

letin of physiology and pathology of respiration. – 2013. – Vol. 50. – P. 61-67.

3. Kanishnikov V.S. Clinico-biochemical guidance for laboratory diagnostics. – M.: Belarus, 2002. – Vol. 2. – P. 463.

4. Karuzina I.I., Archakov A.I. Extraction of microsomal fraction of liver an characteristic of its oxidative systems. Modern methods in biochemistry / ed. by V.N. Orekhovich. – M.: Medicine, 1977. – P. 49-59.

5. Keits M. Techniques of lipidology. – M.: Mir, 1975. – P. 321.

6. Controle of lipid peroxidation. – Novosibirsk: Novosibirsk university publishing house, 1993. – P. 182.

7. Kruglova O.G. Influence of dihydroquercetin on lipid peroxidation in cold conditions.: author's thesis of Doctor of Philosophy for Medicine. – Blagoveshensk, 2014 – P. 235.

8. Losev N.A. Pharmacology – clinic (in terms of reciprocal interaction of M- and N-cholinolytic mechanisms): commencement address in a panel session of Board of studies of Institute of experimental medicine. – SPb., 2007. – P. 44.

9. Method of evaluation of lipid peroxides with ammonium thiocyanate: modern methods in biochemistry / ed. by Orekhovich V.N. – M.: Medicine, 1977. – P. 64-66.

10. Method of evaluation of diene conjugation of unsaturated fatty acids: modern methods in biochemistry / edited by Orekhovich V.N. M.Medicine, 1977 – P. 64-66.

11. Method of evaluation of malondialdehyde with thiobarbituric acid: modern methods in biochemistry / edited by V.N. Orekhovich. – M.: Medicine, 1977. – P. 66-68.

12. Tikhanov V.I., Losev N.A., Dorovskikh V.A. and others. Acetylcholine and liver microsomes lipids peroxidation in vitro // Bulletin of physiology and pathology of respiration. – 2014. – Vol. 54. – P. 75-81.

13. Zenkov N.K., Lankin V.Z., Menshikova E.B. Oxydative stress: biochemical and pathophysiological aspects. – M.: MAIK. Science / Interperiodics. – 2001 – P. 343.

14. Lipid peroxidation and stress. – SPb.: Science, 1992. – P. 148.

15. Polarymetric device for evaluation of molecular oxygen in tissue homogenates and method of application: Patent 2348926 of Russian Federation / authors Tikhanov V.I., Reshodko D.P., Varganov O.N.; Published in 10.03.2009, bulletin № 7.

16. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. – M.: Media Sphere. – 2002. – P. 312.

17. Songina O.A., Zakharov V.A. Amperometric titration. – M.: Chemistry, 1979 – P. 304.

18. Barre D., Holub B. The effect of borage oil consumption on the composition of individual phospholipids in human platelet // Lipids. – 1992. – Vol. 27. – P. 315-320.

19. Bligh E.C., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Biochem. Physiol. – 1959. – Vol. 37. – P. 911-917.

20. Cameron, G. Separate FAME cis and trans isomers with DB – 23 // J. Lipids. – 2001. – Vol. 14, № 3. – P. 13.

21. Massey, K., Nicolaou, A. Lipidomics of oxidized polyunsaturated fatty acids // Free Radic. Biol. Med. – 2013. – Vol. 59. – P. 45-55.

22. Method for the gas chromatographic determination of long and medium chain free fatty acids in serum / Radermacher P., et al. // J. Clin. Chem. Clin. Biochem. – 2008. Vol.20, № 11. – P. 813-815.

23. Quantitative profiling of oxylipins through comprehensive LC – MS /analysis : application in cardiac surgery // Anal. Bioanal. Chem. – 2012. – Vol. 404. – P. 1413-1426.

