

УДК 615.326 (470.46)

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА РАПЫ ОЗЕРА МАЛОЕ ЛИМАНСКОЕ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ И ЕГО ВЛИЯНИЯ НА ИЗМЕНЕНИЯ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У КРЫС

© 2010 г.

Н.А. Мухамедова, Е.И. Кондратенко

Астраханский госуниверситет

cveguk@mail.ru

Поступила в редакцию 12.05.2009

Изучен состав рапы озера Малое Лиманское Астраханской области. Проведено определение перекисного окисления белков в плазме и гомогенате тканей сердца крыс при внутривенном введении нелинейным крысам NaCl, физиологически адекватного разведения Астраханской рапы и, для сравнения, Волгоградского бишофита. Выявлено, что внутривенное введение крысам раствора Астраханской рапы снижает содержание как начальных, так и конечных продуктов про- и антиоксидантного баланса в миокарде.

Ключевые слова: магнийсодержащие препараты, перекисное окисление белков, каталаза.

В последние годы интерес зарубежных и отечественных исследователей в области биохимии и медицины к химическому элементу магнию значительно возрос. Это связано с тем, что магний является физиологическим антагонистом кальция и по содержанию внутри клетки он занимает второе место после калия, но в первую очередь значимость магния для организма определяется его влиянием на различные ферментные системы, определяющие функциональное состояние различных обменных процессов [1]. Дефицит магния возникает вследствие особенностей питания, функционального состояния организма, как результат некоторых заболеваний (сахарный диабет, алкоголизм, сердечно-сосудистые заболевания и т.д.), стресса, экологических факторов и действия некоторых лекарственных средств (аминогликозиды, диуретики и т.д.) [2]. Поэтому профилактика недостатка магния для организма очень важна. С этой целью в медицинской практике используют магнийсодержащие лекарственные средства, биологически активные добавки к пище и препараты магния, полученные из природных магнийсодержащих минералов.

Препарат сульфат магния или его органические соли вызывают нежелательный эффект – потерю катионов калия [3, 4]. Хлористоводородная соль магния лишена такого недостатка. Поэтому изучение природного минерала бишофита ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$), а также содержащих этот минерал природных вод (рапы) очень актуально.

В Лиманском районе Астраханской области находится озеро Малое Лиманское. Водоем приурочен к западной части дельты Волги и имеет водно-эрозионное происхождение. В лечебных целях водоем впервые исследовали в 2007 г. (ООО «Геоминвод», Москва). Воды озера характеризуются ярко выраженными сезонными колебаниями уровня и минерализации рапы. Слой рапы уменьшается до 0.15 м, минерализация рапы возрастает до 380–400 г/л. На всей площади озера в этот период наблюдается выпадение слоя соли толщиной 0.05–0.15 м, под которым выявлена залежь черных сульфидно-иловых грязей мощностью до 0.5 м.

Цель настоящей работы – изучение состава рапы озера Малое Лиманское и исследование влияния физиологически адекватного разведения рапы на изменение про- и антиоксидантного баланса у крыс.

Материалы и методы исследования

При испытании химического состава пробу рапы предварительно выпаривали и высушивали при 130° С. Анализ проводили лазерным масс-спектральным методом на приборе ЭМАЛ-2.

Эксперимент проводили на 30 белых беспородных крысах массой 300–400 г при пероральном введении 1.7%-ного раствора астраханской рапы один раз в сутки, в течение 10 дней. В качестве препарата сравнения использовали разведение Волгоградского бишофита такой же концентрации.

Таблица 1

Элементный состав рапы озера Малое Лиманское Астраханской области

Элемент	Содержание, атом. %	Содержание, масс. %
B	0.0045	0.0018
C	0.7701	0.3463
N	0.0082	0.0043
O	34.5686	20.7082
F	0.0625	0.0445
Na	1.6250	1.3993
Mg	16.0770	14.6390
Al	0.0054	0.0055
Si	0.0085	0.0089
P	0.0034	0.0039
S	0.0555	0.0666
Cl	42.5840	56.5362
K	4.1724	6.1081
Ca	0.0183	0.0274
Ti	0.0004	0.0006
V	0.0001	0.0002
Cr	0.0003	0.0007
Mn	0.0005	0.0010
Fe	0.0103	0.0215
Co	0.0001	0.0002
Ni	0.0002	0.0005
Cu	0.0004	0.0010
Zn	0.0014	0.0033
Ga	0.0002	0.0006
As	0.0001	0.0002
Se	0.0003	0.0009
Br	0.0185	0.0554

Рассол Астраханской рапы разводили до концентрации 1.7% для получения изотонического раствора (точку изотоничности находили с помощью методики осмотической резистентности эритроцитов) и вводили внутривенно с помощью зонда в дозе 3 мл/кг массы животного.

