

і зменшення НАДФ / НАДФН у цитоплазмі досліджуваних тканин, хоча і різною мірою.

3. Дані свідчать про можливість застосування дикого типу та штамів *Spirulina platensis*, а особливо 198-В як харчової добавки для корекції вмісту субстратів НАД-залежних дегідрогеназних систем, з метою інтенсифікації аеробного обміну та пригнічення гліюкогенезу та ліпогенезу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Постригач Н. О. Спіруліна як адаптоген // Вестн. фізіотерапії та курортології. — 1998. — № 3. — С. 60-68.
2. Яковлева О. А. Перспективи спіруліни в фармакології майбутнього та біотехнологіях сучасного харчування // Матеріали ІІ Укр. наук. конф. «Актуальні проблеми клінічної фармакології». — Вінниця, 1998. — С. 263-265.
3. Manoj J. A., Weber H. A., Noll F. A. Clinical using of *Spirulina platensis* // France et Belg. — 2000. — N 75. — P. 825.

4. Toshimitsu V. K. Application of Spirulina // Madras, India. 2002. — N 24. — P. 904-909.

5. Великий Н. Н., Пархоменко П. К. Роль окислительно-восстановительного состояния никотинамидных коферментов в регуляции клеточного метаболизма // Витамины. — 1976. — № 9. — С. 3-15.

6. Островский Ю. М., Величко М. Г., Якубчик Т. Н. Пируват и лактат в животном организме. — Минск: Наука и техника, 1984. — 284 с.

7. Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse / Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin, 1970. — S. 1536-1539.

8. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. — 272 с.

9. Гланц С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1999. — 459 с.

УДК [616.29+577.121]-092.9

О. І. Станев, О. В. Запорожченко, Л. М. Карпов, С. Г. Коломійчук, О. О. Кокошкіна

#### ДІЯ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК ІЗ БІОМАСИ РІЗНИХ ШТАМІВ *SPIRULINA PLATENSIS* НА ВМІСТ МЕТАБОЛІТІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ

Визначали вміст лактату, малату та пірувату, співвідношень лактат / піруват, малат / піруват, а також НАД / НАДН і НАДФ / НАДФН в органах щурів за перорального введення різних штамів спіруліни. Встановлено, що вміст лактату, малату та пірувату в досліджуваних органах щурів змінюється різною мірою і в різних напрямках. Співвідношення НАД / НАДН, як правило, підвищується, а НАДФ / НАДФН — зменшується, що вказує на активізацію аеробного обміну вуглеводів і пригнічення ліпогенезу.

**Ключові слова:** спіруліна, лактат, малат, піруват, нікотинамідні коферменти.

UDC [616.29+577.121]-092.9

O. I. Stanyev, O. V. Zaporozhchenko, L. M. Karpov, S. G. Kolomyichuk, O. O. Kokoshkina

#### INFLUENCE OF FOOD ADDITIVE OF BIOMASS DIFFERENT CULTURES OF *SPIRULINA PLATENSIS* ON CONTENT OF METABOLITES ENERGY METABOLISM IN RAT ORGANS

The content of lactate, malate and pyruvate, lactate / pyruvate, malate / pyruvate and NAD / NADH, NADP / NADPH ratios in organs of rats at oral introduction different cultures of spirulina have been determined. It has been revealed that the content of lactate, malate and pyruvate in rat organs changes to different degree and ways. The ratio of NAD / NADH increased as a rule, and the ratio of NADP / NADPH decreased. These changes indicate to carbohydrates aerobic metabolism activation and oppression of lipogenesis.

