

с контрольной группой ( $p=0,247997$ ) и группой с ИРП ( $p=0,4008$ ). Активность КФ была более высокой в периферической части долек. Ярче окрашивались билиарные полюсы гепатоцитов, т.е. центр печеночной балки. Активность КФ в гепатоцитах контрольных животных составила 0,98 единиц оптической плотности. Моделирование ИРП у крыс 2-й группы приводило к снижению активности КФ на 21,4% ( $p<0,05$ ) по отношению к контрольным животным. При ИРП использование гидросульфида натрия способствовало повышению активности КФ по сравнению со 2-й группой на 10,4% ( $p<0,05$ ), хотя по сравнению с контролем активность КФ оставалась пониженной на 13,3% ( $p<0,05$ ).

Полученные данные свидетельствуют, что у крыс в конце реперфузионного периода происходит усиление процессов аэробного окисления сукцината в митохондриях при сохранении высокой скорости переноса электронов с НАДН на убихинон. Вместе с тем, снижение активности ЛДГ указывает на падение доли анаэробного гликолиза в энергетическом обеспечении гепатоцитов при реперфузии. Одновременно, падение активности КФ отражает недостаточность процессов аутофагии, направленных на удаление поврежденных мембран и органелл в гепатоцитах в постишемическом периоде. Использование гидросульфида натрия при ИРП у крыс способствует усилению аэробных процессов в цикле Кребса и улучшению энергообеспечения гепатоцитов при синдроме ИРП у крыс. Вместе с тем, повышение активности КФ у животных 3-й группы свидетельствует о нарастании процессов аутофагии в гепатоцитах под воздействием донатора сероводорода, что может рассматриваться как повышение механизмов внутриклеточной защиты в условиях моделирования реперфузионного синдрома на печени крыс.

Таким образом, использование гидросульфида натрия при моделировании ишемии-реперфузии печени у крыс способствует усилению процессов аэробного окисления в цикле Кребса, улучшению энергообеспечения гепатоцитов и повышению механизмов их внутриклеточной защиты.

## **СУПЕРОКСИДИСМУТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПИЩЕВОЙ ЖЕЛЕЗЕ (ПЕЧЕНИ) МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS* ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОЙ ОСТРОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ**

**Шаденко В. Н., Сидоров А.В.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь  
*sidorov@bsu.by*

Постоянство внутренней среды организма – одно из условий нормального протекания многих физиологических процессов. Патологические состояния, ассоциируемые с возрастанием уровня глюкозы в межклеточной среде (метаболический синдром, сахарный диабет и т.п.), выступают в качестве основных причин преждевременной гибели индивидуума. С определённых

позиций, изменение постоянства уровня глюкозы можно рассматривать и как стрессовый фактор, потенциально способный оказать влияние на функциональную активность самых разных систем организма. Зачастую речь идёт о резких, кратковременных изменениях концентрации глюкозы в интерстиции, вызванных, например, массовым её поступлением в организм в ходе потребления высокоэнергетических пищевых субстратов. Подобный тип реакции отмечен и для беспозвоночных (моллюсков) [1]. В свою очередь развитие стресса ассоциируется с нарушением антиокислительного статуса тканей организма.

В этой связи представлялось интересным оценить отсроченные эффекты острого гипергликемического стресса в отношении активности одного из ключевых ферментов антиокислительной защиты (супероксиддисмутаза, СОД), в клетках печени моллюска *Lymnaea stagnalis*.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на представителе пресноводных легочных моллюсков – прудовике обыкновенном (*Lymnaea stagnalis*). В лаборатории животные содержались в аквариумах объемом 4 л (по 5 особей в каждом), при температуре воды 20-22°C и свободном доступе к пище.

