

УДК 612.35:577.121.7(577.175.822+577.352.335)

ОКИСЛЕНИЕ АЦЕТИЛХОЛИНА И ЛИПИДОВ МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ *IN VITRO*В.И.Тиханов¹, Н.А.Лосев², В.А.Доровских¹, Д.П.Решодько¹, И.В.Тиханов³,
Р.А.Анохина¹, Е.Г.Роговченко⁴¹Амурская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95²НИИ экспериментальной медицины Северо-Западного отделения РАМН,
197376, г. Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, 12³Медико-санитарная часть №78 Федеральной службы исполнения наказаний России,
191014, г. Санкт-Петербург, набережная реки Фонтанки, 36А⁴Амурская областная клиническая больница, 675028, г. Благовещенск, ул. Воронкова, 26

РЕЗЮМЕ

Проведены исследования по индуцированию перекисного (свободнорадикального) окисления липидов микросом печени крыс неферментативными (аскорбатзависимыми) и ферментативными (NADP•H-зависимыми) механизмами с содержанием ацетилхолина в инкубационной среде. Полученные данные свидетельствуют: присутствие ацетилхолина в инкубационной среде уменьшает способность липидов микросом печени к окислению. После тепловой обработки микросом печени присутствие ацетилхолина в инкубационной среде также снижает способность липидов микросом к окислению индуцированного ферментативным (NADP•H-зависимым) механизмом. Уменьшение активности белков эндоплазматического ретикулума гепатоцитов тепловой обработкой микросом печени резко снижает способность липидов к окислению ферментативным (NADP•H-зависимым) механизмом.

Ключевые слова: ацетилхолин, микросомы печени, перекисное окисление липидов, тепловая обработка микросом печени, ферментативное (NADP•H-зависимое) окисление липидов, неферментативное (аскорбатзависимое) окисление липидов.

SUMMARY

OXIDATION OF ACETYLCHOLINE AND LIVER MICROSOMES LIPIDS *IN VITRO*V.I.Tikhonov¹, N.A.Losev², V.A.Dorovskikh¹,
D.P.Reshod'ko¹, I.V.Tikhonov³, R.A.Anokhina¹,
E.G.Rogovchenko⁴¹Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str.,
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation²Research Institute of Experimental Medicine of
Northwest Branch RAMS, 12 akad. Pavlova Str.,
St. Petersburg, 197376, Russian Federation³Medical Care Unit №78 of the Federal Penitentiary
Service of Russia, 36A Fontanka River Emb.,
St. Petersburg, 191014, Russian Federation⁴Amur Regional Clinical Hospital, 26 Voronkova Str.,
Blagoveshchensk, 675028, Russian Federation

Studies have been conducted about the induction of lipid peroxidation (free-radical) of rats liver microsomes by non-enzymatic (ascorbate-dependent) and en-

zymatic (NADP•H-dependent) mechanisms with acetylcholine in the incubation medium. The obtained data indicate that the presence of acetylcholine in the incubation medium reduces the ability of microsomal lipid oxidation. After the heat treatment of liver microsomes, the presence of acetylcholine in the incubation medium also reduces the ability of the microsomal lipid oxidation induced by enzymatic (NADP•H-dependent) mechanism. The decrease of protein activity of endoplasmic reticulum of hepatocytes by the heat treatment of liver microsomes dramatically reduces the ability of lipid oxidation by enzymatic (NADP•H-dependent) mechanisms.

Key words: acetylcholine, liver microsomes, lipid peroxidation, heat treatment of liver microsomes, enzymatic (NADP•H-dependent) lipid oxidation, non-enzymatic (ascorbate-dependent) lipid oxidation.

Экспериментальные работы *in vivo* показали: не прямой холиномиметик неостигмин (прозерин), накапливающий в тканях антихолинэстеразными механизмами эндогенный ацетилхолин, увеличивает окисление липидов печени на фоне кратковременной (трехчасовой) холодовой нагрузки, создаваемой лабораторным животным [12]. Отмечается ускорение и увеличение формирования малонового диальдегида (МДА) гомогената печени на фоне снижения содержания диеновых конъюгатов и гидроперекисей, определяемых в общих липидах печени.

Индуцирование перекисного (свободнорадикального) окисления липидов (ПОЛ) печени *in vitro* ферментативными (NADP•H-зависимыми) механизмами с присутствием неостигмина в инкубационной среде в концентрации 10⁻⁴М также приводит к увеличению окисления липидов микросом печени [13]. Вместе с тем ПОЛ, активируемое неферментативными (аскорбат-зависимыми) механизмами с присутствием в инкубационной среде неостигмина вызывает противоположный эффект – уменьшение содержания МДА [13].