**Key words:** spirulina, lactate, malate, pyruvate, nicotinamide coenzymes.

УДК 616.024-009.27.612.37

І. В. Смірнов

## ВПЛИВ БАКТЕРІАЛЬНОГО ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНІ КЛОНІКО-ТОНІЧНІ ТА КЛОНІЧНІ СУДОМИ У ЩУРІВ

Одеський державний медичний університет

Встановлена нейротропна активність факторів імунної природи. Так, зокрема, показано, що інтерферон 2-альфа (препарат «Лаферон») спричинює проепілептогенні впливи [1]. Такий же ефект справляє фактор некрозу пухлин альфа (ФНП-альфа) [10], індукція якого спостерігається за умов застосування бактеріального ліпопо-

лісахариду (ЛПС) [5]. Дія ЛПС може лежати в основі формування судом і підвищеної судомної готовності мозку, що становить суттєвий інтерес і потребує подальшого вивчення [4].

**Метою** даної роботи було дослідження впливу ЛПС на генералізовані судомні реакції, індуковані застосуванням епі-

лептогенів, які мають здатність порушувати ГАМК-ергічне гальмування (натрієва сіль бензилпеніциліну), а також активувати метаболічні глутаматні рецептори (каїнова кислота).

#### Матеріали та методи дослідження

За умов гострого експерименту спостерігали за щурами-сам-

цями лінії Вістар масою 180–250 г.

В окремі серії досліджень для моделювання каїнат-провокованих судомних проявів щурів під кетаміновим (100,0 мг/кг, в/чер) наркозом за координатами атласу [9] вводили канюлі, які закріплювали на поверхні черепа за допомогою швидкотвердіючої пластмаси «Норакрил». За щурами спостерігали в експерименті через 7–14 діб із моменту імплантації канюль. За умов вільної поведінки тварин за допомогою мікроін'єктора вводили розчин каїнової кислоти («Sigma», США; 2,0 мг/мл) із розрахунку 0,6 мг на тварину, що становило ED<sub>100</sub> дози епілептогену, яка спричинює клонічні судоми (КС) у тварин [2]. Спостереження проводили протягом 30 хв із моменту введення епілептогену.

Свіжий розчин натрієвої солі бензилпеніциліну (3,0 млн МО/кг, в/чер) застосовували для моделювання генералізованого судомного синдрому [6]. За щурами спостерігали протягом 60,0 хв із моменту застосування епілептогену.

Ліпополісахарид «Пірогенал» (НДІ ім. М. Ф. Гамалей РАМН, РФ) застосовували дозами 0,01–1,0 мг/кг, в/чер. Тваринам контрольної групи за аналогічних умов вводили 0,5 мл 0,9%-го фізіологічного розчину NaCl, в/чер.

Тяжкість генералізованих судом оцінювали відповідно до шестибальної шкали [2; 10]:

0 балів — відсутність судом;  
1 бал — судомні здригання окремих груп м'язів;

2 бали — клонічні судоми м'язів кінцівок і тулуба;

3 бали — нападоподібні клонуси передніх кінцівок;

4 бали — клоніко-тонічні генералізовані судоми з падінням тварини на бік і розвитком післянападової депресії;

5 балів — повторні генералізовані судомні напади.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням методу

ANOVA та критерію Newman — Keuls.

### Результати дослідження та їх обговорення

Застосування натрієвої солі бензилпеніциліну (3,0 млн МО/кг, в/чер) супроводжувалося розвитком перших судомних проявів протягом 3,5–7,5 хв із моменту застосування епілептогену (в середньому —  $(5,8 \pm 0,7)$  хв). Протягом наступних 15,0–40,0 хв вираженість судомних реакцій зростала й охоплювала м'язи всього тіла тварини. При цьому у 8 щурів із 11 спостерігалися генералізовані клоніко-тонічні судомні напади з падінням тварин на бік, розвитком післянападової депресії. Тяжкість судом становила  $(3,7 \pm 0,2)$  бала.

