

ПРОДУКТЫ И СУБСТРАТНЫЕ СОСТАВЛЯЮЩИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ТКАНИ ПЕЧЕНИ ПРИ ВВЕДЕНИИ АЦЕТИЛХОЛИНА IN SITU

В.И.Тиханов¹, Н.А.Лосев², В.А.Доровских¹, Д.П.Решодько¹, И.В.Тиханов³,
Р.А.Анохина¹, Е.Г.Роговченко⁴

¹Амурская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

²НИИ экспериментальной медицины Северо-Западного отделения РАМН,
197376, г. Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, 12

³Медико-санитарная часть №78 Федеральной службы исполнения наказаний России,
191014, г. Санкт-Петербург, набережная реки Фонтанки, 36А

⁴Амурская областная клиническая больница, 675028, г. Благовещенск, ул. Воронкова, 26

РЕЗЮМЕ

Проведены экспериментальные исследования по определению содержания диеновых конъюгатов и гидроперекисей общих липидов печени, малонового диальдегида в гомогенате печени при введении ацетилхолина *in situ* в ткань печени крыс. В результате исследования установлено, что введение ацетилхолина *in situ* в ткань печени в молярной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М увеличивает, а в молярной концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М, $1,1 \times 10^{-5}$ М, $1,1 \times 10^{-6}$ М уменьшает содержание диеновых конъюгатов, метиловых эфиров жирных кислот $C_{20:4}$ $\Delta 5,8,11,14$ эйкозатетраеновая (Арахис) и $C_{20:5}$ $\Delta 5,8,11,14,17$ – эйкозапентаеновая (Эйкоза). Введение ацетилхолина *in situ* в ткань печени повышает содержание общих гидроперекисей и малонового диальдегида, но снижает содержание α -токоферола.

Ключевые слова: ацетилхолин, диеновая конъюгация, гидроперекиси, малоновый диальдегид, α -токоферол, метиловые эфиры жирных кислот.

SUMMARY

LIVER TISSUE LIPID PEROXIDATION PRODUCTS AND SUBSTRATE COMPONENTS AT THE INTRODUCTION OF ACETYLCHOLINE IN SITU

V.I.Tikhanov¹, N.A.Losev², V.A.Dorovskikh¹,
D.P.Reshod'ko¹, I.V.Tikhanov³, R.A.Anokhina¹,
E.G.Rogovchenko⁴

¹Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str.,
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

²Research Institute of Experimental Medicine of
Northwest Branch RAMS, 12 akad. Pavlova Str.,
St. Petersburg, 197376, Russian Federation

³Medical Care Unit №78 of the Federal Penitentiary
Service of Russia, 36A Fontanka River Emb.,
St. Petersburg, 191014, Russian Federation

⁴Amur Regional Clinical Hospital, 26 Voronkova Str.,
Blagoveshchensk, 675028, Russian Federation

The experimental research to determine the content of diene conjugates and common hydroperoxides in the fraction of total lipids of the liver and of malondialdehyde in liver homogenate was done at the introduction of acetylcholine *in situ* in the rats liver tissue. It was found out that the introduction of acetylcholine *in situ*

in liver tissue in the molar concentration of 1.1×10^{-3} M increases and in the molar concentration of 1.1×10^{-4} M, 1.1×10^{-5} M, 1.1×10^{-6} M reduces the content of diene conjugation and methyl esters of fatty acids $C_{20:4}$ $\Delta 5,8,11,14$ eicosatetraenoic (arachis) and $C_{20:5}$ $\Delta 5,8,11,14,17$ – eicosapentaenoic (eicos). The introduction of acetylcholine *in situ* in the liver tissue increases the content of total hydroperoxides and malondialdehyde, but reduces the concentration of α -tocopherol.

Key words: acetylcholine, diene conjugation, hydroperoxides, malonic dialdehyde, α -tocopherol, fatty acid methyl esters.

Введение животным фармакологических агентов, накапливающих антихолинэстеразными механизмами эндогенный ацетилхолин (АЦХ) в ткани печени, приводит к изменениям содержания продуктов перекисного (свободнорадикального) окисления липидов (ПОЛ) печени в период кратковременной холодовой нагрузки [12].

Прозерин (неостигмин) ускоряет формирование короткоцепочечного альдегида – малонового диальдегида (МДА) на фоне уменьшения гидроперекисей (ГП), диеновых конъюгатов (ДК) общих липидов (ОЛ) печени [11], способствует переходу жирных кислот (ЖК) из *cis*- в *trans*- изомеры [11], увеличивает способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода и приводит к росту содержания метиловых эфиров ЖК (МЭЖК) $C_{20:4}$ $\Delta 5,8,11,14$ – эйкозатетраеновой (Арахис) и $C_{20:5}$ $\Delta 5,8,11,14,17$ – эйкозапентаеновой (Эйкоза) [11].

