

19. Gupta V., Garg R. Probiotics. // Indian. J. Med. Microbiol. – 2009. – Vol. 27. – P. 202-209.
20. Hissin P.J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // Analytical Biochemistry – 1976. - Vol.74 – P.214-226.
21. Lin M., Yen C. Inhibition of Lipid Peroxidation by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum* // *J. Agric. Food Chem.* – 1999. – Vol.47, №9. – P.3661–3664.
22. Mates M., Sanchez-Jimenez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological processes // Front. Biosci. – 1999. – Vol.4. – P.339-345.
23. Pickett C.B. Glutathione S-transferases: gene structure, regulation, and biological function // Annu. Rev. Biochem. - 1989. - V.58. - P.743-764.
24. Russo A., Longo R., Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin // Fitoterapia. – 2002. – Vol. 73, Suppl. 1. – S21-29.
25. Sforcin J.M. Propolis and the immune system: a review // J Ethnopharmacol. – 2007. – Vol. 113, N 1. – P. 1-14.
26. Weidolf L., Karlsson K.E., Nilsson I. A metabolic route of omeprazole involving conjugation with glutathione identified in the rat // Drug Metab Dispos. – 1992. - Vol.20, №2. - P.262-267.

Реферати

**ВЛИЯНИЕ МУЛЬТИПРОБИОТИКА «АПИБАКТ®» НА СОДЕРЖАНИЕ ТБК-АКТИВНЫХ ПРОДУКТОВ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЛУТАТИОНОВОГО ЗВЕНА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛУДОЧНОЙ ГИПОАЦИДНОСТИ**

**Пилипенко С.В., Короткий А.Г., Гайда Л.Н., Береговая Т.В., Остапченко Л.И.**

Длительное снижение желудочной секреции соляной кислоты вызывает увеличение уровня ТБК-активных продуктов, активности глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы, уменьшение уровня восстановленного глутатиона и активности глутатионредуктазы в сыворотке крови крыс. Введение мультипробиотика «Апибакт®» крысам с длительной желудочной гипоацидностью снижает активность процессов перекисного окисления липидов и оказывает модулирующее влияние на функционирование глутатионзависимой системы антиоксидантной защиты в сыворотке крови.

**Ключевые слова:** желудочная гипоацидность, мультипробиотик «Апибакт®», перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

**THE INFLUENCE OF MULTIPROBIOTIC “APIBACT®” ON THE TBA-ACTIVE PRODUCTS LEVEL AND FUNCTIONING OF GLUTATHIONE LINK OF ANTIOXIDANT DEFENSE IN BLOOD SERUM OF RATS WITH LONG-TIME GASTRIC HYPOACIDITY**

**Pylypenko S.V., Korotkyi O.G., Gayda L.M., Bereгова T.V., Ostapchenko L.I.**

Long-term decrease of gastric acid secretion by omeprazole leads to increase of TBA-active products level, activity of glutathione peroxidase, activity of glutathione transferase and to reduction of the level of reduced glutathione and glutathione reductase activity in blood serum of rats. Simultaneous introduction to the rats of omeprazole and multiprobiotic “Apibact®” reduce the activity of lipide peroxidation and has a modulatory effect on functioning of glutathione dependent system of antioxidant defense in rat blood serum as compared to administration of omeprazole alone.

**Key words:** gastric hypoacidity, multiprobiotic «Apibact®», lipid peroxidation, antioxidant system.

Стаття надійшла 20.12.2011 р.