Застосування епілептогену через 2 год з моменту введення ЛПС (1,0 мг/кг, в/чер) супроводжувалося формуванням перших судомних реакцій, латентний період розвитку яких був на 25,5 % меншим порівняно з відповідним показником у групі контролю ( $P < 0,05$ ). Тяжкість судом у цей період збільшувалася на 13,5 % ( $P > 0,05$ ) (рис. 1). Через 4 год з моменту застосування ЛПС спостерігалося скорочення латентного періоду перших судом на 32,7 % порівняно з контролем

( $P < 0,05$ ), а тяжкість судом зростала на 29,7 % ( $P < 0,05$ ). Одноразово в усіх тварин реєструвалися генералізовані клоніко-тонічні судомні напади, які у 4 із 11 щурів носили повторний характер. Через 8 год із моменту введення ЛПС не спостерігалося різниці параметрів судом, які досліджувалися у групах спостереження та контролю ( $P > 0,05$ ), тимчасом як через 12 і 18 год реєструвався розвиток протиепілептичних ефектів препарату (див. рис. 1). Так, через 12 год із моменту його застосування латентний період перших судом збільшувався порівняно з контролем на 43,4 % ( $P < 0,05$ ), а їх тяжкість знижувалася на 37,8 % ( $P < 0,05$ ). Разом із тим, у тварин реєструвалися поодинокі судомні посмикування окремих груп м'язів у 2 щурів, ще у 3 — клонічні судоми м'язів кінцівок, повторні клонічні судоми м'язів передніх лап із підніманням щурів на задні кінцівки — у 3 тварин і тільки в одного щура спостерігався розвиток генералізованого судомного нападу. Через 18 год із моменту застосування ЛПС латентний період перших судом перевищував аналогічний показник у групі контролю на 57,8 %, а тяжкість судом була практично

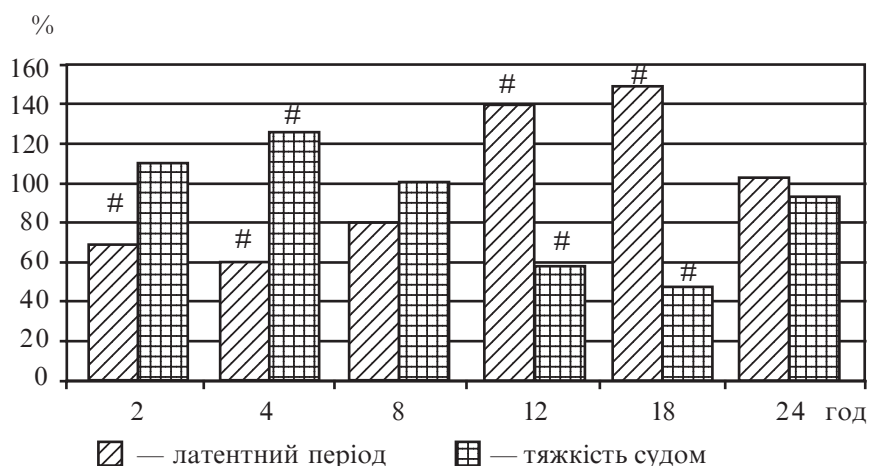


Рис. 1. Вплив ЛПС дозою 0,1 мг/кг, в/чер на генералізовану судомну активність, яку спричинено застосуванням натрієвої солі бензилпеніциліну (3,0 млн МО/кг, в/чер): за віссю абсцис — час із моменту введення ЛПС (год); за віссю ординат — досліджувані показники в процентах щодо таких у групі контролю (100 %). # —  $P < 0,05$  порівняно з відповідним показником у групі контролю (ANOVA+ Kruscall — Wallis)

вдвічі меншою ( $P < 0,05$ ). У щурів були відсутні генералізовані судомні прояви. Тестування пеніцилін-індукованих судом, яке проводили через 24 год з моменту застосування ЛПС, показало відсутність відмінностей параметрів, які досліджувались, порівняно з групою контролю ( $P > 0,05$ ) (див. рис. 1).

Завданням окремої серії досліджень було вивчення ефектів полегшення та пригнічення судомної активності, які спостерігалися відповідно через 4 та 18 год із моменту застосування ЛПС за умов застосування ЛПС різними дозами.

