

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

© Коллектив авторов, 2016

Н. Ш. Кайшева, Ю. К. Василенко, А. Ш. Кайшев

ПРОЦЕССЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ, ДЕТОКСИЦИРУЮЩИЕ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ И СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ СВЕКЛОВИЧНОГО ПЕКТИНА И ПОЛИСАХАРИДНО-АМИНОКИСЛОТНОГО КОМПЛЕКСА “ЛАМИНАРИД СБ” ПРИ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС

Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, Россия, Ставропольский край, Пятигорск; e-mail: caisheva2010@yandex.ru

Изучено влияние пектина и ламинарида СБ на процессы биологического окисления при свинцовой интоксикации крыс по показателям: окислительное фосфорилирование, синтез АТФ, активность ферментов биологического окисления, реакции пероксидного окисления липидов, резистентность эритроцитов к осмотическому шоку и окислению кислородом воздуха, антиоксидантная функция печени, гематологические показатели. Установлено антигипоксическое, антиоксидантное, мембраностабилизирующее действие полиуронидов.

Ключевые слова: полиурониды; биологическое окисление; интоксикация ионами свинца (II); фармакологическая активность.

Известно, что токсическое действие катионов тяжелых металлов проявляется в нарушении структурной целостности мембраны или повышении ее проницаемости для ионов водорода, разобщении процессов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, образовании свободных радикалов кислорода, жирных кислот, повреждающих мембраны клеток, в том числе эритроцитов, развитии гемической анемии, нарушении активности ферментов и процессов метаболизма ДНК [1]. Ускоряя выведение тяжелых металлов, полиурониды, входящие в состав свековичного пектина и полисахаридно-аминокислотного комплекса “Ламинарид СБ”, возможно, влияют на перечисленные выше токсические эффекты, однако, это требует экспериментального подтверждения, что определило цель исследования.

Целью исследования явилось изучение влияния полиуронидов при свинцовой интоксикации на процессы биологического окисления: окислительного фосфорилирования, показатели свободнорадикального окисления, состояние мембран эритроцитов, гематологические показатели.

Экспериментальная часть

Объектами исследования служили:

– Свековичный пектин производства научно-производственной фирмы “Пекто” (Кабардино-Балкарская Республика, Нальчик), соответствующий требованиям ВФС 42-3433-99 “Пектин”, имеющий среднюю молярную массу 3,2 кг/моль, содержащий 5 полисахаридных компонентов с молекулярно-весовым распреде-

лением: $(35 \pm 1,0)$ кДа, $(4,5 \pm 0,2)$ %; $(11,5 \pm 0,5)$ кДа, $(20,3 \pm 0,6)$ %; $(8,7 \pm 0,4)$ кДа, $(7,9 \pm 0,3)$ %; $(8 \pm 0,4)$ кДа, $(19,9 \pm 0,4)$ %; $(5 \pm 0,2)$ кДа, $(47,4 \pm 1,0)$ %; из них 2 нейтральных (галактаны, арабинаны) и 3 кислых (рамногалактуронан I, рамногалактуронан II, гомогалактуронан с содержанием остатков D-галактуронозой кислоты соответственно $(17 \pm 0,7)$, $(31 \pm 0,9)$ и (100 ± 2) % [2, 3];

– Полисахаридно-аминокислотный комплекс “Ламинарид СБ”, выделенный из ламинарии сахаристой *Laminaria saccharina* (L.) на Архангельском опытно-водорослевом комбинате, соответствующий требованиям ФС 42-2462-87 “Ламинарид”, имеющий среднюю молярную массу $(89,7 \pm 1,9)$ кг/моль, состоящий из чередующихся блоков 1 → 4-связанных остатков β-L-гулурунозой и α-D-маннурунозой кислот в соотношении 1:2 с содержанием свободных карбоксильных групп $(9,1 \pm 0,3)$ %, метилированных карбоксильных групп $(0,9 \pm 0,04)$ % [4].

Растворы полиуронидов готовили с применением в качестве растворителя изотонического раствора хлорида натрия (рН ~ 7,0). Исследования проведены на 70 белых крысах-самцах массой 180 – 220 г линии Вистар.

