

2. Зиматкин С. М., Бонь Е. И. // Динамика цитохимических изменений в цингулятной коре мозга крыс, подвергавшихся антенатальному воздействию алкоголя/ Новости медико-биологических наук. – 2016. – Т. 13, № 1. – С. 17-22.
3. Карнюшко О. А., Зиматкин С. М. // Нарушения морфогенеза коры мозжечка потомства крыс с экспериментальным холестазазом и их коррекция /Весці НАН Беларусі. Серыя мед. навук. – 2015. – № 3. – С. 95–101.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ В ПРИСУТСТВИИ КВЕРЦЕТИНА И КОМПЛЕКСА КВЕРЦЕТИН-НР- β -CD

*Ильич Т. В., Коваленя Т. А., Лапшина Е. А., Заводник И. Б.
УО «Гродненский государственный университет имени Янки
Купалы»*

Актуальность. В настоящее время различные полифенолы исследуются повсеместно как «био корректоры», способные препятствовать развитию неблагоприятных, патогенетических процессов. Одним из наиболее изученных флавоноидов является кверцетин (3,3',4',5,7-пентагидроксифлавоноид) – представитель семейства флавоноидов, обладающий 3-гидроксифлавоновым скелетом. Данный флавоноид обладает противовоспалительной, антиаллергенной, антиоксидантной и противоопухолевой активностями, содержится в луке, яблоках, зеленом и черном чае [7]. Тем не менее, его применение затруднено его плохой растворимостью в воде (около 1 мкг/мл) и низкой биодоступностью [2]. В связи с этим использование циклодекстринов как молекулярных контейнеров доставки биологически активных веществ направлено в первую очередь на повышение качества получаемых препаратов и их функциональности.

Целью нашего исследования является создание супрамолекулярного комплекса включения кверцетина и НР- β -CD, сравнительная оценка протекторных свойств кверцетина и комплекса кверцетин-НР- β -CD.

Методы исследования. Комплекс включения кверцетин-НР- β -CD был получен суспензированием кверцетина (151 мг) и НР- β -CD (770 мг) в 96 %-ом этаноле (150 мл) [4]. Исследование фазовой

растворимости полифенолов и циклодекстринов проводили по методу Higuchi и Connors [3]. Избыточное количество полифенолов добавляли к водному раствору, содержащему β -CD или HP- β -CD в диапазоне концентраций 0–16 мМ, рН 6,8; Т 298 К. Образцы хранили в темноте при комнатной температуре в течение 72 часов, затем центрифугировали при 13500 g 10 мин при комнатной температуре. Константа ассоциации (K_s) комплекса включения рассчитывалась по формуле:

$$K_s = \frac{\text{slope}}{S^0 * (1 - \text{slope})} \quad (1),$$

где S^0 – растворимость кверцетина в отсутствие циклодекстрина при 25 °С, slope – угол наклона калибровочной линии.

Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования [5]. Мембранный потенциал митохондрий измеряли спектрофлуориметрически с помощью положительно заряженного липофильного флуоресцентного зонда сафранина О [1]. Флуоресценцию сафранина О возбуждали при длине волны $\lambda_{\text{ex}}=495$ нм и регистрировали при длине волны $\lambda_{\text{em}}=586$ нм на спектрофлуориметре Solar CM 2203 (Беларусь). Содержание белка в суспензии митохондрий составляла 0,315 мг/мл, концентрация сафранина О – 8 мкМ. Исследование процесса формирования пор высокой проницаемости митохондрий печени крыс осуществляли при 25 °С в среде содержащей, 0,005 М сукцината, 0,25 М сахарозы, 0,02 М Трис-НСl, 0,001 М KH_2PO_4 , рН 7,4. Концентрация белка в пробе составляла 0,5 мг/мл. Набухание митохондрий определяли, измеряя изменение оптической плотности суспензии митохондрий во времени при длине волны 520 нм [6].

Результаты и их обсуждение. Молярный коэффициент экстинкции (ϵ) флавоноида определили, измеряя оптическую плотность водных растворов кверцетина в диапазоне концентраций ($6,5 \cdot 10^{-6}$ – $5,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л) при $\lambda_{\text{max}}=377$ нм, его значение составило $\epsilon=3940,2 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Далее определили растворимость кверцетина в присутствии различных концентрациях HP- β -CD (0–16 мМ) (рисунок 1).