УДК 616.37- 002-08

**В.А. Поляевый**

**Одесский национальный медицинский университет, г.Одесса**

**ОСОБЕННОСТИ МИКРОСОМАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЛЕЧЕНИИ**

В условиях хронического эксперимента на крысах линии Вистар, у которых воспроизводили киндлинг введениями коразола (25,0 мг/кг, в/бр) показано выраженные нарушения активности цитохрома P450, уменьшение соотношение P450/P420, снижение активность цитохрома b<sub>5</sub>. Указанные изменения, а также нарушения обмена фосфолипидов были более выражены на поздней стадии развития киндлинга после тестирующего применения коразола. Кетогенная диета и пентоксифиллин (50,0 мг/кг, в/бр) нормализовали общее содержание микросомальных фосфолипидов, увеличивали уровень лизофосфатидилхолина. Наблюдалось сохранение в микросомах животных функционально активного цитохрома P-450, а также существенное повышение активности амидопирин-N- деметилазы и анилин-n-гидроксилазы. Кроме того, имело место увеличение количества цитохрома b<sub>5</sub>.

**Ключевые слова:** киндлинг, кетогенная диета, пентоксифиллин, фосфолипиды, печень.

Эффективность применяемой при резистентных к фармакотерапии формах эпилепсии кетогенной диеты (КД) связана с изменениями кетогенной функции печени, а также липидного состава крови [5, 7]. Отмечена корреляция между клинической эффективностью антиэпилептической терапии и увеличением уровня холестерина в плазме крови [7, 9]. Антиэпилептическая фармакотерапия приводит к увеличению уровня липопротеинов высокой плотности в плазме крови [8].

Однако, до последнего времени функциональное состояние печени при экспериментальном хроническом эпилептическом синдроме не исследовалось. При этом формирование реактивного гепатита, как результата увеличения содержания в крови киндлинговых животных провоспалительных цитокинов, в частности интерлейкина-1-бета (ИЛ-1-бета), является весьма вероятным [1].

**Целью** работы было изучение основного компонента микросомальной монооксигеназной системы печени— цитохрома P-450, представляющего собой гидрофобный белок, имеющий трансмембранную локализацию в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) гепатоцитов [3] в условиях формирования хронической эпилептической активности – модели коразолового киндлинга и применения КД. Поскольку для активности цитохрома P450 важное значение имеет его фосфолипидное микроокружение [3], в задачу работы вошло также исследование уровня фосфолипидов в печени животных.

Дополнительной задачей исследования явилось изучение эффективности применения КД и сочетании КД с пентоксифиллином (ПТФ), обеспечивающим снижение уровня провоспалительных цитокинов [6].

**Материал и методы исследования.** Исследования проведены на крысах- самцах линии Вистар массой 180- 270 г, содержащихся в 12- ч условиях смены света и темноты, со свободным доступом к воде и пище в стандартных условиях вивария ОНМедУ. Исследования проводили в соответствии с требованиями GLP и комиссии биотетики ОНМедУ (протокол № 84 от 10 октября 2008 г.).

Киндлинг осуществляли путем повторных ежедневных на протяжении трех недель введений коразола в подпороговой дозе (25,0 мг/кг, в/бр) [2, 4]. В исследовании использовали тех крыс, которые в течение последних трех инъекций эпилептогена демонстрировали генерализованные судорожные реакции. КД включала 80% липидов, а также 3,3% углеводов и 16,7 % белков [5]. Эффекты КД исследовали следующим образом: после завершения киндлинга в течение четырех недель животных удерживали на КД, после чего соответственно на 29-е сутки с момента начала КД вводили тестирующую дозу коразола (25,0 мг/кг, в/бр), и через 2,5 ч с момента применения эпилептогена осуществляли эвтаназию животных с последующим забором тканей для исследований. Группой контроля служили киндлинговые животные, которые в течение аналогичного срока находились в обычных условиях содержания и кормления и которым также осуществляли тестирующее введение коразола в аналогичных условиях. В отдельной группе киндлинговых крыс исследовали показатели функционального состояния печени на 29-е сутки с момента развития киндлинга без применения тестирующего введения коразола перед забором тканей.