Крысы были разделены на три группы, по 10 особей в каждой: 1 – животные, получавшие внутривенно NaCl (изотонический раствор); 2 – животные, получавшие внутривенно раствор Астраханской рапы; 3 – животные, получавшие внутривенно раствор Волгоградского бишофита.

В результате реакций окисления белков могут образовываться альдегидные и кетонные группировки аминокислотных остатков, которые взаимодействуют с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Продукты реакции регистрировали при $\lambda = 270$ нм (альдегидфенилгидразоны – продукты окислительной модификации белка, образующиеся на стадии инициации свободно-радикального окисления), $\lambda = 363$ и $\lambda = 370$ нм (кетодинитрофенилгидразоны – карбонильные производные, характеризующие дальнейшее окисление белка).

Определение окисленной модификации белков сыворотки крови проводили по методу, разработанному Дубининой Е.Е. и соавторами [5]. Активность каталазы [6] и скорость перекисного окисления липидов [7] определяли спектрофотометрически.

Исследования состава рапы озера Малое Лиманское Астраханской области

Исследованный образец рапы был отобран в конце лета (17.08.07 г.) при минимальном уровне вод и, соответственно, при максимальном значении минерализации – 368 г/л.

Относительная случайная погрешность в спектральном анализе по установлению химического состава рапы составила < 0.30%.

По данным бальнеологического (табл. 1, 2) заключения (№ 14/98 от 04.03.08 г.), составленного по результатам аналитических исследований аккредитованными лабораториями Испытательного центра природных лечебных ресурсов ФГУ «РНИЦ ВМиК Росздрава», в составе анионов доминируют хлориды – 93%; заметную роль играют сульфаты – 6.0% и в малых количествах гидрокарбонаты – 1.0%. Среди катионов преобладает магний – 95%, в небольшом

Таблица 2

Химический состав исследуемой рапы

В 1 литре воды содержится		граммы	мг-экв.	экв.%
Катионы	Литий	0.015	2.167	
	Аммоний	0.0005	0.027	
	Калий	3.850	98.465	1
	Натрий	6.972	303.132	4
	Магний	89.740	7380	95
	Кальций	0.0002	0.01	
	Марганец	0.0012	0.043	
	Сумма катионов			100
Анионы	Хлорид	255.201	7198.904	93
	Бромид	1.096	13.71	
	Йодид	0.002	0.016	
	Сульфат	23.285	485.104	6
	Гидрокарбонат	5.246	86.0	1
	Нитрат	0.007	0.11	
	Сумма анионов			100
Недиссоциированные молекулы	Борная кислота	0.644		
	Общая минерализация	386.06		
	Сухой остаток при $t = 105-150^{\circ}\text{C}$	390.43		

количестве присутствует натрий – 4%, еще меньше калия – 1%; обращает на себя внимание практически полное отсутствие катиона кальция – 0.2 мг/л. Из терапевтически активных минеральных микрокомпонентов в рапе содержится необычно много бромидов (1096 мг/л) и борной кислоты (644 мг/л); в количестве 2-х мг присутствует йод.

При разведении для бальнеопроцедур даже в 10–15 раз такая рапа будет оставаться кондиционной в отношении брома и борной кислоты.

Органолептические свойства: вода полупрозрачная, светло-коричневая, с небольшим коричневым осадком и слабым своеобразным запахом. Реакция среды слабокислая, $\text{pH} = 5.3$, что, видимо, обусловлено наличием в рапе повышенного содержания органических кислот. Санитарно-микробиологические показатели рапы благополучные, чему способствует её высокая минерализация, токсичные компоненты (свинец, ртуть, нитраты и другие) содержатся в количествах, значительно меньших допустимых концентраций. Содержание радионуклидов не превышает пределов, установленных нормами радиационной безопасности (НРБ-99).