*Координаты для связи с авторами: Тиханов Виктор Иванович – канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии АГМА, тел. +7-914-589-99-13, e-mail: tikchanov@yandex.ru.*



УДК. 615.275.4: 612.35] 577.352.335

**В.И. Тиханов**

**СОПОСТАВЛЕНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ  
МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ IN VITRO В ПРИСУТСТВИИ ПИЛОКАРПИНА,  
АТРОПИНА С ПЕРЕКИСНЫМ ОКИСЛЕНИЕМ ЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ  
IN VIVO ПРИ ВВЕДЕНИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО  
МУСКАРИНО-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО МИМЕТИКА,  
ЛИТИКА НА ФОНЕ ХОЛОДОВОЙ НАГРУЗКИ**

*Амурская государственная медицинская академия,  
675000, ул. Горького, 95, тел. 8-(4162)-31-90-09, e-mail: amurgma@list.ru, г. Благовещенск*

**Резюме**

**Определена реципрокность в содержании гидроперекисей (ГП), йодного числа общих липидов (ОЛ) печени in vivo при введении пилокарпина, атропина на фоне холодной нагрузки. Оценена способность липидов микросом**

печени к перекисному (свободнорадикальному) окислению (ПОЛ) в присутствии пилокарпина, атропина при индуцировании неферментативных (аскорбатзависимых), ферментативных (NADP • H-зависимых) механизмов ПОЛ *in vitro*.

Сопоставление окисления липидов печени *in vitro*, *in vivo* приводит к выводу – объяснить разнонаправленность ПОЛ липидов печени только химическим строением фармакологических агентов пилокарпин, атропин не представляется возможным.

*Ключевые слова:* продукты ПОЛ, метиловые эфиры жирных кислот, пилокарпин, атропин.

V.I. Tikchanov

## COMPARISON OF LIPID PEROXIDATION OF LIVER MICROSOMES IN VITRO IN THE PRESENCE OF PILOCARPINE, ATROPINE WITH THE CONTENTS LIPID PEROXIDATION OF LIVER IN VIVO AT ADMINISTRATION OF MUSCARINIC SENSITIVE CHOLINERGIC MIMETIC, LITIC AT COLD EXPOSURE

*Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk*

### Summary

The author defined reciprocity in hydroperoxide, iodine value of total lipids of the liver *in vivo* at pilocarpine, atropine administration at cold exposure. The ability of lipid peroxidation in liver microsomes (free radical) oxidation in the presence of pilocarpine, atropine while inducing non-enzymatic (ascorbate-dependent), enzyme (NADP • H-dependent) mechanisms of lipid peroxidation *in vitro* was assessed.

A comparison liver lipid oxidation *in vitro*, *in vivo* leads to the conclusion – it is impossible to explain omni directional liver lipid peroxidation only by the chemical structure of pharmacological agents, pilocarpine and atropine.

*Key words:* products of lipid peroxidation, fatty acid methyl esters, pilocarpine, atropine.

Мускарино-чувствительные холинореактивные системы – ключевое звено в работе холинэргических механизмов биологической системы [7].

Возбуждение периферических мускарино-чувствительных холинорецепторов (mAChRs) ткани печени эндогенным ацетилхолином (АЦХ) увеличивает содержание диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), но снижает содержание гидроперексидов (ГП) ткани печени. Блокада периферических mAChRs печени метацином приводит к противоположным результатам – на основании полученных фактов делается вывод о присутствии феномена реципрокности.

Для подтверждения полученных результатов целесообразно введение фармакологических агентов, имеющих отличительную особенность от АЦХ, метацина [18], но оказывающих влияние на возбуждение и блокаду периферических mAChRs, в связи с этим проводились исследования по введению животным пилокарпина, атропина на фоне холодовой нагрузки.

Цель исследования – оценить влияние прямого мускарино-чувствительного холиномиметика пилокарпин и периферического, неселективного мускарино-чувствительного холинолитика атропин на содержание продуктов ПОЛ печени, метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) C<sub>20</sub> общих липидов печени (ОЛ), йодного числа ОЛ в период холодовой нагрузки, определить присутствие реципрокности и сопоставить полученные данные со способностью липидов микросом печени окисляться в присутствии пилокарпин, атропина *in vitro*.

### Материалы и методы

Исследования проводились на белых, беспородных крысах-самцах массой до 160-200 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Выбор экспериментальных животных основывался на задачах экспериментов, связанных с феноменом стресс [12].

Охлаждение животных проводилось в климатоканнере при температурном режиме – 12 °С, на протяжении 3 часов, в течение 5 дней [6].

