

4. Ley R. E. Microbiome ecology: human gut microbes associated with obesity. / Ley R. E., Turnbaugh P. J., Klein S., Gordon J. I. // Nature. 2006; 444 (7122): 1022–1023.

5. Ley R. E. Obesity alters gut microbial ecology/ Ley R. E., Buckhed F., Turnbaugh P. J., Lozupone C. A., Knight R. D., Gordon J. I. // Proceedings of the National Academy Science USA. 2005, Aug 2; 102 (31): 11070–11075.

6. Oida K. Plasma lipoproteins of monosodium glutamate-induced obese rats. / K. Oida, T. Nakai, T. Hayashi [et al.] // International journal of obesity. – 1984. – Vol. 8, No. 5. – P. 385–91.

7. Remely M. Effects of short chain fatty acid producing bacteria on epigenetic regulation of FFAR3 in type 2 diabetes and obesity/ Remely M, Aumüller E, Merold C, Dworzak S, Hippe B, Zanner J, Pointner A, Brath H, Haslberger AG// Gene. 2014 Mar 1;537(1):85-92.

8. Samuel B. S. A humanized gnotobiotic mouse model of host archaeal-bacterial mutualism/ Samuel B. S., Gordon J. I. // Proceedings of the National Academy Science USA. 2006, Jun 27; 103 (26): 10011–10016.

Надійшла до редколегії 08.12.15

А. Польшакова, студ., М. Яшук, студ., І. Прибытко, канд. биол. наук, Т. Фалалеева, д-р биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
Н. Кобыляк, канд. мед. наук
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

ПАРАМЕТРЫ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА ПРИ ГЛУТАМАТ-ИНДУЦИРОВАННОМ ОЖИРЕНИИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ КОРРЕКЦИИ ПРОБИОТИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ ЛАКТОБАЦИЛЛ И БИФИДОБАКТЕРИЙ

Изучено влияние пробиотикотерапии на липидный обмен крыс, которым после рождения вводили глутамат натрия. Ожирение вызывали путем неонатального введения глутамата натрия (4 мг/кг, подкожно) на 2, 4, 6, 8, 10 дни жизни. Введение пробиотиков начинали спустя 4 недели после рождения и продолжали двухнедельными курсами с перерывами в 2 недели. Через 4 месяца у крыс всех групп был проведен анализ содержания холестерина, триглицеридов, липопротеидов высокой плотности, липопротеидов низкой плотности, липопротеидов очень низкой плотности в сыворотке крови. Неонатальное введение глутамата натрия приводило к повышению уровня триглицеридов, холестерина, липопротеидов очень низкой плотности и снижению содержания липопротеидов высокой плотности. Периодическое введение комбинированных пробиотиков предотвращало существенное нарушение липидного обмена у крыс с ожирением гипоталамического генеза. Наиболее значительным эффектом обладают комбинированный пробиотик на основе штаммов *Lactobacillus casei* IMVB-7280, *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB. Периодическое введение пробиотических штаммов бифидобактерий и лактобацилл предотвращает нарушение липидного обмена, вызванного ожирением гипоталамического происхождения.

Ключевые слова: ожирение, обмен веществ, сахарный диабет 2 типа, пробиотики.

A. Polshakova, stud., M. Yaschuk, stud., I. Prybytko, Phd., T. Falalyeyeva, DSc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv. Institute of Biology, Kyiv, Ukraine,
N. Kobylak, Phd.
Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

PARAMETERS OF LIPID METABOLISM IN GLUTAMATE-INDUCED OBESITY IN RATS UNDER CORRECTION PROBIOTIC STRAINS OF LACTOBACILLI AND BIFIDOBACTERIA