Животным ежедневно перорально вводили сначала растворы ацетата свинца (II) (“Berlin-Chemie”, Германия) в дозе 75 мг/кг в день в течение 1 недели [1], а затем — полиуронидные растворы: 1 % раствор свековичного пектина (рН 3,49) или 1 % раствор ламинарида СБ (рН 5,2) в дозе 500 мг/кг в день (оптимальная доза при острой свинцовой интоксикации у крыс [5]) в течение 1 мес [5]. Выбор ионов свинца(II) из ряда тя-

железных металлов связан с его наиболее высокой токсичностью [1]. Контролем служила группа крыс (самцы линии Вистар массой 180 – 220 г), получавших вместо полиуронидов изотонический раствор хлорида натрия объемом 1 мл. Исследовалась также группа интактных животных. Таким образом, использовались следующие группы животных: группа 1 — интактные животные; группа 2 — животные, получавшие ацетат свинца(II); группа 3 — животные, получавшие ацетат свинца(II) и изотонический раствор (контроль); группа 4 — животные, получавшие ацетат свинца(II) и пектин; группа 5 — животные, получавшие ацетат свинца(II) и ламинарид СБ; группа 6 — животные, получавшие пектин вне свинцовой интоксикации; группа 7 — животные, получавшие ламинарид СБ вне свинцовой интоксикации. Каждая группа состояла из 10 особей. В течение эксперимента животные находились на стандартном режиме питания. По завершении опытов животных декапитуировали под легким эфирным наркозом; объектами исследования служили биологические субстраты: кровь, печень, бедренная мышца.

Определяли ряд метаболических показателей:

величину окислительного фосфорилирования в печени и содержание АТФ в печени и бедренной мышце (по убыли в среде неорганического фосфата (Фн) методом фотометрии по реакции взаимодействия с молибдатом аммония [6, 7]);

относительную активность медьсодержащих монооксигеназ эндоплазматической сети клеток печени и ацетилирующую активность ферментов, участвующих в конъюгации метаболитов (по содержанию метаболитов амидопирина в моче [7]);

скорость пероксидного окисления липидов (ПОЛ) мембран эритроцитов в присутствии и в отсутствие прооксидантов — легко окисляющихся соединений (тиобарбитуровой кислоты (ТБК)) (по реакции взаимодействия конечного продукта окисления — малонового диальдегида (МДА) — с ТБК методом фотометрии [8]);

показатель каталазы крови (методом перманганатометрии по количеству неразложившегося пероксида водорода; рассчитывали как каталазное число, отнесенное к количеству эритроцитов (млн в 1 мм³) [9]);

содержание восстановленного глутатиона и общее содержание сульфгидрильных групп белков в пересчете на цистеин [9] в сыворотке крови (методом йодометрии с предварительным определением содержания белков в сыворотке крови методом УФ спектрофотометрии [7]);

осмотическую резистентность эритроцитов к растворам хлорида натрия — гипотоническому, с концентрацией 0,5 %, и изотоническому [10];

спонтанный гемолиз эритроцитов (методом Ягера [7, 8]);

количество эритроцитов и лейкоцитов в крови (унифицированным методом подсчета в камере Горяева [8]);

содержание гемоглобина в крови (гемиглобинцианидным методом [8]);

содержание гаптоглобина (методом фотометрии по избытку гемоглобина после осаждения риванолом комплекса “гемоглобин — гаптоглобин” [7]);

гемические индексы: цветовой показатель (отношение 2 частных, полученных делением количества гемоглобина на количество эритроцитов в нормальной (166,7 г/л : 5 · 10¹²/л [8]) и исследуемой крови; рассчитывали путем умножения количества гемоглобина на 30 и деления на первые четыре цифры числа подсчитанных эритроцитов) и содержание гемоглобина в одном эритроците (отношение концентрации гемоглобина (г/л) к числу эритроцитов (млн) в том же объеме крови, выраженное в пикограммах (пг) [8]);

антигипоксическое действие на моделях свинцовой интоксикации и острой гемической гипоксии, вызванной однократным внутримышечным введением крысам нитрита натрия в дозе 300 мг/кг [11] (рассчитывали антигипоксический индекс (АГИ) как отношение периодов жизни одной группы животных к другой); вещества сравнения — препараты “Натрия оксибутират” (“Мосхимфармпрепараты”, раствор для инъекций в ампулах) и “Гутимин” (гуанилтиомочевина) (“Ай Си Эн Полифарм”, раствор для инъекций в ампулах) [12].

