацію процесів ліпопероксидації в клітинах печінки, що підтверджується зростанням NADPH-та особливо  $CCl_4$ -залежної пероксидації ліпідів. Припинення голодування і відновлення харчування сприяло регресії вище зазначених метаболічних порушень, хоча і повного повернення показників до нормальних значень не відбувалось.

**Ключові слова:** голодування, глюкоза, глікоген, кетонів тіла, глюкозо-6-фосфатаза, ліпопероксидація.

### Вступ

З'ясування молекулярних механізмів, які лежать в основі розвитку змін на фоні голодування є актуальною проблемою біології та медицини. Як відомо, голодування широко використовується з лікувальною метою, іноді супроводжує багато захворювань та станів [Bell, 2004]. В останні десятиліття зростає увага людства до використання методу голодування для зниження маси тіла і нерідко застосовується без контролю та спостережень з боку лікарів [Faria et al., 2012].

Голодування викликає перебудову метаболізму, кінцевою метою якого є пристосування до гострого енергетичного дефіциту [Johnstone et al., 2002]. В першу чергу зменшується рівень глюкози в крові, тому при голодуванні активуються процеси спрямовані на поповнення і збереження її, серед яких чільне місце належить глюконеогенезу, кетогенезу і, як виявилось в останні роки, процесам перетворення ацетону в субстрат глюконеогенезу - молочну кислоту [Пентюк та ін., 2004; Patel et al., 2011]. Ці процеси супроводжуються характерними змінами гормонального статусу: зниженням рівня інсуліну, зростанням вмісту глюкагону, греліну та гормону росту в крові [et al., 2012; et al., 2013 et al., 2013].

Відомо, що на фоні голодування змінюється і стан перекисного окиснення ліпідів [Mathias et al., 2010], що зумовлює доцільність вивчення його в клітинах.

Метою роботи було з'ясувати біохімічний статус тварин на фоні голодування та стан перекисного окиснення ліпідів в клітинах печінки за цих умов.

### Матеріали та методи

Експерименти проведені на 50 білих нелінійних щурах-самцях масою 150-210 г. Щурі всіх груп перед дослідом протягом тижня отримували повноцінний

раціон. Потім частину тварин позбавляли харчування протягом 1, 2 та 3-х днів, залишаючи вільним доступ до води. В контрольній групі тварини отримували повноцінний раціон протягом всього експерименту, а в групі з відновленням харчування, щурі отримували раціон після двох днів голодування. Досліди виконували згідно правилами гуманного ставлення до експериментальних тварин, затвердженими комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

Вміст кетонових тіл в крові щурів визначали після осадження білків сульфатом цинку та гідроксидом барію. Метод полягає у витісненні з фільтрату крові ацетону сірчаною кислотою в чашці Конвея та зв'язуванні дифундованого ацетону з саліциловим альдегідом [Покровский, Арчаков, 1968]. Неестерифіковані (вільні) жирні кислоти визначали за екстракцією мідних солей жирних кислот з плазми крові органічним розчинником та наступним визначенням кількості міді [Меньшиков, 1968]. Вміст глікогену в печінці визначали методом Зейфтера після гідролізу наважки печінки в 30% розчині гідроксиду калію, осадженні глікогену етанолом та визначенні вмісту глюкози антроновим реактивом [Асатиани, 1957]. Активність глюкозо-6-фосфатази мікросом (КФ 3.1.3.9) оцінювали за кількістю неорганічного фосфату, що звільнюється при гідролізі  $\beta$ -гліцерофосфату, чи глюкозо-6-фосфату [Покровский, Арчаков, 1968].

Визначення NADPH-залежного перекисного окиснення ліпідів проводили в інкубаційному середовищі такого складу: 0,05 М фосфатний буфер, рН 7,4, 0,05 мМ ЕДТА, 10 мкМ сульфату заліза (II), 0,3 мМ NADPH, 2-3 мкМ мікросомного білка [Костюк, 1991].  $CCl_4$ -залеж-

**Таблиця 1.** Показники вуглеводного та ліпідного обміну у щурів під час голодування та відновлення харчування тварин ( $M \pm m$ ).

Показники	Контрольна група, n=10	Дні голодування			Відновлення харчування, n=10
		1 день, n=10	2 день, n=10	3 день, n=10	
Глюкоза крові, ммоль/л	5,94±0,25	5,14±0,22*	4,69±0,24*	4,08±0,21*	5,22±0,26
Вільні жирні кислоти, ммоль/л	0,70±0,07	1,00±0,08*	1,21±0,09*	1,45±0,11*	0,92±0,06*
Кетонові тіла ммоль/л	0,36±0,026	0,97±0,05*	1,43±0,08*	2,03±0,10*	0,86±0,05*
Глікоген печінки, мкмоль/г	135±12	94±11*	67±6,3*	48±4,1*	101±6,4*

**Примітка:** тут і в таблиці 2: \* - різниця з контролем вірогідна ( $p < 0,05$ ).

**Таблиця 2.** Процеси пероксидації ліпідів в мікросомах печінки щурів під час голодування та відновлення харчування тварин ( $M \pm m$ ).