Такая разнонаправленность эффектов, возникающая в присутствии неостигмина при индуцировании ПОЛ *in vivo* и *in vitro* ставит перед нами задачу проведения ряда экспериментов *in vitro* с содержанием в инкубационной среде ацетилхолина и сопоставления полученных результатов окисления липидов с результатами окисления неостигмина *in vitro*.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре фармакологии Амурской государственной медицинской академии. Эксперимент проводили на белых беспородных крысах-самцах массой до 200 г. В каждой группе проб при индуцировании соответствующего механизма окисления липидов содержалось 6 крыс, каждая проба окисления липидов бралась от отдельного животного и их общее количество в эксперименте достигало 50.

Все животные содержались в стандартных условиях вивария с соблюдением режима кормления, тепла и без ограничения доступа к питьевой воде. Протокол экспериментальной части исследования на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), Приказе МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

После вскрытия брюшной и грудной полостей извлекали печень и готовили гомогенат с использованием амино-метанового буфера и гомогенизатора Даунса. Гомогенат печени центрифугировали при 9500 g в течение 20 минут при +4°C. Полученная надосадочная жидкость подвергалась дальнейшему центрифугированию при 24000 g в течение 120 минут при +4°C. Осадок микросом ресуспендировался в амино-метановом буфере, определялась концентрация белка в микросомах печени и в дальнейшем использовалась для решения задач, поставленных в эксперименте [4, 5, 10, 21].

Определение окислительной активности ацетилхолина производилось *in vitro* и оценивалось по способности уменьшать или увеличивать неферментативное (аскорбатзависимое) и ферментативное (NADP•H-зависимое) свободнорадикальное ПОЛ в инкубационной среде с содержанием в пробирке суспензии микросом печени и выражалось в процентах.

Перерасчёт содержания МДА после индуцирования ПОЛ *in vitro* делали на 1 мг белка микросом. Прирост оптической плотности (Δ) МДА рассчитывался по разнице оптической плотности МДА после окисления микросом и оптической плотности МДА до окисления микросом [1, 6, 7, 8, 11].

Инкубационная смесь объёмом 1 мл содержала 0,8 mM аскорбиновой кислоты или 1 mM NADP•H, 0,2 mM пиродифосфата Na, 50 mM трис-HCL (аминометанового) буфера (pH – 7,4).

Результаты проб с содержанием ацетилхолина сравнивались с результатами проб, где окислялись только липиды микросом. Молярная концентрация ацетилхолина в инкубационной среде создавалась согласно концентрации ацетилхолина при прохождении

его по сосудистому руслу ткани печени *in situ* и была равна 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M. Окислительная активность ацетилхолина рассчитывалась по формуле [1].

Содержание МДА определяли в водной фазе суспензий микросом при индуцировании аскорбатзависимого (неферментативного) окисления липидов и NADP•H-зависимого (ферментативного) окисления липидов микросом по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [7, 19].

Определение активности каталазы производили колориметрическим методом, основанным на цветной реакции перекиси водорода с молибдатом аммония и измерении цветного комплекса при длине волны λ -410 нм [11].

Снижения активности белка добивались нагреванием микросом печени в стекле, температура в водяной бане создавалась +80°C [18, 24].

Статистическую обработку результатов проводили методом ANOVA с применением непараметрического дисперсионного анализа (W.H.Kruskal, W.A.Wallis), парного критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test). Количественные значения представлены в виде медианы (Me) и интерперцентильного размаха [5-й перцентиль; 95-й перцентиль].

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследований, полученные ранее *in vitro*, свидетельствуют: присутствие в инкубационной среде неостигмина (прозерина) мольной концентрации 10^{-4} M вызывает увеличение окисления липидов микросом печени при индуцировании окисления липидов ферментативными (NADP•H-зависимыми) механизмами [13].

Окисление же липидов неферментативными (аскорбатзависимыми) механизмами с присутствием в инкубационной среде неостигмина мольной концентрации 10^{-4} M показало: неостигмин (прозерин) способствует возникновению антиоксидантного эффекта [13].

Разнонаправленность результатов, получаемых при окислении липидов микросом печени с присутствием неостигмина в инкубационной среде при индуцировании как неферментативных, так и ферментативных механизмов окисления ставит перед нами вопрос: «Будет ли оказывать влияние на окисление липидов микросом печени присутствие ацетилхолина в инкубационной среде? Способен ли ацетилхолин в присутствии липидов микросом печени влиять на ферментативные и неферментативные механизмы окисления липидов?».

