

Получена: 4 апреля 2017 / Принята: 26 апреля 2017 / Опубликовано online: 30 апреля 2017

УДК 577.121.-616-097\98-542.943-92'78

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ СОЧЕТАННОГО ВВЕДЕНИЯ КОМПЛЕКСА АДЕНОЗИН И АДЕНОЗИНМОНОФОСФАТ ПРИ ГИПЕРАДРЕНАЛИНЕМИИ

Салават О. Тапбергенов¹, <http://orcid.org/0000-0003-0703-7458>

Бақытбек С. Советов¹, <http://orcid.org/0000-0001-9291-558>

Артур Т. Тапбергенов², <http://orcid.org/0000-0002-8533-1997>

Элина Ганн³ <http://orcid.org/0000-0002-1530-853X>

¹ Государственный Медицинский Университет города Семей, г. Семей, Казахстан. Кафедра химии и химических дисциплин;

² Центр кардиохирургии, Клиника HELIOS, г. Зигбург, Северный-Рейн-Вестфалия, ФРГ;

³ Юлий-Максимилиан-Университет Вюрцбурга, Медицинский факультет, г. Вюрцбург, Бавария, ФРГ.

Введение. Известно, что аденозин как метаболит аденозинмонофосфата (АМФ) обладает множеством функциональных и метаболических эффектов, направленных на поддержание гомеостаза. Аденозин играет особо важную роль в адаптации миокарда к ишемии и гипоксии. Оказывая антиаритмическое на сердце действие, аденозин замедляет атриовентрикулярную проводимость индуцированную катехоламинами.

Цель исследования. Изучить эффекты сочетанного действия комплекса аденозин + АМФ на иммунный статус, на активность ферментов антиоксидантной защиты и метаболизма пуриновых нуклеотидов, на уровень МДА и ДК в крови, в сердце и печени при гипердреналинемии.

Материал и методы. Дизайн исследования: экспериментальный. В крови, в сердце и печени белых крыс на фоне гипердреналинемии, созданной в/б введением адреналина в дозе 0,4 мг на 100 г массы тела за 60 минут до исследования, изучено влияние комплекса аденозин + АМФ в суммарной дозе 1000 мкг на иммунный статус, на активность ферментов глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР), каталазы, аденозиндезаминазы (AD), АМР-дезаминазы (AMPD), 5'-нуклеотидазы (5'Н), на уровень малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК).

Результаты исследования обрабатывали при помощи t-критерия Стьюдента. В работе приведены среднеарифметические данные \pm ошибка средних ($X \pm m$). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. При гипердреналинемии, введение комплекса аденозин и АМФ снижает общее количество лейкоцитов, Т-лимфоцитов и Т-супрессоров, повышает Т-лимфоцитов и РТМЛ, повышает активность ферментов метаболизма пуринов AD, AMPD, 5'Н и ГР, снижает активность ГПО, каталазы и уровень МДА в крови.

В сердце при симпатической гиперактивации комплекс аденозин и АМФ приводит к активации AD и AMPD, к увеличению соотношения активностей AD+AMPD/5'Н в сторону катаболизма аденозина и АМФ, вызывает снижение количества МДА и ДК и адекватно этому снижается активность ГР, ГПО и каталазы, что свидетельствует о снижении процессов пероксидации в этом органе.

В печени при гипердреналинемии комплекс аденозин и АМФ снижает уровень МДА и ДК, и адекватно этому снижается активность ГПО и каталазы, тем самым снижается уровень окислительного стресса, вызванный адреналином.

Выводы. Для коррекции изменений в системе антиоксидантной защиты, активности ферментов метаболизма пуринов и иммунных реакций, наблюдаемые при гипердреналинемии и окислительного стресса любого происхождения, можно использовать комплекс аденозин и АМФ.

Ключевые слова: Адреналин, АМФ, аденозин, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза, каталаза, аденозиндезаминаза, АМР-дезаминаза, 5-нуклеотидаза.

Summary

METABOLIC EFFECTS OF COMBINED INTEGRATION OF ADENOSINE AND ADENOSINE MONOPHOSPHAT IN HYPERADENALEMIA**Salavat O. Tapbergenov**¹, <http://orcid.org/0000-0003-0703-7458>**Bakhytbek S. Sovetov**¹, <http://orcid.org/0000-0001-9291-558>**Artur T. Tapbergenov**², [http:// orcid.org/0000-0002-8533-1997](http://orcid.org/0000-0002-8533-1997)**Elina Hahn**³, <http://orcid.org/0000-0002-1530-853X>¹ Semey State Medical University, Semey, Kazakhstan.