To investigate the effect of probiotic strains on lipid metabolism of rats which were administered after the birth of monosodium glutamate. Obesity was induced by neonatal administration of monosodium glutamate (4 mg/g, s.c.) at 2, 4, 6, 8, 10-day life. The introduction of probiotics started at the end of 4 week after birth and continued intermittently for 2-week courses. After 4 months in rats of all groups were identified cholesterol, triglycerides, high density lipoprotein, low density lipoprotein, low density lipoprotein very serum. Neonatal administration of monosodium glutamate leads to an increase of triglycerides, cholesterol, lipoprotein and very low density reduction and high density lipoprotein. Periodic administration of combined probiotics prevented serious violation of lipid metabolism in obese rats with hypothalamic origin. The most significant effect was revealed in the group of animals treated with the combined probiotic strains *Lactobacillus casei* IMVB-7280, *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB. Periodic administration of probiotic bifidobacteria and lactobacilli strains prevents disturbance of lipid metabolism caused by hypothalamic obesity.

Keywords: obesity, metabolism and type 2 diabetes, probiotics.

УДК: 615.2

Ш. Хушматов, канд. биол. наук
Институт биоорганической химии имени Академика А.С. Садыкова, Ташкент, Республика Узбекистан

ДВУХФАЗНЫЙ КАРДИОТРОПНЫЙ ЭФФЕКТ АЛКАЛОИДА АЯЦИНА

В статье рассмотрены механизмы действия дитерпеноидного алкалоида аяцина на ионные каналы сердечной мышцы крысы.

Ключевые слова: папиллярная мышца, алкалоид, инотропия, ионные каналы, саркоплазматический ретикулум.

Введение. Одной из актуальнейших задач современной фармакологии и медицины является создание нового поколения лекарственных средств, обладающих высокоэффективным и высокоселективным терапевтическим действием и не вызывающих серьезных побочных реакций [1].

А также, поиск новых перспективных кардиотропных препаратов, обладающих селективным действием на активность сократительного аппарата кардиомиоцитов, является необходимым условием совершенствования профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний. В этом плане биологически активные соединения растительного и животного происхождения, большинство из которых обладают уникальными фармакологическими свойствами, и веками использовались в народной медицине, считаются наиболее перспективными для этих целей [2].

С этой целью нами было изучено влияние алкалоида аяцина на функциональную активность папиллярной мышцы сердца крысы. Аяцин ($C_{34}H_{48}O_9$), получен из метилликанотина, основного компонента суммы алкалоидов *Delphinium rotundifolium* [3].

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводились в Лаборатории фармакологии при Институте биоорганической химии им. академика А.С. Садыкова АН РУз. Лаборатория располагает необходимым оборудованием и приборами для успешного проведения исследований и тестирования кардиотропных лекарственных препаратов и новых биологически активных веществ. Эксперименты выполнялись в соответствии с "Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных", принятыми Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS) в 1985 г.

Эксперименты проводились на препаратах папиллярной мышцы, выделенных из правого желудочка сердца беспородных половозрелых белых крыс (150–200 гр.), выращенных в условиях вивария лаборатории Фармакологии института Биоорганической химии АН РУз при свободном доступе к пище и воде. После декапитации животных препараты папиллярной мышцы помещались в 4-х экспериментальных вертикально установленных ячейках, типа SI-BAM21-LC (WPI, *World Precision Instruments, Inc. 175 Sarasota Center Boulevard, Florida 34240-9258, USA*) специально изготовленных для фармакологических исследований изолированных мышц в условиях *in vitro* с перфузионным физиологическим раствором Кребса–Хенселята следующего состава (мМ): NaCl 118; KCl 4,7; CaCl₂ 2,5; MgSO₄ 1,2; KH₂PO₄ 1,1; глюкоза 5,5; NaHCO₃ 25, pH=7,4, при температуре +36±0,5°C, что позволяет проводить эксперименты в течение ~8–10 часа без изменения амплитуды сократительной силы папиллярной мышцы. Растворы оксигенировали карбогеном (O₂ 95%, CO₂ 5%) при поддержании температуры +36±0,5°C с помощью термостата U1 (Болгария).

Изучение функциональной активности папиллярной мышцы осуществляли стандартным механографическим методом, с помощью преобразователя силы типа SI-KG20 (WPI, USA). Препарат папиллярной мышцы длиной 2–3 мм ($\varnothing=0,5–0,7$ мм) закрепляли в экспериментальной камере и один конец подсоединяли к штоку преобразователя силы с помощью специальной проволоочки типа SI-OHO2F (WPI, USA). Мыщцу раздражали с помощью платиновых электродов и стимулятора ЭСЛ-2 (Россия) импульсами прямоугольной формы частотой 0,1–3 Гц, длительностью 10 мс и амплитудой, превышающей пороговую на ~20%. После периода стабилизации (45–60 мин) находили длину препарата, при которой мышца развивает максимальное изометрическое напряжение (L_{max}), и в этих условиях выполняли все эксперименты. Сигнал с датчика натяжения подавался на усилитель (SI-BAM21-LCB, *World Precision Instruments, Inc. USA*) и регистрировался в цифровом формате при помощи 4-канального цифрового преобразователя АЦП/ЦАП (Lab-Trax-4/16, *World Precision Instruments, Inc. USA*) специальным программным обеспечением iWorx LabScribe2 (*iWorx Systems, Inc. One Washington Street, Suite 404 Dover, NH 03820 USA*) ноутбук марки "SAMSUNG" (рис. 1).

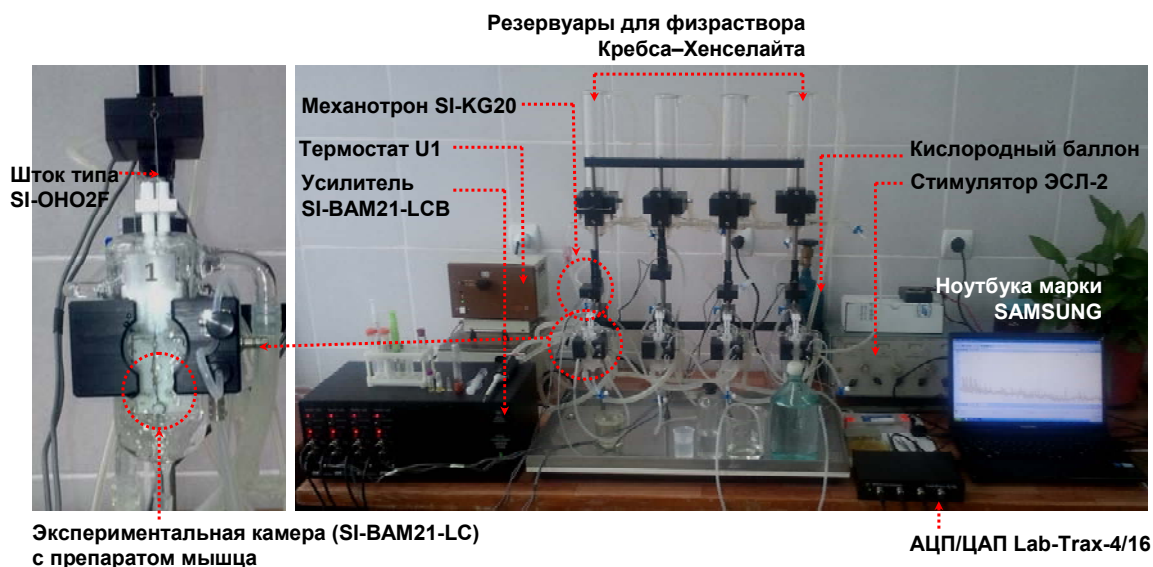


Рис. 1. Установка для для фармакологического исследования изолированных папиллярной мышцы в условиях *in vitro* (WPI, *World Precision Instruments, Inc. USA*)

Для изучения эффектов аяцина было исследовано его действие на потенцирующий эффект паузы (*post-rest potentiation*), феномен характерный для сердечных мышц и отражающий работу Ca²⁺-транспортирующих систем СР, включая RyR.

Статистическая обработка данных производилась при помощи функционального пакета прикладных программ для анализа и обработки экспериментальных данных OriginLab OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, USA). Полученные результаты в экспериментах подвергали статистической обработке с использованием *t*-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее, m – стандартная ошибка. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В предварительных экспериментах было обнаружено, что при частоте стимуляции 0,5 Гц аяцин (5 мкМ) первоначально увеличи-

вает силу сокращения мышцы на $17,72 \pm 4,1\%$ относительно контроля. Через 3–5 мин инкубации положительный инотропный эффект аяцина сменялся на отрицательный с уменьшением силы сократительного ответа на $65,15 \pm 5,46\%$ относительно контроля (рис. 2А).

Вместе с тем было обнаружено, что положительный инотропный эффект аяцина не наблюдается при использовании высоких концентраций (в диапазоне концентрации 10–75 мкМ). Аналогично, при частотах стимуляции выше 1 Гц аяцин проявлял только отрицательный инотропный эффект. При этом максимальный отрицательный инотропный эффект аяцина наблюдался при использовании 75 мкМ и частоте 3 Гц, когда сила сокращения мышцы подавлялась на $71,64 \pm 6,23\%$. В этих условиях значение EC₅₀ (концентрация вызывающая подавление силы сокращения на 50%) для аяцина составляло 23,9 мкМ или pD₂ ($-\log EC_{50}$)=4,62 (рис. 2Б).

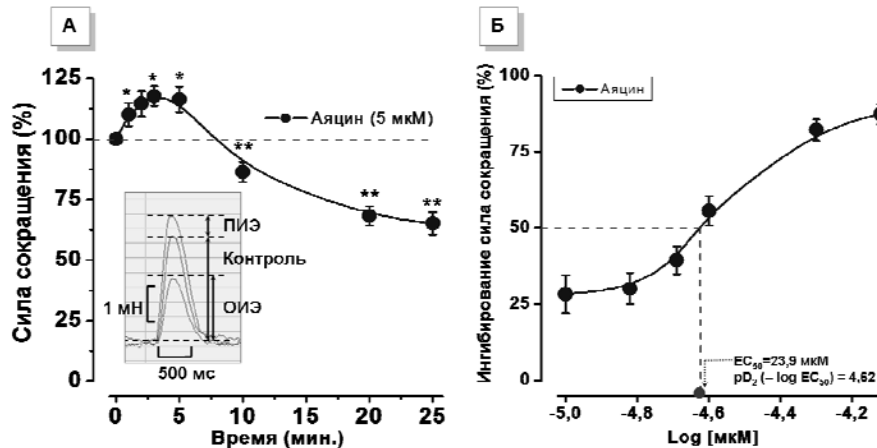


Рис. 2. А. Двухфазный кардиотропный эффект дитерпеноидного алкалоида аяцина выделенного из растение рода *Delphinium* L., на функциональная активность миокарда крысы. На фоне показана оригинальная запись отдельного сократительного ответа в контроле и после добавления аяцина (5 мкМ): ПИЭ – положительный инотропный эффект, ОИЭ – отрицательный инотропный эффект. * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,05$ ($n=4-6$). Б. Дозозависимое действие аяцина на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы. По оси ординат – ингибирование сила сокращения, выраженная в процентах от максимальной. По оси абсцисс – логарифмический показатель концентрации аяцина. Во всех случаях $p < 0,05$ ($n=4-5$)

Известно, что большинство патологий миокарда сопровождается нарушением процесса электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах, который связан с изменением активности Ca^{2+} -транспортирующих систем. Триггером функциональной активности миокарда являются ионы Ca^{2+} , которые поступая в кардиомиоциты по потенциал-зависимым Ca^{2+} -каналам L-типа сарколеммы, активируют рианодинный рецептор (RyR) и вызывают Ca^{2+} -зависимое высвобождение ионов Ca^{2+} из СР (CICR), активирующих сократительный аппарат [4].

Последующее расслабление кардиомиоцитов обеспечивается закачиванием ионов кальция Ca^{2+} -АТФазой СР и их выведением из клетки с помощью Na^+/Ca^{2+} -обменника и Ca^{2+} -АТФазы сарколеммы [5, 6, 7].

При этом нарушение внутриклеточного гомеостаза ионов $[Ca^{2+}]_i$, в том числе на уровне СР рассматривается как один из важных механизмов аритмогенеза [4].

А также, зависимость функциональной активности сердечных мышц от частоты стимуляции объясняется различными путями увеличения внутриклеточной концентрации ионов $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах. В частности установлено, что в области низких частот стимуляции (<1,0 Гц) сократительный аппарат кардиомиоцитов активируется в основном ионами Ca^{2+} , выходящими из СР. По мере увеличения частоты стимуляции ведущую роль в обеспечении сократительного процесса кардиомиоцитов начинают выполнять ионы Ca^{2+} , поступающие по потенциал-зависимым Ca^{2+} -каналам частично транспортируемые Na^+/Ca^{2+} -обменником сарколеммы [4].

Учитывая это и анализируя полученные данные, можно предположить, что положительное инотропное действие аяцина в области низких частот стимуляции (<1Гц) свидетельствует о его влиянии на системы транспорта Ca^{2+} в СР.

С целью выяснения возможного влияния аяцина на транспорт Ca^{2+} в СР миокарда крыс было исследовано его действие на потенцирующий эффект паузой ("эффект паузы") (*post-rest potentiation*), феномен, характерный для миокарда, и отражающий работу Ca^{2+} -транспортирующих систем саркоплазматического ретикулаума (СР), который описан в работе [8].

При этом, во время интервала покоя внеклеточный $[Ca^{2+}]_{out}$ продолжает поступать в клетку и аккумулироваться в СР через Ca^{2+} -АТФазы (SERCA, *sarco/endoplasmic reticulum* Ca^{2+} -ATPase), в результате чего при обновлении стимуляции после паузы, амплитуда первого сокращения увеличивается за счет того, что в цитоплазму высвобождается значительно большее количество Ca^{2+} , чем при первичном ритмическом сокращении [4, 5, 6, 8].

В экспериментах установлено, что прерывание стимуляции мышцы на определенные периоды покоя (5-120 сек) приводит к увеличению силы первого сократительного ответа после возобновления стимуляции с исходной частотой (0,1 Гц). Это увеличение первого ответа после периода покоя является свидетельством того, что в активации сократительного процесса участвует больше ионов Ca^{2+} , накопленных в СР за периода покоя. В наших экспериментах показано, что потенцирующий эффект покоя возрастает с увеличением длительности покоя и достигает максимума ($48,4 \pm 6,36\%$) при 30 сек покоя (рис. 3А).

Предварительная инкубация препаратов папиллярной мышцы с аяцином (5 мкМ) приводила к дополнительному увеличению амплитуды первого сократительного ответа после периода покоя в течении 30 сек на $12,7 \pm 2,41\%$ (рис. 3Б).

Объяснением потенцирующего эффекта аяцина, на амплитуду первого сократительного ответа после периода покоя (30 сек) может быть его влияние на высвобождение ионов Ca^{2+} из СР, которое обеспечивает рианодинный рецептор (RyR). Как показали результаты экспериментов с рианодином (1 мкМ) – специфическим блокатором RyR, в его присутствии аяцин (5 мкМ) не проявляет положительное инотропное действие, но сохраняет при этом отрицательное инотропное действие.

Эти данные свидетельствуют о том, что положительное инотропное действие аяцина может быть обусловлено его влиянием на RyR СР и активированием высвобождения ионов Ca^{2+} из последнего. При этом, усиление высвобождения Ca^{2+} из СР должно сопровождаться ростом $[Ca^{2+}]_i$ и, как следствие, увеличением

сократительной активности мышцы, что, по-видимому, и лежит в основе положительного инотропного эффекта алкалоида аячина.

А также, в экспериментах было обнаружено, что в присутствии в среде нифедипина (0,01 мкМ) – специфического блокатора Ca^{2+} -каналов L-типа, при частоте стимуляции 1 Гц аяцин (75 мкМ) дополнительно снижа-

ет амплитуду сократительного ответа на $15,65 \pm 5,32\%$ относительно эффекта нифедипина. Эти результаты могут свидетельствовать о том, что отрицательное инотропное действие аячина могут быть обусловлены его взаимодействием с Ca^{2+} -каналами, локализованными в сарколемме кардиомиоцитов (рис. 3В).

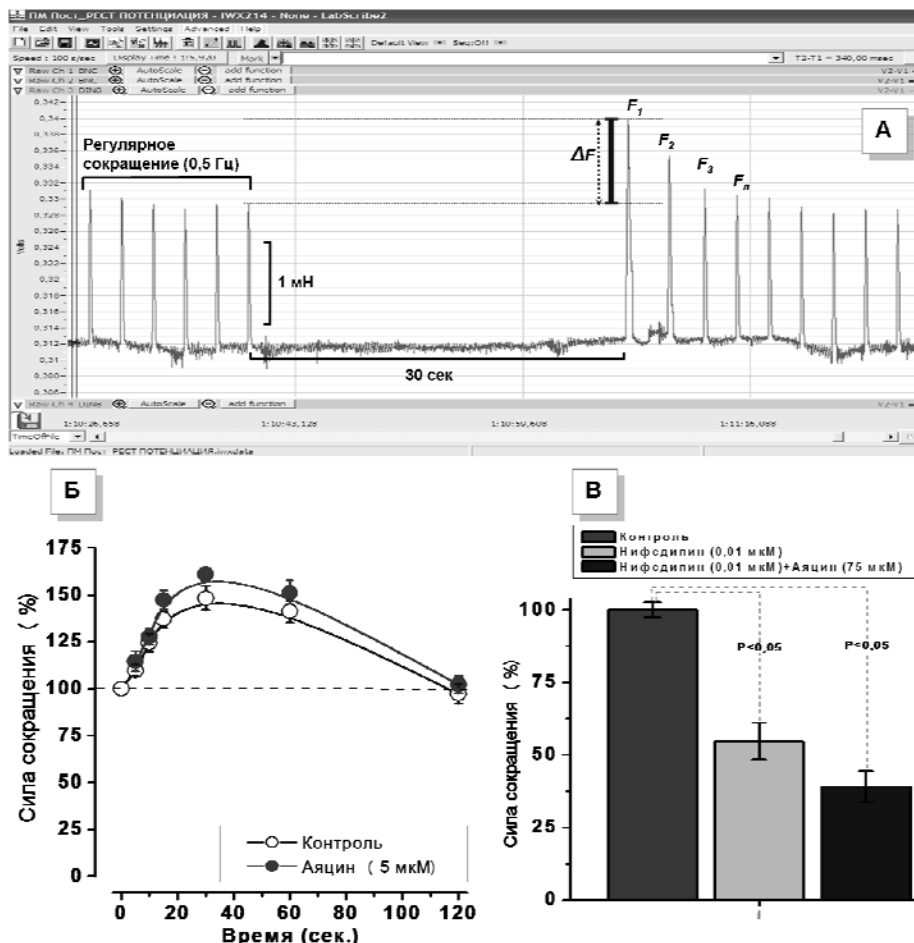


Рис. 3. А. Оригинальная запись потенцирующего эффекта паузы (*post-rest potentiation*) миокарда крысы при частоте стимуляции 0,5 Гц. При этом ΔF – увеличение силы первого сократительного ответа после прерывания стимуляции мышцы на 30 сек и возобновления стимуляции с исходной частотой (0,5 Гц). Б. Влияние аячина на потенцирующий эффект паузы папиллярной мышцы сердца крысы. По оси ординат сила сокращения в процентах от максимальной. По оси абсцисс время периода покоя (сек.). Базальная стимуляция препарата проводилась с частотой 0,5 Гц.

Во всех случаях $p < 0,05$ ($n=5$). В. Влияние нифедипина (0,01 мкМ), блокатора Ca^{2+} -каналов L-типа на эффекты аячина на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы. Сила сокращения мышцы, выраженная в процентах от максимальной ($n=5$). Стимуляция препарата проводилась с частотой 1 Гц.

Заключение. Таким образом установлено, что ди-терпеноидный алкалоид аяцин оказывает влияние на работу Ca^{2+} -транспортирующих систем, локализованных как в сарколемме, так и в мембране CP кардиомиоцитов. Эти данные свидетельствуют о том, что положительное инотропное действие аячина может быть обусловлено его влиянием на RyR CP и активированием высвобождения ионов Ca^{2+} из последнего. А также, отрицательное инотропное действие аячина могут быть обусловлено его блокированием Ca^{2+} -каналов сарколемме кардиомиоцитов (рис. 4).

Данные, полученные в результате изучения механизмов действия алкалоида аячина, имеют важное

практическое значение и могут быть рекомендованы для оптимизации процесса целенаправленного создания нового поколения кардиотропных лекарственных средств.

Acknowledgements. Автор выражает искреннюю благодарность заведующему лабораторией фармакологии института биоорганической химии им. академика А.С.Садыкова АН РУз – канд.хим.наук. У.К.Инагамову за оказанную помощь при проведении экспериментов.

А также, автор приносит глубокую благодарность сотрудникам института ИХРВ АН РУз д-р хим. наук. Б.Т.Салимову за любезное предоставление алкалоида аячина.

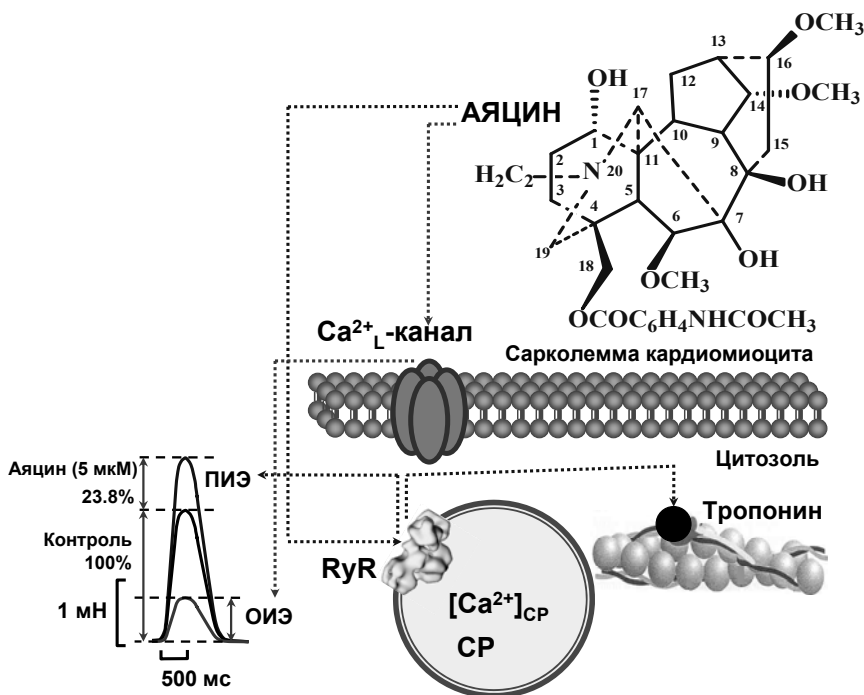


Рис. 4. Гипотетический механизм двухфазного инотропного действия алкалоида аяцина. При этом, ПИЭ – положительный инотропный эффект; ОИЭ – отрицательный инотропный эффект; CP – саркоплазматический ретикулум; RyR – рианодинный рецептор; $[Ca^{2+}]_{CP}$ – концентрация ионов Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме

Список использованных источников

1. *Sanz G.* Fixed-dose combination therapy and secondary cardiovascular prevention: rationale, selection of drugs and target population / *Sanz G, Fuster V.* // Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine. – 2009. – № 6. – P. 101-110. Available from: doi:10.1038/ncpcardio1419
2. *Mashour N.* Herbal Medicine for the Treatment of Cardiovascular Disease / *Mashour NH, Lin GI, Frishman WH.* // Clinical Considerations. Archives Internet Medicine. – 1998. – № 158(20). – P. 2225-2234. Available from: doi:10.1001/archinte.158.20.2225.
3. *Salimov BT.* Diterpene alkaloids plants the genus Delphinium L. Doctoral Thesis, Tashkent, 2007.
4. *Bers DM.* Excitation-Contraction Coupling and Cardiac Contractile Force. [Internet]. Dordrecht: Kluwer Academic Press; 1991. Available from: http://manual172.pinebooks.org/dl.php?id=4867277
5. *Bassani R.* Mitochondrial and sarcolemmal Ca^{2+} transport reduce $[Ca^{2+}]_i$ during caffeine contractures in rabbit cardiac myocytes/ *Bassani R.,*

- Bassani J., Bers D.* // Journal of Physiology. – 1992. – № 453. – P. 591-608. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1464847
6. *Bassani J.* Relaxation in rabbit and rat cardiac cells: Species-dependent differences in cellular mechanisms / *Bassani J., Bassani R., Bers D.* // Journal Physiology. – 1994. – № 476. P. 279-293. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1160440/
7. *Negretti N.* The relative contributions of different intracellular and sarcolemmal systems to relaxation in rat ventricular myocytes / *Negretti N, O'Neill SC, Eisner DA.* // Cardiovascular Research. – 1993. – № 27, P. 1826-1830. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8275530
8. *Андреева ЛА, Накипова ОВ, Сергеев АИ и др.* Дисрегуляция NO/cGMP/cADPr/ Ca^{2+} -сигнального пути в сосудах и миокарде спонтанно гипертензивных крыс. Фундаментальные исследования. 2013. – №6(часть6).—Стр.1397-1401. Available from: www.rae.ru/rae/?section=content&op=show_article&article_id=10000958

Надійшла до редколегії 01.09.15

Ш. Хушматов, канд. біол. наук

Інститут біоорганічної хімії ім. академіка А.С.Садикова, Ташкент, Республіка Узбекистан

ДВОФАЗНИЙ КАРДІОТРОПНИЙ ЕФЕКТ АЛКАЛОЇДА АЯЦИНА

У статті розглянуто механізми дії дітерпеноїдного алкалоїда аяцина на іонні канали серцевого м'яза щура.

Ключові слова: папілярна м'яз, алкалоїд, інотроп, іонні канали, саркоплазматический ретикулум.

Sh. Hushmatow, PhD

Institute of Bioorganic Chemistry. Academic A. S. Sadykov, Tashkent, Republic of Uzbekistan

BIPHASIC CARDIOTROPIC EFFECT OF ALKALOID AYACINE

A study of the mechanism of action of ayacine, a diterpene alkaloid on ion channels of rat papillary muscle.

Key words: papillary muscle, alkaloid, inotropy, ion channels, sarcoplasmic reticulum.