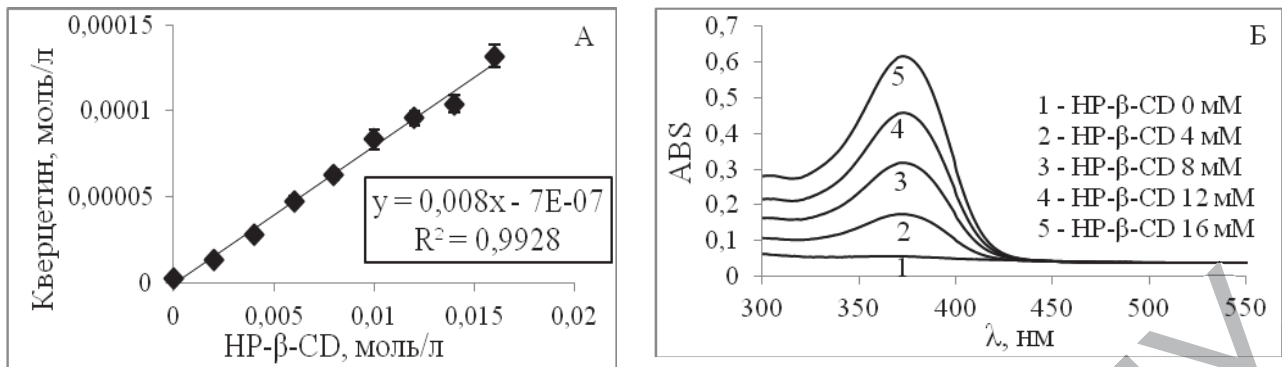
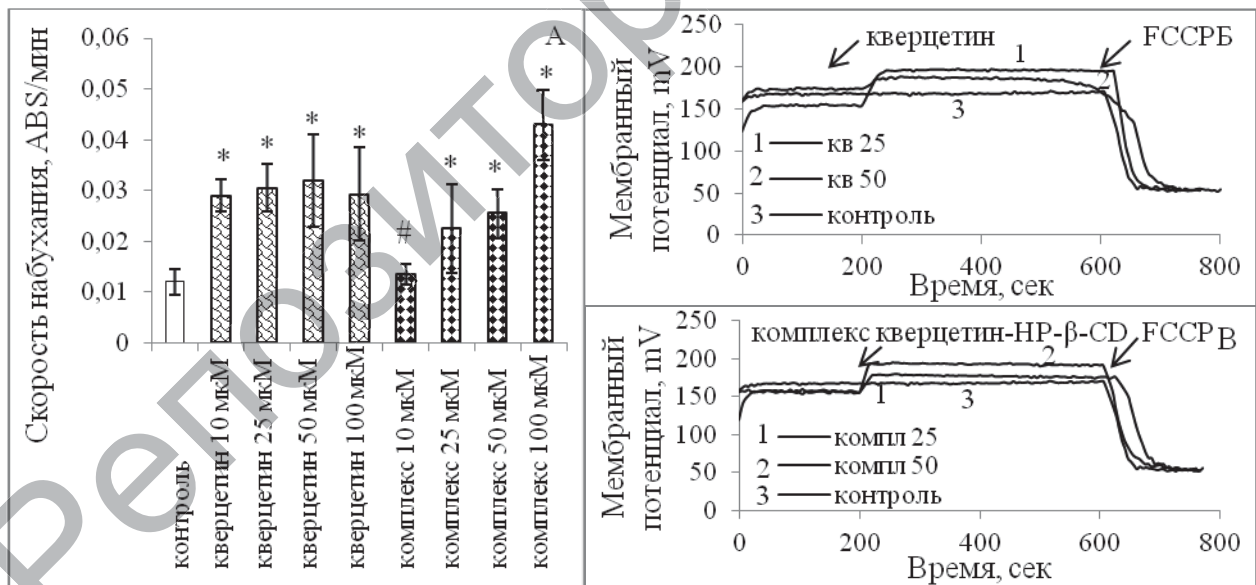


Рисунок 1 – Зависимость растворимости кверцетина от концентрации HP-β-CD (А. Фазовая растворимость кверцетина в водном растворе HP-β-CD; Б. Спектры поглощения кверцетина в отсутствие (1) и в присутствии (2-5) HP-β-CD при 298 К, диапазон концентраций HP-β-CD 0-16 мМ.)

Растворимость кверцетина линейно возрастает при увеличении концентрации HP-β-CD. При концентрации HP-β-CD 16 мМ, растворимость кверцетина возросла более чем в 50 раз. Рассчитанная нами константа ассоциации комплексообразования равна $K_s = 3275 \pm 448 \text{ M}^{-1}$.