Результаты исследований обрабатывали методом множественной статистики с использованием параметрического критерия Стьюдента; определяли среднюю арифметическую величину, ее стандартную

Т а б л и ц а 1

Влияние пектина и ламинарида СБ на окислительное фосфорилирование и активность ферментов печени

Группа животных	Окислительное фосфорилирование в печени (убыль фосфата неорганического), мкмоль	Содержание АТФ, мкмоль фосфата неорганического, г/г		Относительная активность монооксигеназ печени, %	Ацетилирующая активность ферментов, участвующих в конъюгации метаболитов амидопирина, %
		в печени	в бедренной мышце		
1	0,93 ± 0,10	1,80 ± 0,10	0,36 ± 0,04	8,72 ± 0,41	84,92 ± 4,01
2	0,32 ± 0,03*	0,30 ± 0,05*	0,19 ± 0,02*	5,01 ± 0,50*	59,22 ± 3,11*
3	0,36 ± 0,04*	0,32 ± 0,05*	0,19 ± 0,02*	6,61 ± 0,40* ^х	63,03 ± 5,81*
4	1,31 ± 0,10* ^х ^о	2,11 ± 0,19* ^х ^о	0,57 ± 0,05* ^х ^о	10,21 ± 0,50* ^х ^о	97,22 ± 3,81* ^х ^о
5	1,30 ± 0,12* ^х ^о	1,50 ± 0,10* ^х ^о	0,26 ± 0,02* ^х ^о	9,62 ± 0,51 ^х ^о	79,52 ± 4,21* ^х ^о

Здесь и в табл. 2, 3: *p* < 0,05 по сравнению с группой 1 (*), группой 2 (х), группой 3 (о) группой 4 (†).

Между группами 3 и 4 отмечены значимые различия (*p* < 0,001) по всем показателям. Между группами 3 и 5 различия значимы (*p* < 0,001) по всем показателям, кроме содержания АТФ в бедренной мышце и ацетилирующей активности ферментов, где они менее значимы (*p* < 0,05).

ошибку и вероятность различий (*p*) результатов сравниваемых групп.

Результаты и их обсуждение

Результаты определения влияния полиуронидов на окислительное фосфорилирование и активность ферментов печени при свинцовой интоксикации крыс представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, под действием ионов свинца (II) процесс окислительного фосфорилирования замедляется на 66 %, при этом синтез АТФ снижается: в печени — на 83 %, в бедренной мышце — на 48 %. Ионы свинца(II), являясь ингибиторами процессов тканевого дыхания [2], блокируют полярные группы, например, SH группы каталитических участков ферментов [13]; в результате комплекс “фермент — ингибитор” не способен присоединять субстрат, и дальнейшего превращения субстрата не происходит. При этом замедляется процесс окислительного фосфорилирования на 66 %, подавляется образование АТФ в печени на 83 %, в бедренной мышце — на 47 %. Применение пектина и ламинарида СБ на фоне свинцовой интоксикации ускоряет окислительное фосфорилирование в печени в 4 раза; это ведет к увеличению содержания АТФ в печени — в 7 и 5 раз, в мышце — в 3 и 1,4 раза соответственно по сравнению с животными, получавшими ацетат свинца(II). В сравнении с контролем введение животным пектина и ламинарида СБ на фоне свинцовой интоксикации способствует ускорению окислительного фосфорилирования в печени в 3,7 и 3,6 раза соответственно, что приводит к ускорению

синтеза АТФ в печени в 6,5 и 4,7 раз, в мышце — в 3 и 1,4 раза соответственно. Применение полиуронидов на фоне свинцовой интоксикации, по-видимому, способствует вытеснению катионов свинца(II) из комплекса “фермент — ингибитор”, в результате чего восстанавливается активность процессов тканевого дыхания. Пектин по сравнению с ламинаридом СБ ускоряет образование АТФ в печени в 1,4 раза, в мышечной ткани — в 2,2 раза больше.

В результате изучения влияния катионов свинца(II) и полиуронидов на ферменты для оценки детоксицирующей функции печени установлено, что интоксикация ацетатом свинца(II) снижает относительную активность монооксигеназ печени на 42,5 %, а ацетилирующую активность ферментов — на 30 %, т.е. ферментативные процессы окисления и конъюгации, происходящие при метаболизме амидопирин, замедляются. Эти же функции ферментов печени в сравнении с контролем снижаются на 24 и 26 % соответственно. Повышение относительной активности монооксигеназ печени и ацетилирующей активности ферментов пектином соответственно в 2 и 1,6 раза, ламинаридом СБ — в 1,9 и 1,3 раза, вероятно, также объясняется указанным выше механизмом. По сравнению с ламинаридом СБ, пектин на 18 % больше повышает ацетилирующую активность печени. Влияние обоих полиуронидов на относительную активность монооксигеназ печени выражено в одинаковой степени.

