ЛИТЕРАТУРА

1. *Гершкович А.А., Кибирев В.К.* Синтез пептидов. Реагенты и методы. – К.: Наукова думка, 1987. – 264 с.
2. *Askwith C.C., Cheng C., Ikuma M.*, et al. // Neuron 2000. – Vol. 26, № 1. – P. 133–141.
3. *Cottrell G.A.* // EXS. – 1993. – Vol. 63 – P.279–285.
4. *Cragoe E.J., Woltersdorf Jr O.W., Bickling J.B.*, et al. // J. Med. Chem. – 1976. – Vol. 10. – P. 66–75.
5. *Greenberg M.J., Price D.A.* // Prog. Brain Res. – 1992. – Vol. 92. – P.25–37.
6. *Krishtal O.A.* // Trends Neurosci. – 2003 – Vol. 26. – № 9 – P. 477–483.
7. *Krishtal O.A., Pidoplichko V.I.* // Neuroscience. – 1980. – Vol. 5. – P. 2325.
8. *Ostrovskaya O.I., Moroz L.L., Krishtal O.A.* // Jornal of Neurochemistry. – 2004. – Vol. 91, № 1. – P. 252–255.
9. *Price D.A., Greenberg M.J.* // Science. – 1977. – Vol. 197. – № 4304. – P. 670–671.
10. *Raffa R.B.* // Peptides. – 1988. – Vol. 9, № 4. – P. 915–922.
11. *Waldmann R., Bassilana F., de Weille J.*, et al. // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272, № 34. – P. 20975–20978.
12. *Waldmann R., Champigny G., Bassilana F.*, et al. // Nature. – 1997. – Vol. 386, № 6621. – P. 173–177.
13. *Yudin Y.K., Tamarova Z.A., Ostrovskaya O.I.*, et al. // European Jornal of Neuroscience. – 2004. – Vol. 20. – P.1419–1423.

УДК 577.352.38:615.014.425:615.244.188.221.3

ВЛИЯНИЕ ЦИКВАЛОНА И ДИБУНОЛА НА ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ, ИНДУЦИРОВАННЫЙ ИОНАМИ МЕДИ И ГИДРОПЕРОКСИДОМ

Х. Диб, О.В. Островский, В.Г. Зайцев, В.Е. Веровский, А.В. Симонян

Кафедра теоретической и клинической биохимии ВолГМУ

INFLUENCE OF CYCVALOL AND DIBUNOL ON THE ERYTHROCYTE HAEMOLYSIS INDUCED BY COPPER IONS AND HYDROPEROXIDE

Kh. Dib, O.V. Ostrovsky, V.G. Zaitsev, V.E. Verovsky, A.V. Simonyan

Abstract. We compared effects of two phenolic antioxidants, cycvalonum and 2,6-di-tret-butyl-4-methylphenol using the model of haemolysis of erythrocytes induced by copper. It was found that cycvalonum has better protective effect than 2,6-di-tret-butyl-4-mehtylphenol.

Key words: erythrocyte haemolysis.

Исследование резистентности эритроцитарных мембран является стандартной диагностической процедурой при разнообразных патологических состояниях, связанных с эндогенной интоксикацией [3]. Было показано, что гемолиз эритроцитов под действием солей меди определяется перекисным повреждением мембран [1, 5]. Поэтому представлялось интересным исследовать влияние двух фенольных антиоксидантов циквалона (2,6-бис[(3-метокси-4-гилроксифенил)-метилен]-циклогексанон) и дибунола (2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол) (ВНТ) на гемолиз эритроцитов в присутствии ионов меди.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние циквалона и дибунола на гемолиз эритроцитов, индуцированный ионами меди.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 36 белых нелинейных крысах самцах. Их декапитировали под эфирным наркозом, эритроциты отмывали физиологическим раствором.