* - достоверно по отношению к контролю ($p < 0,05$); # - достоверно концентрация комплекса по отношению к соответствующей концентрации кверцетина

Рисунок 2 – Набухание митохондрий (А) и мембранный потенциал митохондрий в присутствии кверцетина (Б) и комплекса кверцетин-HP-β-CD (В)

Также мы оценили эффект кверцетина и комплекса кверцетин-HP-β-CD на процесс формирования пор высокой проницаемости и стабильность мембранного потенциала (рисунок 2). Внесение в суспензию митохондрий кверцетина (10-100 мкМ) стимулирует набухание митохондрий (рисунок 2А), при этом незначительная диссипация мембранного потенциала наблюдается только в присутствии кверцетина (50 мкМ) (рисунок 2Б). Внесение в суспензию митохондрий комплекса кверцетин-HP-β-CD (10-100 мкМ) не значительно стимулирует набухание митохондрий по сравнению с самим кверцетином (рисунок 2А), при этом мембранный потенциал не изменяется (рисунок 2В).

Выводы. Константа ассоциации комплекса кверцетин-HP-β-CD равна $K_s 3275 \text{ M}^{-1}$, растворимость кверцетина возрастает в 50 раз при концентрации HP-β-CD 16 мМ, что свидетельствует о формировании стабильного комплекса включения.

Кверцетин (50 мкМ) вызывает незначительное ингибирование и разобщение процессов потребления кислорода и окислительного фосфорилирования, а также приводит к образованию пор МРТ и рассеянию потенциала в среде без ЭДТА, вероятно, из-за наличия эндогенного кальция в среде (рисунок 2А). Комплекс кверцетин-HP-β-CD не оказал влияния на стабильность мембранного потенциала, следовательно, не вызывает открытия МРТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Akerman, K.E.O. Safranin as a probe of the mitochondrial membrane potential / K.E.O. Akerman, M.K.F. Wikström // FEBS Lett. – 1976. – Vol. 6, № 2. – P. 191–197.
2. Chen, X. Pharmacokinetics and modeling of quercetin and metabolites / X. Chen, O.Q. Yin, Z. Zuo, M.S. Chow // Pharm. Res. – 2005. – Vol. 22. – P. 892-901.
3. Higuchi, T. Phase solubility techniques / T. Higuchi, K.A. Connors // Adv. Anal. Chem. Instr. – 1965. – Vol. 4, № 2. – P. 117–212.
4. Investigation of properties and structural characterization of the quercetin inclusion complex with (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin / I.M. Savic [et al.] // Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry. – 2015. – Vol. 82. – P. 383-394.
5. Johnson, D. Isolation of liver or kidney mitochondria / D. Johnson, H.A. Lardy / Meth. Enzymol. – 1967. – Vol. 10. – P. 94–101.

6. Physiological effectors modify voltage sensing by the cyclosporine A-sensitive permeability transition pore of mitochondria / V. Petronilli [et al.] // J. Biol. Chem. – 1993. – Vol. 268, № 29. – P. 939–945.
7. Quercetin: Dietary sources, functions and health benefits / M.T. Mercader-Ros [et al.] // Nova Science Pub Inc. – 2012. – P. 179-198.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ОТВЕТА АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГОВ НА ГЛЮКОКОРТИКОИДЫ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

*Кадушкин А. Г., Таганович А. Д., Арабей А. А., Шишло Л. М.
УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

Актуальность. Ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС) являются основными противовоспалительными препаратами, используемыми для лечения ХОБЛ. Однако их эффективность при лечении этого заболевания ограничена. Сообщают об отсутствии их влияния на прогрессирование снижения дыхательной функции легких при ХОБЛ. Вместе с тем, они могут облегчить состояние части пациентов с более выраженной ХОБЛ и частыми обострениями [1]. Поэтому выяснение индивидуальной чувствительности к ИГКС у пациентов с ХОБЛ приобретает принципиальный характер. От решения этого вопроса зависит тактика проводимого лечения. Безрезультатное длительное использование ИГКС способно приводить к развитию остеопороза, пневмонии. В связи с этим нечувствительным к ИГКС пациентам целесообразно проведение альтернативной терапии [2].

Цель. Целью настоящего исследования явилось, используя альвеолярные макрофаги, определить степень вариабельности ответа на глюкокортикоиды у пациентов с ХОБЛ.

Методы исследования. В исследовании приняли участие 45 пациентов (39 мужчин и 6 женщин), которым выполнялась бронхоскопия. Средний возраст обследуемых составил 61,0 (55,0–69,0) лет. Все пациенты с ХОБЛ имели индекс курения более 10 пачек/лет.

Критерии включения пациентов с ХОБЛ в исследование: среднетяжелая и тяжелая степень тяжести (по GOLD), возраст