Нами были получены следующие данные: присутствие ацетилхолина в инкубационной среде при индуцировании свободнорадикального ПОЛ микросом печени как ферментативным (NADP•H-зависимым), так и неферментативным (аскорбатзависимым) механизмами в предложенных молярных концентрациях вызывает антиоксидантный эффект (табл. 1, 2).

Сопоставляя данные по окислению липидов инкубационной среды в присутствии ацетилхолина можно сделать обобщение: ацетилхолин во всех предложенных молярных концентрациях (10^{-3} M – 10^{-6} M) при индуцировании как неферментативных

(аскорбатзависимых), так и ферментативных (NADP•Н-зависимых) механизмов окисления липидов

in vitro приводит к уменьшению способности липидов печени к окислению.

Таблица 1

Неферментативное (аскорбатзависимое) окисление липидов микросом с содержанием ацетилхолина (АЦХ) в инкубационной среде

Концентрация АЦХ	Содержание МДА в пробах до окисления липидов микросом		Содержание МДА в пробах после окисления липидов микросом		Окислительная активность АЦХ
	1 группа проб (n=6) ΔE _{мда} микросом, нмоль/мг белка	2 группа проб (n=6) ΔE _{мда} микросом +прозерин, нмоль/мг белка	3 группа проб (n=6) ΔE _{мда} микросом, нмоль/мг белка	4 группа проб (n=6) ΔE _{мда} микросом +прозерин, нмоль/мг белка	
10 ⁻³ М	0,328 [0,304; 0,348]	0,339 [0,328; 0,349] p ₂₋₁ =0,179*	14,713 [14,0; 15,3] p ₃₋₁ =0,003 p ₃₋₂ =0,004	12,015 [11,2; 12,9] p ₄₋₁ =0,0107 p ₄₋₂ =0,00394 p ₄₋₃ =0,004	+18,4% [12,3; 26,9]
10 ⁻⁴ М	0,321 [0,302; 0,331]	0,361 [0,351; 0,372] p ₂₋₁ =0,00395	14,6 [14,8; 15,6] p ₃₋₁ =0,003 p ₃₋₂ =0,0003	12,1 [11,5; 12,8] p ₄₋₁ =0,0197 p ₄₋₂ =0,00394 p ₄₋₃ =0,004	+19,2% [15,8; 21,5]
10 ⁻⁵ М	0,327 [0,307; 0,346]	0,609 [0,579; 0,662] p ₂₋₁ =0,00394	14,9 [14,4; 15,9] p ₃₋₁ =0,00006 p ₃₋₂ =0,000297	12,9 [12,0; 13,4] p ₄₋₁ =0,0197 p ₄₋₂ =0,00395 p ₄₋₃ =0,004	+15,1% [11,9; 16,5]
10 ⁻⁶ М	0,326 [0,301; 0,343]	0,844 [0,828; 0,855] p ₂₋₁ =0,0049	14,2 [14,34; 15,7] p ₃₋₁ =0,00006 p ₃₋₂ =0,000297	13,5 [13,0; 14,2] p ₄₋₁ =0,0003 p ₄₋₂ =0,004 p ₄₋₃ =0,00395	+13,4% [8,7; 15,2]

Примечание: здесь и в таблицах 2 и 3 (+) – антиоксидантный эффект, (-) – прооксидантный эффект ацетилхолина; * – значения статистически недостоверны (p>0,05).

Таблица 2

Ферментативное (NADP•Н-зависимое) окисление липидов микросом с содержанием ацетилхолина (АЦХ) в инкубационной среде