Содержание ДК, ГП определяли во фракции ОЛ печени. ОЛ экстрагировали из гомогената печени методом Фолча [3] и Блайя – Дайлера [13]. В основе метода определения ДК и ГП лежали методы, описанные Стальной И.Д. и Романовой Л.А [8, 11]. МДА определяли в водной фазе гомогената печени по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [10]. Метилирование жирных кислот (ЖК) проводилось в ОЛ печени методом описанным J.P. Carrelau, J.P. Dubaco [16]. Метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) определяли методом газовой хроматографии на колонке ДВ – 23, для полярных соединений [14]. Режим прогрева колонки подбирался с условием оптимального режима выхода МЭЖК [19]. Фармакологический агент пилокарпин возбуждает периферические m<sub>1</sub>AChRs и m<sub>3</sub>AChRs [17]. В дозах до 10 мг/кг влияет и на пресинаптические m<sub>2</sub>AChRs, снижая выход эндогенного АЦХ с пресинаптических образований [20]. Атропин – периферический, неселективный антагонист mAChRs, в дозе до 1 мг/кг блокирует работу периферических m<sub>1</sub>AChRs, m<sub>3</sub>AChRs и оказывает влияние на m<sub>2</sub>AChRs, увеличивая выход АЦХ с пресинаптических образований холинэргических структур тканей [18]. Перечисленные свойства фармакологических агентов позволяют использовать их в качестве агонистов и антагонистов периферических mAChRs для выяснения факта реципрокности [7].

Микросомы печени получали на основе техники выделения микросомальной фракции печени [2]. О снижении активности белка микросом печени судили, определяя активность каталазы микросом печени по цветной реакции перекиси водорода с молибдатом аммония и последующего измерения цветного комплекса при длине волны 410 нм [5]. Изменение активности белка микросом печени производилось в стекле, температура в водяной бане создавалась +80 °С [15].

Оценка содержания ненасыщенных связей в ОЛ печени производилась определением молекулярного йода (йодное число) вольтамперометрическим титрованием с тиосульфитом натрия [9].

Статистическую обработку результатов проводили методом ANOVA с применением непараметрического дисперсионного анализа (W.H. Kruskal, W.A. Wals), парного критерия Манна – Уитни (Mann – Whitney, U-test) Количественные значения представлены в виде медианы (Me), 5 и 95 – процентилей [1].

### Результаты и обсуждение

После 3 часов холодной нагрузки отмечалось увеличение содержания ДК в ОЛ печени, на фоне снижения содержания ГП и МДА [12]. После 5-го дня охлаждения животных увеличивалось содержание ТБК – активного продукта – МДА, на фоне снижения ДК и ГП (табл. 1).

Введение пилокарпина, атропина в течение 5-ти дней холодной нагрузки приводило к реципрокности при определении ГП ОЛ печени (табл. 1). Пилокарпин снижал ГП на 17 % (табл. 1), а атропин вызывал противоположный эффект – увеличивал содержание ГП в 1,15 раза (табл. 1).

Пилокарпин увеличивал выраженность ДК, МДА на 91,6 % и 77,6 % (табл. 1), атропин снижал их до уровня групп животных контроль 2, соответственно (табл. 1). Присутствие реципрокности при оценке содержания ДК и МДА после введения животным атропина не отмечаем (табл. 1).

Таблица 1

**Дневные конъюгаты, гидроперекиси общих липидов печени, малоновый диальдегид печени после 5-дневного охлаждения экспериментальных животных и введения пилокарпина, атропина**