Показники	Контрольна група, n=10	Дні голодування			Відновлення харчування, n=10
		1 день, n=10	2 день, n=10	3 день, n=10	
Печінка					
NADPH-залежна пероксидація ліпідів, нмоль/мг білка/30 хв	5,50±0,43	7,32±0,53*	8,26±0,77*	9,27±0,91	7,00±0,30
CCl <sub>4</sub> -залежна пероксидація ліпідів, нмоль/мг білка/30 хв	3,90±0,38	6,40±0,67*	7,61±0,80*	9,71±0,87*	6,42±0,48*

не перекисне окиснення ліпідів визначали використовували інкубаційне середовище наступного складу: 0,05 М фосфатний буфер, рН 7,4, 0,6 мМ ЕДТА, 3,4 мМ тетрахлорметан (у вигляді спиртового розчину з кінцевою концентрацією етанолу не більше 10%), 0,3 мМ NADPH, 2-3 мг мікросомного білка.

### Результати. Обговорення

На першому етапі роботи було оцінено вплив голодування на біохімічний статус тварин. Встановлено, що голодування викликає суттєві зміни вуглеводного та ліпідного обміну у щурів (табл. 1). Вже на перший день експерименту в сироватці крові тварин вірогідно знижується концентрація глюкози (на 13%), зростає рівень вільних жирних кислот (на 43%) та кетонових тіл (майже в три рази). Одночасно в печінці значно зменшувався вміст глікогену (на 30%) при одночасному різкому зростанні активності глюкозо-6-фосфатази мікросом печінки (на 62%). Індуковані голодуванням зміни поглиблювались з кожним днем досліду і досягали свого максимуму на 3-й день. Зокрема, вміст глюкози на цей строк дослідження падав на 31%, концентрація глікогену в печінці знижувалась в 2,8 рази, а рівень кетонових тіл та вільних жирних кислот зростав в 2,1 та 5,6 рази, відповідно. Активність глюкозо-6-фосфатази на цей строк дослідження в печінці зростала в 2,5 рази. Припинення голодування і відновлення харчування сприяло регресії вище зазначених метаболічних порушень, хоча і повного повернення показників до нормальних значень за такий короткий період реституції не відбувалось. Вище наведені дані однозначно свідчать, що голодування викликає зміни як з боку ліпідного, так і вуглеводного обміну.

На другому етапі дослідження ми вивчали, як голодування впливає на стан перекисного окиснення ліпідів

в клітинах печінки (табл. 2). Виявлено, що під впливом голодування в мікросомах печінки вже з першого дня зростала інтенсивність NADPH- та CCl<sub>4</sub>-залежної пероксидації ліпідів (на 33 та 64%, відповідно). На 3-й день активність NADPH- та CCl<sub>4</sub>-залежної пероксидації ліпідів перевищувала таку в контролі на 1,7 та 2,5 рази, відповідно. Відновлення харчування привело до нормалізації зазначених показників.

Цілком очевидно, що голодуючі тварини є дуже чутливими до перекисного окиснення ліпідів. Причиною посилення NADPH- та CCl<sub>4</sub>-залежної пероксидації ліпідів при голодуванні на наш погляд є зростання кількості цитохрому P4502E1. В деяких дослідженнях підкреслюється, що саме ця ізоформа цитохрому P450 відрізняється незвичайно високою оксидазною активністю і здатна каталізувати утворення значних кількостей реактивних форм кисню [Пентюк та ін., 2004].

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Голодування знижує рівень глюкози в крові та глікогену в клітинах печінки і підвищує рівень кетонів тіл, жирних кислот в крові та активність глюкозо-6-фосфатази в мікросомах печінки.

2. На фоні голодування активується NADPH- та особливо CCl<sub>4</sub>-залежна пероксидація ліпідів в мікросомах печінки.

3. Відновлення харчування сприяло регресії вище зазначених метаболічних порушень, хоча і повного повернення показників до нормальних значень не відбувалось.

Подальші дослідження впливу голодування на біохімічний статус та процеси ліпопероксидації дозволять цілеспрямовано коректувати метаболічні зміни шляхом посилення або гальмування механізмів їх розвитку.