Концентрация АЦХ	Содержание МДА в пробах до окисления липидов микросом		Содержание МДА в пробах после окисления липидов микросом		Окислительная активность АЦХ
	1 группа проб (n=6) ΔE _{мда} микросом, нмоль/мг белка	2 группа проб (n=6) ΔE _{мда} микросом +прозерин, нмоль/мг белка	3 группа проб (n=6) ΔE _{мда} микросом, нмоль/мг белка	4 группа проб (n=6) ΔE _{мда} микросом +прозерин, нмоль/мг белка	
10 ⁻³ М	0,311 [0,221; 0,331]	0,812 [0,800; 0,831] p ₂₋₁ =0,00394	4,406 [4,189; 4,603] p ₃₋₁ =0,0001 p ₃₋₂ =0,0197	3,703 [3,112; 3,936] p ₄₋₁ =0,0197 p ₄₋₂ =0,004 p ₄₋₃ =0,00216	+24,5% [18,3; 28,7]
10 ⁻⁴ М	0,309 [0,232; 0,336]	0,621 [0,607; 0,636] p ₂₋₁ =0,00216	4,511 [4,172; 4,903] p ₃₋₁ =0,00395 p ₃₋₂ =0,004	3,462 [3,182; 3,908] p ₄₋₁ =0,000297 p ₄₋₂ =0,00394 p ₄₋₃ =0,00216	+30,4% [27,54; 36,4]
10 ⁻⁵ М	0,308 [0,227; 0,339]	0,555 [0,462; 0,662] p ₂₋₁ =0,00216	4,305 [4,05; 4,913] p ₃₋₁ =0,0003 p ₃₋₂ =0,00394	3,331 [3,015; 3,889] p ₄₋₁ =0,004 p ₄₋₂ =0,00216 p ₄₋₃ =0,00395	+32,1% [24,0; 40,3]
10 ⁻⁶ М	0,310 [0,231; 0,338]	0,545 [0,412; 0,682] p ₂₋₁ =0,00395	4,216 [4,083; 4,913] p ₃₋₁ =0,00006 p ₃₋₂ =0,0197	3,131 [2,915; 3,989] p ₄₋₁ =0,0197 p ₄₋₂ =0,00394 p ₄₋₃ =0,00216	+47,7% [38,9; 48,4]

Напоминаем: из полученных ранее данных присутствии неостигмина в инкубационной среде ($10^{-4}M$) [15] при индуцировании ферментативного (NADP•H-зависимого) механизма окисления липидов микросом печени приводит к увеличению окисления, а активирование неферментативного (аскорбатзависимого) механизма окисления липидов *in vitro* неостигмином уменьшает окисление липидов, вызывая антиоксидантный эффект.

Липидная фаза остатков мембран эндоплазматического ретикула гепатоцитов (микросом печени) предопределяет присутствие и работу комплекса гемтиолатных протеинов, обозначаемых как цитохром P450 [2, 20, 26], катализирующих оксигенацию помимо ксенобиотиков и эндогенных компонентов клетки, таких как монокарбоновые (жирные кислоты (преимущественно C_{18} , C_{20} , C_{22}) [27] с формированием из них простаноидов, лейкотриенов, гидроксиэйкозатетраенов (HETEс) [9, 14, 22], эпоксиэйкозатриеновых кислот (EETs) [17], трактуемых как продукты свободнорадикального ПОЛ. Поскольку в ферментативных механизмах ПОЛ участвуют белковые компоненты мембран эндоплазматического ретикула гепатоцитов (цитохром P450) [3, 20], то для выяснения вопроса о влиянии на окисление липидов только ацетилхолина, а не протеинов, включённых в состав липидов мембран эндо-

плазматического ретикула гепатоцитов, мы произвели тепловую инактивацию белка, включённого в мембраны эндоплазматического ретикула.

Критерием потери активности белка, находящегося в мембранах эндоплазматического ретикула гепатоцитов, служило определение способности разрушать гидроперекись водорода (H_2O_2) одним из ферментов, относящихся к антиокислительной системе печени – оценивалась активность каталазы из приготовленных к окислению микросом печени.

Так, в микросомах печени, не подвергавшихся термообработке, активность каталазы оценивали в $24 \text{ ммоль/л}^{-1} \cdot \text{сек}^{-1}$; после тепловой обработки микросом печени активность каталазы определялась в $1,076 \text{ ммоль/л}^{-1} \cdot \text{сек}^{-1}$ ($p < 0,005$).

В результате тепловой обработки микросом печени и проведенной с ними работы по окислению липидов были получены данные, свидетельствующие о том, что присутствие ацетилхолина в инкубационной среде во всех предложенных молярных концентрациях при индуцировании ПОЛ микросом печени ферментативными (NADP•H-зависимыми) механизмами приводит к резкому снижению окисления липидов печени, и после произведенных расчётов – констатации факта о возникновении антиоксидантного эффекта, вызываемого ацетилхолином (табл. 3).