ПТФ («Sigma Aldrich Rus», Москва) вводили животным, содержащимся на КД в дозе 50,0 мг/кг, в/бр ежедневно с начала третьей недели применения я КД и на протяжении последующих двух недель. При этом последняя инъекция препарата осуществлялась животным за 24 ч до эвтаназии, после осуществления которой согласно методики [3] в микросомах печени измеряли содержание фракций фосфолипидов одномерной восходящей хроматографией на пластинах Silufol UV-254, определяли содержание белка, цитохромов P-450, P-420, b<sub>5</sub>, активность амидопирин-N-деметилазы и анилин-n-гидроксилазы.

Результаты исследований обрабатывали статистически с применением критериев, принятых в медико-биологических исследованиях.

**Результаты исследований и их обсуждение.** В группе киндлинговых крыс, у которых забор тканей осуществляли после четырехнедельного перерыва во введениях эпилептогена без тестирующего введения коразола регистрировалось снижение общего уровня фосфолипидов- на 15,0%, что происходило на фоне уменьшения содержания фосфатидилхолина (ФХ) на 28,2%, в то время как остальные фракции фосфолипидов изменялись незначительно (табл.). Достоверно возрастала концентрация цитохрома P420- в 2,1 раза, а соотношение P450/ P420 составило 1,65 (в контроле – 4,2). Уменьшалась концентрация цитохрома b<sub>5</sub> на 40,1%. Кроме того, отмечалось снижение активности амидопирин-N-деметилазы на 50,6%; активности анилин-n-гидроксилазы – на 33,8%.

Таблица

**Динамика содержания фосфолипидов и активность ферментов в микросомах печени крыс при коразол-провоцированном киндлинге и различных формах экспериментального лечения (M+n)**

	Контроль (введение NaCl) (n=12)	Киндлинг без тестирующего введения коразола (n=11)	Киндлинг+ тестирующее введение коразола (n=10)	Методы лечения	
				КД (n=10)	КД+ ПТФ (n=10)
Фосфолипиды, мкг липидного фосфора г/печени: Суммарное содержание	1032± 39	877± 35*	754±26*	907± 37*@	1123±32#@&
ЛФХ	513±62	673± 62	875±60*	711± 43	605± 53@
ФХ	515±25	370± 23*	265±18*#	424± 21#@	565± 27#@&
ФЭА	209±16	190± 14	157±11*	184± 13	172± 17
Цитохромы, нмоль/мг белка: P-450	0.63±0.04	0.53± 0.03	0.30±0.03*#	0.42± 0.03*	0.56±0.06@&
P-420	0.15±0.01	0.32± 0.04*	0.34± 0.03*	0.27± 0.03*	0.16± 0.02 #@&
b <sub>5</sub>	0.32± 0.03	0.19± 0.02*	0.14± 0.02*	0.18± 0.03*	0.27± 0.03 *@&
Активность ферментов, нмоль/мг белка за 1мин					

Амидопирин- N-деметилаза	2.55±0.10	1.26±0.11*	0.73±0.08*#	1.27±0.13*@	1.97±0.18 *#@&
Анилин-п-гидроксилаза	0.68±0.08	0.45±0.06*	0.13±0.03*#	0.31±0.04*@	0.48±0.05*@

**Примечания:** \* $p < 0.05$  по сравнению с контрольной группой, # -  $P < 0,05$  по сравнению с данными в группе киндлинговых крыс без тестирующего применения коразола, @ -  $P < 0,05$  по сравнению с данными в группе крыс с тестирующим применением коразола; & -  $P < 0,05$  по сравнению с данными в группе крыс с применением КД (ANOVA+ Newmann- Keuls). ЛФХ – лизофосфатидилхолин; ФЗА- фосфатидилэтанолламин; ФХ- фосфатидилхолин.