Department of Biochemistry and Chemical disciplines;

² Cardiosurgery Center, HELIOS Clinic, Siegburg, North Rhine-Westphalia, Germany;³ Julius-Maximilian-University of Wurzburg, Medical Faculty, Wurzburg, Bavaria, Germany.

Introduction. It is known that adenosine as a metabolite of adenosine monophosphate (AMP) has a variety of functional and metabolic effects aimed at maintaining homeostasis. Adenosine plays a particularly important role in the adaptation of the myocardium to ischemia and hypoxia. By exerting an antiarrhythmic effect on the heart, adenosine slows the atrioventricular conduction induced by catecholamines.

Purpose of the study. To study the effects of the combined effect of the adenosine + AMP complex on the immune status, on the activity of antioxidant protection enzymes and purine nucleotide metabolism, on the level of MDA and DC in the blood, in the heart and liver in hyperadrenalinemia.

Material and methods. Study design: experimental. In the blood, in the heart and liver of white rats against the background of hyperadrenalinemia, created in / b adrenaline injection at a dose of 0.4 mg per 100 g of body weight 60 minutes before the study, the effect of the adenosine + AMP complex at a total dose of 1000 µg on the immune status, On the activity of glutathione peroxidase (GPO), glutathione reductase (GR), catalase, adenosine deaminase (AD), AMP-deaminase (AMPD), 5'-nucleotidase (5'H), on the level of malonic dialdehyde (MDA) and diene conjugates (DC).

The results of the study were processed using the t-test of the Student. The paper presents the arithmetic mean ± mean error ($X \pm m$). Differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results. In hyperadrenalinemia, the introduction of the adenosine and AMP complex reduces the total number of leukocytes, T-lymphocytes and T-suppressors, increases T-lymphocytes and RTML, increases the activity of the enzymes of metabolism of purines AD, AMPD, 5'H and GR, reduces the activity of GPO, catalase and the level MDA in the blood

In the heart with sympathetic hyperactivation, the complex of adenosine and AMP leads to the activation of AD and AMPD, to an increase in the ratio of the activities of AD + AMPD / 5'H towards the catabolism of adenosine and AMP, causes a decrease in the amount of MDA and DC, and the activity of GR, GPO and catalase, which indicates a decrease in peroxidation processes in this organ.

In the liver with hyperadrenalinemia, the adenosine and AMP complex reduces the level of MDA and DC, and the activity of GAP and catalase decreases accordingly, thereby reducing the level of oxidative stress caused by adrenaline.

Conclusions. To correct the changes in the antioxidant defense system, the activity of the purine metabolism enzymes and immune responses observed in hyperadrenalinemia and oxidative stress of any origin, a complex of adenosine and AMP can be used.

Key words: Adrenaline, immune status, glutathione reductase, glutathione peroxidase, adenosine deaminase, AMP-deaminase, 5'-nucleotidase.

Түйіндеме

ГИПЕРАДРЕНАЛИНЕМИЯ КЕЗІНДЕ АДЕНОЗИН ЖӘНЕ АДЕНОЗИНМОНОФОСФАТ КЕШЕНІН ҚОСЫНДЫ ЕНГІЗУДІҢ МЕТАБОЛИТИКАЛЫҚ ӘСЕРЛЕРІ

Салават О. Тапбергенов¹, <http://orcid.org/0000-0003-0703-7458>

Бақытбек С. Советов¹, <http://orcid.org/0000-0001-9291-558>

Артур Т. Тапбергенов², <http://orcid.org/0000-0002-8533-1997>

Элина Ганн³ <http://orcid.org/0000-0002-1530-853X>

¹ Семей қаласының Мемлекеттік Медицина Университеті, Биохимия және химиялық пәндер кафедрасы, Семей қ., Қазақстан;

² Кардиохирургия орталығы, Гелиос клиникасы, Зигбург қ., Солтүстік Рейн-Вестфалия, Германия;

³ Julius-Maximilians-университеті Вюрцбург қаласының, медицина факультеті, Вюрцбург қ., Бавария, Германия.