В моделях *in vitro* гемолиз проводили хлоридом меди (конечная концентрация 200 мкМ) в присутствии и отсутствии пероксида водорода (конечная концентрация 5 мМ). Суспензию инкубировали на шейкере-термостате при постоянном перемешивании в течение 2 часов при температуре 37 °С.

Фенольные антиоксиданты, растворимые в этаноле, добавляли в опытные пробы в разных концентрациях. А в контрольную пробу добавляли этанол в таком же объеме. Для определения степени гемолиза измеряли концентрацию гемоглобина, вышедшего в инкубационную среду при разрушении клеток, прямым спектрофотометрическим методом. Конечный гематокрит в образцах составлял 1 %, при полном гемолизе образца поглощение пробы было в диапазоне величин 1,5–2,0 о.е.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами было доказано, что инкубация образца в отсутствии индукторов вызывала гемолиз 6–14 % эритроцитов.

Динамика процесса гемолиза эритроцитов в присутствии 200 мкМ ионов Cu^{2+} приведена на рис. 1. Процесс характеризовался длительным (не менее 1 ч) латентным периодом. Достоверные отличия, по сравнению с динамикой гемолиза без инициаторов, отмечались только к 60-й мин, а затем следовала резкая активация процесса. К концу 2-го ч гемолизировалось около 50 % эритроцитов.

Сочетанное применение Cu^{2+} (200 мкМ) и перекиси водорода (5 мМ) изменяло характер динамики процесса: латентный период уменьшался, а количество поврежденных клеток увеличивалось. Так, достоверное увеличение концентрации гемоглобина в надосадочной жидкости наблюдалось уже к 30-й мин, а затем скорость гемолиза увеличивалась.

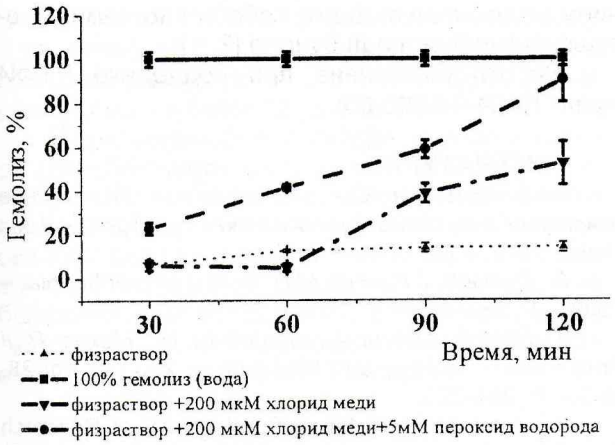

Рис. 1. Индукция гемолиза эритроцитов крыс *in vitro* 200 мкМ хлоридом меди: в отсутствие пероксида водорода; и в присутствии 5 мМ пероксида водорода

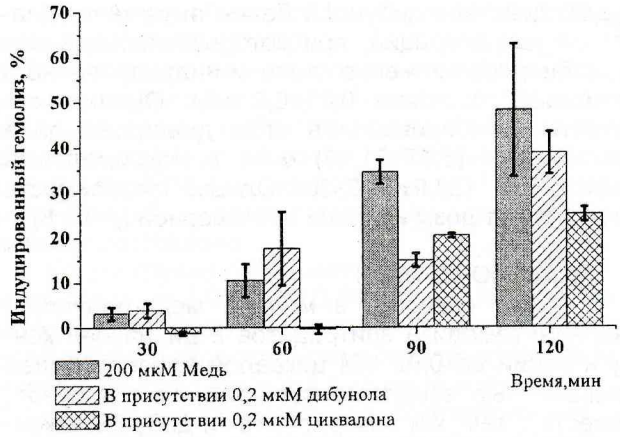

Рис. 2. Влияние циквалона и дибунола в дозе 0,2 мкМ на гемолиз эритроцитов крыс, индуцированный 200 мкМ хлоридом меди. Приведены результаты за вычетом спонтанного гемолиза (в физрастворе)