В соответствии с Классификацией минеральных вод Минздрава России рапа озера Лиманское при максимальных величинах минерализации (> 300 г/л) относится к бромным (Br 1096 мг/л), борным (H_3BO_3 644 мг/л) крепким рассолам хлоридно-магниевых состава. В пересчете на гипотетические соли в рапе содержится в подавляющем количестве бишофит ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) – 84.1%, в качестве примесей – кизерит ($\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) – 7.6%, галит (NaCl) – 4,6%, карналлит ($\text{KCl} \cdot \text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) – 1.7%, а

также гидрокарбонат магния ($\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$) – 1.6% и бромид натрия (NaBr) – 0.4%.

Помимо минеральных солей, рапа данного озера содержит большое количество органических компонентов, составляющих основную часть разницы между сухим остатком (390.43 г/л) и минерализацией (386.0 г/л). Высокий удельный вес рапы – 1.2 г/см³ (весной) и 1.4 г/см³ (в конце лета) – способствует сохранению в её составе планктона после его переработки и разложения в растворенном (водорастворимые и легкогидролизуемые вещества) и во взвешенном состоянии (гуминовые кислоты и их соли, битумные соединения). В этом основное бальнеологическое отличие озёрных рассолов от подземных (ископаемых) залежей бишофита.

Исследование влияния физиологически адекватного разведения рапы озера Малое Лиманское на изменение про- и антиоксидантного баланса у крыс

Известно, что в основе возникновения и развития патологических изменений в организме большая роль принадлежит окислительным процессам, которые приводят к увеличению концентрации активных форм кислорода (АФК) и стимуляции свободнорадикального окисления биомолекул [8–10].

Принято считать, что усиление перекисного окисления указывает на выход из-под контроля защитно-приспособительных реакций организма на клеточном уровне и его гомеостатических систем в целом [11]. Патологическое влияние усиления перекисных процессов связано с образованием межмолекулярных сшивок, что при-

Таблица 3

**Определение ПОБ в плазме и гомогенате тканей сердца
при внутрижелудочном введении нелинейным крысам изотонического раствора NaCl,
раствора Астраханской рапы и раствора Волгоградского бишофита**

Исследуемый материал	λ , нм	Внутрижелудочное введение NaCl, (контроль) 1-я группа	Внутрижелудочное введение раствора Астраханской рапы, 2-я группа	Внутрижелудочное введение раствора Волгоградского бишофита, 3-я группа
Гомогенат тканей миокарда	270	0.87±0.075	0.47±0.08*** $\Delta\Delta$	0.78±0.08
	363	0.26±0.025	0.14±0.026*	0.26±0.17
	370	0.24±0.02	0.14±0.026** $\Delta\Delta$	0.25±0.017
Плазма крови	270	4.106±0.099	4.262±0 Δ	4.036±0.075
	363	1.5±0.414	2.243±0.349	1.734±0.3
	370	1.512±0.43	2.333±0.4	1.771±0.3

Условные обозначения (здесь и в последующих таблицах): * – достоверность различий между животными контрольной группы и животными, получавшими Астраханскую рапу (по Стьюденту); * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$;

– достоверность различий между группами животных контрольной группы и животными, получавшими Волгоградский бишофит (по Стьюденту); # – $p < 0.05$; ## – $p < 0.01$; ### – $p < 0.001$;

Δ – достоверность различий между группами животных, получавшими Астраханскую рапу и бишофит Волгоградский (по Стьюденту); Δ – $p < 0.05$; $\Delta\Delta$ – $p < 0.01$; $\Delta\Delta\Delta$ – $p < 0.001$.

водит к изменению физико-химического состояния биомолекул [12].

В настоящее время накоплены многочисленные данные, касающиеся механизмов окислительного повреждения белковых молекул АФК [13–18]. Так, Дин и соавторы [19] считают, что в состоянии окислительного стресса атаке за счет АФК подвергаются белки плазматических мембран. Подтверждением этого может служить феномен, названный Бергельсоном [20] «молекулярной памятью липидов». Суть его заключается в том, что многие краткосрочные события, протекающие в белковой молекуле клеточной мембраны, влияют на долговременные параметры функционирования мембранного бислоя. При воздействии соответствующего агента на мембранный белок-рецептор конформация последнего изменяется, что индуцирует изменение как белок-липидных контактов, так и состояния липидов, окружающих белок. Это нарушение в состоянии липидов сохраняется и после отщепления лиганда от рецептора, т.е. служит способом закрепления рецептора в возбужденной конформации. Таким образом, «память» липидов обеспечивает усиление сигнала, передаваемого из внешней среды на клеточную мембрану. Подтверждением первичности окислительной модификации белка (ОМБ) являются исследования других авторов [21, 22].