У крыс с развившимся киндлингом после тестирующего применения коразола (введение коразола после четырехнедельного перерыва в применении эпилептогена) отмечалось выраженное нарушение состава фосфолипидов микросом и ингибировалась каталитическая активность микросомальной монооксигеназной системы. В отличие от изолированных в аналогичных условиях фрагментов ЭПР интактных крыс в микросомах печени данной группы животных на 27,0% снижалось общее содержание фосфолипидов, среди которых возрастало количество лизофосфатидилхолина (ЛФХ), уменьшалось содержание ФХ и в меньшей степени- фосфатидилэтанолламина (ФЗА). Концентрация цитохрома P-450 снижалась по сравнению с нормой на 52,4% раза в результате конверсии в функционально инертный цитохром P-420. Соотношение цитохромов P-450 и P-420 составляло 0,88, т.е. уменьшалось в сравнении с контролем в 4,8 раз. Активность амидопирин-N-деметилазы, осуществляющей окисление субстрата 1 - го типа, уменьшалась в 3,5 раза; активность монооксигеназы, осуществляющей окисление субстрата 2-го типа — анилин-п-гидроксилазы снижалась в 5,2 раза. Количество цитохрома  $b_5$  уменьшалось в 2,3 раза (табл.).

На фоне применения КД сохранялось выраженное снижение общего содержания фосфолипидов- на 12,1% в сравнении с таковым в группе интактных крыс, что одновременно было на 20,3% больше, чем у крыс с киндлингом и применением тестирующей дозы коразола ( $P < 0,05$ ) (табл.). При этом содержание исследованных фракций фосфолипидов не отличалось от такового в группе интактных крыс, однако уровень ФХ превышал соответствующий показатель как в группах крыс с киндлингом как без тестирующего введения коразола (на 14,6%), так и с применением эпилептогена (на 60,0%) ( $P < 0,05$ ). В данных условиях концентрация цитохрома P450 была ниже, чем в контроле на 33,3% ( $P < 0,05$ ), в то время как концентрация P420 превышала соответствующий показатель на 80,0% ( $P < 0,05$ ). Таким образом, соотношение P450/P420 составило 1,56. Меньшей на 43,8% оставалась концентрация цитохрома  $b_5$ . Активность амидопирин-N-деметилазы на 50,2% была меньше таковой у интактных крыс и при этом на 74,0% раза превышала соответствующий показатель в группе крыс с киндлингом и тестирующим применением коразола. Активность анилин-п-гидроксилазы была на 54,4% меньше таковой, чем в контроле, но при этом в 2,4 раза превышала показатель в группе крыс с киндлингом и применением тестирующей дозы коразола ( $P < 0,05$ ) (табл.).

В группе животных, которым КД применяли в сочетании с ПТФ регистрировалась практически полная нормализация содержания фосфолипидов, общий уровень которых превышал показатели во всех опытных группах, в том числе и в группе с применением одной только КД (на 23,8%) ( $P < 0,05$ ). В данных условиях экспериментальной терапии содержание ЛФХ было ниже, чем у крыс с киндлингом и тестирующим введением коразола на 31,0% ( $P < 0,05$ ) и не отличалось от такового у интактных животных ( $P > 0,05$ ). В то же время содержание ФХ было больше, чем в группе крыс с применением одной только КД - на 33,2% ( $P < 0,05$ ). Также большим, чем крыс данной группы было содержание цитохрома P450- на 34,1%, содержание цитохрома  $b_5$ - на 33,3% и активность амидопирин-N-деметилазы- на 54,8% ( $P < 0,05$ ). Содержание же цитохрома P420 было меньше, чем у крыс с применением одной только КД на 40,7% ( $P < 0,05$ ). Таким образом, соотношение P450/P420 составляло в данных условиях лечения 3,5. Важно отметить, что показатели содержания цитохрома  $b_5$ , активности амидопирин-N-деметилазы и анилин-п-гидроксилазы оставались более низкими, чем в группе интактных животных (соответственно на 15,6%, 22,7% и 29,4%) ( $P < 0,05$ ) (табл.).