Показатели	Дневные конъюгаты, нмоль/мг липида	Гидроперекиси, нмоль/мг липида	Малоновый диальдегид, нмоль/мг гомогената
1-я группа – контроль 1 (интактные), n=6	119,4 [105,8; 130,1]	5,525 [5,202; 5,713]	1,025 [0,903; 1,231]
2-я группа – контроль 2 (холод), n=6	102,5 [83,6; 108,3] P <sub>2-1</sub> =0,0168	4,65 [4,18; 4,762] P <sub>2-1</sub> =0,00394	1,322 [1,216; 1,572] P <sub>2-1</sub> =0,00648
3-я группа – опыт 1 (холод+пилокарпин 10 мг/кг), n=6	196,4 [107,7; 209,8] P <sub>3-1</sub> =0,00394 P <sub>3-2</sub> =0,0003	3,979 [3,89; 4,095] P <sub>3-1</sub> =0,0003 P <sub>3-2</sub> =0,00394	2,348 [2,01; 2,473] P <sub>3-1</sub> =0,0004 P <sub>3-2</sub> =0,00394
4-я группа – опыт 2 (холод+атропин) 1 мг/кг), n=6	107,8 [96,1; 128,1] P <sub>4-1</sub> =0,149* P <sub>4-2</sub> =0,0926* P <sub>4-3</sub> =0,0241	5,706 [5,608; 5,841] P <sub>4-1</sub> =0,0163 P <sub>4-2</sub> =0,000572 P <sub>4-3</sub> =0,00394	1,361 [1,306; 1,586] P <sub>4-1</sub> =0,00394 P <sub>4-2</sub> =0,297* P <sub>4-3</sub> =0,00216

Примечание. Здесь и в таблицах 1, 2 при значке \* значения р недостоверны.

Таким образом, реципрокность отмечаем только в гидроперекисях ОЛ печени (табл. 1).

Условием распространения ПОЛ является присутствие двойных связей в ненасыщенных компонентах липидов тканей и приоритетность в этом отдаётся полиненасыщенным жирным кислотам C<sub>20</sub> [4]. Оценивая йодное число, содержание МЭЖК C<sub>20</sub> семейства ω-9, ω-6, ω-3 в ОЛ печени были получены результаты – введение пилокарпина, атропина экспериментальным жи-

вотным на фоне 5 дней охлаждения приводит к появлению реципрокности только при оценке йодного числа ОЛ печени (табл. 2).

Таблица 2

**Йодное число, метиловые эфиры жирных кислот C<sub>20</sub> общих липидов печени после холодной нагрузки и введения пилокарпина, атропина**

Показатели	1-я группа – контроль 1 (интактные) (n=6)	2-я группа – контроль 2 (холод) (n=6)	3-я группа – опыт 1 (холод + пилокарпин 10 мг/кг) (n=6)	4 группа – опыт 2 (холод + атропин 1 мг/кг) (n=6)
йодное число				
мкмоль J/мг липида	9,315 [8,52; 12,324]	4,706 [4,118; 5,197] P <sub>2-1</sub> =0,00394	3,993 [3,847; 4,111] P <sub>3-1</sub> =0,000297 P <sub>3-2</sub> =0,00394	10,912 [9,117; 12,108] P <sub>4-1</sub> =0,149* P <sub>4-2</sub> =0,00394 P <sub>4-3</sub> =0,00216
метиловые эфиры жирных кислот C <sub>20</sub>				
МЭЖК, семейства ω-9 C <sub>20:3</sub> , Δ 11, 14, 17 – эйкозатриеновая ЖК (digomo-γ-linolenic acid, DGLA) (мкг/мл гомогената)	6155,6 [5906,2; 6513,2]	5376,1 [5004,9; 5806,2] P <sub>2-1</sub> =0,00394	2406,1 [2201,2; 3005,5] P <sub>3-1</sub> =0,00394 P <sub>3-2</sub> =0,00216	2966,3 [2802,8; 3305,2] P <sub>4-1</sub> =0,00394 P <sub>4-2</sub> =0,00216 P <sub>4-3</sub> =0,179*
МЭЖК, семейства ω-6 C <sub>20:4</sub> , Δ 5, 8, 11, 14 – эйкозатетраеновая ЖК (Арахид) (мкг/мл гомогената)	5,021 [4,724; 5,627]	4,285 [3,807; 4,629] P <sub>2-1</sub> =0,00394	0,414 [0,105; 1,112] P <sub>3-1</sub> =0,00394 P <sub>3-2</sub> =0,00216	1,512 [0,107; 2,189] P <sub>4-1</sub> =0,00394 P <sub>4-2</sub> =0,00216 P <sub>4-3</sub> =0,004
МЭЖК, семейства ω-3 C <sub>20:5</sub> , Δ 5, 8, 11, 14, 17 эйкозапентаеновая ЖК (Эйкоза) (мкг/мл гомогената)	77,112 [69,568; 91,081]	115,1 [100,2; 132,16] P <sub>2-1</sub> =0,00394	45,151 [38,962; 58,182] P <sub>3-1</sub> =0,00216 P <sub>3-2</sub> =0,0197	3,55 [1,608; 8,904] P <sub>4-1</sub> =0,0197 P <sub>4-2</sub> =0,0001 P <sub>4-3</sub> =0,00216