Результаты изучения влияния полиуронидов на скорость ПОЛ в мембранах эритроцитов, активность каталазы крови, содержание глутатиона и сульфгидриль-

Таблица 2
Влияние полиуронидов на скорость образования МДА в мембранах эритроцитов, активность каталазы крови, содержание глутатиона и SH групп белков крови у крыс при свинцовой интоксикации

Показатель	Группа животных						
	1	2	3	4	5	6	7
1. Скорость образования МДА, нмоль/ч							
в присутствии прооксидантов	57,72 ± 3,91	74,92 ± 5,11*	70,01 ± 3,80*	38,21 ± 2,70* ^{×0}	43,62 ± 3,11* ^{×0}	53,11 ± 3,01 ^{×0}	53,52 ± 3,21 ^{×0}
в отсутствие прооксидантов	51,41 ± 3,21	68,82 ± 4,91*	67,32 ± 4,31*	34,41 ± 2,91* ^{×0}	38,81 ± 3,20* ^{×0}	45,32 ± 3,40 ^{×0}	45,12 ± 3,20 ^{×0}
2. Активность каталазы крови							
каталазное число	5,01 ± 0,25	0,10 ± 0,01*	0,20 ± 0,02* ^x	2,20 ± 0,11* ^{×0}	1,50 ± 0,08* ^{×0+}	8,50 ± 0,34* ^{×0+}	5,71 ± 0,23* ^{×0+}
количество эритроцитов (×10 ⁻⁸ /мм ³)	6,71 ± 0,40	3,71 ± 0,30*	3,81 ± 0,30*	6,21 ± 0,50 ^{×0}	5,31 ± 0,50* ^{×0}	5,31 ± 0,50* ^{×0}	5,21 ± 0,50* ^{×0}
показатель каталазы (×10 ⁹)	7,42 ± 0,60	0,38 ± 0,001*	0,44 ± 0,04*	3,51 ± 0,30* ^{×0}	2,70 ± 0,20* ^{×0+}	16,11 ± 1,20* ^{×0}	10,91 ± 1,01* ^{×0}
3. Содержание глутатиона крови, мг %							
общего	46,72 ± 3,30	58,91 ± 3,20*	57,12 ± 2,70*	49,22 ± 2,30 ^{×0}	50,02 ± 1,71 ^{×0+}		
восстановленного	36,42 ± 1,80	3,61 ± 0,40*	3,71 ± 0,40*	34,62 ± 2,50 ^{×0}	42,03 ± 1,80* ^{×0+}		
окисленного	10,42 ± 0,80	55,33 ± 5,30*	53,32 ± 5,31*	14,51 ± 1,10* ^{×0}	8,02 ± 0,71* ^{×0+}		
4. Содержание SH групп, мг % цистеина:							
общих	35,41 ± 2,20	13,50 ± 1,00*	16,51 ± 1,10*	29,72 ± 1,40* ^{×0}	39,32 ± 2,91 ^{×0+}		
остаточных	24,01 ± 1,90	6,12 ± 0,52*	8,31 ± 0,71* ^x	15,72 ± 1,31* ^{×0}	21,82 ± 1,80 ^{×0+}		
белковых	147,74 ± 7,42	120,73 ± 6,13*	126,23 ± 6,22*	174,64 ± 9,61* ^{×0}	198,34 ± 10,13* ^{×0}		
5. Содержание белков сыворотки крови, %	7,71 ± 0,41	6,11 ± 0,41*	6,51 ± 0,31*	8,02 ± 0,41 ^{×0}	8,82 ± 0,51 ^{×0}		

ных (SH) групп белков сыворотки крови на фоне свинцовой интоксикации приведены в табл. 2.

Между группами 3 и 4 наименее значимые различия ($p < 0,05$) отмечены по содержанию общего глутатиона крови; более значимые различия — по содержанию белков сыворотки крови ($p < 0,02$), количеству эритроцитов и содержанию белковых SH групп ($p < 0,01$); существенные различия ($p < 0,001$) — по всем остальным показателям.

Между группами 3 и 5 наименее значимые различия ($p < 0,05$) отмечены по количеству эритроцитов и содержанию общего глутатиона крови; более значимые различия ($p < 0,01$) — по содержанию белков сыворотки крови; существенные различия ($p < 0,001$) — по всем остальным показателям.

