На правах рукописи

Белоусова Елена Сергеевна

Влияние биологически активной добавки «КоQ10» на обменные процессы в тканях и эритроцитах крыс при различном температурном воздействии

Специальность 03.00.04 — биохимия
03.00.13 - физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Нижний Новгород, 2009

Работа выполнена в ГОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет»Федерального агенства по здравоохранению и социальному развитию

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор Микашинович Зоя Ивановна

Официальные оппоненты:
доктор биологических наук, профессор Горошинская Ирина Александровна.
доктор медицинских наук Зимин Юрий Викторович

Ведущая организация:
ГОУ ВПО «Саратовский государственний медицинский университет»Федерального агенства по здравоохранению и социальному развитию

Защита состоится «26» февраля 2009г. в 15 час. 00 мин. на заседании диссертационного совета Д. 212.166.15 при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского (603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, корп. 1, ауд. 312)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ННГУ им. Н.И. Лобачевского

Автореферат разослан_____
дата

Ученый секретарь
диссертационного совета, д.б.н А.С. Корягин

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Важнейшим фактором, определяющим здоровье и продолжительность жизни человека, является питание. Многочисленными исследованиями (Коденцова В.М. и др., 1993; Тутельян В.А., 1996; Горелова Ж.Ю. и др., 1999; Тутельян В.А. и др., 1999; Шаховская А.К. и др., 2001; Агиров А.Х., 2003; Айдинов Г.Т. и др., 2003; Новодержкина Ю.Г., 2003; Суханов Б.П., Керимова М.Г., 2003) установлено, что в последнее десятилетие основу питания населения экономически развитых стран составляют продукты, прошедшие жесткую технологическую обработку. Это приводит к существенному снижению содержания в них биологически активных веществ, оказывающих регулирующее влияние на обменные процессы (Бекетова Л.В. и соавт., 2007; Беркетова Л.В., 2007; Хайров Х.С., 2007; Aro A., и др., 1997). Дефицит важнейших микронутриентов наносит ощутимый удар, в первую очередь, по защитным системам организма, подавляя реакции неспецифической резистентности, создавая и обуславливая тем самым формирование факторов риска развития ряда патологий (Тутельян В.А. и др., 1999; Елизаров А.Т., Волкотруб Л.П., 2002; Коденцова В.М. и др., 2002).

Во-вторых, глобальное загрязнение поверхностных вод и суши, локальные радиоактивные загрязнения приводят к загрязнению продуктов питания токсическими элементами, пестицидами, антибиотиками, радионуклидами, которые также обуславливают ослабление защитных сил организма и в первую очередь снижают антитоксическую функцию печени, легких, почек, кожи (Доценко В.А., 1990).

С учётом этого целесообразно выделение самостоятельного научного направления, занимающегося решением комплекса медико-биологических проблем, связанных с экологически обусловленным снижением резистентности организма к патогенным воздействиям. Это станет базой для разработки новых перспективных профилактических технологий, направленных на повышение резистентности к действию факторов малой интенсивности (Литвинов Н.Н., 2003).

На современном этапе в качестве такой технологии наиболее перспективным представляется использование биологически активных добавок (БАД) к пище (Тутельян В.А., Княжев В.А., 2000; Ецко Л.А., Зарбаилова Н.К., 2001; Олейник Л.В., Бурунсус В.Д., 2001; Онищенко Г.Г., 2002; Соловьёва В.А., 2003; Спиричев В.Б., 2006; Самсонов М.А., 2007).

Широкое внедрение БАД как способа повышения резистентности организма ставит вопрос об адекватном выборе методов и разработке новых методических подходов для оценки состояния функциональных систем организма. В процессе диагностики здоровья необходимо четкое понимание динамики становления индивидуального здоровья, что возможно с использованием методов конституциональной и донозологической диагностики. В этой связи четко обозначается проблема понимания закономерностей метаболических процессов в соответствии со структурой питания, имеющей региональные и этнические особенности, определение характера влияния на них тех или иных БАД (Микашинович З.И., 2003; Тутельян В.А. и др., 2005).

При анализе влияния на организм тех или иных факторов существенный интерес представляет изучение роли системы крови в формировании компенсаторно–приспособительных реакций. Эритроциты, тесно контактируя со всеми тканями и вступая с ними в морфофункциональные взаимоотношения, собственной качественной и количественной перестройкой отражают происходящие в организме физиологические и патологические изменения (Микашинович З.И., 1989; Гаркави Л.Х. и соавт., 1990; Денисюк В.И., 1991; Гаркави Л.Х. и соавт., 1998; Камышников В.С., 2000; Крыжановский Г.Н., 2001, 2002; Рязанцева Н.В., Новицкий

В.В., 2004; Павлюченко И.И., 2005). Полифункциональная роль эритроцитов в механизмах адаптации и компенсации в условиях гипоксии, газотранспортных процессах и осуществлении других жизненно важных функций - объясняет высокую информативность результатов изучения функциональных изменений в этих клетках (Kilfer C.R., Snyder L.M., 2000).

Накопленный фактический материал показывает, что в механизме воздействия факторов окружающей среды на живой организм и изменении условий его жизнедеятельности имеется общее патогенетическое звено – избыточная продукция свободных радикалов (Величковский Б.Т., 2001), а состояние адаптационно-компенсаторного потенциала организма на клеточном уровне определяется мощностью механизмов антиоксидантной защиты (Нагорная Г.Ю., 2005).

Для понимания особенностей метаболической реакции в ответ на то, или иное воздействие необходимо также использование принципов системного подхода к изучению обменных процессов в органах с разной функциональной специфичностью, характеризующейся неодинаковой мощностью ферментных систем. Известно, что тонкое регулирование скорости синтеза макроэргических соединений (Fairbanks G., 1980) с учетом потребности в них отдельных органов зависит от взаимодействия системы энергообеспечения с другими системами: нервной, эндокринной, сердечно - сосудистой, дыханием.

Воздействие высоких температур сопровождается развитием генерализованной эндокринной реакцией, перераспределением кровотока, развитием гипоксии и активацией ПОЛ, то есть по существу, является «тепловым» стрессом (Баркалая А.И., Верхотин М.А., 1984; Вагиш М., 1990; Козлов Н.Б., 1990; Андреева Л.И., 1999).

Цель исследования: выяснение характера метаболической реакции органов (печени, миокарда) и эритроцитов периферической крови крыс под влиянием БАД "Ко Q_{10}" при различном температурном воздействии.

Для достижения поставленной цели были решены следующие **задачи**:

1. Установить особенности влияния БАД "Ко Q_{10}" на газотранспортную функцию эритроцитов периферической крови у интактных крыс и находящихся в условиях изменения температурного режима окружающей среды.
2. Определить активность ферментов и содержание субстратов углеводно - энергетического обмена в миокарде и печени после вскармливания пищевой добавки интактным животным и крысам, подвергшимся действию повышенных температур.
3. Выяснить характер влияния БАД на процессы гликолиза и гликогенолиза в эритроцитах у животных исследуемых групп.
4. Оценить состояние ферментативной антиоксидантной защиты в тканях и клетках крови у животных, содержащихся в физиологических условиях и при повышенной температуре окружающей среды.
5. Отобрать информативные биохимические показатели для оценки функционального состояния организма после приёма БАД.

Научная новизна:

В работе впервые показано, что период адаптации к хронической тепловой гипоксии характеризуется резким угнетением обмена глюкозы в миокарде, что может иметь решающее значение в формировании патобиохимических сдвигов.

Впервые проведен комплексный анализ влияния БАД "Ко Q_{10}" на направленность метаболических процессов, характеризующих состояние газотранспортной функции крови, особенности углеводно-энергетического обмена, антиокси-

дантной системы в эритроцитах и тканях в физиологических условиях, а также в условиях гипертермии.

Показано, что функционально-метаболические механизмы компенсаторных реакции в эритроцитах и органах после приёма БАД неоднозначны и характеризуются функциональной специфичностью.

Научно-практическая значимость работы.

Полученные данные будут способствовать расширению представлений о формировании биохимических механизмов адаптации к тепловой гипоксии. Фактический материал о влиянии исследуемой БАД будет использован для разработки схем целенаправленного воздействия на отдельные звенья гомеостаза в условиях стресс-реакции, а также разработки и внедрении в практику высокоинформативных критериев для оценки функционального состояния систем организма после приёма БАД.