Таблица 3

Ферментативное (NADP•H-зависимое) окисление липидов микросом с содержанием ацетилхолина (АЦХ) в инкубационной среде после тепловой обработки микросом

Концентрация АЦХ	Содержание МДА в пробах до окисления липидов микросом		Содержание МДА в пробах после окисления липидов микросом		Окислительная активность АЦХ
	1 группа проб (n=6) $\Delta E_{\text{МДА}}$ микросом, нмоль/мг белка	2 группа проб (n=6) $\Delta E_{\text{МДА}}$ микросом +прозерин, нмоль/мг белка	3 группа проб (n=6) $\Delta E_{\text{МДА}}$ микросом, нмоль/мг белка	4 группа проб (n=6) $\Delta E_{\text{МДА}}$ микросом +прозерин, нмоль/мг белка	
$10^{-3}M$	1,083 [1,009; 1,124]	1,201 [1,176; 1,214] $p_{2-1}=0,00526$	1,109 [1,1; 1,146] $p_{3-1}=0,0131$ $p_{3-2}=0,00394$	1,042 [1,021; 1,181] $p_{4-1}=0,297*$ $p_{4-2}=0,000533$ $p_{4-3}=0,00394$	+303% [232; 714]
$10^{-4}M$	1,116 [1,0; 1,144]	1,234 [1,204; 1,289] $p_{2-1}=0,0031$	1,112 [0,986; 1,156] $p_{3-1}=0,0131$ $p_{3-2}=0,00395$	1,151 [1,091; 2,091] $p_{4-1}=0,00151$ $p_{4-2}=0,00394$ $p_{4-3}=0,229*$	+261% [182; 663]
$10^{-5}M$	1,017 [0,921; 1,144]	1,195 [1,108; 1,214] $p_{2-1}=0,00216$	1,095 [0,916; 1,146] $p_{3-1}=0,0131$ $p_{3-2}=0,00395$	1,183 [1,164; 1,199] $p_{4-1}=0,004$ $p_{4-2}=0,546*$ $p_{4-3}=0,00216$	+138% [115; 320]
$10^{-6}M$	1,091 [0,971; 1,104]	1,337 [1,269; 1,492] $p_{2-1}=0,00216$	0,909 [0,880; 1,116] $p_{3-1}=0,00865$ $p_{3-2}=0,004$	1,162 [1,048; 1,214] $p_{4-1}=0,109*$ $p_{4-2}=0,00394$ $p_{4-3}=0,378*$	+429% [166; 652]

Публикацией результатов, полученных в эксперименте, мы стараемся сделать акцент на вопросе о возможном влиянии мускариновых рецепторов (ацетилхолиновых зон (рецепторов) метаболитов G-белков [15, 16, 23, 28] и никотинчувствительных ацетилхолиновых участков лиганд-проводящих ионных каналов [14, 25] на формирование ПОЛ, где ферментативные механизмы плазматической мембраны гепатоцитов составляют основу работы холинотропных рецепторов и поэтому вопрос о влиянии ферментативных механизмов индуцирующих ПОЛ *in vitro* в присутствии ацетилхолина для нас играют важную роль, и не только в определении способности самой молекулы ацетилхолина индуцировать ПОЛ, но и во взаимоотношениях между белками мембран и ацетилхолином. Поэтому важно отметить поведение ацетилхолина в инкубационной среде при окислении липидов микросом ферментативными (NADP•H-зависимыми) механизмами.

Структура молекулы ацетилхолина предрасполагает к возникновению феномена одноэлектронного окисления и восстановления липидов с последующим развитием перекисного (свободнорадикального) окисления: присутствие в молекуле атома азота с неподелённой электронной парой, сложная эфирная связь, создаваемая двумя атомами кислорода в карбонильной части молекулы.

Необходимо отметить, что полученные в эксперименте данные позволят подчеркнуть значимость белковых компонентов, включённых в липидную фазу мембран при индуцировании ПОЛ.

Так, если до индуцирования окисления липидов и до тепловой обработки микросом исходное содержание МДА в инкубационной среде составило 0,310 нмоль/мл гомогената (табл. 2), то после индуцирования ПОЛ микросом ферментативными (NADP•H-зависимыми) механизмами содержание МДА без тепловой обработки микросом составило 4,406 нмоль/мл гомогената, при $p_{3,1}=0,0001$ (табл. 2). Это составляет 1421% по отношению к 1 группе проб, к исходному содержанию МДА инкубационной среды (табл. 2).

После же тепловой обработки микросом печени разница в содержании МДА до окисления и после окисления липидов при индуцировании ферментативного (NADP•H-зависимого) механизма составила всего 2,4%, соответственно (табл. 3).

Обобщая полученные данные можно сделать вывод: присутствие в инкубационной среде ацетилхолина в предложенных молярных концентрациях (от 10^{-3} и до 10^{-6} М) при индуцировании как неферментативных (аскорбатзависимых), так и ферментативных (NADP•H-зависимых) механизмов ПОЛ приводит к уменьшению окисления липидов печени.