Из приведенных данных следует, что при приеме животными ацетата свинца(II) наблюдалась активация на 29,7 % процессов индуцированного свободнорадикального окисления в мембранах эритроцитов и на 33,7 % спонтанного свободнорадикального окисления по сравнению с интактным контролем. Практически такой же эффект наблюдался при последующем приеме животными изотонического раствора хлорида натрия. Известно [14], что ионы свинца(II), как и некоторых других металлов с переменной валентностью, вызывают образование радикалов жирных кислот и пероксидных радикалов — реакционноспособных частиц, ускоряющих цепные реакции пероксидного окисления ненасыщенных фосфолипидов биологических мембран. Пектин и ламинарид СБ, будучи природными комплексонами, связывающими ионы свинца(II) [15], замедляют процессы индуцированного ПОЛ на 45 и 38 %, процессы спонтанного ПОЛ — на 49 и 42 % соответственно по сравнению с контролем

и, по-видимому, на фоне свинцовой интоксикации снижают проницаемость клеточных мембран и повышают их устойчивость. Применение полиуронидов вне свинцовой интоксикации не влияет на процессы ПОЛ, а, значит, на проницаемость и устойчивость мембран эритроцитов.

В результате свинцовой интоксикации резко снизилась активность биохимической системы защиты мембран от ПОЛ, о чем свидетельствует уменьшение показателей: каталазы крови на 95 %, восстановленного глутатиона на 90 %, содержания белковых SH групп в сыворотке крови на 18 % и содержания белков сыворотки крови на 21 %. Это согласуется с данными литературы [1, 13] о том, что под действием ионов свинца(II) снижается концентрация восстановленного глутатиона. Последующее введение животным изотонического раствора хлорида натрия не изменило указанных показателей. Наблюдаемое токсическое влияние ацетата свинца(II) можно объяснить блокированием ионами свинца(II) активных центров белков и ферментов [1, 13], следствием чего явилась инактивация ферментов. Как свидетельствуют литературные данные [16], ионы свинца(II) связываются с сульфгидрильными, фосфатными и карбоксильными группами мембран, увеличивают жесткость мембран и снижают их устойчивость к осмотическому шоку. В исследованиях с эритроцитами [17] показано, что ионы свинца(II) изменяют проницаемость мембран, блокируют активные центры (сульфгидрильные, фосфатные, карбоксильные группы) — насосы.

В наших опытах на фоне свинцовой интоксикации введение животным пектина способствовало повышению уровня восстановленного глутатиона до нормы, увеличению содержания SH групп белков на 18 %

Таблица 3

Влияние полиуронидов на осмотическую резистентность, спонтанный гемолиз эритроцитов по Ягеру, гематологические показатели при свинцовой интоксикации крыс

Показатель	Группа животных						
	1	2	3	4	5	6	7
1. Осмотическая резистентность эритроцитов (степень гемолиза), %:							
с гипотоническим раствором	4,41 ± 0,30	32,11 ± 2,90*	13,21 ± 1,10* ^x	8,41 ± 0,90* ^{x○}	8,31 ± 1,10* ^{x○}	3,50 ± 0,20* ^{x○}	3,40 ± 0,30* ^{x○}
с изотоническим раствором	2,51 ± 0,30	11,12 ± 0,91*	6,21 ± 0,50* ^x	4,21 ± 0,50* ^{x○}	2,71 ± 0,11* ^{x○+}	1,71 ± 0,11* ^{x○}	1,61 ± 0,20* ^{x○}
2. Спонтанный гемолиз эритроцитов (степень гемолиза), %:							
3. Содержание эритроцитов · 10 ¹² /л	6,71 ± 0,50	3,71 ± 0,40*	3,81 ± 0,40*	6,92 ± 0,51* ^{x○}	5,21 ± 0,40* ^{x○+}	6,83 ± 0,41* ^{x○}	6,54 ± 0,46* ^{x○}
4. Содержание гемоглобина, г/л	121,24 ± 6,12	94,42 ± 5,11*	96,02 ± 4,11*	144,54 ± 7,83* ^{x○}	109,44 ± 4,42* ^{x○+}		
5. Содержание гаптоглобина, г/л	2,01 ± 0,11	1,02 ± 0,10*	1,01 ± 0,10*	2,22 ± 0,20* ^{x○}	1,80 ± 0,20* ^{x○}		
6. Цветовой показатель	0,54 ± 0,04	0,76 ± 0,04*	0,75 ± 0,03*	0,63 ± 0,03* ^{x○}	0,64 ± 0,03* ^{x○}		
7. Содержание гемоглобина в одном эритроците, пг	18,12 ± 1,01	25,21 ± 1,30*	25,12 ± 1,20*	21,02 ± 1,31* ^{x○}	21,21 ± 1,20* ^{x○}		
8. Содержание лейкоцитов, лг ⁻¹	6,10 ± 0,31	7,71 ± 0,40*	7,11 ± 0,30*	5,61 ± 0,41* ^{x○}	5,71 ± 0,40* ^{x○}		

выше нормы; при этом показатель каталазы возрастал в 8 раз по сравнению с контролем, не достигая уровня интактных крыс в 2 раза. В результате введения ламинарида СБ после свинцовой интоксикации повышалось содержание восстановленного глутатиона на 15 %, белковых SH групп — на 34 % по сравнению с интактными животными; при этом показатель каталазы, хотя и не достигал уровня интактных крыс, но увеличивался в 6 раз при сопоставлении с контролем.

Сравнивая активность пектина и ламинарида СБ между собой, можно отметить, что на фоне свинцовой интоксикации влияние пектина на активность каталазы на 28 % более эффективно, чем ламинарида СБ. Повышению уровня восстановленного глутатиона ламинарид СБ способствовал на 21 % активнее, чем пектин. Оба полиуронида в равной мере повлияли на скорость реакции ПОЛ в мембранах эритроцитов и содержание белковых SH групп. В связи с тем, что оба полисахарида содержат ионы марганца [15], функционирующие как редокс-кофакторы в Mn-каталазе, возможно, что еще и по этой причине исследуемые вещества повышают активность каталазы. Увеличение показателя каталазы в результате введения животным пектина и ламинарида СБ (соответственно в 2,2 и 1,5 раза) по сравнению с интактными крысами наблюдалось и вне свинцовой интоксикации.

Результаты изучения влияния полиуронидов на осмотическую резистентность и спонтанный гемолиз эритроцитов по Ягеру, гематологические показатели при свинцовой интоксикации крыс приведены в табл. 3.

Между группами 3 и 4 наименее значимое различие ($p < 0,05$) отмечено по содержанию гемоглобина в одном эритроците; более значимые различия — по осмотической резистентности эритроцитов с изотоническим раствором, цветовому показателю, содержанию лейкоцитов ($p < 0,02$), осмотической резистентности эритроцитов с гипотоническим раствором ($p < 0,01$); существенные различия ($p < 0,001$) — по остальным показателям.

Между группами 3 и 5 наименее значимые различия ($p < 0,05$) отмечены по содержанию эритроцитов, гемоглобина, цветовому показателю, содержанию гемоглобина в одном эритроците; более значимые различия — по осмотической резистентности с гипотоническим раствором, содержанию лейкоцитов ($p < 0,02$), гаптоглобина ($p < 0,01$); существенные различия ($p < 0,001$) — по осмотической резистентности с изотоническим раствором, спонтанному гемолизу эритроцитов.

Из приведенных данных следует, что введение животным ацетата свинца(II) способствует развитию гемолитической анемии — снижению осмотической резистентности эритроцитов в 7 раз и увеличению спонтанного гемолиза эритроцитов в 4,5 раза. Пектин и ламинарид СБ на фоне свинцовой интоксикации способствовали снижению степени гемолиза эритроцитов в 3,8 и 3,9 раза и спонтанного гемолиза — в 3,3 и 3,4 раза соответственно. При этом под влиянием ламинарида СБ уровень внеэритроцитарного гемоглобина достигал нормальных величин. Аналогичное полиуронидам влияние на степень гемолиза оказывал и изотонический раствор, но в меньшей степени (на 36 – 53 %). Пектин и ламинарид СБ не только на фоне, но и вне свинцовой интоксикации способствуют повышению устойчивости эритроцитов к гемолизу соответственно на 26 и 29 % в сравнении с интактными животными.

В результате изучения гематологических показателей у крыс после введения ацетата свинца(II) установлено снижение содержания гемоглобина и гаптоглобина в крови соответственно на 22 и 50 % по сравнению с интактными животными. Снижение содержания гемоглобина в крови сочеталось с уменьшением содержания эритроцитов на 44 %. При этом также наблюдались резкие изменения индексов эритроцитов — увеличение цветового показателя на 41 %, содержания гемоглобина в одном эритроците на 39 %, что зависит исключительно от изменения объема эритроцитов, а не от повышенного насыщения их гемоглобином [8]. Все эти изменения на фоне свинцовой интоксикации

Таблица 4

Антигипоксическое действие полиуронидов

Группа крыс	Период жизни после введения нитрита натрия, мин	По отношению к группам			
		интактная	контроль	натрия оксидбутират	гутимин
Интактная	16,31 ± 1,31		0,70	0,56	0,58
Изотонический раствор	23,21 ± 1,80*	1,42		0,80	0,82
Пектин	37,12 ± 3,11*°	2,28	1,60	1,28	1,32
Ламинарид СБ	32,41 ± 2,80*°	1,99	1,40	1,11	1,15
Натрия оксидбутират (500 мг/кг в день [11])	29,01 ± 1,80*°+	1,78	1,25		1,03
Гутимин (500 мг/кг в день [11])	28,21 ± 1,31*°+	1,73	1,22	0,97	

$p < 0,05$ по отношению к группе интактных животных (*), к группе животных, получавших изотонический раствор (°), к группе животных, получавших ламинарид СБ (°+).

По сравнению с группой животных, получавших изотонический раствор, более значимые различия отмечены для животных, получавших пектин ($p < 0,01$), чем для животных, получавших ламинарид СБ ($p = 0,02$).

свидетельствуют об анемии. При дальнейшем введении крысам избытка ламинарида СБ содержание гемоглобина и гаптоглобина достигло уровня интактных крыс, а под влиянием пектина даже превысило норму соответственно на 19 и 13 %. Эти изменения вызвали повышение содержания эритроцитов и нормализацию индексов эритроцитов.

Наряду с анемией, интоксикация ацетатом свинца(II) способствовала лейкоцитозу, содержание лейкоцитов в крови возросло на 26 %, дальнейшее введение животным изотонического раствора снизило уровень лейкоцитов до 16 %. Введение крысам полиуронидов на фоне свинцовой интоксикации способствовало снижению содержания лейкоцитов до нормы; при этом оба полиуронида проявили одинаковый эффект.

Антигипоксический эффект полиуронидов подтвержден в дополнительных исследованиях, проведенных на модели острой гемической гипоксии, вызванной нитритом натрия (табл. 4).

Полученные данные подтвердили антигипоксический эффект полиуронидов, установленный на модели свинцовой интоксикации. Период жизни животных с острой гемической гипоксией, вызванной нитритом натрия, в случае предварительного введения им пектина и ламинарида СБ увеличился по сравнению с интактными животными соответственно в 2,3 и 2 раза, а по сравнению с контролем — соответственно в 1,6 и 1,4 раза. В сопоставлении с натрия оксибутиратом и гутимином пектин оказывал более выраженное антигипоксическое действие в 1,3 раза; эффект ламинарида СБ был на уровне веществ сравнения.

Возможными причинами различного влияния полиуронидных препаратов на ряд метаболических показателей могут быть:

различия в составе, пектин образован полигалактуроновой кислотой, а ламинарид СБ является суммарным препаратом, содержащим соли альгиновой кислоты (состоящей из остатков полиманнуриновой и полигулуриновой кислот), полисахарид ламинаран, шестиатомный спирт маннит, аминокислоты [2]. Наличие в ламинариде СБ среднемoleкулярных полисахаридов и преимущественное накопление альгинатов в виде кальциевых солей, в отличие от пектина, имеющего меньшую молярную массу и освобожденного от солей металлов [2], обуславливают продолжительное набухание и умеренную растворимость ламинарида СБ в воде и, возможно, его меньшую биологическую доступность;

различия в степени диализа через париетальный лист брюшины крысы [2], в 2,6 раз более высокая степень у пектина ($3,64 \cdot 10^{-3} \text{ ч}^{-1}$) по сравнению с альгинатом натрия ($1,41 \cdot 10^{-3} \text{ ч}^{-1}$) и в 1,7–1,9 раз — по сравнению с полигулуриновой ($2,09 \cdot 10^{-3} \text{ ч}^{-1}$) и полиманнуриновой ($1,89 \cdot 10^{-3} \text{ ч}^{-1}$) кислотами;

- различия в коэффициентах диффузии через лецитиновые мембраны [2], более высокий коэффициент пектина ($9 \cdot 10^{-6}$) по сравнению с альгинатом натрия (10^{-6}), полигулуриновой кислотой ($2,5 \cdot 10^{-6}$), полиманнуриновой кислотой ($2 \cdot 10^{-6}$);

более выраженная сорбционная способность к ионам свинца(II) пектина (на 10,7 %) по сравнению с ламинаридом СБ, в составе которого альгинаты частично блокированы аминокислотами [2];

менее характерная способность пектинов в сопоставлении с ламинаридом СБ связывать радионуклиды, соотношение показателей сорбции и десорбции радионуклида стронция-90 в опытах на крысах для пектина составляет 4,63, для ламинарида СБ — 17,63 [2];

различия в константах устойчивости полиуронатов свинца (II), у пектинатов — $3,2 \cdot 10^3$ л/моль, у альгинатов — $2,8 \cdot 10^3$ л/моль [2];

различия в константах обмена ионов кальция на ионы свинца(II) в полиуронатах кальция (образующихся за счет преваляирования ионов кальция в ламинариде СБ и небольшого количества ионов кальция в пектине), для кальциевых солей пектина — 2,0, альгиновой кислоты — 1,5, полигулуриновой кислоты — 4,2, полиманнуриновой кислоты — 0,75 [2]. Учитывая, что содержащиеся в ламинариде СБ альгинаты характеризуются соотношением остатков полигулуриновой и полиманнуриновой кислот 1:3,5 (22 %:78 %) [2], то и селективность к ионам свинца(II) относительно невысока.