Кіріспе. Аденозинмонофосфат (АМФ) метаболиті ретінде аденозиннің көптеген функционалды және метаболитикалық әсерлері бар, олар гомеостазды тұрақтандыруға бағытталған. Аденозин миокардтың ишемияға және гипоксияға бейімделуінде маңызды рөл атқарады. Жүрекке антиаритмиялық әсер көрсете отыра, аденозин катехоламиндердің әсерінен туындаған атриовентрикулярлы өткізгіштікті тежейді.

Зерттеу мақсаты. Қанда, жүректе және бауырда гипердреналинемия кезінде аденозин+АМФ кешенінің қосынды әрекетінің иммунды статусқа, антиоксидантты қорғаныс ферменттерінің белсенділігіне және пуринді нуклеотидтер алмасуы ферменттерінің белсенділігіне, МДА, ДК деңгейіне әсерін зерттеу.

Материал және әдістер. Зерттеу дизайны: экспериментальды. Зерттеуге 60 минут қалғанда 100 г дене массасына 0,4 мг дозада адреналин енгізу арқылы жасалған гипердреналинемия фонында ақ егеуқұйрықтардың қанында, жүректе және бауырында 1000 мкг қосынды дозада аденозин+АМФ кешенінің иммунды статусқа, глутатионпероксидаза (ГПО), глутатионредуктаза (ГР), каталаза, аденозиндезаминаза (AD), АМР-дезаминаза (AMPD), 5'-нуклеотидаза (5'Н), ферменттерінің белсенділігіне, малонды диальдегид (МДА) және диенді конъюгаттар (ДК) деңгейіне әсерін зерттеу.

Зерттеу нәтижелері Стьюденттік t-тест пайдаланып емделді. Ғылыми-зерттеу деректердің орташа көрсетеді ± орта қате ($X \pm m$). Айырмашылықтар $p < 0,05$ кезінде айтарлықтай қаралды.

Нәтижелер. Гипердреналинемия кезінде, аденозин және АМФ кешенін енгізу қанда лейкоциттердің, Т-лимфоциттердің және Т-супрессорлардың жалпы мөлшерін төмендетеді, Т-лимфоциттерді және РТМЛ арттырады, пуриндер алмасуы ферменттерінің AD, AMPD, 5'Н, ГР белсенділігін жоғарылатады, ГПО, каталаза белсенділігін, МДА деңгейін төмендетеді.

Симпатикалық гиперактивация кезінде жүректе аденозин және АМФ кешені AD және AMPD белсендірілуіне, аденозин және АМФ катаболизмі жағына қарай AD+AMPD/5'Н белсенділіктерінің қатынасы жоғарылауына әкеледі, МДА және ДК мөлшерінің төмендеуін тудырады және соған адекватты түрде ГР, ГПО және каталаза белсенділігі де төмендейді, бұл осы мүшеде пероксидация процестерінің төмендеуін дәлелдейді.

Бауырда гипердреналинемия кезінде аденозин және АМФ кешені МДА мен ДК деңгейін төмендетеді, және соған адекватты түрде ГПО мен каталаза белсенділігі де төмендейді, соған байланысты адреналиннің әсерінен туындаған тотықтырғыш стресс деңгейі де төмендейді.

Қорытындылар. Кез-келген табиғаты бар тотықтырғыш стресс және гипердреналинемия кезінде байқалатын иммунды реакциялар мен пуриндер алмасуы ферменттері белсенділігінің, антиоксидантты қорғаныс жүйесіндегі өзгерістерді түзету үшін аденозин және АМФ кешенін пайдалануға болады.

Негізгі сөздер: Адреналин, АМФ, аденозин, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза, каталаза, аденозиндезаминаза, АМР-дезаминаза, 5-нуклеотидаза.

Библиографическая ссылка:

Тапбергенов С.О., Советов Б.С., Тапбергенов А.Т., Ганн Э. Метаболические эффекты сочетанного введения комплекса аденозин и аденозинмонофосфат при гипердреналинемии // Наука и Здоровоохранение. 2017. №2. С. 92-104.

Tapbergenov S.O., Sovetov B.S., Tapbergenov A.T., Hahn E. Metabolic effects of combined integration of adenosine and adenosine monophosphat in hyperadrenalemia. *Nauka i Zdravookhranenie* [Science & Healthcare]. 2017, 2, pp. 92-104.