Напоминаем, что введение экзогенного ацетилхолина в ткань печени *in situ* давало прооксидантный эффект.

Такая разнонаправленность получаемых эффектов окисления липидов *in vitro*, *in situ* в присутствии ацетилхолина не может служить основанием для утверждения о том, что только входящие в состав молекулы

ацетилхолина структуры, содержащие атом азота и атомы кислорода участвуют в формировании свободнорадикального ПОЛ печени.

Определено: белки эндоплазматического ретикула гепатоцитов участвуют в формировании ПОЛ, вызываемого ферментативными (NADP•H-зависимыми) механизмами, но связи между белком мембран эндоплазматического ретикула гепатоцитов и присутствующим в инкубационной среде ацетилхолином в плане активации ПОЛ мы не видим, об этом говорит полученный факт – после тепловой обработки белков микросом печени сохраняется не только антиоксидантный эффект ацетилхолина в инкубационной среде, но он даже возрастает (табл. 2, 3).

Выводы

1. При индуцировании неферментативного (аскорбатзависимого) окисления липидов микросом печени ацетилхолин в инкубационной среде 10^{-3} М, 10^{-4} М, 10^{-5} М, 10^{-6} М снижает их способность к окислению.

2. Ацетилхолин инкубационной среды в концентрации 10^{-3} М, 10^{-4} М, 10^{-5} М, 10^{-6} М при индуцировании ферментативных (NADP•H-зависимых) механизмов окисления липидов без тепловой обработки микросом уменьшает способность липидов печени к окислению. После тепловой обработки микросом присутствие ацетилхолина в инкубационной среде увеличивает антиоксидантный эффект.

3. Термообработка микросом печени резко снижает выраженность свободнорадикального ПОЛ печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. М.: Наука, 1975. 327 с.
2. Арчаков, А.И., Згода В.Г., Карузина И.И. Окислительная модификация цитохрома P450 и других макромолекул в процессе их обновления // *Вопр. мед. химии*. 1998. №1. С.3–27.
3. Арчаков А.И. Перенос электронов и сопряжение с ним реакций в эндоплазматическом ретикуле печени: дис. ... д-ра мед. наук. М., 1973. 275 с.
4. Восстановление функциональной активности микросомальной монооксигеназной системы фосфолипидами / Г.И.Бачманова [и др.] // *Всероссийский симпозиум «Перспективы биоорганической химии в создании новых лекарственных препаратов»*: тез. докл. Рига, 1982. С.29.
5. Бачманова. Г. И. Реконструкция монооксигеназной системы печени: дис. ... д-ра мед. наук. М., 1983. 245 с.
6. Бородин Е.А., Арчаков А.И. Стабилизация и реактивация цитохрома P-450 фосфатидилхолином при перекисном окислении липидов // *Биол. мембраны*. 1987. №7.С.719–728.
7. Бородин Е.А. Инактивация цитохрома P450 в мембранах микросом, повреждённых Fe²⁺ – аскорбатзависимым перекисным окислением липидов // *Биол. науки*. 1986. №5. С.30–34.
8. Бородин. Е.А. Восстановление фосфолипидами мембран микросом, повреждённых Fe²⁺ – аскорбат-за-

висимым перекисным окислением липидов // Биол. науки. 1986. №7. С.30–35.

9. Владимиров Ю.А. Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 250 с.

10. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика её окислительных систем // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н.Ореховича. М.: Медицина, 1977. С.49–59.

11. Метод определения активности каталазы / М.Д. Королук [и др.] // Лаб. дело. 1988. №1. С.16–18.

12. Изменение продуктов и субстратных составляющих перекисного окисления липидов в ткани печени на фоне холодовой нагрузки и введении непрямых мускариночувствительных и никотинчувствительных холиномиметиков / В.И.Тиханов [и др.] // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2013. Вып.50. С.61–67.

13. Сравнение окислительной активности прозерина при кратковременной холодовой нагрузке in vivo и in vitro / В.И.Тиханов [и др.] // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2013. Вып.49. С.77–81.

14. Arneric S.P., Brioni J.D. Neuronal Nicotinic Receptors. Pharmacology and Therapeutic Opportunities. N.Y.: Wiley-Liss; 1999. 421 p.

15. Baldwin J. M. Structure and function of receptors coupled to G proteins // Curr. Opin. Cell Biol. 1994. Vol.6, №2. P.180–190.