Пектин и ламинарид СБ, оказывая нормализующее влияние на биохимические процессы, вызывают антигипоксический эффект и предотвращают развитие анемии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. А. Ершов, Т. В. Плетенева, *Механизмы токсического действия неорганических соединений*, (Медицина), Москва (1989), сс. 78–80, 95–99, 127–129, 199–206.
2. Н. Ш. Кайшева, *Научные основы применения полиуронидов в фармации*, ПГФА, Пятигорск (2003), сс. 45–47, 62–72.
3. Л. В. Донченко, Г. Г. Фирсов, *Пектин: основные свойства, производство и применение*, ДеЛи принт, Москва (2007), сс. 23–24.
4. Патент РФ 2194525 (2001); МКИ А 61 К 35 / 80 (2002).
5. З. Ж. Ашубаева, А. М. Молдошев, А. Д. Джумалиев и др., *Применение пектинов в медицине*, Кирг. гос. мед. институт, Фрунзе (1990), сс. 7–21.
6. Л. И. Пустовалова, *Практикум по биохимии*, Феникс, Ростов-на-Дону (1999), сс. 343–347, 425–429.
7. Е. А. Строев, В. Г. Макарова, *Практикум по биологической химии*, Высшая школа, Москва (1986), сс. 176–179, 185–190.
8. В. С. Камышников, О. А. Волотовская, А. Б. Ходюкова и др., *Методы клинических лабораторных исследований*, Бел. наука, Минск (2001), сс. 234–237, 256–258, 374–383, 456–461.
9. Н. Н. Пушкина, *Биохимические методы исследования*, Госмедиздат, Москва (1983), сс. 44–46, 194–197.
10. В. В. Гацура, *Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ*, Медицина, Москва (1974), сс. 75–77, 83–86.
11. А. А. Бакибаев, В. Д. Филимонов, Л. Г. Тигнибидина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **27**(4), 34–36 (1993); *Pharm. Chem. J.*, **27**(4), 254–256 (1993).
12. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, Москва (2000), т. 2, сс. 156–159.
13. W. Dobryszyska, H. Owczarzer, *Arch. Toxicol.*, **48**, 21–27 (1981).

14. Ю. К. Василенко, О. В. Климова, Д. С. Лазарян, *Хим.-фарм. журн.*, **37**(4), 12 – 15 (2003); *Pharm. Chem. J.*, **37**(4), 174 – 177 (2003).
15. Н. Ш. Кайшева, В. А. Компанцев, С. Н. Щербак и др., *Фармация*, **2**, 45 – 48 (1992).
16. M. A. Lessler, M. I. Walters, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **142**, 548 – 553 (1973).
17. B. Venugopal, T. D. Luckey, *Metal Toxicity In Mammals*, Plenum press, New York (1978), v. 2, pp. 258 – 271.

Поступила 19.03.14

INFLUENCE OF POLYURONIDES ON BIOLOGICAL OXIDATION, ANTITOXIC FUNCTIONS OF LIVER, AND STATE OF MEMBRANE ERYTHROCYTES UNDER LEAD INTOXICATION CONDITION

N. Sh. Kaisheva, Yu. K. Vasilenko, and A. Sh. Kaishev

Pyatigorsk Medico-Pharmaceutical Institute, Branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, 357532 Russia;

* e-mail: caisheva2010@yandex.ru

The influence of pectin and laminarid NP complex on processes of biological oxidation in rats with lead intoxication has been estimated with respect to the following parameters: oxidative phosphorylation, ATP synthesis, activity of biological oxidation enzymes, lipid peroxidation reaction, erythrocyte resistance to osmotic shock and oxidation by oxygen of air, antitoxic function of liver, and hematological indices of blood. It is established that polyuronides produce antihypoxant, antioxidant, and membrane-stabilizing action.

Keywords: polyuronides; biological oxidation; intoxication with lead(II) ions; pharmacological activity.