Таким образом, полученные результаты показывают, что в условиях воспроизведения хронической формы эпилептического синдрома у крыс отмечается формирование нарушений со стороны микросомальной функции печени, свидетельствующее о ее токсическом поражении. Так, у животных с киндлинговыми генерализованными судорогами, которым перед исследованием функции печени проводили тестирующее введение коразола, наблюдалось усиление выраженности нарушений со стороны печени в сравнении с теми нарушениями, которые отмечали у киндлинговых животных в отсутствие применения коразола. Подобные различия могут объясняться как непосредственным действием коразола, так и тем, что перерыв во введениях эпилептогена при киндлинге обеспечивает развитие состояния резистентности животных, т.е. сопровождается глубокими пластическими изменениями со стороны нейрональных структур головного мозга. Выявленное в исследовании сохранение нарушенных в связи с развитием хронического эпилептического синдрома функций гепатоцитов можно рассматривать в качестве составляющего патогенетического звена системных нарушений, характерных для киндлинг- синдрома [2, 4]. Можно полагать, что в основе формирования расстройств функции паренхимы печени при развитии хронической эпилептической активности может находиться повышение тонуса эндогенной системы провоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-1-бета, обеспечивающего развитие стрессорного реактивного гепатита [1]. Причем, выявленное при киндлинге повышение уровня анилин-п-гидроксилазы также свидетельствует в пользу формирования эндогенных токсикантов гепатотропного действия.

Применение КД нормализовало общее содержание микросомальных фосфолипидов, уровень ЛФХ незначительно возрастал. Кроме того, наблюдалось сохранение в микросомах животных функционально активного цитохрома P-450, а также существенное повышение активности амидопирин-N- деметилазы и анилин-n-гидроксилазы, имело место увеличение количества цитохрома b<sub>5</sub>. Следует подчеркнуть, что, по-видимому, развитие подобных протекторных эффектов под влиянием КД связано с оптимизацией обмена фосфолипидов, поскольку при интоксикации прооксидантами, образующими электрофильные метаболиты, для защиты цитохрома P-450 от инактивации определяющее значение имеет способность препаратов поставлять в мембрану ЭПР фосфолипиды для защиты поврежденных молекул [3]. Менее существенно участие фосфолипидов в восстановлении деятельности амфипатического компонента микросомальной монооксигеназной системы — цитохрома b<sub>5</sub> [3]. По – видимому, для осуществления эффектов КД в отношении паренхимы печени реализуются различные механизмы, которые включают также коррекцию обмена липидов, в частности повышают уровень омега-3-ненасыщенных ВЖК, обладающих противоэпилептическим действием [8]. Однако в механизмах гепатопротекторного действия КД, возможно, находится его способность оказывать противовоспалительные эффекты, в том числе за счет снижения образования цитокинов, действие которых осуществляется на уровне паренхимы печени [1]. Данный механизм тем более вероятен, поскольку эффекты КД в отношении реверсии киндлинг-индуцированных нарушений печени усиливались под влиянием ПТФ.

#### Выводи

1. Формирование хронического киндлингового эпилептического синдрома характеризуется нарушениями микросомальной функции печени, проявляющееся в снижении уровня фосфолипидов, цитохрома P-450, снижении монооксигеназной активности.
2. Применение КД у киндлинговых животных способствует восстановлению киндлинг- провоцированных нарушений функций печени. Эффекты КД усиливаются под влиянием пентоксифиллина.