Результаты экспериментов *in vitro* показывают: присутствие неостигмина в инкубационной среде при индуцировании неферментативного (аскорбат-зависимого) механизма ПОЛ микросом печени препятствует, а активация ферментативного (NADP • Н - зависимого) механизма ПОЛ способствует усилению окисления липидов микросом печени [12].

Сопоставление результатов экспериментов *in vivo* и *in vitro* в присутствии неостигмина свидетельствуют о разнонаправленных направлениях в процессе ПОЛ печени. Это заставляет высказывать предположение о влиянии на ПОЛ печени не только составляющих молекулу неостигмина химических структур, но и о возможном воздействии АЦХ через мускариновые чувствительные ацетилхолиновые участки (рецепторы) метаболитных G-белков [19, 26] и никотино-чувстви-

тельные лиганд проводящие ацетилхолиновые участки ионных каналов плазматической мембраны гепатоцитов [1, 22].

Для уточнения вопроса о влиянии АЦХ на выраженность продуктов ПОЛ печени и были проведены эксперименты по введению в ткань печени АЦХ *in situ*.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились на 80 беспородных крысах-самцах массой от 150 до 200 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария с соблюдением режима кормления, тепла, без ограничения доступа к питьевой воде. Выбор животных базировался на задачах экспериментов, связанных с феноменом стресса [4, 10].

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». Исследование одобрено этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии.

Канюлированием одной из брыжеечных артерий кишечника с выходом на порталный венозный синус печени добивались прохождения через сосуды печени раствора, содержащего от 10^{-3} М до 10^{-6} М АЦХ. Пластиковую трубку гепаринизировали, лигатуру накладывали на стенку сосуда с введённой канюлей и фиксировали. Выход проходящего АЦХ регистрировали через венозный синус правого предсердия миокарда. Синус правого предсердия миокарда животных также предварительно канюлировали, накладывали лигатуру на гепаринизированную стенку венозного синуса и вводимой пластиковой трубки, фиксировали.

Для создания эффективного фильтрационного давления резервуар с находящимся раствором АЦХ поднимали над операционным столиком. По количеству жидкости, выходящей из венозного синуса правого предсердия миокарда, судили о фильтрационном давлении, создаваемом в сосудах печени. Раствор кроме АЦХ содержал 0,85% NaCl, 0,15 М KCl и 0,05 М концентрации раствор пирофосфата.

Тепловой режим ткани печени достигался наложением на поверхность печени марлевого тампона, смоченного тёплым физиологическим раствором с содержанием 0,15 М KCl, в течение 2 часов.

Животные были разделены на 6 групп. В группе 1 (контроль₁) сосудистое русло печени животных отмывалось от крови введением тёплого физиологического раствора и 0,15 М р-ра KCl.

В группе 2 (контроль₂) кроме удаления крови из сосудистого русла печени, в течение 2 часов (время подобрано экспериментально) проходил раствор, содержащий 0,85% NaCl, 0,15 М KCl и 0,05 М раствор пирофосфата.

В группах животных 3, 4, 5, 6 (табл.1, 2, 3, 4, 5) к обозначенному составу раствора добавлялся АЦХ в молярной концентрации от $1,1 \times 10^{-3}$ М до $1,1 \times 10^{-6}$ М.

Нейтральные классы липидов печени экстрагировали методом Фолча [2, 20] экстракция полярных липидов достигалась методом Блайя – Дайлера [15] с последующим объединением липидов и выпариванием растворителя из фракции ОЛ на ротаторном испарителе. В основе метода определения ДК и ГП ЖК лежали методы, описанные И.Д.Стальной и Л.А.Романовой [6, 8]. Маркёром короткоцепочечных альдегидов в ткани печени служил МДА [14], определяемый в водной фазе гомогената печени по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой и образованием триметинового комплекса, регистрируемого в спектре поглощения 532 нм [7]. Содержание α -токоферола в ОЛ печени оценивали по цветной реакции с дипиридилом [3]. МЭЖК определяли методом газовой хроматографии с применением колонки ДВ-23, для определения полярных соединений [16]. Режим прогрева колонки подбирался с условием оптимального режима выхода МЭЖК [17].

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 интерквартильного интервала (Q1 и Q3), где Q1 – 5 перцентиль, Q3 – 95 перцентиль [5].

Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что АЦХ мольной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М увеличивает выраженность ДК ОЛ печени при сравнении с группой животных контроль₂ на 7,7% (табл. 1). Мольная концентрация АЦХ $1,1 \times 10^{-4}$ М *in situ* не вызывает увеличение содержания ДК, а в концентрации $1,1 \times 10^{-5}$ М и $1,1 \times 10^{-6}$ М АЦХ достоверно снижает содержание ДК на 10,6 и 34,1%, соответственно (табл. 1).

Таким образом, АЦХ мольной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М способствует увеличению содержания ДК, определяемых в ОЛ печени, а АЦХ мольной концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М – $1,1 \times 10^{-6}$ М приводит к снижению содержания ДК (табл.1).

По данным литературы, основными субстратами с оптимальным числом и конфигурацией двойных связей в алифатической цепочке ЖК, обеспечивающих ПОЛ в ткани печени, являются ЖК C_{20} , в том числе $C_{20:4}$ Δ 5,8,11,14 эйкозатетраеновая (Арахид) и $C_{20:5}$ Δ 5,8,11,14,17 эйкозапентаеновая (Эйкоза) [9, 21, 23].

Результаты экспериментов показывают – АЦХ мольной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М приводит к увеличению содержания МЭЖК $C_{20:4}$ Δ 5,8,11,14 эйкозатетраеновой (Арахид) и $C_{20:5}$ Δ 5,8,11,14,17 эйкозапентаеновой (Эйкоза) ЖК в 1,27 и 1,21 раза, соответственно (табл. 2).

Уменьшение молярной концентрации АЦХ, проходящего по сосудистому руслу ткани печени *in situ*, сопровождается снижением содержания МЭЖК $C_{20.4}$ Δ

5,8,11,14 эйкозатетраеновой (Арахис) и $C_{20.5}$ Δ 5,8,11,14,17 эйкозапентаеновой (Эйкоза) ЖК в ОЛ печени (табл. 2, 3).

Таблица 1

Диеновые конъюгаты общих липидов печени (нмоль/мл гомогената) после введения ацетилхолина *in situ* в мольной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М – $1,1 \times 10^{-6}$ М

Группа 1 (контроль ₁) интактные (n=6)	Группа 2 (контроль ₂) 0,85% NaCl, 0,15 М KCl, 0,05 М р- р пирофосфата (n=6)	Группа 3 (опыт ₁) АЦХ $1,1 \times 10^{-3}$ М (n=6)	Группа 4 (опыт ₂) АЦХ $1,1 \times 10^{-4}$ М (n=6)	Группа 5 (опыт ₃) АЦХ $1,1 \times 10^{-5}$ М (n=6)	Группа 6 (опыт ₄) АЦХ $1,1 \times 10^{-6}$ М (n=6)
303,6 [298,3; 310,1]	285,4 [275,4; 294,6] $p_{2-1}=0,0027$	307,5 [298,0; 314,0] $p_{3-1}=0,332^*$ $p_{3-2}=0,0011$	282,5 [270,3; 293,9] $p_{4-1}=0,00547$ $p_{4-2}=0,0641^*$ $p_{4-3}=0,000252$	257,9 [249,8; 266,5] $p_{5-1}=0,000237$ $p_{5-2}=0,00119$ $p_{5-3}=0,0427$ $p_{5-4}=0,000778$	212,8 [193,7; 231,8] $p_{6-1}=0,798^*$ $p_{6-2}=0,000583$ $p_{6-3}=0,907^*$ $p_{6-4}=0,00113$ $p_{6-5}=0,000778$

Примечание: здесь и далее в таблицах (*) – значения р недостоверны.

Таблица 2

Метилловые эфиры жирных кислот (мкг/мл гомогената) на фоне введения ацетилхолина *in situ* в мольной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М – $1,1 \times 10^{-6}$ М

Группа 1 (контроль ₁) интактные (n=6)	Группа 2 (контроль ₂) 0,85% NaCl, 0,15 М KCl, 0,05 М р- р пирофосфата (n=6)	Группа 3 (опыт ₁) АЦХ $1,1 \times 10^{-3}$ М (n=6)	Группа 4 (опыт ₂) АЦХ $1,1 \times 10^{-4}$ М (n=6)	Группа 5 (опыт ₃) АЦХ $1,1 \times 10^{-5}$ М (n=6)	Группа 6 (опыт ₄) АЦХ $1,1 \times 10^{-6}$ М (n=6)
МЭЖК $C_{20.4}$ Δ 5,8,11,14 эйкозатетраеновой (Арахис)					
6,775 [6,05; 7,112]	5,495 [4,92; 15,95] $p_{2-1}=0,00395$	7,021 [6,815; 7,213] $p_{3-1}=0,0373$ $p_{3-2}=0,000874$	4,763 [4,533; 5,0] $p_{4-1}=0,00037$ $p_{4-2}=0,00432$ $p_{4-3}=0,00216$	4,14 [3,726; 4,419] $p_{5-1}=0,00216$ $p_{5-2}=0,00394$ $p_{5-3}=0,004$ $p_{5-4}=0,00395$	3,321 [2,951; 3,5] $p_{6-1}=0,00216$ $p_{6-2}=0,004$ $p_{6-3}=0,00394$ $p_{6-4}=0,0034$ $p_{6-5}=0,004$
МЭЖК $C_{20.5}$ Δ 5,8,11,14,17 эйкозапентаеновой (Эйкоза)					
70,5 [68,1; 76,2]	81,5 [78,2; 86,6] $p_{2-1}=0,00216$	99,3 [90,1; 112,6] $p_{3-1}=0,0003$ $p_{3-2}=0,00394$	81,0 [78,0; 86,5] $p_{4-1}=0,00216$ $p_{4-2}=0,936^*$ $p_{4-3}=0,00394$	73,0 [69,2; 75,1] $p_{5-1}=0,521^*$ $p_{5-2}=0,004$ $p_{5-3}=0,00394$ $p_{5-4}=0,00216$	65,3 [61,1; 68,1] $p_{6-1}=0,0216$ $p_{6-2}=0,000397$ $p_{6-3}=0,0197$ $p_{6-4}=0,0333$ $p_{6-5}=0,00394$

Сопоставление и анализ данных позволяет сделать следующие обобщения: АЦХ мольной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М увеличивает содержание как ДК, так и МЭЖК $C_{20.4}$ Δ 5,8,11,14 эйкозатетраеновой (Арахис) и $C_{20.5}$ Δ 5,8,11,14,17 эйкозапентаеновой (Эйкоза) ЖК (табл. 1, 2).

Уменьшение мольной концентрации АЦХ ($1,1 \times 10^{-5}$ М; $1,1 \times 10^{-6}$ М) в растворе, проходящем через ткань печени сопровождается уменьшением содержания ДК и МЭЖК C_{20} Арахис и Эйкоза (табл. 1, 2).

Полученные опытные данные могут служить осно-

ванием для утверждения: присутствие АЦХ в тканевой среде печени предопределяет его участие в формировании ДК липидов печени, это же утверждение можно отнести и к МЭЖК семейства ω -6 $C_{20.4}$ Δ 5,8,11,14 эйкозатетраеновой (Арахис) и МЭЖК семейства ω -3 $C_{20.5}$ Δ 5,8,11,14,17 эйкозапентаеновой (Эйкоза).

Предполагаем, что изменение содержания ДК в ткани печени происходит через образование неспаренной валентности у метиленовых групп $C_{20.4}$ Δ 5,8,11,14 эйкозатетраеновой ЖК (Арахис) и $C_{20.5}$ Δ 5,8,11,14,17 эйкозапентаеновой ЖК (Эйкоза) с последующей делюка-

лизацией двойных связей и возникновением петадие-нилового мотива вышеперечисленных ЖК C_{20} , и дальнейшей перегруппировкой двойных связей и формированием конъюгированных диенов в присутствии АЦХ.

Тем более что результаты экспериментов свидетельствуют: вводимый в ткань печени АЦХ мольной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М приводит к увеличению содержания ДК, МЭЖК C_{20} , определяемых в ОЛ печени, а последующее снижение молярной концентрации вводимого в ткань печени АЦХ *in situ* сопровождается уменьшением содержания МЭЖК C_{20} и снижением ДК (табл. 1, 2).

Образование конъюгированных диенов в ЖК подразумевает и образование перокси радикала. Кислород перокси радикала, обладая достаточно высокой реакционной способностью, вступает в связь практически с любым атомом водорода, образуя гидроперекисную

группу ЖК.

Донатором водорода для формирования ГП ЖК в структуре перокси радикала обычно служат два элемента – это водород жирнокислотного ацила или водород гидроксила α -токоферола [13, 24, 25]. В наших экспериментах при определении содержания α -токоферола в ОЛ печени после прохождения АЦХ по сосудистому руслу печени мы отмечали следующую закономерность: введение в ткань печени АЦХ *in situ* приводит к снижению содержания α -токоферола (табл. 3).

При оценке содержания ГП ЖК липидов печени были получены результаты, свидетельствующие о противоположном – прохождении АЦХ по сосудистому руслу ткани печени *in situ*, за исключением АЦХ в мольной концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М, приводит к увеличению содержания ГП ЖК (табл. 4).

Таблица 3

Содержание α -токоферола в общих липидах (мкг/мг липида) после введения ацетилхолина в ткань печени в мольной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М – $1,1 \times 10^{-6}$ М

Группа 1 (контроль ₁) интактные (n=6)	Группа 2 (контроль ₂) 0,85% NaCl, 0,15 М KCl, 0,05 М р- р пирофосфата (n=6)	Группа 3 (опыт ₁) АЦХ $1,1 \times 10^{-3}$ М (n=6)	Группа 4 (опыт ₂) АЦХ $1,1 \times 10^{-4}$ М (n=6)	Группа 5 (опыт ₃) АЦХ $1,1 \times 10^{-5}$ М (n=6)	Группа 6 (опыт ₄) АЦХ $1,1 \times 10^{-6}$ М (n=6)
5,64 [4,96; 5,87]	4,32 [4,01; 4,82] $p_{2-1}=0,00394$	3,775 [3,45; 3,95] $p_{3-1}=0,000297$ $p_{3-2}=0,00216$	3,11 [2,99; 3,41] $p_{4-1}=0,0001$ $p_{4-2}=0,0197$ $p_{4-3}=0,00394$	2,79 [2,69; 2,9] $p_{5-1}=0,004$ $p_{5-2}=0,00397$ $p_{5-3}=0,00216$ $p_{5-4}=0,00394$	2,39 [2,18; 2,65] $p_{6-1}=0,00216$ $p_{6-2}=0,00394$ $p_{6-3}=0,004$ $p_{6-4}=0,00216$ $p_{6-5}=0,004$

Таблица 4

Содержание гидроперекисей жирных кислот в общих липидах (нмоль/мл гомогената) после введения ацетилхолина в ткань печени в мольной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М – $1,1 \times 10^{-6}$ М

Группа 1 (контроль ₁) интактные (n=6)	Группа 2 (контроль ₂) 0,85% NaCl, 0,15 М KCl, 0,05 М р- р пирофосфата (n=6)	Группа 3 (опыт ₁) АЦХ $1,1 \times 10^{-3}$ М (n=6)	Группа 4 (опыт ₂) АЦХ $1,1 \times 10^{-4}$ М (n=6)	Группа 5 (опыт ₃) АЦХ $1,1 \times 10^{-5}$ М (n=6)	Группа 6 (опыт ₄) АЦХ $1,1 \times 10^{-6}$ М (n=6)
17,9 [16,7; 19,2]	11,1 [9,7; 12,6] $p_{2-1}=0,0161$	17,9 [16,8; 21,3] $p_{3-1}=0,688^*$ $p_{3-2}=0,00674$	10,6 [9,6; 12,3] $p_{4-1}=0,00426$ $p_{4-2}=0,423^*$ $p_{4-3}=0,00426$	25,4 [23,8; 27,4] $p_{5-1}=0,00395$ $p_{5-2}=0,003$ $p_{5-3}=0,00394$ $p_{5-4}=0,000297$	17,0 [15,3; 19,8] $p_{6-1}=0,336^*$ $p_{6-2}=0,00395$ $p_{6-3}=0,2^*$ $p_{6-4}=0,00394$ $p_{6-5}=0,00216$

Сопоставляя данные по содержанию α -токоферола и ГП ЖК в липидах печени можно предположить следующую версию происходящих событий: если донатором водорода для сформированного в жирнокислотном ациле перокси радикала является гидроксильная группа α -токоферола, то снижение содержания α -токоферола в ОЛ печени при прохождении АЦХ в ткани печени *in situ* (табл. 4) становится вполне объяснимым

явлением – происходит большее расходование пула содержащегося в липидах α -токоферола за счёт донатирования атома водорода α -токоферолом (рис.) в присутствии экзогенно вводимого в ткань печени АЦХ [24].

Тем более что повышение содержания ГП ЖК в липидах печени (табл. 5) свидетельствует в пользу предположения о связи между уменьшением содержания

α -токоферола в ОЛ печени и повышением ГП в присутствии экзогенного АЦХ.

Появление альдегидного кислорода в жирнокислотных алифатах при β -расщеплении ГП ЖК (как правило, катализируется гемсодержащими компонентами белка) сопровождается формированием длиноцепочечных [4-hydroxy-2-nanoenal (4-HNE)], короткоцепочечных (malondialdehyde, acrolein, glyoxal) альдегидов и

γ -кетоальдегидов (isolevuglandin) [18].

Данные по определению нами одного из короткоцепочечных альдегидов – МДА свидетельствуют: введение в ткань печени АЦХ молярной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М; $1,1 \times 10^{-4}$ М; $1,1 \times 10^{-6}$ М приводит к увеличению его содержания при определении в гомогенате печени (табл. 5).

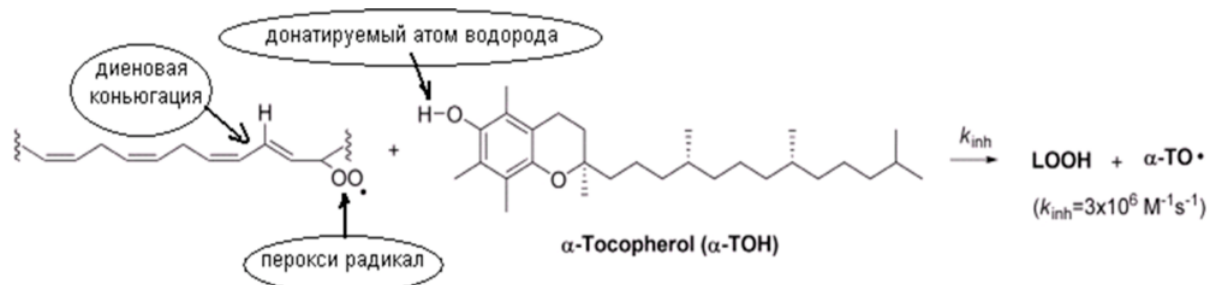


Рис. Ингибирование α -токоферолом распространения липидного перокси радикала.

Таблица 5

Содержание малонового диальдегида в гомогенате печени (нмоль/мл гомогената) после введения ацетилхолина в ткань печени в молярной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М - $1,1 \times 10^{-6}$ М

Группа 1 (контроль ₁) интактные (n=6)	Группа 2 (контроль ₂) 0,85% NaCl, 0,15 М KCl, 0,05 М р- р пирофосфата (n=6)	Группа 3 (опыт ₁) АЦХ $1,1 \times 10^{-3}$ М (n=6)	Группа 4 (опыт ₂) АЦХ $1,1 \times 10^{-4}$ М (n=6)	Группа 5 (опыт ₃) АЦХ $1,1 \times 10^{-5}$ М (n=6)	Группа 6 (опыт ₄) АЦХ $1,1 \times 10^{-6}$ М (n=6)
3,45 [2,86; 4,6]	6,318 [5,58; 6,79] $p_{2-1}=0,00394$	6,788 [6,35; 7,04] $p_{3-1}=0,00119$ $p_{3-2}=0,065$	15,294 [13,84; 16,87] $p_{4-1}=0,004$ $p_{4-2}=0,00119$ $p_{4-3}=0,00395$	5,706 [4,85; 6,679] $p_{5-1}=0,00395$ $p_{5-2}=0,149^*$ $p_{5-3}=0,0131$ $p_{5-4}=0,00394$	8,073 [7,52; 8,25] $p_{6-1}=0,00394$ $p_{6-2}=0,004$ $p_{6-3}=0,00395$ $p_{6-4}=0,004$ $p_{6-5}=0,00494$

Таким образом, экзогенно вводимый в ткань печени АЦХ *in situ* при снижении молярной концентрации приводит к снижению содержания МЭЖК $C_{20:4} \Delta 5,8,11,14$ эйкозатетраеновой ЖК (Арахид) и $C_{20:5} \Delta 5,8,11,14,17$ эйкозопентаеновой ЖК (Эйкоза), ДК и α -токоферола, но регистрируется повышение уровня ГП ЖК в ОЛ печени и увеличение содержания МДА, определяемого в гомогенате печени. Изменение выраженности продуктов и субстратных составляющих ПОЛ в ткани печени мы связываем с введением и изменением молярной концентрации АЦХ, вводимого в ткань печени *in situ*.

Выводы

1. Введение в ткань печени экзогенного АЦХ *in situ* в молярной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М увеличивает, а в молярной концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М, $1,1 \times 10^{-5}$ М, $1,1 \times 10^{-6}$ М уменьшает содержание МЭЖК $C_{20:4} \Delta 5,8,11,14$ эйкозатетраеновой ЖК (Арахид) и $C_{20:5} \Delta 5,8,11,14,17$ эйкозопентаеновой ЖК (Эйкоза).

2. Содержание ДК в ОЛ печени при введении АЦХ в ткань печени при молярной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М увеличивается, а при введении АЦХ в молярной концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М, $1,1 \times 10^{-5}$ М, $1,1 \times 10^{-6}$ М уменьша-

ется.

3. Прохождение по сосудистому руслу ткани печени АЦХ в молярной концентрации $1,1 \times 10^{-3}$ М, $1,1 \times 10^{-4}$ М, $1,1 \times 10^{-5}$ М, $1,1 \times 10^{-6}$ М сопровождается снижением содержания α -токоферола, определяемого в ОЛ печени.

4. На фоне снижения ДК отмечается увеличение содержания ГП ЖК в ОЛ печени и количественный рост МДА в гомогенате печени при введении АЦХ *in situ* в ткань печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Камкин А.Г., Киселёва И. С. Физиология и молекулярная биология мембран клеток. М.: Академия, 2008. 592 с.
2. Кейтс М. Техника липидологии: пер. с англ. М.: Мир, 1975. 321 с.
3. Киселевич Р.Ж., Скварко С.И. Определение витамина Е в сыворотке крови // Лаб. дело. 1972. №8. С.473–475.
4. Малыгина Е.И., Петухов В.И. Влияние центральных холинолитиков на гипергликемию при травматическом шоке // Фармакология центральных холинолитиков и других нейротропных средств / под ред. П.П.Денисенко. Л.: Лен. сан-гиг. мед. ин-т, 1969.

C.125–154.

5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера, 2002. 312 с.

6. Романова Л.А., Стальная И. Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоционата аммония // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. С.64–66

7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н.Ореховича. М.: Медицина, 1977. С.66–68.

8. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н.Ореховича. М.: Медицина, 1977. С.63–64.

9. Титов В.Н., Лисицын Д.М. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина. Тверь: Триада, 2006. 672 с.

10. Тиханов В.И. Влияние центральных и периферических М, Н-холиномиметиков и М, Н-холиноблокаторов на формирование холодовой адаптации: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ленинград, 1988. 25 с.

11. 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.

12. 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.

13. Фенольные биоантиоксиданты / Н.К.Зенков [и др.]. Новосибирск: СО РАМН, 2003. 328 с.

14. Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage / G.Aldini [et al.]. Medical, 2011. 380 p.

15. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. Vol.37, №8. P.911–917.

16. Cameron G. Separate FAME cis and trans isomers with DB-23 // Separation Times. 2001. Vol.14, №3. P.13.

17. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extract // J. Chromatogr. 1978. Vol.151, Iss.3. P.384–390.

18. Del Rio D., Stewart A.J., Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress // Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 2005. Vol.15, №4. P.316–328.

19. Probing heterotrimeric G-protein activation: applications to biased ligands / C.Denis [et al.] // Curr. Pharm. Des. 2012. Vol.18, №2. P.128–144.

20. Simple and rapid extraction method of total egg lipids for determining organochlorine pesticides in the egg / N.Furusawa [et al.] // J. Chromatogr. A. 1999. Vol.830, №2. P.473–476.

21. Hammond V.J., O'Donnell J.B. Esterified eicosanoids: generation characterization and function //

Biochim. Biophys. Acta. 2012. Vol.1818, №10. P.2403–2412.

22. Neuronal Nicotinic Receptors. Pharmacology and Therapeutic Opportunities / ed. by S.P.Americ, J.D.Brioni. Wiley-Liss Inc., New York, 1999. 421 p.

23. Pratt D.A., Tallman K.A., Porter N.A. Free radical oxidation of polyunsaturated lipids: New mechanistic insights and the development of peroxy radical clocks // Acc. Chem. Res. 2011. Vol.44, №6. P.458–467.

24. Tetrahydro-1,8 naphthyridinol analogues of alpha-tocopherols antioxidants in lipid membranes and low-density lipoproteins / T.G.Nam [et al.] // J. Am. Chem. Soc. 2007. Vol.129, №33. P.10211–10219.

25. Upston J.M., Kritharides L., Stocker R. The role vitamin E in atherosclerosis // Prog. Lipid Res. 2003. Vol.42, №5. P.405–422.

26. Chemogenomics knowled 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. Kamkin A.G., Kiseleva I.S. Physiology and molecular biology of cell membranes. Moscow: Akademiya; 2008 (in russian).

2. Kates M. Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids. Moscow: Mir; 1975 (in russian).

3. Kiselevich R. Zh., Skvarko S. I. *Laboratornoe delo* 1972; 8:473–475.

4. Malygina E.I., Petukhov V.I. The influence of central cholinolytics on hyperglycemia at traumatic shock. In: Denisenko P.P, editor. Pharmacology of central cholinolytics and other neurotropic drugs. Leningrad; 1969. pp.125–154 (in russian).

5. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. The application of the software STATISTICA. Moscow: Media Sfera; 2002 (in russian).

6. Romanova L.A., Stal'naya I. D. The method for determination of lipid peroxides with the help of ammonium thiocyanate. In: Orekhovich V.N., editor. Modern methods in biochemistry. Moscow; 1977. pp.64–66 (in russian).

7. Stal'naya I.D., Garishvili T.G. Method for determination of malone dialdehyde with thiobarbituric acid. In: Orekhovich V.N., editor. Modern methods in biochemistry. Moscow; 1977. pp.66–68 (in russian).

8. Stal'naya I.D. The method for determination of diene conjugation of unsaturated higher fatty acids. In: Orekhovich V.N., editor. Modern methods in biochemistry. Moscow; 1977. pp.63–64 (in russian).

9. Titov V.N., Lisitsyn D. M. Fatty acids. Physical chemistry, biology and medicine. Tver': Triada; 2006 (in russian).

10. Tikhonov V.I. The influence of the central and peripheral M, N-cholinomimetics and M, N-cholinergic antagonists on the formation of cold adaptation: abstract of thesis... PhD of medical sciences. Leningrad; 1988 (in russian).

11. Tikhonov V. I., Losev, N. A., Dorovskikh, V. A., Reshod'ko D.P., Tikhonov I.V., Anokhina R.A., Ro-

govchenko E.G. The change of lipid peroxidation products and substrate components in the liver tissue against the cold exposure under the introduction of indirect muscarin-sensitive and nikotine-sensitive cholinomimetics. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniyâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2013; 50:61–67 (in russian).

12. Tikhanov V.I., Losev N.A., Dorovskikh V.A., Reshod'ko D.P., Tikhanov I.V., Anokhina R.A., Rogovchenko E.G. Comparison of proserin oxidative activity at short cold stress in vivo and in vitro. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniyâ– Bulletin physiology and pathology of respiration* 2013; 49:77–81 (in russian).

13. Zenkov N.K., Kandalintseva N.V., Lankin V.Z., Men'shchikova E.B., Prosenko A.E. Phenolic Bioantioxidants. Novosibirsk: SB RAMS; 2003 (in russian).

14. Aldini G., Yeum Kyung-Jim, Niki E., Russel R.M. Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage. Medical; 2011.

15. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959; 37(8):911–917.

16. Cameron G. Separate FAME cis and trans isomers with DB-23. *Separation Times* 2001; 14(3):13.

17. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extract. *J. Chromatogr.* 1978; 151(3):384–390.

18. Del Rio D., Stewart A. J., Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr. Metab. Cardio-vasc. Dis.* 2005; 15(4):316–328.

19. Denis C., Saulière A., Galandrin S., Sénard J.M., Galés C. Probing heterotrimeric G-protein activation: applications to biased ligands. *Curr. Pharm. Des.* 2012; 18(2):128–144.

20. Furusawa N., Ozaki A., Nakamura M., Morita Y., Okazaki K. Simple and rapid extraction method of total egg lipids for determining organochlorine pesticides in the egg. *J. Chromatogr. A.* 1999; 830(2):473–476.

21. Hammond V.J., O'Donnell J.B. Esterified eicosanoids: generation characterization and function. *Biochim. Biophys. Acta.* 2012; 1818(10):2403–2412.

22. Arneric P., Brioni J.D., editors. Neuronal Nicotinic Receptors. Pharmacology and Therapeutic Opportunities. Wiley-Liss Inc., New York; 1999.

23. Pratt D.A., Tallman K.A., Porter N.A. Free radical oxidation of polyunsaturated lipids : New mechanistic insights and the development of peroxy radical clocks. *Acc. Chem. Res.* 2011; 44(6):458–467.

24. Nam T.G., Rector C.L., Kim H.Y., Sonnen A.F., Meyer R., Nau W.M., Atkinson J., Rintoul J., Pratt D.A., Porter N.A. Tetrahydro-1,8 naphthyridinol analogues of alpha-tocopherols antioxidants in lipid membranes and low-density lipoproteins. *J. Am. Chem. Soc.* 2007; 129(33):10211–10219.

25. Upston J.M., Kritharides L., Stocker R. The role vitamin E in atherosclerosis. *Prog. Lipid Res.* 2003; 42(5):405–422.

26. 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 05.11.2014

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. Tikhanov,

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