Тапбергенов С.О., Советов Б.С., Тапбергенов А.Т., Ганн Э. Гипердреналинемия кезінде аденозин және аденозинмонофосфат кешенін қосынды енгізудің метаболикалық әсерлері // Ғылым және Денсаулық сақтау. 2017. №2. Б. 92-104.

Введение.

Известно, что активация симпатoadреналовой системы усугубляет течение ишемической болезни сердца, а повышенный уровень катехоламинов служит фактором риска развития повторного инфаркта миокарда и внезапной смерти. Адреналин, ускоряя использование клетками АТФ, способствует его метаболизму и увеличению уровня аденозинмонофосфата (АМФ) и аденозина.

Известно, что аденозин как метаболит АМФ обладает множеством функциональных и метаболических эффектов, направленных на поддержание гомеостаза. Обнаружено [12], что в стрессовых условиях, таких как ишемия, сепсис, и тяжелой травмы, уровень аденозина повышен, а длительное увеличение концентрации внеклеточного аденозина может усугублять течение патологического процесса [5,8, 9].

Прекодиционирование агонистов А1-рецепторов аденозина подавляет клеточный иммунный ответ через А(2А) рецепторы зависимого механизма [18].

Установлено, что аденозин способен уменьшать положительный инотропный эффект катехоламинов, угнетая сократимость и цАМФ-зависимую активацию протеинкиназы и гликогенфосфорилазы. Вместе с тем, аденозин может оказывать сходные с катехоламинами эффекты на сердце, но не влияет на образование молочной кислоты и уменьшает липолитическую активность катехоламинов увеличивает коронарную проводимость, поглощение кислорода, использование глюкозы оказывает положительное хронотропное действие.

Аденозин играет особо важную роль в адаптации миокарда к ишемии и гипоксии [4].

Оказывая антиаритмическое на сердце действие, аденозин [16] замедляет атриовентрикулярную проводимости индуцированную катехоламинами [13,20].

Аденозин является одним из важнейших регуляторов сосудистого тонуса и локального кровотока. В последнее время показано, что он участвует в активации эндотелиальной системы L-аргинин - оксид азота, играющей огромную роль в регуляции сосудистого гомеостаза. Хотя в настоящее время применение аденозина ограничивается купированием некоторых видов аритмий, в перспективе агонисты аденозиновых рецепторов могут занять важное место в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, что предполагает целесообразность проведения дальнейших исследований по изучению механизмов их действия [4].

Уровень аденозина и АМФ контролируется ферментами цикла пуриновых нуклеотидов: АМФ-деаминазой (АМФД), аденозиндеаминазой (АД), 5'-нуклеотидазой (5'Н), изменения активности, которых, может служить показателем функционального состояния клеток и отражать состояния адаптационных процессов в ответ на стрессорные воздействия.

Анализ литературных источников позволяет заключить, что существуют разночтения в метаболических эффектах аденозина и АМФ. Для более осмысленного использования аденозина и его аналогов в клинической практике необходимо более детальное сравнительное изучение сочетанного влияния адреналина, аденозина и его предшественника – АМФ на систему антиоксидантной защиты, на ферменты метаболизма пуриновых нуклеотидов и иммунный статус при гипердреналинемии.

Цель исследования: Изучить эффекты сочетанного действия комплекса аденозин + АМФ в суммарной дозе 1000 мкг, на иммунный статус, на активность ферментов антиоксидантной защиты глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГПО), каталазы и метаболизма пуриновых нуклеотидов АМФ-дезаминазы (AMPD), аденозиндезаминазы (AD), 5'-нуклеотидазы (5'Н), на уровень МДА и ДК в крови, в сердце и печени при гипердреналинемии, вызванной введением адреналина в дозе 4 мг/кг за 60 минут исследования.

Материал и методы

Дизайн исследования: экспериментальный. Исследования проведены на 50 беспородных белых крысах в возрасте 3-3,5 месяца массой тела 160-180 г. В исследованиях руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Проведение экспериментальных исследований разрешено Этическим комитетом Государственного медицинского университета г. Семей, Казахстан (Протокол № 5 от 16.04.2014 г.).

Исследования проводились в Объединенной учебно-научной лаборатории Государственного медицинского университета г. Семей в период с 2015 по 2016 годы. После одномоментной декапитации брали кровь, сердце и печень животных.