По их мнению, наиболее выраженные изменения при окислительном стрессе наблюдаются в области анулярных липидов, что говорит о ведущей роли модификации белков в окислительной деструкции клеточной мембраны.

В то же время посттрансляционная ковалентная модификация белков АФК необходима для протекания физиологических и биохимических процессов, таких как тканевый и энергетический обмен [23]. Поскольку метаболические превращения в крови являются в значительной мере отражением процессов, протекающих в организме, изменение уровня перекисного окисления белков (ПОБ) указывает на изменение про- и антиоксидантного баланса организма.

Из данных табл. 3 видно, что внутрижелудочное введение крысам раствора Астраханской рапы снижает содержание как начальных, так и конечных продуктов ПОБ в миокарде. У крыс, получавших внутрижелудочно раствор Волгоградского бишофита, прослеживалась тенденция к снижению содержания начальных продуктов ПОБ в миокарде.

Одним из ферментов антиоксидантной защиты является каталаза. Функция фермента состоит в разложении перекиси водорода и защите биохимических систем клетки от ее токсического воздействия.

Таблица 4

**Изменение активности каталазы в плазме крови
при внутрижелудочном введении нелинейным крысам изотонического раствора NaCl,
раствора Астраханской рапы и Волгоградского бишофита**

Анализируемая среда	Внутрижелудочное введение NaCl, (контроль) 1-я группа	Внутрижелудочное введение раствора Астраханской рапы, 2-я группа	Внутрижелудочное введение Волгоградского бишофита, 3-я группа
Плазма крови	531.7±16.88	601.9±14.67** ^{Δ Δ Δ}	344.5±14.59 ^{###}

Таблица 5

**Динамика МДА в гомогенате ткани печени
при внутрижелудочном введении нелинейным крысам изотонического раствора NaCl,
раствора Астраханской рапы и Волгоградского бишофита**

МДА в гомогенате тканей печени	Внутрижелудочное введение NaCl, (контроль) 1-я группа	Внутрижелудочное введение раствора Астраханской рапы, 2-я группа	Внутрижелудочное введение Волгоградского бишофита, 3-я группа
Скорость спонтанного ПОЛ, нмоль/ч	15.1±2.9	15.87±1.65	12.74±0.94
Скорость аскорбатзависимого ПОЛ, нмоль/ч	46.02±6.6	45.95±9.88	66.78±10.18
Исходное содержание МДА, нмоль/0.05 г ткани	2.17±0.3	1.8±0.12	1.78±0.21

В плазме крови активность каталазы в исследуемых группах различалась (табл. 4): у группы, получавшей внутрижелудочно раствор Астраханской рапы, наблюдалось повышение уровня активности каталазы, тогда как значение активности каталазы в группе, получавшей раствор Волгоградского бишофита, достоверно снижалось.

Как показано в табл. 5, достоверного изменения содержания МДА в ткани печени не зафиксировано. Наблюдалась тенденция к снижению показателей спонтанного ПОЛ у группы, получавшей раствор Волгоградского бишофита, увеличение скорости аскорбатзависимого ПОЛ у этой же группы и небольшое снижение исходного содержания МДА у групп, получавших внутрижелудочно раствор Астраханской рапы и раствор Волгоградского бишофита.

Выводы

Рапа озера Малое Лиманское отвечает всем требованиям, предъявляемым к минеральным водам бальнеотерапевтического (наружного) применения.

Анализ полученных данных по перекисному окислению белков, содержанию малонового диальдегида, а также повышению активности каталазы в плазме крови дает возможность предположить, что бишофитсодержащая рапа Астраханского озера «Малое Ли-

манское» изменяет про- и антиоксидантные процессы у крыс, что выражается в существенном уменьшении интенсивности перекисного окисления белков в миокарде. Возможно это связано с присутствием в рапе Астраханского месторождения гуминовых соединений. Гуминовые вещества накапливают элементы питания и энергию, участвуют в миграции катионов, снижают негативное действие токсических веществ [24, 25]. Полидисперсность и полифункциональность обеспечивают высокую буферность гуминовых веществ в отношении окислительно-восстановительных, кислотнo-основных и комплексообразовательных процессов [25, 26].