Перед началом экспериментов, животных опытной группы инкубировали в 100 мМ растворе глюкозы (приготовлен на основе отстоявшейся водопроводной воды) в течение 2 ч. Животные контрольной группы находились указанное время в аналогичных по объёму аквариумах с «чистой» водой. После этого моллюсков обеих групп переносили в аквариумы с чистой водой. Пробы гемолимфы получали по окончании инкубации в растворе глюкозы и спустя 24 ч после её окончания. Для этого проводили сильную тактильную стимуляцию ноги моллюска, сопровождавшуюся выбросом части гемолимфы. Концентрацию глюкозы определяли глюкозооксидазным методом, спектрофотометрическое определение на 520 нм (Cary 50, Variant Inc., Австралия).

По прошествии суток после 2-часовой инкубации животных в растворе глюкозы, выделяли печень индивидуально от каждого моллюска, пробы замораживали и хранили при минус 28°C, используя по мере необходимости. Гомогенаты готовили на основе холодной (4°C) дистиллированной воды. Активность СОД (КФ 1.15.1.1.) определяли спектрофотометрическим методом, основанным на оценке скорости аутоокисления флавоноида кверцетина [2] на длине волны 406 нм (длина оптического пути 1 см), в двух повторах для каждой пробы. Объём анализируемого материала – 100 мкл, в контрольной пробе – 100 мкл дистиллированной воды. Предварительно 200 мкл полученного 5% гомогената подвергали центрифугированию (5 минут при 1000 об/мин). Затем отбирали 100 мкл супернатанта, разводили его 10-кратно и центрифугировали (5 минут при 1000 об/мин). Вновь отобранные 100 мкл супернатанта использовали для анализа. Результат выражали в единицах активности фермента на мл гомогената.

Данные представлены в виде медианы (25 и 75 процентиля) или среднего  $\pm$  ошибка среднего. Достоверность различий оценивали при помощи *U*-критерия Манна-Уитни (непараметрическое распределение) или *t*-критерия Стьюдента (нормальное распределение).

**Результаты и их обсуждение.** Анализ концентрации глюкозы в гемолимфе *Lymnaea stagnalis* показал её многократный (более чем в 20 раз) рост у животных сразу после нахождения в 100 мМ растворе глюкозы – с 0,20 (0,16; 0,26) мМ (контроль) до 6,12 (4,13; 7,99) мМ (опыт) соответственно ( $p < 0,001$ ). Вместе с тем, по прошествии одних суток после 2-х часовой инкубации животных в экспериментальном растворе, статистически достоверных различий в уровне глюкозы в гемолимфе выявлено не было ( $p > 0,05$ ). Значения составили:  $0,15 \pm 0,02$  и  $0,14 \pm 0,02$  мМ для контрольной ( $n = 36$ ) и опытной ( $n = 36$ ) групп, соответственно, и фактически равнялись «нормативным» для интактных особей. Статистически значимых различий в активности СОД в отношении препаратов печени, полученных от животных опытной и контрольной групп ( $p > 0,05$ ), также не обнаружено (таблица).

Таблица – Влияние 2-часовой инкубации в 100 мМ растворе глюкозы на супероксиддисмутазную активность в клетках печени *Lymnaea stagnalis*

Биохимический показатель	Экспериментальная группа	
	контроль ( $n = 32$ )	глюкоза ( $n = 28$ )
Активность СОД, У/мл	$32,6 \pm 1,1$	$33,6 \pm 1,6$

Усиление метаболической активности, связанное с увеличением продукции АТФ в митохондриях, приводит к увеличению концентрации активных форм кислорода, исходной формой которых является супероксид анион, – основная мишень действия СОД [3]. Тем не менее, полученные данные не позволяют сделать вывод о возрастании прооксидантной активности в тканях пищеварительной железы (печени) *Lymnaea stagnalis* в условиях острого гипергликемического стресса.

#### Литература

1. Karanova M.V. Seasonal variation in the content of free reducing sugars in body fluids of freshwater mollusk *Lymnaea stagnalis* // Biology Bulletin. – 2006. – Vol. 33. – P. 382-386.
2. Kostyuk V.A., Potapovich A.I. Superoxide-driven oxidation of quercetin and a simple assay for determination of superoxide dismutase // Biochem. Int. – 1989. – Vol. 19. – P. 1117-1124.
3. Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species // J. Physiol. – 2003. – Vol. 552. – P. 335-344.