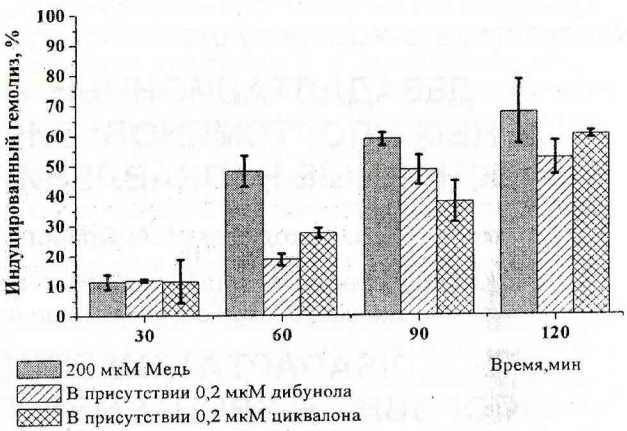

Рис. 3. Влияние циквалона и дибунола в дозе 0,2 мкМ на гемолиз эритроцитов крыс, индуцированный 200 мкМ хлоридом меди в сочетании с 5 мМ пероксида водорода. Приведены результаты за вычетом спонтанного гемолиза (в физрастворе)

На 60-й, 90-й и 120-й мин повреждалось 48, 59 и 86 % эритроцитов соответственно. Надо полагать, что в первом случае, когда в образце присутствовали только ионы меди, генерация свободных радикалов происходила в результате разрушения органических гидропероксидов. При этом образовавшиеся гидроксильный и супероксидный радикалы запускали новые цепи окисления липидов, что и приводило к длительному латентному периоду повреждения клеток. Во втором случае на начальных этапах основным источником активных форм кислорода являлась вносимая нами перекись водорода в концентрации, значительно превышающей концентрацию липоперекисей в нативных мембранах, что, по-видимому, и приводит к значительному сокращению латентного периода.

Циквалон подавлял индуцированный ионами меди гемолиз. Однако при этом подавляющий эффект циквалона имел однонаправленный дозозависимый характер в диапазоне концентраций 0,2–20 мкМ. Константа ингибирования, рассчитанная по результатам 2-часовой инкубации, составила $(5,3\pm1,4)\times10^{-8}$ М, максимальный эффект – 90,1±1,4 %. Повышение концентрации циквалона до 200–500 мкМ приводило к снижению регистрируемого антигемолитического эффекта практически до исчезновения (значимые различия между образцами без циквалона и в присутствии циквалона в концентрации 500 мкМ отсутствуют).

Дибунол снижал степень гемолиза эритроцитов. Однако достоверное снижение степени гемолиза выявилось только в присутствии 0,02 мМ ВНТ при полуторачасовой инкубации. Напротив, препарат в концентрациях 0,2 и 0,5 мМ приводил к увеличению скорости процесса на начальной стадии (инкубация до 90 мин). Как и в случае высоких концентраций циквалона, дибунол в концентрации 0,5 мМ почти двукратно увеличивал степень гемолиза уже к 30-й мин инкубации.

Подобный характер зависимости от концентрации циквалона имел место и в случае гемолиза, индуцированного комбинацией ионов меди с перекисью водорода (рис. 3). Но, в отличие от индукции только медью, константа ингибирования, рассчитанная по результатам 2-часовой инкубации, составила $(1,5\pm0,8)\times10^{-6}$ М, а максимальный эффект – всего 42±12 %. Обращает внимание также повышение степени гемолиза от ~20 % до ~40 % на начальных стадиях процесса (30 мин) в присутствии высоких концентраций циквалона (500 мкМ). Это обусловлено, по-видимому, высокой липофильностью циквалона и способностью влиять на физико-химические свойства мембраны эритроцитов при сравнительно высоких концентрациях (начиная с 200 мкМ), а также может быть расценено как инверсия свойств ловушки по мере роста концентрации.