## Список літератури

- Асатиани В.С. Биохимическая фотометрия /Асатиани В.С. - М.: Изд-во Акад. наук СССР. - 1957. - С. 452-453.
- Костюк В.А. Влияние производных о-бензохинона на свободнорадикальные процессы, инициируемые в микросомах печени четыреххлористым углеродом /В.А.Костюк //Биохимия. - 1991. - Т.56, вып. 1. - С. 109-114.
- Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике /В.В.Меньшиков. - М.: Медицина, 1987.- 368 с.
- Пентюк О.О. Цитохром P-450 2E1. Поліморфізм, фізіологічні функції, регуляція, роль у патології /О.О.Пентюк, С.О.Качула, О.Х.Герич //Укр. біохім. журн. - 2004. - Т.76, №5. - С. 16-28.
- Покровский А.А. Методы разделения и ферментной идентификации субклеточных фракций /А.А.Покровский, А.И.Арчаков //Современные методы в биохимии. - М.: Медицина, 1968. - С. 5-59.
- Acute starvation in pregnancy: a cause of severe metabolic acidosis /A.Patel, D.Felstead, M.Doraiswami [et al.] //Int. J. Obstet Anesth. - 2011. - Vol.20, №3. - P. 253-254.
- Bednřrovř A. Unique roles of glucagon and glucagon-like peptides: Parallels in understanding the functions of adipokinetic hormones in stress responses in insects /A.Bednřrovř, D.Kodrik, N.Krishnan //Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. - 2013. - Vol.164, №1. - P. 91-100.
- Bell D.S. Practical considerations and guidelines for dosing sulfonyleureas as monotherapy or combination therapy /D.S.Bell //Clin. Ther. - 2004. - Vol.26, №11. - P. 1714-1727.
- Diet-induced thermogenesis and respiratory quotient after Roux-en-Y gastric bypass /S.L.Faria, O.P.Faria, A.M.de Cardeal [et al.] //Surg. Obes. Relat. Dis. - 2012. - Vol.8, №6. - P. 797-802.
- Effect of an acute fast on energy compensation and feeding behaviour in lean men and women /A.M.Johnstone, P.Faber, E.R.Gibney [et al.] //Int. J. Obes Relat. Metab. Disord. - 2002. - Vol.26, №12. - P. 1623-1628.
- Li R.L. Profound hypoglycemia in starved, greline-deficient mice is caused by decreased gluconeogenesis and reversed by lactate or fatty acids /R.L.Li, D.P.Sherbet, B.L.Elsbernd [et al.] //J. Biol. Chem. - 2012. - Vol.287, №22. - P. 17942-17950.
- Lipid peroxidation and antioxidant system in rats acutely treated with acetone /M.G.Mathias, B.B.Almeida, J.E.Bueno [et al.] //Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. - 2010. - Vol.118, №6. - P. 368-370.
- The rise in growth hormone during starvation does not serve to maintain glucose levels or lean mass but is required for appropriate adipose tissue response in female mice /M.D.Gahete, J.Cordoba-Chacon, R.M.Luque [et al.] // Endocrinology. - 2013. - Vol.154, №1. - P. 263-269.

**Качула С.А.**

#### БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС И СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ГОЛОДАНИЯ

**Резюме.** В эксперименте над животными с моделированием голодания установлено, что лишение крыс пищи осуществляет разностороннее влияние на биохимический статус в крови и печени, в частности уменьшается уровень глюкозы в крови и гликогена в печени, растет уровень жирных кислот и кетоновых тел в крови и активность глюкозо-6-фосфатазы в печени. Выявлено дальнейшее влияние этих нарушений на активацию процессов липопероксидации в клетках печени, что подтверждается ростом NADPH- и особенно  $CCl_4$ -зависимой пероксидации липидов. Восстановление питания способствовало регрессии выше указанных метаболических нарушений, хотя и полного возврата показателей до нормальных значений не происходило.

**Ключевые слова:** голодание, глюкоза, гликоген, кетоновые тела, глюкозо-6-фосфатаза, липопероксидация.

**Kachula S.A.**

#### BIOCHEMICAL STATUS AND LIPID PEROXIDATION IN RATS IN CONDITIONS OF STARVATION

**Summary.** In the experiment on animals with modeling starvation there was found that depriving rats of food provides versatile effects on biochemical status in blood and liver, including reduced blood glucose and glycogen in the liver, increased levels of fatty acids and ketone bodies in the blood and the activity of glucose-6-phosphatase in liver. The further effects of these disorders on the activation processes of lipid peroxidation in liver cells are revealed, which are confirmed by the growth NADPH and especially  $CCl_4$ -dependent lipid peroxidation. Recovery feeding contributed to regression above mentioned metabolic disorders, although a full return to normal performance is not the case.

**Key words:** starvation, glucose, glycogen, ketone bodies, glucose-6-phosphatase, lipids peroxidation.

Стаття надійшла до редакції 16.10.2012р.

© Пашинська О.С.

УДК: 615.262:616.127-002:599.323.4

**Пашинська О.С.**

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра фармакології (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

### ВПЛИВ ВІНБОРОНУ НА СТАН ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ СЕРЦЯ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ АЛКОГОЛЬНОЮ КАРДІОМІОПАТІЄЮ

**Резюме.** В дослідях на щурах встановлено, що вінборон (5 мг/кг в/м), так само як і тіотриазолін (100 мг/кг) має властивість попереджувати надмірну активацію процесів ліпопероксидації, індукованих дією етанолу при моделюванні алкогольної кардіоміопатії і запобігати порушенню показників системи антиоксидантного захисту у патологічно зміненому міокарді.

**Ключові слова:** вінборон, алкогольна кардіоміопатія, тіотриазолін.