А в МЭЖК C<sub>20</sub> семейства ω-9, ω-6, ω-3 реципрокность не отмечена (табл. 2).

Полученные in vitro данные свидетельствуют, что пилокарпин, атропин в инкубационной среде при индуцировании ПОЛ микросом печени неферментативными (аскорбатзависимыми) механизмами усиливает окисление липидов микросом печени (табл. 3).

Индукция же ПОЛ микросом печени ферментативными (NADP • Н-зависимыми) механизмами приводит к противоположному эффекту – к уменьшению окисления липидов микросом печени (табл. 3).

Тепловая инактивация белковых компонентов мембран эндоплазматического ретикула гепатоцитов в обоих механизмах индуцирования ПОЛ in vitro в присутствии пилокарпина, атропина не вызывает изменений направления окисления липидов микросом печени (табл. 3).

Окисление липидов пилокарпином, атропином in vitro, in vivo вызывают противоположные по направлению эффекты.

Таблица 3

**Окислительная активность пилокарпина, атропина *in vitro* при индуцировании неферментативного (аскорбатзависимого), ферментативного (NADP•H-зависимого) механизмов окисления липидов микросом печени до и после тепловой обработки микросом**

Показатели	Микросомы печени не подвергавшиеся тепловой обработке		Микросомы печени подвергавшиеся тепловой обработке	
неферментативное (аскорбат-зависимое) окисление липидов микросом печени				
Мольная концентрация	пилокарпин 10 <sup>-4</sup> М	атропин 10 <sup>-5</sup> М	пилокарпин 10 <sup>-4</sup> М	атропин 10 <sup>-5</sup> М
Окислительная активность	-15,9 % [-12,8; -18,8]	-6,9 % [-4,2; -8,8]	-3,35 % [-1,1; -4,16]	-1,3 % [-1,1; -1,4]
ферментативное (NADP•H-зависимое) окисление липидов микросом печени				
Мольная концентрация	пилокарпин 10 <sup>-4</sup> М	атропин 10 <sup>-5</sup> М	пилокарпин 10 <sup>-4</sup> М	атропин 10 <sup>-5</sup> М
Окислительная активность	+2,9 % [+2,1; +3,7]	+11 % [+10,8; +12,3]	+41,2 % [+40,1; +42,8]	+36,7 % [+23,6; +50,2]

Примечание. (-) – прооксидантный эффект, (+) – антиоксидантный эффект.

Эффекты окисления липидов пилокарпина *in vivo* по направлению совпадают с эффектами пилокарпина *in vitro*. Введение пилокарпина животным увеличивает содержание ДК, МДА в ткани печени (табл. 2). Введение же животным атропина вызывает противоположный эффект – снижает выраженность ДК, МДА (табл. 2), но *in vitro* индуцирование неферментативных (аскорбатзависимых) механизмов окисления липидов микросом печени в присутствии атропина вызывает усиление окисления липидов.

Необходимо отметить – пилокарпин *in vivo* уменьшает содержание гидроперекисей, а атропин увеличивает их выраженность – отмечается реципрокность (табл. 2).

Такие же факты возникают и при сопоставлении результатов экспериментов *in vivo* с результатами экспериментов *in vitro* при активации ферментативных (NADP•H-зависимых) механизмов ПОЛ.

В стекле присутствие в инкубационной среде пилокарпина, атропина приводит к уменьшению окисления липидов микросом печени (табл. 3), но *in vivo* пилокарпин увеличивает выраженность ДК и МДА, а атропин *in vivo* увеличивает содержание ГП в ОЛ печени.