Через 4 год з моменту введення ЛПС дозою 0,05 мг/кг (в/чер) спостерігалось зменшення латентного періоду перших судом на 25,3 % порівняно з групою контролю ( $P < 0,05$ ) (рис. 2). При цьому тяжкість судомних проявів невірогідно (на 8,5 %) перевищувала таку в групі контролю ( $P > 0,05$ ). Через 24 год з моменту введення ЛПС реєструвалося збільшення латентного періоду перших судомних реакцій (на 35,2 %) при зменшенні тяжкості судом на

27,7 % ( $P < 0,05$ ). За цих умов у щурів спостерігалися клонічні судоми, які охоплювали м'язи тулуба та кінцівок, а також (у 3 із 10 тварин) — генералізовані клоніко-тонічні судомні напади. Введення ЛПС (1,0 мг/кг, в/чер) спричинювало скорочення латентного періоду перших судом (4 год з моменту введення препарату) на 34,7 % ( $P < 0,05$ ) при зростанні тяжкості судом на 32,6 % ( $P < 0,05$ ). У половини тварин у групі реєструвалися генералізовані клоніко-тонічні напади. Судоми, які відтворювалися через 18 год із моменту введення ЛПС, характеризувалися збільшенням порівняно з контролем латентного періоду перших судом (на 44,9 %) і зменшенням їх тяжкості (на 44,4 %) ( $P < 0,05$ ) (див. рис. 2). Водночас досліджувані показники судом не відрізнялися від таких у групі щурів, яким застосовували ЛПС дозою 0,1 мг/кг ( $P > 0,05$ ).

Дослідження впливу ЛПС на судоми, які спричинили за допомогою каїнової кислоти, проводили на моделі КС у щурів, яким у бокові шлуночки вво-

дили розчин каїнової кислоти дозою 0,6 мкг ( $ED_{100}$ ).

Після застосування каїнової кислоти в групі контролю перші судомні реакції у щурів виникали через  $(4,13 \pm 0,57)$  хв. У тварин спочатку реєструвалися окремі судомні скорочення м'язів кінцівок, вираженість яких у 3 із 10 тварин посилювалась у наступні 10–15 хв, і клонічні судоми охоплювали м'язи тулуба та кінцівок. У одного щура виникла клоніко-тонічна екстензія передніх кінцівок. Тяжкість судом у групі контролю становила  $(1,2 \pm 0,2)$  бала.

Застосування каїнової кислоти (0,6 мкг, внутрішньошлуночково) у щурів через 4 год з моменту в/чер введення 0,1 мг розчину ЛПС спричинило більше ніж двократне скорочення латентного періоду перших судом порівняно з контролем, який становив  $(1,93 \pm 0,26)$  хв ( $P < 0,05$ ) (рис. 3). У 8 із 10 щурів спостерігалися генералізовані клоніко-тонічні судомні напади протягом наступних 20 хв спостереження, які у 3 тварин носили повторний характер. Тяжкість судом у 2,54 разу перевищувала таку у щурів групи контролю ( $P < 0,05$ ) (див. рис. 3). У тварин, яким каїнову кислоту застосовували через 18 год із моменту введення ЛПС, латентний період перших судом становив  $(2,97 \pm 0,60)$  хв, що було на 28,1 % менше, ніж у тварин групи контролю ( $P < 0,05$ ) (див. рис. 3). Разом із тим, у 3 щурів із 10 на фоні клонусів м'язів усього тіла виникали клоніко-тонічні екстензії передніх кінцівок — тяжкість судом становила  $(2,3 \pm 0,2)$  бала і була на 88,5 % вищою, ніж у щурів групи контролю ( $P < 0,05$ ) (див. рис. 3).