16. Baldwin, J. M. The probable arrangement of the helices in G protein-coupled receptors // EMBO J. 1993. Vol.12, №4. P.1693–1703.

17. NADPH-dependent microsomal metabolism of 14, 15-epoxyeicosa trienoic acid to diepoxides and epoxyalcohols / J.H.Capdevila [et al.] // Arch. Biochem. Biophys.1988. Vol.261, №1. P.122–133.

18. Inactivation of a small heat shock protein affects cell morphology and membrane fluidity in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 / V.Capozzi [et al.] // Res. Microbiol. 2011. Vol.162, №4. P.419–425.

19. Marnet L.J. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde // Mutat. Res. 1999.Vol.424, №1-2. P.83–95.

20. McGiff J.C., Steinberg M., Quilley J. Missing links: cytochrome P450 arachidonate products // Trends Cardiovasc. Med. 1996. Vol.6, №1. P.4–10.

21. Noguchi T., Cantor A.H., Scott M.L. Mode of action of selenium and vitamin E in prevention of exudative diathesis in chicks // J. Nutr. 1973. Vol.103, №10. P.1502–1511.

22. Prabhune A., Fox S.R., Ratledge C. Transformation of arachidonic acid to 19-hydroxy- and 20-hydroxy-eicosatetraenoic acid using *Candida bombicola* // Biotechnol. Lett. 2002. Vol.24. P.1041–1044.

23. Reggio P.H. Computational methods in drug design: modeling G protein-coupled receptors monomers, dimers, and oligomers // AAPS J. 2006.Vol.8, №2. P.322–336.

24. Inactivation of the mitochondrial heat shock Zim17 leads to aggregation of matrix HSR 70 s followed by pleiotropic effects on morphology and protein biogenesis / L.K.Sanjuán Szklarz [et al.] // J. Mol. Biol. 2005. Vol.351,

№1. P.206–218.

25. Metabolism and disposition of a selective $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist in humans / C.L.Shaffer [et al.] // Drug. Metab. Dispos. 2007. Vol.35, №7. P.1188–1195.

26. Cytochrome P450 4A expression and arachidonic acid omega-hydroxylation in the kidney of spontaneously hypertensive rat / M.L.Schwartzman [et al.] // Nephron. 1996. Vol.73, №4. P.652–663.

27. Shimizu T. Lipid mediators in health and disease: enzymes and receptors as therapeutic targets for the regulation of immunity and inflammation // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2009. Vol.49. P.123–150.

28. Chemogenomics knowed debased polypharmacology analyses of drug, abuse related G-protein coupled receptors and their ligands / X.Q.Xie [et al.] // Front. Pharmacol. 2014. Vol.5. P.3–6.

REFERENCES

1. Archakov A.I. *Mikrosomal'noe okislenie* [Microsomal oxidation]. Moscow: Nauka; 1975.

2. Archakov A.I., Zgoda V.G., Karuzina I.I. *Voprosy meditsinskoy khimii* 1998; 1:3–27.

3. Archakov A. I. *Perenos elektronov i sopryazhenie s nim reaktsii v endoplazmaticheskom retikulume pecheni: dissertatsiya doktora meditsinskikh nauk* [Electron transfer and coupling of reactions in endoplasmic liver reticulum: thesis...doctor of medical sciences]. Moscow; 1973.

4. Bachmanova G.I. Dobrynina O.V. Migushina V.L. et al. *Vsesojuznyy simpozium «Perspektivy bioorganicheskoy khimii v sozdanii novykh lekarstvennykh preparatov* (All-Union Symposium «Perspectives of bioorganic chemistry in the creation of new medications»). Riga; 1982:29.

5. Bachmanova G.I. *Rekonstruktsiya monooksigenaznoy sistemy pecheni: dissertatsiya doktora meditsinskikh nauk* [Reconstruction of monooxygenase liver system: thesis...doctor of medical sciences]. Moscow; 1983.

6. Borodin E.A., Archakov A.I. *Biologicheskie membrany* 1987; 7:719–728.

7. Borodin E.A. *Biologicheskie nauki* 1986; 5:30–34.

8. Borodin E. A. *Biologicheskie nauki* 1986; 7:30–35.

9. Vladimirov Yu.A. Archakov A.I. *Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranakh* [Lipid peroxidation in biological membranes]. Moscow: Nauka; 1972.