Подобная противоположность в окислении липидов печени не объясняется влиянием только химиче-

ских элементов, входящих в структуру фармакологических агентов пилокарпин, атропин.

Подтверждением могут служить данные по окислению липидов микросом в присутствии пилокарпина, атропина после тепловой обработки микросом печени. Тепловая инактивация активности белков мембран эндоплазматического ретикулума гепатоцитов не меняет направление в окислении пилокарпина, атропина при индуцировании механизмов ПОЛ печени *in vitro*, а пилокарпин, атропин *in vivo* меняют направление в содержании продуктов ПОЛ печени и в этом предположительно участвуют белки плазматической мембраны гепатоцитов.

Фактом, подтверждающим влияние пилокарпина, атропина на ПОЛ печени через холинорецепторный аппарат плазматической мембраны гепатоцитов, является определение содержания молекулярного йода в общих липидах печени – при определении йодного числа в общих липидах печени отмечено присутствие реципрокности.

### Выводы

1. В присутствии пилокарпина, атропина индуцирование ПОЛ неферментативными (аскорбатзависимыми) механизмами усиливает окисление липидов микросом печени.

Активация ферментативных (NADP•H-зависимых) механизмов ПОЛ *in vitro* с присутствием пилокарпина, атропина в инкубационной среде уменьшает окисление липидов микросом печени.

2. Введение пилокарпина, атропина животным на фоне 5-дневной голодовой нагрузки вызывает противоположные по направлению эффекты окисления липидов печени при сравнении с окислением липидов печени *in vitro*.

3. Реципрокность определена в гидроперекисях общих липидов печени – пилокарпин снижает, а атропин увеличивает выраженность гидроперекисей. При определении содержания молекулярного йода в общих липидах печени отмечается появление реципрокности, связанной с введением животным пилокарпина и атропина.

4. Тепловая инактивация белка эндоплазматического ретикулума печени не меняет направление в окислительной активности пилокарпина, атропина *in vitro*. Пилокарпин и атропин *in vivo* действуют противоположно на содержание продуктов ПОЛ печени.

### Литература

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика.– М.: Практика, 1998. – 459 с.
2. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика её окислительных систем // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 49-59.
3. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – 321 с.
4. Ушкалова В.Н. и др. Контроль перекисного окисления липидов. – Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1993. – 182 с.
5. Королук М.Д., Иванова, Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
6. Круглова О.Г. Влияние дигидрохверцетина на перекисное окисление липидов в условиях холодового воздействия: дисс. ... канд. мед. наук. – Благовещенск.– 2014. – 235 с.
7. Лосев Н.А. Фармакология – клинике (с учётом взаимодействия М- и Н-холинэргических механизмов). Актовая речь на заседании Учёного совета Института Экспериментальной медицины. – СПб., 2007. – 44 с.

8. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоционата аммония // *Современные методы в биохимии* / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 64-66.
9. Сонгина О.А., Захаров В.А. Амперометрическое титрование. – М.: Химия, 1979. – 304 с.
10. 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.
11. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // *Современные методы в биохимии* / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 64-66.
12. Тиханов В.И., Лосев Н.А., Доровских В.А., Решодько Д. П., Тиханов И.В., Анохина Р.А., Роговченко Е.Г. Изменение продуктов и субстратных составляющих перекисного окисления липидов в ткани печени на фоне холодовой нагрузки и введении непрямым мускаринчувствительных и никотинчувствительных холиномиметиков // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. – 2013. – № 50. – С. 61-67.
13. Bligh E.C., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Biochem. Physiol.* – 1959. – Vol. 37. – P. 911-917.
14. Cameron G. Separate FAME cis and trans isomers with DB – 23 // *J. Lipids*. – 2001. – Vol. 14, № 3. – P. 13.
15. Capozzi V., Weidmann S., Fiocco D., Rein A., Hols P., Guzzo J., Spano G. Inactivation of a small heat shock protein affects cell morphology and membrane fluidity in *Lactobacillus plantarum* WCFS<sub>1</sub> // *Research in Microbiology*. – 2011. – Vol. 162, № 4. – P. 419-425.
16. Carrelau J.P., Dubaco J.P. Adaptation of macro – scale method to the microscale for fatty acid methyl tranesterification of biological lipid extracts // *Journal of Chromatography*. – 1978. – Vol. 151. – P. 384-390.
17. Effect of repeated administration of pilocarpine and isoproterenol on aquaporin – 5 expression in rat Salivary glands // *Acta Histochem. Cytochem.* – 2013. – Vol. 46, № 5. – P. 187-197.
18. Gyermek L. Pharmacology of antimuscarinic agents. Library of Congress, 1998. – 501 p.
19. Radermacher P., Grote H., Susanto F., Reinaner H. A method for the gas chromatographic determination of long and medium chain free fatty acids in serum // *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* – 2008. – Vol. 20, № 11. – P. 813-815.
20. The autoinhibitory feedback control of acetylcholine release in human neocortex tissue // *Brain Res.* – 1992. – Vol. 572, № 1-2. – P. 64-74.

#### *Literature*

1. Glants S. Biomedical statistics. – М.: Practice, 1998. – P. 459.
2. Karusina I.I., Archakov A.I. Hepatic microsomal fraction isolation and its oxidative systems characteristics // *Modern methods in biology* / ed. by V.N. Orekhovich. – М.: Medicine. – 1977. – P. 49-59.
3. Keits M. Techniques of lipidology. – М.: Mir, 1975. – P. 321.
4. Control of lipid peroxidation. – Novosibirsk: Novosibirsk publishing house, 1993. – P. 182.
5. Koroluk M.D., Ivanova L.I., Maiorova I.G., et al. Method of catalase activity evaluation // *Laboratory science*. – 1988. – № 1. – P. 16-18.
6. Kruglova O.G. Influence of dihydroquercetine on lipid peroxidation in cold conditions: author's thesis of Doctor of Philosophy for Medicine. – Blagoveshensk, 2014 – P. 235.
7. Losev N.A. Pharmacology – clinic (in terms of reciprocal interaction of M- and N-cholinolytic mechanisms): commencement address in a panel session of Board of studies of Institute of experimental medicine. – SPb., 2007. – P. 44.
8. Romanova L.A., Stalnaya I.D. Method of evaluation of lipid peroxides with ammonium thiocyanate: modern methods in biochemistry / ed. by V.N. Orekhovich. – М.: Medicine, 1977. – P. 64-66.
9. Songina O.A., Zakharov V.A. Amperometric titration. – М. Chemistry, 1979. – P. 304.
10. Stalnaya I.D., Garishvili T.G. Method of evaluation of malondialdehyde with thiobarbituric acid: modern methods in biochemistry / ed. by Orekhovich V.N. – М.: Medicine, 1977. – P. 66-68.
11. Stalnaya I.D. Method of evaluation of diene conjugation of unsaturated fatty acids: modern methods in biochemistry / ed. by V.N. Orekhovich. – М.: Medicine, 1977. – P. 64-66.
12. Tikhanov V.I., Losev N.A., Dorovskih V.A. Changes of products and substrates of lipid peroxidation in liver tissue affected by cold stress and injection of indirect muscarine and nicotine sensitive cholinergic agents // *Bulletin of physiology and pathology of respiration*. – 2013. – Vol. 50 – P. 61-67.
13. Bligh E.C., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Biochem. Physiol.* – 1959. – Vol. 37. – P. 911-917.
14. Cameron G. Separate FAME cis and trans isomers with DB – 23 // *J. Lipids*. – 2001. – Vol. 14, № 3. – P. 13.
15. Capozzi V., Weidmann S., Fiocco D., Rein A., Hols P., Guzzo J., Spano G. Inactivation of a small heat shock protein affects cell morphology and membrane fluidity in *Lactobacillus plantarum* WCFS // *Research in Microbiology*. – 2011. – Vol. 162, № 4. – P. 419-425.
16. Carrelau J.P., Dubaco J.P. Adaptation of macro – scale method to the microscale for fatty acid methyl tranesterification of biological lipid extracts // *Journal of Chromatography*. – 1978. – Vol. 151. – P. 384-390.
17. Effect of repeated administration of pilocarpine and isoproterenol on aquaporin – 5 expression in rat Salivary glands // *Acta Histochem. Cytochem.* – 2013. – Vol. 46, № 5. – P. 187-197.
18. Gyermek Laszlo. Pharmacology of antimuscarinic agents. Library of Congress, 1998. – 501 p.
19. Radermacher P., Grote H., Susanto F., Reinaner H. A method for the gas chromatographic determination

of long and medium chain free fatty acids in serum // J. Clin. Chem. Clin. Biochem. – 2008. – Vol. 20, – № 11. – P. 813-815.

20. The autoinhibitory feedback control of acetylcholine release in human neocortex tissue // Brain Res. – 1992. – Vol. 572, № 1-2. – P. 64-74.

**Координаты для связи с авторами:** Тиханов Виктор Иванович – канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии АГМА, тел. +7-914-589-99-13, e-mail: tikchanov@yandex.ru.



УДК 542.46+591.477+678.048

Е.А. Малюк, С.С. Целуйко, Н.П. Красавина

## СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ КОНЕЧНОСТЕЙ КРЫС ПРИ МЕСТНОМ ОХЛАЖДЕНИИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТА

Амурская государственная медицинская академия,  
675000, ул. Горького, 95, тел./факс 8-(4162)-31-90-20, г. Благовещенск

### Резюме

Установлено, что в дореактивный период, после местного действия холодового фактора на кожу, границы между клетками нечеткие, ядра клеток базального и шиповатого слоев эпидермиса пикнотизированы, возникает стойкий спазм сосудов в сосочковом слое. В реактивный период, после действия низких температур, на границе между эпидермисом и сосочковым слоем наблюдаются процессы разволокнения, в сосудах дермы сохраняются явления стаза. При местном применении дигидрокверцетина в виде мази, как в дореактивный, так и в реактивный период холодовой травмы, роговые чешуйки приобретают более четкие границы, в сосудах дермы явление стаза незначительные. На основе морфологического, морфометрического и биохимического исследований доказана целесообразность использования препарата дигидрокверцетина при действии низких температур на кожу.

*Ключевые слова:* эпидермис, дерма, кератиноциты, локальное охлаждение кожи, дигидрокверцетин, перекисное окисление липидов.

E.A. Maliuk, S.S. Tseluyko, N.P. Krasavina

## STRUCTURAL CHANGES IN THE LIMBS SKIN IN RATS AT LOCAL COLD EXPOSURE DURING TREATMENT WITH ANTIOXIDANTS

Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk

### Summary

It was found out that in hypothermia period after topical cold exposure on the skin, boundaries between cells, cell nuclei of the basal layers of the epidermis and were changed. There was a strong spasm of blood vessels in the papillary layer. In reaction period, after the effect of low temperatures on the border between the epidermis and papillary layer, pulping processes are observed, in the blood vessels of the dermis stasis was present. Topical application of dihydroquercetin ointment both in pre-reactive and reactive periods of cold injury, resulted in corneal scales becoming more clearly bordered, in the vessels of the dermis, stasis is mild. Based on morphological, morphometric and biochemical studies we proved the feasibility of dihydroquercetin application at cold exposure to the skin.

*Key words:* epidermis, dermis, keratinocytes, cold exposure to the skin, dihydroquercetin, lipid peroxidation.

Температура является важнейшим фактором окружающей среды, воздействующей на организм человека и животных. Действие низких температур на биологические объекты зависит от степени филогенетической зрелости организма и реализуется посредством различных механизмов в условиях *in vitro* и *in vivo* [9]. Как правило, в этом случае, имеют место два основных механизма повреждающего действия холода. Первый – это прямое криповреждение, когда низкая температура используется для консервации клеток, клеточных взвесей и тканей. Второе проявля-

ется при действии холодового фактора на организм в целом лишь при температуре окружающей среды ниже ~30 °С и при этом, на открытых участках тела могут возникать отморожения, обусловленные повреждающим действием холода непосредственно на ткани [5]. Таким образом, местную холодовую травму следует рассматривать как острую ишемию (полную или неполную) с последующим развитием ранних и поздних постишемических расстройств [2].

Большинство клеток и органов способно противостоять острой ишемической гипоксии в течение 30-