Таким чином, наведені результати показали, що застосування ЛПС супроводжувалося змінами збудливості головного мозку щурів щодо впливів натрієвої солі бензилпеніциліну. Водночас спочатку визначався проепілептогенний ефект препарату (на 4-й годині з момен-

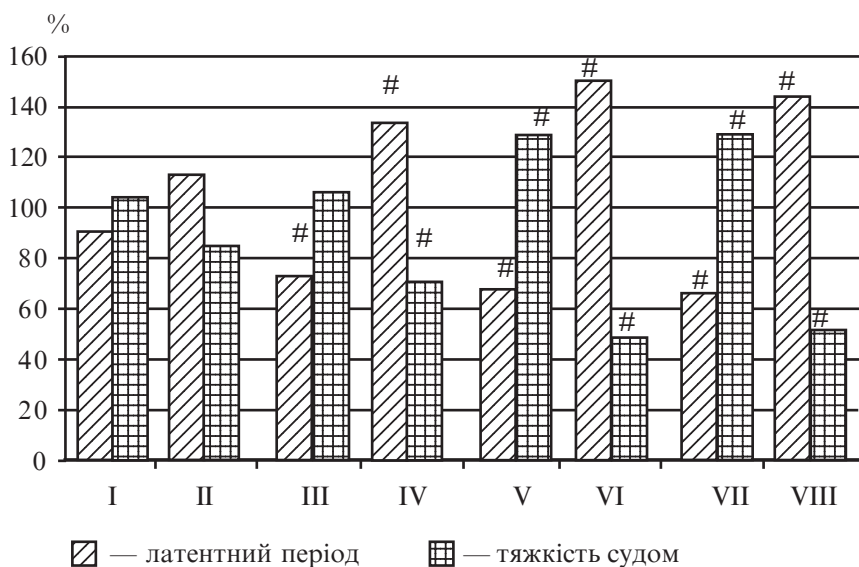


Рис. 2. Вплив ЛПС, застосованого різними дозами, на пеніцилін-провоковані судомні прояви: за всією абсцис — I і II відповідно — ранній (4 год) і віддалений (18 год) періоди з моменту в/чер введення ЛПС дозою 0,01 мг/кг; III і IV — дозою 0,05 мг/кг; V і VI — 0,1 мг/кг; VII і VIII — 1,0 мг/кг; за всією ординат — досліджувані показники в процентах щодо таких у групі контролю (100 %). # —  $P < 0,05$  порівняно з відповідними показниками в групі контролю (метод ANOVA + Kruskal — Wallis тест)



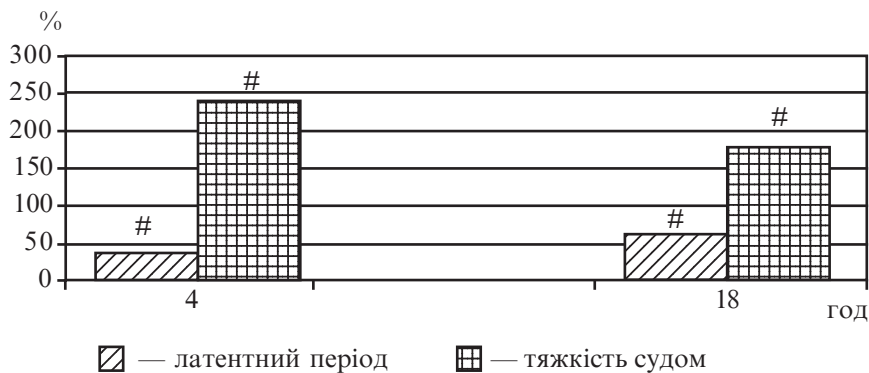


Рис. 3. Каїнат-індуковані клонічні судоми в різні терміни з моменту застосування ЛПС: за віссю абсцис — час із моменту застосування ЛПС (0,1 мг/кг, в/чер; год); за віссю ординат — досліджувані параметри в процентах щодо таких у групі контролю (100,0 %). # —  $P < 0,05$  порівняно з відповідними показниками в групі контролю

ту його застосування), який змінювався через 18 год ефектом пригнічення судомних проявів.