В случае индукции гемолиза эритроцитов крыс комбинацией ионов меди и пероксида водо-

рода, действие дибунола более выражено. Диапазон концентраций, при которых наблюдалось достоверное снижение степени индуцированного гемолиза, составил 0,01–0,2 мМ. Оценка константы ингибирования в этом диапазоне дала величину – (6,07±21,46) мкМ, а максимальный эффект – (22,9±16,3) %. Однако зависимость эффекта от дозы не была достоверной (p = 0,8).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в модели медь-индуцированного гемолиза эритроцитов в диапазоне концентраций до 0,02 мМ циквалон проявил более выраженные защитные свойства, чем дибунол. Вместе с тем, как циквалон, так и дибунол в концентрациях 0,2–0,5 мМ вызывали увеличение степени гемолиза. Это может быть связано как с непосредственным изменением свойств липидного бислоя в присутствии столь высоких концентраций липофильных веществ, так и с накоплением радикальных форм собственно самих "ловушек" циквалона и дибунола [2, 4].

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 04-04-965.05).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах // М.: Наука, 1972. – 252 с.

2. *Dynlacht J.R., Fox M.H.* // Int J. hyperthermia. – 1992. – P. 351–362.

3. *Rock E., Mazur A., Jacqueline M., Maxine P.* // Free Radical Biology and Medicine. – 2000. – Vol 28, № 3. – P. 324–329.

4. *Motohiko N.* // Japan Food Chemical Research Foundation. Research report. – 2003. – № 9. – P. 324–329.

5. *Nishikawa T., Matusi lee I.S., Shiraishi N.,* et al. // The journal of Biological Chemistry. – 1997. – Vol. 272, № 37. – P. 23037–23041.

УДК 796.071.2:616-003.96-053.2-076

ДЕЗАДАПТАЦИОННЫЕ ПРОБЛЕМЫ В ТРЕНИРОВКЕ ЮНЫХ СПОРТСМЕНОВ: БИОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИХ ВОЗМОЖНОЙ КОРРЕКЦИИ

В.А. Лиходеева, А.А. Спасов, В.Б. Мандриков, Т.Е. Фатьянова

Кафедра фармакологии, кафедра физического воспитания и здоровья ВолГМУ, Волгоградская государственная академия физической культуры

DISADAPTATION PROBLEMS IN THE TRAINING OF JUNIOR SPORTSMEN: BIOCHEMICAL DIAGNOSTICS AND MAIN DIRECTIONS OF THEIR POSSIBLE CORRECTION

V.A. Likhodeeva, A.A. Spasov, V.B. Mandrikov, T.E. Fatianova

Abstract. More than 80 % of young swimmers develop disadaptation syndrome during intensive training manifested by deviations of biochemical parameters in the blood and urine. This condition requires certain pharmacological correction and development of preventive strategies.

Key words: adaptation, disadaptation, functional conditions, signs of disadaptation.

Профессионализм, коммерциализация в спорте и крайне обострившаяся в связи с этим конкуренция на мировой арене ставят спортсменов в условия жесткого прессинга физической подготовки и высокого требования к уровню функциональной подготовленности спортсменов [6, 16]. В связи с этим без точной диагностики функциональной подготовленности спортсменов достичь высокого результата в современном спорте не представляется возможным, так как интенсивность мышечной работы на этапах спортивной тренировки достигает критических значений [12]. В связи с этим проблема повышения физической работоспособности при построении важнейших единиц тренировочного процесса остается самой острой и актуальной в современном спорте, так как адекватная физическая нагрузка является критерием эффективной спортивной работы [2, 8] и эффективным средством управления тренировочным процессом [7].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить функциональное состояние юных пловцов на общеподготовительном этапе спортивной тренировки, анализ ассоциированных с ней дезадаптационных проблем и определить направления их возможной коррекции.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились в два этапа на подготовительной стадии тренировочного макроцикла с участием 38 спортсменов-пловцов, разделенных на 2 группы: 1-ю группу составил 31 спортсмен, у которых ортостатическая проба выявила "удовлетвори-