#### Литература

1. Интерлейкин 1β-зависимый механизм развития неспецифического реактивного гепатита при стрессе / О.Б. Цейликман, В.Э. Цейликман, А.И. Синицкий и соавт. //Цитокины и воспаление.- 2011.- Т. 10, № 1.- С. 24–26.
2. Моделирование и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома/ Л.С.Годлевский, Е.В.Кобелев, В.Ф.Мустяца, Г.А.Дроздова // Одесса: КП ОГТ.- 2010.- 350 с.
3. Саратиков А.С. Влияние гепатопротекторов, содержащих фосфолипиды, на зависимую от цитохрома P-450 антиоксисекую функцию печени при экспериментальном токсическом гепатите/ А.С.Саратиков, А.И.Венгеровский //Бюл. Экспер. Биол. 1999.- Т.127,№4.- С.392-394.
4. Шандра А.А. Киндлинг и эпилептическая активность/ А.А.Шандра, Л.С.Годлевский, А.И.Брусенцов // Одесса: Астропринт.-1999.- 272 с.
5. Bough K.J. Anticonvulsant mechanisms of the ketogenic diet/ K.J.Bough, J.M.Rho // Epilepsia.- 2007.- Vol.48,N1.- P.43-58.
6. Effects of pentoxifylline on TNF-α production by peripheral blood mononuclear cells in patients with nonalcoholic steatohepatitis/ D.G.Duman, F.Ozdemir, E.Birben, et al.// Digestive Diseases and Sciences.- 2007.- Vol.52, N10.- P.2520-2524.
7. Plasma phospholipid fatty acids are influenced by a ketogenic diet enriched with n-3 fatty acids in children with epilepsy/ M.Dahlin, L.Hjelte, S.Nilsson, P.Amark// Epilepsy Res.- 2007.- Vol.73,N2.-P.199-207.
8. Taha A.Y. Polyunsaturated fatty acids and epilepsy/ A.Y. Taha, W. M. Burnham, S.Auvin// Epilepsia.- 2010.- Vol.51,N8.-P.1348-1358.
9. Tekgul H. Serum lipid profile in children receiving anti-epileptic drug monotherapy: is it atherogenic?/ H.Tekgul, N.Demir, S.Gokben // J.Pediatr. Endocrinol. Metab.- 2006.- Vol.19,N9.-P.1151-1155.

#### Рефераты

##### ОСОБЛИВОСТІ МІКРОСОМАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ ПЕЧКИ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ ЕПІЛЕПТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЛІКУВАННЯ Полясний В.О.

За умов хронічного експерименту на щурах лінії Вістар, у яких відтворювали кіндлінг застосуванням коразолу (25,0 мг/кг, в/очер) показано виразні порушення активності цитохрому P450, зменшення співвідношення P450/P420, зниження активності цитохрому b<sub>5</sub>. Відмічено порушення обміну фосфоліпідів. Кетогенна дієта та пентоксифілін (50,0 мг/кг, в/очер) викликали нормалізацію загального вмісту микросомальних фосфоліпідів, зростав рівень лізофосфатиділхоліну. Спостерігалось збереження в микросомах тварин функціонально активного цитохрому P-450, а також суттєве підвищення активності амідопирин-N- деметилази і анілін-n-гидроксилази. Крім того, мало місце збільшення кількості цитохрому b<sub>5</sub>.

**Ключові слова:** кіндлінг, кетогенна дієта, фосфоліпіді, печінка.

Стаття надійшла 20.01.2012 р.

##### PECULIARITIES OF MICROSOMAL FUNCTION OF LIVER UNDER CONDITIONS OF CHRONIC EPILEPTIC ACTIVITY INDUCTION AND EXPERIMENTAL TREATMENT Polyasny V.A.

Under conditions of chronic experiment on Wistar rats with corazol- induced (25.0 mg/kg, i.p.) kindling the pronounced disturbances of the activity of cytochrom P450 were registered. Besides, the ratio of P450/P420 was decreased, and the activity of cytochrom b<sub>5</sub> was decreased. The disturbances in the phospholipids turnover were observed as well and these manifestations were more pronounced in postponed kindling and subthreshold corazol administration. Ketogenic diet and pentoxifyllin (50.0 mg/kg, i.p.) administration normalized the general content of microsomal phospholipids, and the enhanced the level of lyzophosphatidilcholine. The preservation of functional activity of cytochrom P450 as well as significant increasing of amidopirin-N- demethylase and anylin-n- hydroxylase activities were observed as well. Besides, the increasing of cytochrom b<sub>5</sub> was registered.

**Key words:** kindling, ketogenic diet, pentoxifyllin, phospholipids, liver.