Становить інтерес той факт, що вказані ефекти спостерігались у діапазоні доз ЛПС від 0,05 до 1,0 мг/кг. Причому десятикратне збільшення дози (до 1,0 мг/кг) не супроводжувалося відповідним зростанням вираженості ефектів, які полегшують епілептичну активність. Це може бути пов'язано з використанням у дослідженні моделі епілептогенезу, що має відносно високу потужність судомних проявів, які досягають можливого максимуму вже при використанні дози ЛПС 0,1 мг/кг. З другого боку, протиепілептичний вплив ЛПС за своєю вираженістю також залишався подібним до того, який спостерігався при використанні препарату ЛПС дозою 0,1 мг/кг, що дозволяє припустити нелінійний характер розвитку ефектів ЛПС на судомні прояви.

Подібні подвійні за своїм характером ефекти ЛПС відомі щодо реперфузійного постішемичного ушкодження серцевого м'яза. Так, автори [7] показали, що скоротливість серцевого м'яза, яка пригнічувалася протягом 4–12 год із моменту введення сублетальної дози ЛПС, повністю відновлювалася через 24 год, і після подібного відновлення стійкість міокарда до впливу ендотоксинів зростала. Крім

того, ЛПС спричинював протективний вплив щодо ішемичного ушкодження тканини мозку [3; 11]. Механізми подібних ефектів пов'язані зі здатністю ЛПС індукувати продукцію ФНП-альфа [5], який також спричинює кардіопротективні впливи через 24 год з моменту його застосування [8]. Однак були також встановлені незалежні механізми здійснення протективних ефектів ЛПС і ФНП-альфа [7]. Причому протективні ефекти ЛПС спостерігались у термін до 7 діб і були пов'язані зі збільшенням синтезу протеїнів і не залежали від вираженості гіпертермії.

Визначене в даному дослідженні зниження вираженості пеніцилін-індукованих судом у віддаленому періоді застосування ЛПС дозволяє розглядати можливість участі в механізмах цього ефекту активації ГАМК-ергічного гальмування, тому що пригнічення ГАМК-ергічного гальмування є характерним для впливу пеніциліну на нервову тканину [12]. Разом із тим, зниження вираженості протисудомного впливу ЛПС у терміни більші ніж 24 год з моменту його застосування, а також проепілептогенні ефекти препарату щодо каїнат-провокованих судом дозволяють припустити участь інших механізмів у розвитку протиепілептичних ефектів ЛПС.

## Висновки

1. Застосування ЛПС спричинює підвищення судомної готовності мозку тварин до епілептогенного впливу натрієвої солі бензилпеніциліну в ранньому (2–4 год) періоді з моменту його використання та зниження — у віддаленому (12–18 год) періоді.

2. Введення ЛПС супроводжується збільшенням епілептогенної дії каїнової кислоти як у ранньому, так і у віддаленому періодах.

3. Ефективний діапазон доз ЛПС, які модулюють чутливість мозку тварин до впливу епілептогенів — 0,01–1,0 мг/кг.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Годлевський Л. С., Ненова О. М. Нейроімунологічні механізми контролю збудливості головного мозку // *Досягнення біології та медицини.* — 2006. — № 1. — С. 75-92.
2. Шандра А. А., Годлевський Л. С., Бруснецов А. И. Киндлинг и эпилептическая активность. — Одесса: Астропринт, 1999. — 272 с.
3. The neuronal excitability time-dependently changes after lipopolysaccharide administration in mice: possible role of cyclooxygenase-2 induction / E. S. Akarsu, S. Ozdayi, E. Algan, F. Ulupinar // *Epilepsy Res.* — 2006. — Vol. 71, N 2-3. — P. 181-187.
4. Heida J. G., Teskey G. C., Pittman Q. J. Febrile convulsions induced by the combination of lipopolysaccharide and low-dose kainic acid enhance seizure susceptibility, not epileptogenesis, in rats // *Epilepsia.* — 2005. — Vol. 46, N 12. — P. 1898-1905.
5. Tumor necrosis factor- $\alpha$  gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration / S. Kapadia, J. Lee, G. Torre-Amione et al. // *J. Clin. Invest.* — 1995. — Vol. 96. — P. 1042-1052.
6. Mrangoz C., Bagrici F. Effects of L-arginine on penicillin-induced epileptiform activity in rats // *Jpn. J. Pharmacol.* — 2001. — Vol. 86, N 3. — P. 297-301.
7. Nitric oxide synthase is not involved in cardiac contractile dysfunction in a rat model of endotoxemia without shock / X. Meng, L. Ao, J. M. Brown et al. // *Shock.* — 1997. — Vol. 7. — P. 111-118.
8. Nelson S. K., Wong G. H. W., McCord J. M. Leukemia inhibitory