Список литературы

1. Спасов А.А. Магний в медицинской практике. Волгоград: ООО «Отрок», 2000. 272 с.
2. Денисов А. Роль магния и витамина В₆ в организме // Здоровье Украины. 2007. № 4. С. 48–49.
3. Schimatscheer Н.Т. // Magnesium Bull. 1987. V. 9. P. 161–176.
4. Seelig M. // Am. J. Cardiol. 1989. V. 63. № 14. P. 64–621.
5. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О. и др. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения // Вопросы медицинской химии. 1995. Т. 41. № 1. С. 24–26.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19.

7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 66–67.
8. Барабой В.А., Брехман И.И. и др. Перекисное окисление и стресс. СПб.: Наука, 1992.
9. Лисицина Т.А., Васильева И.М., Дурнев А.Д. и др. // Докл. РАН. 1999. Т. 365. № 2. С. 263–266.
10. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. // Успехи биологической химии. 1990. Т. 31. С. 180–208.
11. Кожевников Ю.Н. // Вопросы медицинской химии. 1990. Т. 31. № 5. С. 179–186.
12. Davies K.J.A. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. N 20. P. 141–155.
13. Halliwell B., Packer L., Prilipko L. In Free Radicals in the Brain Aging, Neurological and Mental Disorders. Berlin: Springer-Verlag, 1992. P. 40.
14. Bongarzone E.R., Pasquini J.M., Soto E.F. // J. Neurosci. Res. 1995. V. 41. P. 213–221.
15. Crune T., Michel p., Sitte N. et al. // Free Radic. Biol. Med. 1997. V. 23. P. 357–360.
16. Ciolino H.P., Levine R.L. // Free Rad. Biol. 1997. V. 22. P. 1277–1282.
17. Дубинина Е.Е., Морозова М.Г. и др. // Биохимия. 2002. Т. 67. № 3. С. 413–421.
18. Zaidi A., Miachals M.L. // Free Rad. Biol. 1999. V. 27. P. 810–821.
19. Dean R.T., Hunt J.V., Grant A.J. et al. // Free Radic. Biol. Med. 1991. V. 11. № 12. P. 161–165.
20. Болдырев А.А. Введение в биохимию мембран. М.: Высшая школа, 1986. С. 77–78.
21. Kojii U., Masamichi K., Kensuke S. et al. // Biochemistry. 1988. V. 95. P. 4882–4887.
22. Арцукевич А.Н., Мальцев А.Н., Зинчук В.В. Биохимические аспекты жизнедеятельности биологических систем // Сб. научн. трудов съезда биохим. Беларуси, Гродно, 2000. С. 19–23.
23. Levin R.L., Garland D., Oliver C.N. et al. // Methods Enzymol. 1990. V. 186. P. 1–85.
24. Агапов А.И., Авакумова Н.П., Сорокина Н.Б. Специфические органические вещества пелоидов как фактор повышения эффективности пелоидотерапии // Тез. докл. научно-практической конф. «Научно-технический прогресс и медицина». Куйбышев, 1988. С. 163–165.
25. Холопов А.П., Шашель В.А., Перов Ю.М., Настенко В.П. Грязелечение. Р-на-Д: газетное изд-во «Периодика Кубани», 2002. 284 с.
26. Авакумова Н.П., Коршикова Т.В. и др. Физиотерапевтическое применение пелоидопрепаратов из лечебных грязей курорта «Сергиевские минеральные воды» при гинекологических заболеваниях // Метод. рекомендации для врачей. Самара: СГМУ 1994. С. 8.

**THE STUDY OF BRINE COMPOSITION OF LAKE MALOE LIMANSKOE
IN THE ASTRAKHAN REGION AND ITS INFLUENCE
ON CHANGES OF PRO- AND ANTIOXIDANT BALANCE IN RATS**

N.A. Mukhamedova, E.I. Kondratenko

The composition of the brine of Lake Maloe Limanskoe in the Astrakhan region has been studied. The determination has been carried out of peroxide oxidation of proteins in plasma and homogenate of rat heart tissues at intragastric administration to outbred rats of NaCl, physiologically adequate dilution of the Astrakhan brine, and, for comparison, the Volgograd bishofit. It has been found that the administration of the Astrakhan brine reduces the content of both primary and final products of the PSP in the myocardium.

Keywords: magnesium-containing preparations, protein peroxidation, catalase.