10. Karuzina I.I., Archakov A.I. *Vydelenie mikrosomal'noy fraktsii pecheni i kharakteristika ego okislitel'nykh system. V knige: Orekhovich V.N. (red.). Sovremennyye metody v biokhimii* [Isolation of liver microsomal fraction and characteristic of its oxidative systems. In: Orekhovich V.N., editor. Modern methods in biochemistry]. Moscow: Meditsina; 1977:49–59.

11. Korolyuk M.D., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. *Laboratornoe delo*1988; 1:16–18.

12. Tikhonov V. I., Losev, N. A., Dorovskikh, V. A., Reshod'ko D.P., Tikhonov I.V., Anokhina R.A., Rogovchenko E.G. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2013; 50:61–67.

13. Tikhonov V.I., Losev N.A., Dorovskikh V.A., Reshod'ko D.P., Tikhonov I.V., Anokhina R.A., Rogovchenko E.G. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2013; 49:77–

81.

14. Arneric S.P., Brioni J.D., editors. *Neuronal Nicotinic Receptors. Pharmacology and Therapeutic Opportunities*. N.Y.: Wiley-Liss; 1999.

15. Baldwin, J. M. Structure and function of receptors coupled to G proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1994; 6(2):180–190.

16. Baldwin, J. M. The probable arrangement of the helices in G protein-coupled receptors. *EMBO J.* 1993; 12(4):1693–1703.

17. Capdevila J.H., Mosset, P., Yadagiri, P., Sun, L., Falk, J.R. NADPH-dependent microsomal metabolism of 14,15-epoxyeicosa trienoic acid to diepoxides and epoxyalcohols. *Arch. Biochem. Biophys.* 1988; 261(1):122–133.

18. Capozzi V., Weidmann, S., Fiocco, D., Rein, A., Hols, P., Guzzo, J., Spano, G. Inactivation of a small heat shock protein affects cell morphology and membrane fluidity in *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Res. Microbiol.* 2011; 162(4):419–425.

19. Marnet L.J. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat. Res.* 1999; 424(1-2):83–95.

20. McGiff J.C., Steinberg M., Quilley J. Missing links: cytochrome P450 arachidonate products. *Trends Cardiovasc. Med.* 1996; 6(1):4–10.

21. Noguchi T., Cantor A.H., Scott M.L. Mode of action of selenium and vitamin E in prevention of exudative diathesis in chicks. *J. Nutr.* 1973; 103(10):1502–1511.

22. Prabhune A., Fox S.R., Ratledge C. Transformation of arachidonic acid to 19-hydroxy- and 20-hydroxyl-

eicosatetraenoic acid using *Candida bombicola*. *Biotechnol. Lett.* 2002; 24:1041–1044.

23. Reggio P.H. Computational methods in drug design: modeling G protein-coupled receptors monomers, dimers, and oligomers. *AAPS J.* 2006; 8(2):322–336.

24. Sanjuán Szklarz L.K., Guiard B, Rissler M., Wiedemann N., Kozjak V., van der Laan M., Lohaus C., Marcus K., Meyer H.E., Chacinska A., Pfanner N., Meisinger C. Inactivation of the mitochondrial heat shock Zim17 leads to aggregation of matrix HSR 70 s followed by pleiotropic effects on morphology and protein biogenesis. *J. Mol. Biol.* 2005; 351(1):206–218.

25. Shaffer C.L., Gunduz M., Scialis R.J, Fang A.F. Metabolism and disposition of a selective $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist in humans. *Drug. Metab. Dispos.* 2007; 35(7):1188–1195.

26. Schwartzman M.L., da Silva J.L., Lin F, Nishimura M., Abraham N.G. Cytochrome P450 4A expression and arachidonic acid omega-hydroxylation in the kidney of spontaneously hypertensive rat. *Nephron.* 1996; Vol.73(4): P.652–663.

27. Shimizu T. Lipid mediators in health and disease: enzymes and receptors as therapeutic targets for the regulation of immunity and inflammation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2009; 49:123–150.

28. Xie X.Q., Wang L., Liu H., Ouyang Q., Fang C., Su W. Chemogenomics knowed debased polypharmacology analyses of drug, abuse related G-protein coupled receptors and their ligands. *Front. Pharmacol.* 2014; 5:3–6.

Поступила 31.10.2014

Контактная информация

Виктор Иванович Тиханов,

кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии,
Амурская государственная медицинская академия,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.

E-mail: agma@amur.ru

Correspondence should be addressed to

Viktor I. Tikhonov,

MD, PhD, Associate professor of Department of Pharmacology,
Amur State Medical Academy,
95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: agma@amur.ru