Результаты исследования будут использоваться в учебном процессе на кафедре общей и клинической биохимии №1 и кафедры клинической диетологии ФПК РостГМУ, в практику врачей-диетологов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В условиях физиологического течения обменных процессов БАД «Ко Q_{10}» способствовала увеличению концентрации 2,3-ДФГ и лактата в эритроцитах, что указывает на повышение эффективности кислородтранспортных процессов в крови.
2. Изменения активности ферментов углеводного обмена в миокарде у интактных животных после приёма БАД «Ко Q_{10}» свидетельствует об увеличении мощности внутриклеточных энергосистем.
3. В гепатоцитах животных после приёма БАД «Ко Q_{10}» наблюдаются изменения хода реакций антирадикальной защиты, в основе которых лежит увеличение мощности глутатион-зависимого ферментативного звена.
4. Характер изменения активности ферментов углеводного обмена в эритроцитах и миокарде животных с тепловым стрессом после приёма БАД «Ко Q_{10}» свидетельствует о снижении тяжести гипоксии.
5. В условиях теплового стресса БАД «Ко Q_{10}» способствовала адекватному перераспределению энергетических ресурсов в органах и активации наиболее эффективных механизмов антирадикальной защиты для поддержания жизненно важных органов в условиях стресс-реакции.

Публикации. По материалам данного исследования опубликовано 14 печатных работ, из них 4 в центральной медицинской печати; 3 работы опубликованы в моноавторстве. Личный вклад автора в опубликованном материале в среднем

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, общей характеристика материала и методов биохимических исследований, 3 глав собственных исследований, выводов, библиографического указателя, содержащего 183 отечественных и 121 зарубежных источников. Объём диссертации - 158 печатных страниц ф. А4, включая 12 таблиц, 1 схему и 21 рисунок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ.

Эксперименты проведены на 60 белых беспородных крысах самцах массой 180 ± 15,5 г.

В первой серии были проведены исследования на 30 животных, содержавшихся при температуре 18±0,1 °С, что соответствует так называемой зоне комфорта (Колбанов В.В., 2000). Животные были разделены на 2 группы: группа 1 (контрольная) – 15 животных, содержавшихся на общевиварийном рационе; группа 2 – 15 животных, получавших в составе рациона БАД «Ко Q_{10}» (производства компании ВитаЛайн (США)) в рекомендуемой дозировке - 10^{-5} М, что соответствует 30 мг/кг (Виноградова Л.Ф. и др., 1994).

Для максимального приближения результатов экспериментального исследования к применению в практической медицине общевиварийный рацион включал в себя основные продукты питания в произвольных количествах.

Во второй серии были исследованы 30 животных, содержавшихся в условиях перегревания за счёт повышения температуры окружающей среды за пределы «комфортной зоны». Для этого животных выдерживали в суховоздушном термостате по 8 часов ежедневно при температуре 40±0,5 °С в течение 14 дней. Воздух вентилировали через отверстия в дверце. В этой серии экспериментальные животные также были разделены на 2 группы: группа 3 (группа сравнения) – 15 животных, содержавшихся на общевиварийном рационе; группа 4 - 15 животных, получавших в составе рациона БАД «Ко Q_{10}» в рекомендуемой дозировке (10^{-5} М) в пересчёте на 100г массы. Вскармливание животных проводилось в течение 21 дня и по истечении этого срока были забиты декапитацией. Для исследования использовались гомогенаты печени, желудочков сердца и эритроциты крови.

Метаболические изменения в органах оценивали по комплексу биохимических показателей, характеризующих субстратно - ферментные процессы основных энергетических циклов (гликолиз, гексозомонофосфатный шунт, цепь транспорта электронов). Для углубленного анализа функционального состояния эритроцитов оценивали их газотранспортную функцию по уровню 2,3-дифосфоглицерата. Наряду с этим, изучались показатели, характеризующие состояние антирадикальной защиты и фагоцитоза.

Для определения активности ферментов углеводного обмена и антирадикальной защиты в тканях готовили гомогенат в соотношении 1г ткани : 9мл охлаждённого физиологического раствора (Саркисян О.Г., 2000). Для определения активности ферментов в миокарде кардиомиоциты отделяли от соединительной ткани по методу, предложенному (Messina E. et al., 2004). Для этого, отмытое от крови физиологическим раствором сердце, разделяли на фрагменты размером 2-3 $мм^3$, помещали в трис-HCl буфер (pH=7,5), содержащий 2 мг/мл трипсина и 1 мг/мл коллагеназы и инкубировали 30 мин при t = 37 ^{0}С. Реакцию останавливали на холоду, инкубационную смесь подвергали центрифугированию при 1500 об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость отбирали.

Для удаления ядерной фракции гомогенаты центрифугировали в холодовой центрифуге при температуре 0-4 ^{0}С при 800g в течение 5-7 мин (Черникова Л.М., 1985).

Митохондрии клеток выделяли дифференциальным центрифугированием после гомогенизации на холоду в солевом растворе (0,15 М KCl и 10 мМ трис-HCl). Для удаления ядерной фракции гомогенаты центрифугировали 15 мин при 640 g. Фракцию митохондрий выделяли в течение 25 мин при 200000 g с двукратным промыванием средой выделения.

Активность ферментов в эритроцитах и гомогенатах тканей исследовали спектрофотометрическими методами. Для определения активности СДГ и ЦХО использовали гомогенат митохондрий (400-500 мг белка в 0,2 мл суспензии). Активность ферментов гликолиза и гексозомонофосфатного шунта, а также антиоксидантной защиты определяли в надосадочной жидкости. Для определения активности ферментов в эритроцитах использовали 20% гемолизат, приготовленный на бидистиллированной воде. Активность цитохромоксидазы определяли в реакции с диметил-п-фениленом по принципу метода Р.С. Кривченковой (1977) в описании З.И. Микашинович (1989). Активность сукцинатдегидрогеназы определяли методом, основанном на использовании тетразолиевого синего $C_{40}H_{32}O_2Cl_2$ (мол. вес 727,63) и феназинметасульфата для создания системы переноса электронов от субстрата дегидрогеназной реакции к соли тетразолия с образованием формазана (Nordmann et al. (1951) в описании З.И. Микашинович, 1989). Активность ферментов выражали в нмоль/мг белка в мин. Активность гексокиназы определяли по прописи И.С. Лугановой (1971) в описании О.Г. Саркисяна (2000). Активность фосфогексоизомеразы определяли по методу Р.Ф. Езерского (1960) в описании З.И. Микашинович (1989). Активность фосфорилазы определяли по принципу метода Д.Л. Фердмана и Е.Ф. Сонина (1957). Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы определяли по методу Корнберга Л. в модификации Захарьина Ю.Л.(1967) по степени восстановления НАДФ в ферментативной реакции с глюкозо-6-фосфатом в присутствии ионов магния. Активность глутатионпероксидазы определяли по методу, описанному А.И. Карпищенко и др. (1999). Активность глутатионредуктазы определяли по скорости окисления НАДФН+Н методом Юсуповой Л.Б. (1989). Определение активности миелопероксидазы в плазме крови проводили по методу, описанному Шафран М.Г. и Лызловой С.Н.(1975). Активность ферментов выражали в мкмоль/г Нв или мкмоль/мг белка. Определение активности супероксиддисмутазы проводили по методу Misra H.P. и Fridovich J. (1972), в модификации Саркисяна О.Г. (2000). Результат выражали в условных единицах на 1 г Нв или мг белка в мин. Активность каталазы определяли методом, предложенным Королюк и др. (1988). Определение концентрации восстановленного глутатиона проводили методом Ellman G.L.(1959). Результаты выражали в мкмоль/ г Hb или мг белка.

Для изучения состояния газотранспортной функции эритроцитов определяли концентрацию 2,3-дифосфоглицерата методом Dyse, Bessman в модификации Лугановой И.С., Блиновым М.Н. (1975), пировиноградной кислоты по Фридеману и Хаугену в модификации П.М. Бабаскина (А.С. СССР №877436, 1981), молочной кислоты по реакции с параоксидифенилом, описанной В.В. Меньшиковым (1987).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили согласно общепринятым методам с определением средней арифметической, ошибки средней с использованием программы STATISTICA версия 6.0. О достоверности отличий учитываемых показателей сравниваемых групп судили по величине t-критерия Стьюдента после проверки распределения на нормальность. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

В работе проведён анализ состояния кислородтранспортной функции крови, изучен ферментный спектр эритроцитов периферической крови, миокарда и печени крыс, выяснен характер изменения активности ферментативного звена антиоксидантной защиты после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» при различном функциональном состоянии организма, связанным с различным температурным воздействием.

Эритроциты.

Общепризнанным является тот факт, что качественное и количественное изменение состава крови отражает особенности индивидуальной реактивности, а комплексное изучение этих изменений может дать адекватное представление об уровне адаптивных реакций (Микашинович З.И., 1989; Олемпиева Е.В., 2004; Fansoni S. et al., 1985).