factor and tumor necrosis factor induce manganese superoxide dismutase and protect rabbit hearts from reperfusion injury // *J. Mol. Cell. Cardiol.* — 1995. — Vol. 27. — P. 223-229.

9. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. — Sydney: Academic Press Inc., 1998.

10. *The role of TNF- $\alpha$  in amygdala kindled rats* / A. A. Shandra, L. S. Godlevsky, R. S. Vastyanov et al. // *Neuroscience Research.* — 2002. — Vol. 42. — P. 147-153.

11. *Lipopolysaccharide pre-treatment induces resistance against subsequent focal cerebral ischemic damage in spon-*

*taneously hypertensive rats* / K. Tasaki, C. A. Ruetzler, T. Ohtsuki et al. // *Brain Res.* — 1997. — Vol. 748. — P. 267-270.

12. *Woodbury D. M. Convulsant drug: Mechanisms of action* // *Antiepileptic drugs: Mechanism of action.* — N. Y.: Raven Press, 1980. — P. 249-303.

УДК 616.024-009.27.612.37

I. В. Смірнов

#### ВПЛИВ БАКТЕРІАЛЬНОГО ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНІ КЛОНІКО-ТОНІЧНІ ТА КЛОНІЧНІ СУДОМИ У ЩУРІВ

У гострих дослідах на щурах-самцях лінії Вістар показано, що під впливом в/чер застосування бактеріального ліпополісахариду (0,01–1,0 мг/кг) виникає полегшення розвитку генералізованих клоніко-тонічних судом, які спричинювались уведенням натрієвої солі бензилпеніциліну (3,0 млн МО/кг, в/чер) у ранньому періоді (2–4 год з моменту введення ЛПС), і пригнічення судом через 12–18 год. Клонічні судоми, які спричинювались каїновою кислотою, посилювались за умов застосування ЛПС як у ранньому, так і у віддаленому періоді спостереження.

**Ключові слова:** бактеріальний ліпополісахарид, судоми, натрієва сіль бензилпеніциліну, каїнова кислота, цитокіни.

UDC 616.024-009.27.612.37

I. V. Smirnov

#### THE INFLUENCE OF BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDE UPON GENERALIZED CLONIC-TONIC AND CLONIC SEIZURES IN RATS

In acute experiments on male Wistar rats it was shown that i.p. administration of bacterial lipopolysaccharide (LPS) (0.01–1.0 mg/kg) caused the facilitation of generalized clonic-tonic seizures development, induced with benzilpenicillin sodium salt administration (3.0 mln IU/kg). This effect was observed in 2–4 h from the moment of epileptogen injection and was substituted with the suppression of seizures in 12–18 h. Clonic seizures, which were induced by kainic acid administration, have been intensified by LPS both in early and postponed period of observation.

**Key words:** bacterial lipopolysaccharide, seizures, benzilpenicillin sodium salt, kainic acid, cytokine.

*Передплатуйте  
і читайте  
журнал*



## ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

У випусках журналу:

- ◆ Фундаментальні проблеми медицини та біології
- ◆ Нові медико-біологічні технології
- ◆ Оригінальні дослідження
- ◆ Огляди
- ◆ Інформація, хроніка, ювілеї

Передплатні індекси:

- для підприємств та організацій — 08204;
- для індивідуальних передплатників — 08205

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті