

АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЕЛЕНООРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ 1,5-ДИ-(М-НИТРОФЕНИЛ)-3-СЕЛЕНАПЕНТАДИОН-1,5

Русецкая Н.Ю.¹

¹ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия (410012, г. Саратов, ГСП ул. Большая Казачья, 112), e-mail: rusetskayanu@yandex.ru

В статье представлены результаты влияния селеноорганического соединения 1,5-ди-(п-хлорфенил)-3-селенапентандион-1,5 на свободнорадикальное окисление, антиоксидантный статус, функциональное состояние тканей и отдельные стороны обмена веществ у белых беспородных мышей. Данное соединение, с одной стороны, оказывало небольшое нефротоксическое действие (за счет повышения концентрации креатинина в плазме крови), а с другой - обладало антиоксидантной активностью в тканях белых мышей, в первую очередь в мозге и легких. Наименьшая антиоксидантная активность исследованного соединения обнаружена в клетках печени и почек, поскольку в печени происходит детоксикация ксенобиотиков, а почки участвуют в их выведении. Селеноорганическое соединение обладало высокой антиоксидантной активностью, что выражалось в значительном снижении реакций перекисного окисления липидов в мозге, легких, эритроцитах и плазме крови.

Ключевые слова: селеноорганическое соединение, селен, свободнорадикальное окисление, антиоксидантный статус, обмен веществ.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF SELENORGANIC COMPOUND 1,5-DI-(M-NITROPHENYL)-3-SELENAPENTADION-1,5 ANALYSIS

Rusetskaya N.Y.¹

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, Russia (410012, Saratov, B. Kazachya St., 112), e-mail: rusetskayanu@yandex.ru

In work was studied the action of selenoorganic compound 1,5-di - (p-chlorphenil)-3-selenapentandion-1,5 on free radical oxidation, antioxidant status, functional state of tissues and metabolic processes at white not purebred mice. The given compound, on the one hand, had a small nephrotoxic effect (increased concentration of creatinine in blood plasma testifies about it), and, with another, compound possessed antioxidant activity in tissues of white mice, first of all, in a brain and lungs. The least antioxidant activity of the investigated compound is found in a liver and kidneys as xenobiotic detoxification occurs in a liver, and kidneys excrete the xenobiotics. Selenoorganic compound possessed high antioxidant activity that was expressed in considerable decrease in reactions the lipid peroxidation in a brain, lungs, erythrocytes and blood plasma.

Keywords: selenoorganic compound, selen, free radical oxidation, antioxidant status, metabolism.

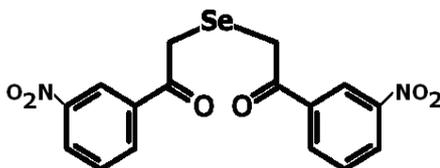
В настоящее время в связи с распространением селенодефицитных состояний проводится синтез и изучение биологической активности селеноорганических соединений. Для лечения и профилактики селенодефицита у сельскохозяйственных животных и птиц применяется селеноорганический препарат ДАФС-25, для которого установлена антиоксидантная, антитоксическая и иммуномодулирующая активность [1; 3; 8]. Ранее установлено антиоксидантное и антитоксическое действие препарата ДАФС-25 и его производных [8; 9].

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение влияния 1,5-ди-(п-хлорфенил)-3-селенапентандион-1,5 на свободнорадикальное окисление, антиоксидантный

статус, функциональное состояние тканей и отдельные стороны обмена веществ у белых беспородных мышей.

Материалы и методы

В работе использовали селеноорганическое соединение 1,5-ди-(*m*-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5 (соединение 1), которое растворяли в растительном масле (рис. 1). Соединение любезно предоставлено д.х.н., профессором Б.И. Древко.



Соединение 1

Рис. 1. Соединение 1 - 1,5-ди-(*m*-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5

Эксперимент проводили на самцах белых беспородных мышей возрастом 2 месяца и массой 20 г. Каждая группа мышей включала 7 животных. Животным первой группы (контроль) вводили *per os* растительное масло в количестве 10 мкл. Животным опытной группы вводили *per os* соединение 1 в количестве 10 мкл, с дозой 800 мкг/кг. Эксперимент проводили в течение 14 дней. Все работы с лабораторными мышами проводили согласно принципам гуманного отношения к животным в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). Кровь собирали в пробирку с гепарином. Состояние здоровья животных оценивалось по основным биохимическим показателям плазмы крови, а также показателям свободнорадикального окисления и антиоксидантного статуса. Биохимический анализ включал определение в сыворотке крови активности ферментов (γ -глутамилтрансферазы (ГГТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспаратаминотрансферазы (АсАТ)), состояния белково-образующей функции печени (альбумин, общий белок) и мочевыделительной системы (креатинин, мочевины), а также определение концентрации глюкозы и холестерина. Для проведения клинико-лабораторного исследования сыворотки крови опытных животных использовали полуавтоматический анализатор Hospitex Screen master plus с использованием стандартных наборов реактивов фирмы ЗАО «Диакон ДС» (Россия). Для оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантного статуса в цельной крови определяли активность фермента глутатионпероксидазы (ГПО) на полуавтоматическом анализаторе Hospitex Screen master plus с использованием наборов реактивов фирмы Randox (UK). После центрифугирования цельной крови получали плазму крови и эритроциты. Гомогенаты печени, почек, мозга и легких готовили путем

гомогенизации с использованием фосфатного буфера. В плазме, гемолизате эритроцитов и гомогенаты тканей определяли активность ферментов супероксиддисмутазы (СОД) [2] и каталазы [4], а также содержание диеновых конъюгатов (ДК) [5] и малонового диальдегида (МДА) [6]. Определение проводили на фотоэлектроколориметре КФК-3.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли на персональном компьютере при помощи программы Microsoft Office Excel. Большинство данных не удовлетворяют закону нормального распределения случайной величины, поэтому для сравнения значений использовали *T*-критерий Манна-Уитни, на основании которого оценивали уровень доверительной вероятности $1-\alpha$ (комплементарная ей величина α называется уровнем значимости). Критический уровень доверительной вероятности при проверке статистических гипотез принимали равным $1-\alpha=0,95$ (критический уровень значимости $\alpha=0,05$), что соответствует показателю достоверности p [7].

Результаты и их обсуждение

Результаты биохимического анализа плазмы крови мышей представлены в таблице 1.

Таблица 1. Биохимические показатели плазмы крови мышей

Показатель	Группы животных	
	Контрольная	Опытная
Глюкоза, ммоль/л	3,71±1,03	1,96±0,15
Общий белок, г/л	69,58±3,88	75,68±2,44
Альбумин, г/л	32,94±3,01	31,84±1,41
Креатинин, мкмоль/л	36,38±3,74	58,92±4,85*
Мочевина, ммоль/л	3,97±0,675	4,86±0,15
Холестерин, ммоль/л	1,34±0,15	1,35±0,17
АлАТ, МЕ	44,81±8,25	59,28±9,45
АсАТ, МЕ	101,13±11,28	168,14±11,51*
ГГТ, МЕ	14,36±1,25	16,42±1,79

* - $P<0,05$

Согласно полученным результатам, селеноорганический препарат не оказывал значительного токсического действия на организм экспериментальных животных. Однако можно отметить увеличение активности АсАТ на 66,3% и увеличение концентрации креатинина плазмы крови на 61,9% у мышей опытной группы ($P<0,05$) (табл. 1).

В нашей работе для оценки влияния селеноорганического препарата на свободнорадикальное окисление и антиоксидантный статус проводилось изучение содержания диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) и активности антиоксидантных ферментов: каталазы и СОД в плазме крови и гемолизате эритроцитов,

гомогенатах органов (печени, почек, мозга и легких), а также активности ГПО в цельной крови.

Под действием соединения 1 у экспериментальных животных снижалась концентрация МДА в гемолизате эритроцитов (63,1%), плазме (62,5%), гомогенатах мозга (48,9%) и легких (22,4%), а также концентрация ДК в гомогенате мозга (24,3%). Следует отметить лишь незначительное увеличение содержания ДК в гомогенате почек на 24,3% (табл. 2).

Таблица 2. Антиоксидантные показатели у мышей контрольной и опытной групп

Исследуемый показатель		Эритроциты	Плазма крови	Гомогенаты тканей			
				печени	мозга	легких	почек
ДК, ммоль/л	Контрольная группа	1,64± 0,06	0,65± 0,01	4,19± 0,47	6,88± 0,32	11,59± 0,92	3,35± 0,19
	Опытная группа	1,74± 0,08	0,73± 0,04	4,87± 0,26	5,21± 0,27*	13,13± 0,17	4,51± 0,18*
МДА, ммоль/л	Контрольная группа	0,84± 0,05	0,08± 0,02	3,36± 0,03	7,97± 0,18	3,88± 0,14	2,03± 0,23
	Опытная группа	0,31± 0,02*	0,03± 0,002*	3,69± 0,43	4,07± 0,19*	3,01± 0,22*	1,74± 0,28
Каталаза, ммоль/ (мин·л)	Контрольная группа	0,31± 0,03	0,13± 0,01	0,04± 0,003	0,03± 0,002	0,01± 0,001	0,04± 0,01
	Опытная группа	0,97± 0,07*	0,32± 0,03*	0,17± 0,01*	0,04± 0,003*	0,05± 0,01*	0,07± 0,01*
СОД, усл. ед.	Контрольная группа	1291,67± 89,5	1121,31± 112,5	1436,16± 84,3	895,33± 83,5	3121,76± 142,2	1806,83± 71,9
	Опытная группа	18333,33 ± 1102,2*	2954,67± 153,6*	3422,86± 145,6*	1591,87± 46,7*	4511,67± 263,4*	3551,67± 172,3*

Примечание: * - $p < 0,05$.

Антиоксидантное действие селеноорганического соединения также характеризовалось увеличением активности ферментов каталазы, СОД и ГПО. Активность каталазы возрастала в гемолизате эритроцитов (на 213%), плазме (146%), гомогенатах печени (325%), мозга (33,3%), легких (400%) и почек (75%).

Активность СОД также значительно возрастала во всех исследованных образцах крови и тканей: в гемолизате эритроцитов (в 14 раз), плазме (на 163,5%), гомогенатах печени (138,3%), мозга (77,8%), легких (44,5%) и почек (96,6%).

У мышей, получавших перорально соединение 1, активность селенозависимой ГПО возрастала на 98,9% по сравнению с контролем (табл. 3).

Таблица 3. Активность глутатионпероксидазы (ГПО) в цельной крови у мышей всех групп

Определяемый показатель	Контрольная группа	Опытная группа
ГПО, ед/ г Нб	365,31 ±13,4	726,52± 33,5*

Примечания: * - $p < 0,05$.

Подводя итог полученным результатам, следует отметить, что исследованное селеноорганическое соединение наиболее эффективно оказывало, с одной стороны, небольшой нефротоксический эффект (за счет повышения концентрации креатинина в плазме крови), а с другой - обладало антиоксидантной активностью в тканях белых мышей, в первую очередь в мозге и легких. Наименьшая антиоксидантная активность исследованных соединений обнаружена в клетках печени и почек, поскольку в печени происходит детоксикация ксенобиотиков, а почки участвуют в их выведении.

Селеноорганическое соединение обладало высокой антиоксидантной активностью, что выражалось в значительном снижении реакций ПОЛ в мозге, легких, эритроцитах и плазме.

Как было описано ранее [8], выраженная антиоксидантная активность соединения 1,5-ди-(м-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5 обусловлена, как предполагается, освобождением атома селена из соединения и включением его в активный центр главного антиоксидантного фермента ГПО. Освобождение атома селена из этого соединения возможно благодаря разрыхлению связей C-Se в их молекулах. Этому способствуют карбонильные группы в составе исследованных соединений, которые обладают отрицательным индуктивным эффектом и способны оттягивать на себя электроны, приводя к разрыхлению связи C-Se и освобождению атома селена из молекулы. Нитрогруппа в составе препарата 1 способна вызывать разрыхление связи C-Se, т.к. она обладает отрицательным мезомерным эффектом и способна оттягивать на себя электронную плотность в сопряженной системе [8; 10].

Заключение

Учитывая незначительную токсичность и высокую антиоксидантную активность соединения 1,5-ди-(м-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5, можно рекомендовать это соединение для дальнейших исследований с целью создания нового препарата, содержащего селен в биодоступной органической форме.

Список литературы

1. Древяко Б.И., Древяко Р.И., Антипов В.А., Чернуха Б.А., Яковлев А.Н. Средство для лечения и профилактики инфекционных заболеваний и отравлений животных и птиц, повышающее их продуктивность и сохранность : пат. 2171110 Россия. А61К33/04. Заявл. 26.05.1999, № 99111064/13. Оpubл. 27.07.2001. - 8 с. // Изобретения. Полезные модели. - 2001. - Бюл. № 21.
2. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30-33.
3. Комзалова А.В., Ошкина Л.Л., Трифонов Г.А. Влияние селеносодержащих препаратов на морфологические показатели крови быков-производителей // Нива Поволжья. - 2012. - № 4. - С. 75-78.
4. Медицинские лабораторные технологии. Справочник. В 2-х томах / под редакцией А.И. Карпищенко. - СПб. : Интермедика, 1999. - Т. 2. - С. 27-28.
5. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. - М. : Медицина, 1977. - С. 63-64.
6. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. - М. : Медицина, 1977. - С. 66-68.
7. Гланц С. Медико-биологическая статистика / пер. с англ. Ю.А. Данилова; под ред. Н.Е. Бузикашвили, Д.В. Самойлова. - М. : Практика, 1998. - 459 с.
8. Русецкая Н.Ю., Бородулин В.Б., Саратовцев А.В., Бородулин Я.В. Сравнительная антиоксидантная активность селеноорганического соединения диацетофенонилселенид и его нитропроизводного в органах и тканях мышей с различной оксидорезистентностью // Фундаментальные исследования. – 2013. - № 4 (часть 1). - С. 125-129.
9. Русецкая Н.Ю., Дьякова В.И., Чупис В.Н., Древяко Б.И., Емельянова Н.В., Мартыанова В.А., Бородулин Я.В., Бородулин В.Б. Антитоксическое действие селеноорганических соединений при отравлении нитратом свинца самцов белых крыс // Теоретическая и прикладная экология. – 2012. - № 2. – С. 59-65.
10. Тюкавкина Н.А. Биоорганическая химия : учебник для вузов / Н.А. Тюкавкина, Ю.И. Бауков. – М. : Дрофа, 2004. – 544 с.

Рецензенты:

Горошинская И.А., д.б.н., профессор, руководитель биохимической лаборатории ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.

Коннова С.А., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биохимии и биофизики ФГБУ ВПО «Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского» Минобрнауки России, г. Саратов.