Представленный фактический материал свидетельствует, что в эритроцитах крыс, содержавшихся в условиях, соответствующих «зоне комфорта» (группа 2) после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» достоверно увеличилась концентрация 2,3-ДФГ на 61,08% ($p<0,001$) и соотношение лактат/пируват на 650,91% ($p<0,001$) за счёт увеличения концентрации лактата на 187,67% ($p<0,001$) относительно животных контрольной группы. Выявленные изменения указывают на необходимость формирования адаптационно-компенсаторной реакции, направленной на улучшение оксигенации тканей.

Особенностью обменных процессов в эритроцитах является отсутствие митохондрий, поэтому энергетические потребности этих клеток покрываются за счёт окисления глюкозы в ходе гликолиза. Нами установлено, что у животных обсуждаемой группы после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» активность ключевого фермента гликолиза - ГК достоверно не изменилась по сравнению с группой 1 (интактные животные, содержавшиеся на общевиварийном рационе), при достоверном снижении активности ФГИ на 29,56% ($p<0,05$), гл-6ф-ДГ на 92,79% ($p<0,001$), фосфорилазы на 54,86% ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой.

Вместе с тем, в эритроцитах животных, содержавшихся при температуре комфорта, после вскармливания БАД «Ко Q_{10}» выявлено достоверное увеличение активности ферментов первой линии АОЗ - СОД на 186,67% ($p<0,001$) и каталазы на 191,46% ($p<0,001$) относительно контрольной группы. На этом фоне выявлено угнетение глутатион-зависимого звена (снижение активности ГПО на 85,63% ($p<0,001$), ГР на 79,69% ($p<0,001$) и концентрация GSH на 67,49% ($p<0,001$)) по сравнению с животными контрольной группы.

В экспериментальных исследованиях показано, что избыток СОД может путём обратной регуляции ингибировать синтез антиоксидантных ферментов, что делает клетки более уязвимыми к окислительной атаке (Menenghini R. et al., 1995). По-видимому, в данной ситуации основная защитная роль принадлежит каталазе, которая обладает меньшим сродством к пероксиду водорода и эффективно удаляет избыток последнего при повышенной продукции (Зенков Н.К. и др., 2001).

В плазме крови животных группы 2 наблюдали достоверное увеличение активности МПО на 272,16% ($p<0,001$), что может являться отражением повышенной функциональной активности макрофагов. С другой стороны необходимо подчеркнуть, что избыточная продукция HOCl способствует окислению сульфгидрильных и тиэфирных групп белков, поэтому наличие в среде молекул, содержащих данные группы (например, GSH), существенно снижает цитотоксическое и деструктивное действие гипогалоидов (Зенков Н.К. и др., 2001), а в обсуждаемой группе выявлено снижение концентрации восстановленного глутатиона.

При оценке состояния кислородтранспортной функции крови у животных, содержавшихся при температуре 40±0,5 ^{0}С на общевиварийном рационе (группа 3), выявлено увеличение концентрации 2,3-ДФГ на 219,60% ($p<0,001$), соотношения лактат/пируват на 681,72% ($p<0,001$), что связано с повышением в эритроцитах этих животных концентрации лактата на 169,72% ($p<0,001$) и снижение уровня ПВК на 65,79% ($p<0,001$) по сравнению с животными контрольной группы. Комплекс этих изменений указывает на формирование гипоксии у экспериментальных животных, что соответствует данным, представленным в обзоре литературы.

При содержании животных в условиях, моделирующих гипоксию (группа 3), нами выявлен комплекс изменений, характерных для гипоксического повреждения: увеличение интенсивности включения глюкозы в окислительные процессы (увеличение активности ФГИ на 105,86% ($p<0,001$)), активация гликогенолиза (увеличение активности фосфорилазы на 25,14% ($p<0,001$)) и пентозофосфатного шунта (увеличение активности гл-6ф-ДГ на 151,09% ($p<0,001$)) относительно животных контрольной группы.

Вместе с тем, в эритроцитах животных группы 3 (содержались на общевиварийном рационе при температуре 40±0,5 ^{0}C) выявляли выраженное увеличение активности СОД на 84,76% ($p<0,001$) и ГР на 183,41 ($p<0,001$) при достоверном снижении активности каталазы на 23,96% ($p<0,001$), ГПО на 50,36% ($p<0,001$) и концентрации восстановленного глутатиона на 57,24 ($p<0,001$)по сравнению с контрольной группой.

Выявленные изменения указывают на несостоятельность механизмов антирадикальной защиты, следствием чего является усиление липидной пероксидации, истощение антиоксидантной системы, сдвиг равновесия в системе антиоксиданты-прооксиданты в сторону преобладания прооксидантов.

Более того, в плазме животных группы 3 определялось увеличение активности МПО на 390,20% ($p<0,001$) относительно контрольной группы, что является дополнительным повреждающим факторов, так как увеличение продукции гипогалоидов способствует увеличению цитотоксичности перекиси водорода.

После введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» в эритроцитах животных, содержавшихся в условиях превышения температурного комфорта (группа 4), наблюдается достоверное снижение величины соотношения лактат/пируват на 84,97% ($p<0,001$), что возможно за счёт снижения концентрации лактата на 87,24% ($p<0,001$); а также концентрации 2,3-ДФГ на 46,07% ($p<0,001$) относительно группы 3 (животные, содержавшиеся на общевиварийном рационе при повышенной температуре). Полученные данные позволяют высказать предположение, что в условиях превышения температуры «комфорта» введение в рацион БАД «Ко Q_{10}» способствует снижению тяжести гипоксии, что связано со снижением пагубного влияния высоких концентраций молочной кислоты, а также нормализацией кислородтранспортной функции крови.

Нельзя не отметить, что после введения в рацион исследуемой БАД уровень молочной и пировиноградной кислот значительно ниже физиологических показателей, но при этом величина соотношения лактат/пируват превышает показатель у интактных животных на 17,49% ($p<0,02$). Концентрация 2,3-ДФГ сохраняется на уровне, превышающем физиологическое значение на 72,34% ($p<0,001$). По некоторым данным тепловое воздействие сопровождается снижением количества эритроцитов и гемоглобина, являющееся результатом гемолиза под влиянием токсических продуктов обмена, даже в период, когда действие температурного фактора уже отсутствует (Шаимбетов О.Ш., 1966; цит. по Горизонтову П.Д., Сиротинину Н.Н., 1973). Задержка созревания эритроцитов в этот период связана с торможением функций кроветворной системы. По-видимому, сохраняющийся лактоацидоз и высокий уровень 2,3-ДФГ может указывать на повышение функциональной активности эритроцитов и формирование модуляционного механизма адаптации, связанного со снижением сродства гемоглобина к кислороду.

Введение в рацион БАД «Ко Q_{10}» в условиях моделируемой гипоксии приводит к резкому снижению активности ГК на 82% ($p<0,001$), в то время как активность ФГИ увеличилась на 101,77% ($p<0,001$) относительно животных группы 3. Разнонаправленные изменения активности ферментов гликолиза могут указывать на особенности механизмов адаптации в эритроцитах. Снижение активности ГК может служить отрицательным прогностическим признаком, так как скорость гек-

сокиназной реакции в эритроцитах является одним из звеньев, лимитирующих метаболизм глюкозы. В то же время, увеличение активности ФГИ свидетельствует о высокой интенсивности использования глюкозо-6-фосфата в реакциях гликолиза, имеющего значение как поставщик промежуточных продуктов обмена и этот факт может рассматриваться как приспособительный в стрессовой ситуации.

Важно отметить, что введение в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным, содержавшимся при повышенной температуре, способствует снижению повышенной активности гл-6ф-ДГ на 69,74% ($p<0,001$) относительно животных группы 3, что также, на наш взгляд, отражает включение метаболических механизмов адаптации, так как активация начальных этапов ПФШ рассматривается как неблагоприятная реакция на гипоксию.

Вместе с тем, после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным, содержавшимся в условиях моделирующих гипоксию (группа 4), выявлено увеличение активности фосфорилазы на 219,19% ($p<0,001$) относительно группы 3, что свидетельствует о сохранении необходимости мобилизации глюкозы из резервного фонда и сохранении анаэробной ориентации метаболизма.

Введение БАД «Ко Q_{10}» в рацион животных, содержащихся в условиях, моделирующих гипоксию (группа 4), сопровождается резким снижением активности СОД на 91,27% ($p<0,001$) относительно группы 3. Активность каталазы в эритроцитах животных группы 4 была повышена на 230,14% ($p<0,001$) относительно группы 3. Для многих ферментов, в том числе и для СОД и каталазы, характерно явление перекрёстной регуляции активности (Marklund S.,L., 1984). Для каталазы супероксидный анион-радикал является отрицательным эффектором, а H_2O_2 - положительным, для СОД – наоборот (Дубинина Е.Е., 1998). Снижение активности СОД в условиях гипоксии может иметь решающее значение в формировании дальнейшего повреждения эритроцитов. Выступая мощным ингибитором окислительных процессов в них, СОД предотвращает гемолиз, способствует поддержанию стабильности мембран и формы эритроцитов. Нормальное функционирование СОД особенно важно для поддержания реологических свойств крови на физиологическом уровне при состояниях, связанных с массовым образованием и накоплением АФК в плазме крови (Гуськова Р.А. и др., 1980). В отношении повышенной активности каталазы можно сказать, что существует мнение о том, в экстремальных условиях восстановление пероксида водорода может служить дополнительным источником молекулярного кислорода (Январёва И.Н. и др., 2001).

Что касается глутатион-зависимых ферментов, то после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным в условиях гипоксии регистрировали выраженное увеличение активности ГПО на 177,78% ($p<0,002$) по сравнению с животными группы 3. При этом в эритроцитах животных группы 4 определялось достоверно сниженное содержание GSH на 53,72% ($p<0,001$) и активности ГР на 90,41% ($p<0,001$) в сравнении с группой 3. Снижение концентрации GSH и активности ГР - фермента, обеспечивающего регенерацию GSSG, на фоне увеличения активности ГПО может привести к истощению работы всей системы, следствием чего может явиться денатурация гемоглобина и перекисный гемолиз эритроцитов (Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., 1990).

В то же время в плазме животных группы 4 активность МПО по сравнению с группой 3 достоверно не изменилась, но относительно контрольной группы была увеличена на 385,71% ($p<0,001$). Выше упоминалось, что в данной ситуации вследствие накопления продуктов миелопероксидазной реакции может увеличиваться токсичность перекиси водорода.

Миокард.

Учитывая тот факт, что убихинон является признанным кардиопротектором и его содержание в миокарде значительно выше, чем в других тканях (Kalen A. et

al., 1989), нам представлялось целесообразным изучить уровень обменных процессов в миокарде экспериментальных животных с различной исходной реактивностью после вскармливания БАД «Ко Q_{10}»

Нами установлено, что после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» в миокарде животных, содержавшихся в комфортных температурных условиях (группа 2), наблюдается достоверное увеличение соотношения лактат/пируват на 59,76% ($p<0,001$) за счёт увеличения концентрации лактата на 34,97% ($p<0,001$) и снижения уровня пирувата на 17,86% ($p<0,01$) относительно контрольной группы. Выявленные изменения свидетельствуют об изменении направленности обменных реакций в сторону превалирования их анаэробной фазы.

Изменение кислородного режима в сердечной мышце влечёт за собой резкое изменение активности энергопродуцирующих систем. Прежде всего, в миокарде животных исследуемой группы зарегистрировано выраженное увеличение активности ферментов дыхательной цепи - СДГ на 222,86% ($p<0,001$) и ЦХО на 131,30% ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой, что указывает на высокий уровень окислительного фосфорилирования.

Кроме того, в миокарде животных группы 2 регистрируется достоверное увеличение активности ГК на 114,68% ($p<0,001$) и ФГИ на 187,36% ($p<0,001$), что является отражением активного включения глюкозы в окислительно-восстановительные процессы. Адекватный уровень глюкозы обеспечивается в реакциях глюконеогенеза и гликогенолиза. Учитывая тот факт, что после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным исследуемой группы и в миокарде, и в эритроцитах выявлено накопление лактата, приводящее к снижению уровня pH и изменению активности ферментов глюконеогенеза, то в этих условиях потребности организма в глюкозе обеспечиваются за счёт распада гликогена, на что указывает достоверное увеличение активности фосфорилазы на 224,09% ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой. По мнению Соболевского В.И. и Елисеева В.В. (1983) усиление активности фосфорилазы также указывает на усиление анаэробного метаболизма и, в частности, гликогенолиза.

Увеличение ферментов обмена глюкозы может свидетельствовать о переориентации метаболизма миокарда на преимущественное окисление углеводов. Особенностью метаболизма миокарда является преобладание аэробного окисления и углеводов, и жирных кислот, однако в сложившихся условиях превалирование окисления углеводов позволяет обеспечить синтез АТФ, адекватный уровню потребляемого кислорода. Кроме того, в пересчёте на 1 моль потреблённого кислорода, энергетический выход от расщепления глюкозы гораздо выше, чем при окислении жирных кислот. Выше сказанное позволяет сделать вывод, что при физиологическом течении обменных процессов БАД «Ко Q_{10}» способствует повышению мощности энергосистем миокарда при снижении уровня потребляемого кислорода.

В миокарде животных группы 2 регистрируется выраженное достоверное увеличение активности СОД на 183,78% ($p<0,001$) при достоверном снижении активности каталазы на 74,45% ($p<0,001$) по сравнению с животными контрольной группы. При этом достоверно увеличивалась активность ГПО на 143,29% ($p<0,001$), ГР на 179,07% ($p<0,001$) и концентрация GSH на 167,08% ($p<0,001$) относительно животных группы 1 (контрольная группа). Показано, что именно ГПО является ключевым ферментом защиты от окислительного повреждения, как при физиологическом течении обменных процессов, так и в условиях патологии. Это положение подтверждается данными, полученными Raes M. et al. (1987).

При повышении температуры среды обитания в миокарде животных происходит достоверное увеличение соотношения лактат/пируват на 78,19% ($p<0,001$) и уровня лактата на 57,66% ($p<0,001$), снижение концентрации пирувата на

14,29% ($p<0,02$) по сравнению с животными контрольной группы, что свидетельствует о формировании тканевой гипоксии. В условиях гипоксии ряд ключевых позиций в поддержании энергетического гомеостаза в сердечной мышце принадлежит гликолизу и гликогенолизу. Гликолитическая продукция АТР в работающем сердце составляет небольшую долю от общей продукции аденозинтрифосфата, между тем полагают, что гликолиз играет особенно важную роль в обеспечении приспособительных изменений в миокарде, которые по тем или иным причинам сопровождаются снижением дыхания и окислительного фосфорилирования, обеспечивая сохранность структурной и физиологической активности органа.

Однако в нашем эксперименте в миокарде животных анализируемой группы выявлено угнетение реакций метаболизма глюкозы и гликогена, о чём свидетельствует снижение активности ГК на 89,91% ($p<0,001$), ФГИ на 31,03% ($p<0,001$), гл-6ф-ДГ на 91,95% ($p<0,001$) и фосфорилазы на 21,75% ($p<0,001$) относительно животных контрольной группы.

При исследовании активности ферментов терминального окисления в миокарде животных, содержавшихся при температуре 40 ^{0}С, выявлена весьма характерная реакция на гипоксию со стороны дыхательной цепи, то есть выраженное достоверное увеличение активности СДГ на 64,76% ($p<0,001$)и снижение активности ЦХО на 65% ($p<0,001$) (биохимические «ножницы») относительно контрольной группы.

В условиях гипоксии после истощения фонда кислорода, связанного с миоглобином и гемоглобином, снижается и концентрация субстратов окисления, вследствие повреждения митохондриальных мембран и снижения активности мембранных ферментов нарушаются процессы окислительного фосфорилирования и транспорта АТФ из митохондрий к местам её использования. Это приводит к снижению концентрации АТФ и креатинфосфата (КФ) и накоплению продуктов метаболизма макроэргов.

Развитие гипоксии сопровождается резким дисбалансом в системе антиоксиданты/прооксиданты с усилением активности реакций свободно - радикального окисления (Пшенникова М.Г., 2000). Так, при гипоксии в миокарде животных группы 3 (содержались при повышенной температуре на общевиварийном рационе) регистрируется увеличение активности СОД на 185% ($p<0,001$), ГПО на 317,71% ($p<0,001$), ГР на 82,56% ($p<0,001$) и содержания GSH на 154,11% ($p<0,001$) при достоверном снижении активности каталазы на 97,81% ($p<0,001$) относительно контрольной группы.

После введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» в условиях моделируемой гипоксии регистрируется выраженное снижение соотношения лактат/пируват на 50,77% ($p<0,001$), уровня лактата на 75,97% ($p<0,001$) и увеличение уровня пирувата на 37,50% ($p<0,05$) относительно группы 3. Снижение соотношения лактат/пируват указывает на уменьшение тяжести гипоксии и степени выраженности анаэробной направленности обменных процессов.

Обращает внимание, что в условиях гипоксии введение экзогенного убихинона способствует усилению интенсивности реакций гликогенолиза (повышение активности фосфорилазы на 148,75% ($p<0,001$) по сравнению с животными группы 3.

По данным литературы, в условиях гипоксии переориентация метаболизма миокарда с аэробного окисления жиров и углеводов на более экономный анаэробный гликолиз способствует существенному улучшению работы сердца в постгипоксическом периоде (Liu B. et al., 1996). Обращает внимание, что под влиянием БАД в миокарде животных 4 группы определяли достоверное снижение активности ферментов гликолиза - ГК на 20% ($p<0,02$) и ФГИ на 43,33% ($p<0,001$) относительно группы 3.

Одновременно у животных группы 4 выявлено достоверное снижение активности гл-6ф-ДГ на 18,46% ($p<0,001$) относительно животных группы 3.

После введения исследуемой БАД в миокарде животных активность СДГ достоверно не изменилась относительно группы 3. Активность ЦХО после приёма БАД ещё больше снизилась на 22,04% ($p<0,001$) относительно животных группы 3.

В условиях разобщения окисления и фосфорилирования, сопровождающего гипоксию, активация СДГ будет свидетельствовать о мобилизации резервов. По мнению Кондрашовой М.Н. (1975; 1976) такая реакция является «реакцией тревоги» на ферментативном уровне и эффективным механизмом адаптации к изменению кислородного режима. Кроме того, согласно современным представлениям сохранение сукцинатоксидазного окисления при гипоксии выполняет триггерную роль. На модели гипоксии показано, что ингибирование митохондриального комплекса I полностью блокировало гипоксическую индукцию HIF-1α, тогда как восстановление окисления на уровне сукцинат-зависимого участка способствовало восстановлению транскрипционной активности. Это связано с тем, что регуляторный кислородзависимый процесс пролилгидроксилирования и протеасомной деградации HIF-1α сопряжён с утилизацией α–кетоглутарата и образованием и накоплением сукцината, являющегося аллотерическим ингибитором этого процесса (цит. по Лукьяновой Л.Д. и соавт., 2007)

Введение в рацион «Ко Q_{10}» (животные группы 4) способствует снижению активности СОД на 76,77% ($p<0,001$), в то время как активность каталазы достоверно не изменилась относительно животных группы 3.

В миокарде животных группы 4 установлено достоверное снижение повышенной активности ГПО на 95,87% ($p<0,001$), ГР на 57,96% ($p<0,001$) и концентрации GSH на 55,87% ($p<0,01$) относительно группы 3.

Таким образом, данные об активности основных антиоксидантных ферментов позволяют утверждать, что введение коэнзима Q_{10} в миокарде сопровождается тенденцией к восстановлению антиоксидантного статуса клетки. В то же время нельзя сделать однозначный вывод о нормализации этих процессов при сравнении их с данными контрольной группы. Надо полагать, что более длительное вскармливание животным или увеличение дозировки коэнзима Q_{10} окажет более выраженный саногенный эффект.

Печень.

Введённый per os экзогенный Ко Q в большом количестве локализуется в крови и печени (Turunen M. et al., 1999; Dallner G., Sindelar P.J., 2000). В связи с этим нам представлялось интересным изучить уровень обменных процессов в печени экспериментальных животных после приёма ими БАД «Ко Q_{10}» при различных температурных режимах.

Введение в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным с физиологическим течением обменных процессов (группа 2) способствовало снижению активности ГК на 86,49% ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой. В печени содержится изоформа ГК IV, называемая глюкокиназой. Глюкокиназа обладает более высокой специфичностью по отношению к глюкозе по сравнению с другими сахарами. В нормальных условиях глюкокиназа обеспечивает фосфорилирование до 90% глюкозы в печени, что обеспечивает беспрепятственный синтез гликогена при высокой концентрации глюкозы в системе воротной вены. В отличие от других изоформ ГК, глюкокиназа не ингибируется глюкозо-6-фосфатом и снижение активности фермента, как правило, связано со снижением поступления экзогенного субстрата. В условиях дефицита экзогенных углеводов адекватный уровень глюкозы обеспечивается в ходе реакций гликогенолиза и глюконеогенеза. Так, в печени животных группы 2 после вскармливания БАД «Ко Q_{10}» выявляли увеличение ин-

тенсивности гликогенолиза, о чём свидетельствует увеличение активности фосфорилазы на 153,02% ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой.

Интересно отметить, что на фоне снижения активности ГК в печени животных группы 2 после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» отмечается увеличение активности ФГИ на 209,26% ($p<0,001$) относительно животных контрольной группы, что может свидетельствовать об увеличении «метаболической» роли фруктозы в реакциях обмена. Основным путём использования фруктозы является её участие в реакциях глюконеогенеза. Однако в печени фруктоза, в основном, окисляется до дигидроксиацетон-3-фосфата, который через образование глицерол-3-фосфата включается в синтез триацилглицеридов.

После введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным, содержавшимся при температуре «комфорта» (группа 2) в печени наблюдается достоверное увеличение соотношения лактат/пируват на 412,54% ($p<0,001$), уровня лактата на 182,67% ($p<0,001$) и снижение концентрации ПВК на 36,11% ($p<0,001$) относительно контрольной группы. Возможно, что увеличение концентрации лактата связано с усилением его транспорта из миокарда в цикле Кори, так как печень является основным органом, утилизирующим лактат. Кроме того, для печени характерна низкая величина соотношения НАДН/$НАД^+$, поэтому лактатдегидрогеназная реакция сдвинута в сторону образования лактата, который затем включается в реакции глюконеогенеза.

Введение в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным группы 2 в печени способствовало снижению активности гл-6ф-ДГ на 93,05% ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой. Значение глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной реакции в печени определяется участием восстановленных эквивалентов НАДФН+$Н^+$ в реакциях микросомального окисления, биосинтезе холестерина и жёлчных кислот и т.д. Реакции окислительного этапа ПФШ протекают только при условии, что восстановленный кофермент НАДФН+$Н^+$ возвращается в исходное окисленное состояние при участии НАДФН-зависимых дегидрогеназ.

Исходя из этого, можно предположить, что снижение активности фермента может быть связано с изменением потребностей гепатоцитов в НАДФН+$Н^+$, то есть за счёт снижения потребности в процессах биосинтеза.

В то же время, у животных группы 2 после вскармливания им БАД «Ко Q_{10}» определяли значительное повышение активности СДГ на 182,86% ($p<0,001$), при этом активность также ЦХО повышалась, но в наименьшей степени - 19,61% ($p<0,01$) относительно контрольной группы. Неравнозначное повышение активности СДГ, относящейся к начальному участку дыхательной цепи, и ЦХО, которая является конечным звеном терминального окисления, может указывать на монополизацию цепи переноса электронов сукцинатом и, как правило, является механизмом срочной адаптации к недостатку кислорода.

В печени животных группы 2 после вскармливания БАД «Ко Q_{10}» выявили достоверное снижение активности СОД на 29,73% ($p<0,001$) и концентрации GSH на 27,69% ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой.

Согласно современным представлениям, тезис о биологической защитной роли СОД не столь очевиден, так как токсичность супероксидного анион-радикала невысока. Существует мнение, что СОД и восстановленный глутатион образуют своеобразную антиоксидантную систему (Munday R., Winterboume C., 1989). Возможно, что снижение концентрации GSH, в данном случае, связано, с одной стороны, с ингибированием СОД, а, с другой, не исключается его использование в качестве низкомолекулярного антиоксиданта.

Одновременно в печени животных обсуждаемой группы выявили достоверное увеличение активности ГПО на 102,53% ($p<0,01$) и ГР на 205,67% ($p<0,001$). Обращает внимание, что активность каталазы была снижена на 54,59% ($p<0,001$)

относительно контрольной группы, что свидетельствует об устранении избытка пероксида водорода за счёт активации ГПО.

Каталаза и глутатионпероксидаза представляют собой эффективный механизм защиты клеток от пероксида водорода (Torrielli M.V., Dianzani M.U., 1984), при этом первый фермент наиболее активен при высоких концентрациях H_2O_2, второй проявляет максимальную активность при низком содержании субстрата (Eaton J.W., 1991). Уровень внутриклеточных ГПО и каталазы зависит и, возможно, регулируется образованием H_2O_2 (Меньщикова М.Б. и соавт., 2006).

Что касается активности ГР, то необходимо отметить, что активность фермента напрямую зависит от присутствия восстановленных коферментов НАДФН+H^+ и обнаруженное нами увеличение активности фермента на фоне снижения активности гл-6ф-ДГ подтверждает тезис о высокой устойчивости ГР (Микашинович З.И., 1989).

Содержание животных при повышенной температуре (группа 3) сопровождается выраженным увеличением активности фосфорилазы в печени на 173,55% ($p<0,001$) и снижением активности ГК на 87,35% ($p<0,001$), тогда как активность ФГИ достоверно не изменилась относительно контрольной группы. Выявленные изменения целесообразно толковать с позиций того, что повышение температуры среды сопровождается развитием тканевой гипоксии и генерализованной стресс-реакциии, характерной чертой которой является значительный выброс в кровь катехоламинов (адреналин) и глюкокортикоидов (кортизол). Эффект адреналина в печени определяется фосфорилированием (активацией) гликогенфосфорилазы, обеспечивающей быструю мобилизацию глюкозы для обеспечения жизненно важных органов «высокоэнергетическим» топливом.

Обращает на себя внимание выраженное увеличение соотношения лактат/пируват на 270,97% ($p<0,001$) в печени животных при содержании в условиях превышения температуры «комфорта» на общевиварийном рационе по сравнению с контрольной группой. При этом уровень пирувата оставался близким к физиологическим значениям, а концентрация лактата превышала физиологический уровень на 277,31% ($p<0,001$).

Развитие гипоксии, как правило, сопровождается повышением активности гл-6ф-ДГ. Нами было выявлено статистически значимое снижение активности этого фермента в гепатоцитах крыс группы 3 на 88,88% ($p<0,001$) относительно контрольной группы. Снижение активности фермента может быть связано с дефицитом глюкозы, так как в условиях стресс-реакции, глюкоза, иммобилизованная в печени, используется в основном для обеспечения жизнедеятельности скелетной мускулатуры и мозга.

Развитие гипоксии сопровождается нарушением процессов терминального окисления, что документируется снижением активности СДГ на 25% ($p<0,01$) и ЦХО на 56,62% ($p<0,001$) в гепатоцитах животных группы 3 относительно контрольной группы.

В гепатоцитах крыс группы 3 выявили достоверное увеличение активности СОД на 73,83% ($p<0,001$), сопровождающееся статистически значимым снижением активности каталазы на 84,63% ($p<0,001$) относительно контрольной группы. Выраженная активация СОД может быть связана со значительным выбросом адреналина и его последующим окислением, сопровождающимся генерацией супероксидного анион-радикала. Образующийся в результате СОД-реакции пероксид водорода обладает цитотоксическим действием, механизмы которого весьма разнообразны. В частности, под действием H_2O_2 может наблюдаться инактивация каталазы и ГПО (Pigeolet E. et al., 1990). Тем не менее, в нашем эксперименте в гепатоцитах животных группы 3 регистрировали увеличение активности ГПО на

175,11% ($p<0,001$), ГР на 239,72% ($p<0,001$) и концентрации GSH на 27,63% ($p<0,001$) относительно контрольной группы.

После введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным, содержавшимся при повышенной температуре (группа 4), выявляли дальнейшее повышение активности фосфорилазы печени на 145,85% ($p<0,001$) ГК на 298,76% ($p<0,001$), а активность ФГИ, напротив, достоверно снизилась на 68% ($p<0,001$) относительно животных, содержавшихся в таких же условиях на общевиварийном рационе. Следует отметить, что относительно контрольной группы активность ГК снижена на 49,57% ($p<0,001$), тогда как активность фосфорилазы оставалась увеличенной на 572,02% ($p<0,001$), что указывает на сохранение высокой интенсивности гликолитических процессов в гепатоцитах животных.

После введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» величина соотношения лактат/ПВК достоверно не изменилась, однако уровень лактата и пирувата достоверно снизился относительно животных, содержавшихся при повышенной температуре на общевиварийном рационе.

Введение в рацион БАД «Ко Q_{10}» не способствовало нормализации активности гл-6ф-ДГ. Напротив, в гепатоцитах животных группы 4 выявляли статистически значимое снижение активности фермента относительно группы 3. Относительно контрольной группы активность гл-6ф-ДГ после применения БАД «Ко Q_{10}» оставалась сниженной на 92,88% ($p<0,001$). Выявленные изменения могут свидетельствовать о нарушении гомеостатической функции печени и накоплении недоокисленных продуктов метаболизма вследствие дефицита НАДФН+H^+, необходимого для работы ферментов микросомального окисления.

После вскармливания животным, содержавшимся при повышенной температуре, коэнзима Q_{10} выявили достоверное увеличение ферментов дыхательной цепи – СДГ на 61,90% ($p<0,001$) и ЦХО на 55,63% ($p<0,001$) относительно группы 3. При этом относительно контрольной группы активность СДГ в гепатоцитах животных группы 4 было увеличена на 21,43% ($p<0,01$), а ЦХО, напротив, снижена на 32,49% ($p<0,001$).

Ранее упоминалось, что в ходе адаптации к гипоксии нередко развивается явление биохимических «ножниц», когда увеличение активности СДГ сопровождается снижением активности ЦХО или наоборот – угнетение СДГ сопровождается активацией ЦХО. В постгипоксический период какое-то время сохраняет блок на участке НАДН-коэнзим Q, поэтому увеличение активности СДГ может быть связано с возросшим окислением ФАД-зависимых субстратов в обход блокированного участка. В процессе клеточного дыхания ЦХО занимает важное место. Фермент входит в состав внутренней мембраны митохондрий, участвует в транспорте электронов с дыхательной цепи на кислород и является составной частью протонного насоса, создающего на мембране электрохимический потенциал, трансформирующийся в энергию АТФ. Снижение активности фермента свидетельствует о прогрессирующем снижении акцептирования кислорода.

Клетка как целостная структура имеет свой уровень интеграции и регуляции функций. Помимо генетических факторов контроля, закодированных в ДНК ядра клетки, существуют цитоплазматические факторы интеграции, среди которых особая роль принадлежит митохондриям. Нейфахом С.А. (1968; цит. по Горизонтову П.Д., Сиротинину Н.Н., 1973) установлена ведущая роль митохондрий в изменении деятельности и других органелл клетки. Очевидно, поэтому митохондрии являются наиболее реактивными структурами клетки и быстро изменяют свои размеры под влиянием любых стрессов. Усиление активности митохондрий ведёт к повышению синтеза макроэргов, что необходимо для поддержания процессов жизнедеятельности. В обычных условиях адаптации процесс реализуется с помощью окислительного фосфорилирования. В условиях гипоксии синтез АТФ мо-

жет происходить без участия митохондрий за счёт включения анаэробного гликолиза. Причиной такой перестройки является изменение структуры и проницаемости мембран митохондрий. Это ведёт к поступлению АТФ и фермента киназина в клетку, что стимулирует возникновение аэробного гликолиза в цитоплазме.

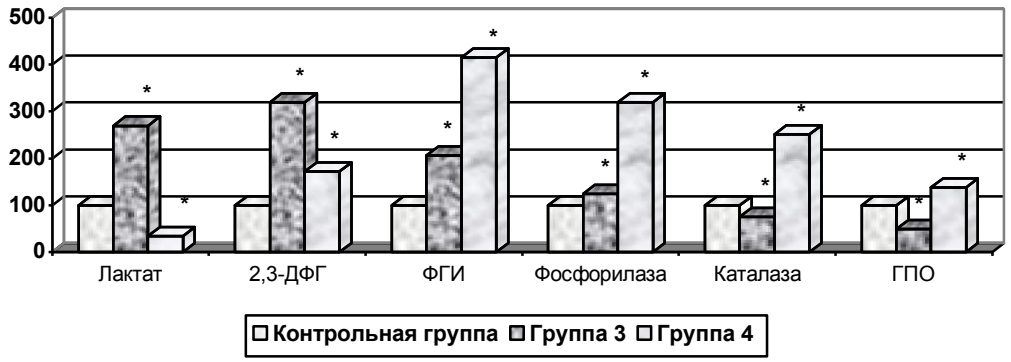
После введения в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным, содержавшимся при повышенной температуре (группа 4), выявлено достоверное снижение активности СОД на 62,89% ($p<0,001$) на фоне увеличения активности каталазы на 96,74% ($p<0,001$) относительно животных, содержавшихся при такой же температуре на общевиварийном рационе. Необходимо отметить, что относительно контрольной группы активность обоих ферментов оставалась сниженной – СОД на 35,49% ($p<0,001$) и каталазы на 69,75% ($p<0,001$).

В то же время, в гепатоцитах животных группы 4 выявлено достоверное снижение активности ГПО на 81,41% ($p<0,001$), ГР на 69,31% ($p<0,001$) и увеличение концентрации восстановленного глутатиона на 41,99% ($p<0,001$) относительно группы 3. При этом относительно контрольной группы активность ГПО была снижена на 48,86% ($p<0,01$), активность ГР достоверно не отличалась. Обращает внимание, что концентрация GSH оставалась увеличенной на 81,22% ($p<0,001$). В обзоре, представленном Кулинским В.И. и Колесниченко Л.С. (1990), показано, что именно система глутатиона определяет устойчивость организма к окислительному воздействию. Усиление биосинтеза глутатиона является эффективным механизмом защиты при гипертермии, что подтверждается и нашими данными.

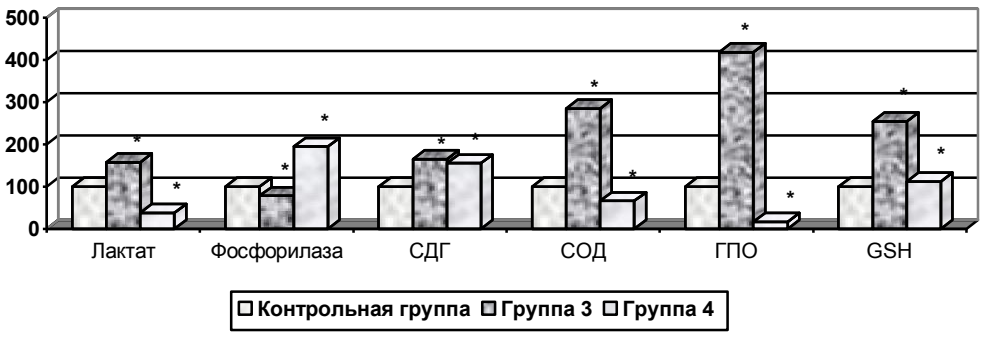
Ниже представлены гистограммы наиболее значимых метаболических изменений после приёма БАД «Ко Q_{10}» в исследуемых органах в условиях гипоксии:

Рис. 1. Наиболее значимые метаболические изменения в эритроцитах (а), миокарде (б) и гепатоцитах (в) экспериментальных животных, содержавшихся при повышенной температуре, после вскармливания БАД «Ко Q_{10}» (%):

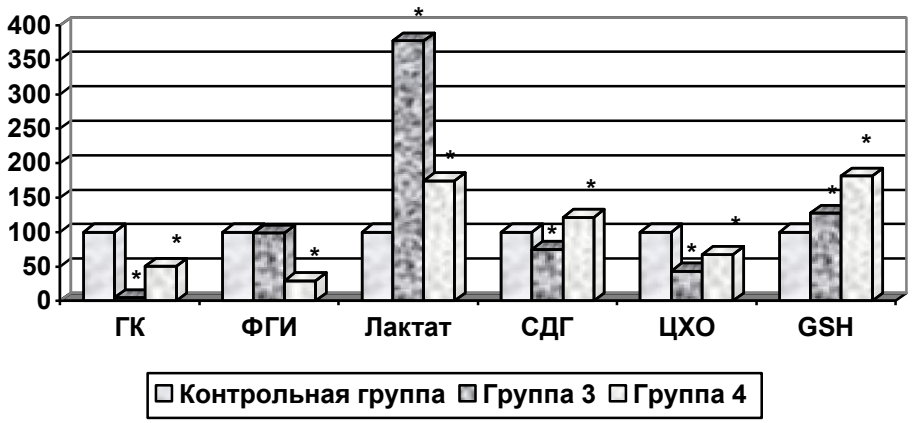
а)



б)



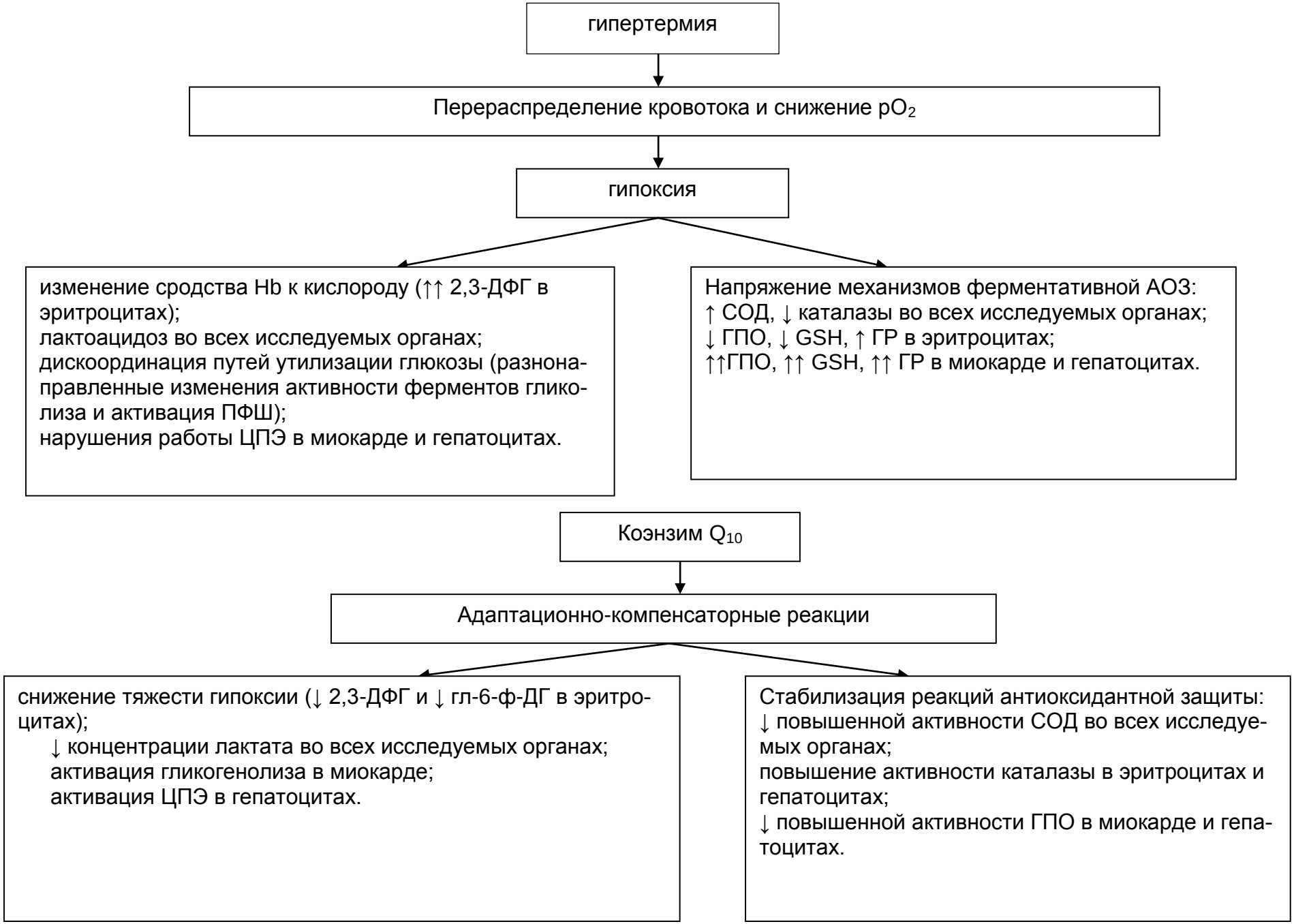
в)



Примечание: контрольная группа – животные, содержавшиеся при температуре «комфорта» на общевиварийном рационе; группа 3 - животные, содержавшиеся при повышенной температуре на общевиварийном рационе; группа 4 – животные, содержавшиеся при повышенной температуре получавшие БАД «Ко Q_{10}».

Из представленных рисунков видно, что характерными чертами влияния БАД «Ко Q_{10}» на обменные процессы в изучаемых тканях при гипоксии является снижение уровня лактата, активация сукцинат-зависимого участка дыхательной цепи, повышение защитного потенциала глутатион-зависимого звена антирадикальной защиты.

На основании полученных результатов можно представить схему формирования патогенетических сдвигов при тепловой гипоксии на клеточном уровне и особенности метаболического ответа исследуемых органов на введение убихинона:


гипертермия
Перераспределение кровотока и снижение pO_2
гипоксия
изменение сродства Hb к кислороду (↑↑ 2,3-ДФГ в эритроцитах);
лактоацидоз во всех исследуемых органах;
дискоординация путей утилизации глюкозы (разнонаправленные изменения активности ферментов гликолиза и активация ПФШ);
нарушения работы ЦПЭ в миокарде и гепатоцитах.
Напряжение механизмов ферментативной АОЗ:
↑ СОД, ↓ каталазы во всех исследуемых органах;
↓ ГПО, ↓ GSH, ↑ ГР в эритроцитах;
↑↑ГПО, ↑↑ GSH, ↑↑ ГР в миокарде и гепатоцитах.
Коэнзим Q_{10}
Адаптационно-компенсаторные реакции
снижение тяжести гипоксии (↓ 2,3-ДФГ и ↓ гл-6-ф-ДГ в эритроцитах);
↓ концентрации лактата во всех исследуемых органах;
активация гликогенолиза в миокарде;
активация ЦПЭ в гепатоцитах.
Стабилизация реакций антиоксидантной защиты:
↓ повышенной активности СОД во всех исследуемых органах;
повышение активности каталазы в эритроцитах и гепатоцитах;
↓ повышенной активности ГПО в миокарде и гепатоцитах.

Полученные данные позволяют предположить, что увеличение дозировки убихинона или длительности его приёма, а также комбинация с препаратом антигипоксантом позволит получить более выраженный протекторный эффект.

Таким образом, на основании представленного фактического материала можно сделать следующие выводы:

ВЫВОДЫ:

1. Введение в рацион БАД «Ко Q_{10}» животным, содержавшимся при температуре, соответствующей «зоне комфорта», способствовало изменению обменных процессов в эритроцитах, характеризующихся повышением их функциональной активности, на что указывает увеличение концентрации лактата и 2,3-дифосфоглицерата.
2. В миокарде животных с физиологическим течением обменных процессов «Ко Q_{10}» способствовал значительному усилению реакций метаболизма глюкозы, что может свидетельствовать об увеличение мощности энергосистем органа.
3. В гепатоцитах животных с физиологическим течением обменных процессов БАД «Ко Q_{10}» способствовала изменению направленности углеводно-энергетического обмена, характеризующейся усилением гликогенолиза и увеличения мощности дыхательной цепи за счёт активации ФАД-зависимого участка. Вместе с тем, выявлена активация глутатионзависых ферментов - наиболее эффективного звена антиоксидантной защиты.
4. При содержании животных в условиях, моделирующих тепловую гипоксию, «Ко Q_{10}» способствует снижению тяжести гипоскии, на что указывает снижение концентрации лактата во всех исследуемых органах по сравнению с животными, не получавшими БАД.
5. В условиях превышения температуры «комфорта» введение в рацион БАД «Ко Q_{10}» способствовало формировании адаптационного механизма в гепатоцитах животных, направленного на снижение интенсивности метаболических процессов и перераспределение энергетических ресурсов для поддержания жизненно важных органов в условиях стресс-реакции.
6. В постгипоксическом периоде после вскармливания убихинона выявлена активация глутатион-зависимого ферментативного звена и увеличение содержания восстановленного глутатиона, что можно рассматривать как защитную реакцию в условиях действия повышенной температуры окружающей среды на организм.

Список работ, опубликованных по теме диссертации, в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Микашинович З.И., Новодержкина Ю.Г., Белоусова Е.С. Некоторые особенности влияния БАД «Ко Q_{10}» на обменные процессы в миокарде крыс, содержавшихся при различных температурных условиях. // Вопросы питания. – 2007. - №3. – С. 19 – 24.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Белоусова Е.С., Люлюк О., Селютина К., Сергеева С. Влияние коэнзима Q10 на процессы углеводно-энергетического обмена в крови крыс. // Материалы I-й межвузовской научно-практической конференции студентов, молодых учёных и специалистов «Обмен веществ при адаптации и повреждении». – Ростов-на-Дону, 2002. – С. 19.
2. Белоусова Е.С., Анишин Я.В., Ткаченко С.А., Сиднева Е.И. Влияние различных биологически активных добавок на процессы перекисного окисления липидов и обмен углеводов в крови. // Материалы I-й межвузовской научно-практической конференции студентов, молодых учёных и специалистов «Обмен веществ при адаптации и повреждении». – Ростов-на-Дону, 2002. – С. 20.
3. Белоусова Е.С., Яковенко А., Анишин Я., Акопян А., Востряков М. Оценка влияния биологически активных добавок «Ко Q_{10}» и «Многолет» на углеводно-энергетический обмен у крыс. // Аннотация докладов и материалов 57-й Итоговой научной конференции молодых учёных. - Ростов-на-Дону, 2003. – С. 122.
4. Belousova E.S., Gurnak E.E. The influence of the biologically active additives Coenzyme Q_{10} and Mnogolet on the rat's carbonhydrate-power exchange. // The Conference of Medical Students, Bialistok, 2003, p. 18.
5. Белоусова Е.С. Влияние биологически активных добавок на метаболизм миокарда крыс с изменённой исходной реактивностью. // Тезисы докладов III межвузовской международной конференции студентов, молодых учёных и специалистов «Обмен веществ при адаптации и повреждении». – Ростов-на-Дону, 2004. – С. 21-22.
6. Белоусова Е.С., Анишин Я., Дроботя А., Слепченко Ю., Иванов А. Влияние биологически активных добавок на метаболизм гепатоцитов крыс. // Аннотации докладов и материалов 58-й Итоговой научно-практической конференции студентов, молодых учёных и специалистов. – Ростов-на-Дону, 2004. – С. 123.
7. Белоусова Е.С. Биохимические изменения в печени крыс, содержавшихся при различных температурных условиях, после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}». // Труды IV международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении». – Ростов-на-Дону, 2005 г. – С. 29-31.
8. Белоусова Е.С., Анишин Я.В. Оценка состояния антиоксидантной системы эритроцитов крыс после введения в рацион ЬАД «Ко Q_{10}» // Труды IV международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении». – Ростов-на-Дону, 2005 г. – С. 31 - 33.
9. Микашинович З.И., Белоусова Е.С., Анишин Я.В. Оценка состояния антиоксидантной системы гепатоцитов крыс с различной исходной реактивностью. // Труды IV-й научно-практической конференции с международным участием «Активные формы кислорода,

оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека». – Смоленск, 2005. – С. 186-188.

10. Белоусова Е.С., Поликарпов Р., Анишин Я. Влияние биологически активной добавки «Ко Q_{10}» на метаболизм крыс, содержавшихся при различных температурных условиях. // Аннотации докладов и материалов 60-й Итоговой конференции молодых учёных. – Ростов-на-Дону, 2006. – С. 159.
11. Белоусова Е.С., Анишин Я.В. Влияние биологически активной добавки «Ко Q_{10}» на обменные процессы в органах и эритроцитах крыс в условиях физиологического течения обменных процессов. // Труды V-й международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении». – Ростов-на-Дону, 2006. – С. 21-24.
12. Микашинович З.И., Белоусова Е.С. Метаболический ответ миокарда крыс, содержавшихся при различных температурных условиях, на введение в рацион БАД «Ко Q_{10}». // Материалы I-й научно-практической конференции ЮФО «Рациональное и лечебной питание». – Ростов-на-Дону, 2006. – С.
13. Белоусова Е.С., Яковенко А.А. Биохимические изменения в печени крыс, содержавшихся в различных температурных условиях, после введения в рацион БАД «Ко Q_{10}». // Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвящённой 50-летию кафедры детских инфекционных болезней РостГМУ «Актуальные проблемы инфекционной патологии у детей». – Ростов-на-Дону. 2006. – С. 23 – 24.
14. Белоусова Е.С. Оценка эффективности применения БАД «Ко Q_{10}» при гипертермии. // Труды VII международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке«. - Москва, 2006. – С. 65.
15. Белоусова Е.С. Биологически активные добавки. Современный взгляд на проблему. // Труды VII-й межвузовской конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении». – Ростов-на-Дону, 2006. – С. 20-22.
16. Белоусова Е.С. Биологически активные добавки. Современный взгляд на проблему. // Труды VII-й межвузовской конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении». – Ростов-на-Дону, 2008. – С. 20-22.

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота
БАД – биологически активные добавки
2,3 – ДФГ – 2,3 - дифосфоглицерат
ГК – гексокиназа
гл-6-фДГ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ГПО – глутатионпероксидаза
ГР – глутатионредуктаза
МПО – миелопероксидаза
Hb - гемоглобин
ПВК – пировиноградная кислота
ПФШ – пентозофосфатный шунт
ПОЛ – перекисное окисление липидов
СДГ – сукцинатдегидрогеназа
СОД – супероксиддисмутаза
ФГИ – фосфогексоизомераза
ЦХО – цитохромоксидаза
ЦТК – цикл трикарбоновых кислот
GSH – восстановленный глутатион
GSSG – окисленный глутатион