Сердце и печень животных промывали физиологическим раствором и гомогенизировали тефлоновым пестиком в среде, содержащей 0,25 М сахарозы. Гомогенаты тканей фильтровали через 2 слоя марли и центрифугировали в течение 10 мин (0° – 2°С) при 600 g для удаления обломков клеток и ядерной фракции. Супернатант после центрифугирования, использовали для исследования.

Симпатическую гиперактивацию (гипердреналинемию) создавали внутрибрюшинным введением адреналина в дозе 0,4 мг на 100 г массы тела за 60 минут до исследования. Аденозинмонофосфат (АМФ) и аденозин (for biochemistry MERCK) вводили

per os по 100 мкг в день в течение 10 дней (суммарная доза 1000 мкг).

Активность глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГПО) определяли по методу С.Н. Власовой с соавтор [1]. В крови активность ГР выражали в мкмоль NADPH/мл в мин., в тканях в мкмоль NADPH/г в мин. Активность ГПО выражали в крови в мкмоль окис. глутатиона/ мл в мин., в тканях в мкмоль окис. глутатиона/ г в мин.

Ферменты обмена пуриновых нуклеотидов: аденозиндезаминаза (AD), АМФ-дезаминаза (AMPD) определяли по методике С.О. Тапбергенова с соавтор. [7]. Об активности 5'-нуклеотидазы (5'Н) судили по скорости гидролиза АМФ до аденозина и фосфорной кислоты и в тканях активность выражали в количестве мкмоль H_3PO_4 на мг белка в минуту (мкмоль/мг в мин), сыворотке крови в мкмоль H_3PO_4 на мл в минуту (мкмоль/мл в мин).

Активность каталазы определяли по реакции перекиси водорода с молибдатом аммония по методу М.А. Королюк и соавтор [3] и выражали в крови мкат/л в минуту, в тканях в мкат/г в минуту. Количество белка определяли общепринятым методом Лоури. Определение количества МДА проводили по методу Uchiyama M., Mihara M. [21], диеновых конъюгатов (ДК) по методу В.Б. Гаврилова и соавтор. [2]. Для оценки иммунологического статуса в периферической крови подсчитывали общее количество лейкоцитов и лимфоцитов. Количество Т-лимфоцитов преимущественно с хелперной и супрессорной активностью определяли по методу Limatyul S., Shore A. et al. [17]. Количество Т- и В-лимфоцитов определяли розетка-образующими тестами Jondal V. et al. [19]. Количество В-лимфоцитов определяли по наличию рецептора к С3-компоненту комплемента в соответствии с методом Ehlenberger A.G. et al. [15].

Реакцию торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) определяли по методу Clausen J.E. [14]. НСТ-тест проводили по методу Б.С. Нагоева, М.Г., Шубич [6]. НСТ-тест (тест с нитросиним тетразолам) – позволяет оценить степень антигенной раздражительности не активированных гранулоцитов крови. Он

характеризует степень активации внутриклеточных антибактериальных систем.

Результаты исследования обрабатывали при помощи t-критерия Стьюдента. В работе приведены среднеарифметические данные \pm ошибка средних ($X \pm m$). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Ранее нами было установлено [10,11], что введение адреналина в дозе 4 мг/кг за 60 минут исследования сопровождается увеличением общего числа лейкоцитов, лимфоцитов, снижением количества Т-супрессоров, числа Т-лимфоцитов, снижением уровня активности аденозиндезаминазы, АМФ-дезаминазы в плазме крови. Аналогичные изменения в иммунном статусе, кроме НСТ-теста, происходит при введении интактным животным как аденозина, так и АМФ. Как при введении адреналина, так и при введении аденозина имеет место усиление функциональной взаимосвязи Т- и В-звеньев иммунитета.

АМР, так и аденозин введенный интактным животным увеличивает общее число лейкоцитов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов, Т-

хелперов, снижает уровень МДА, РТМЛ и общее число Т-супрессоров. В сердце и в печени интактных животных как аденозин, так и АМФ, вызывает снижение активности глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГПО), каталазы, снижение уровня малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов [11].

В крови, если симпатическая гиперактивация, вызванная введением адреналина (табл.1), сопровождается увеличением общего числа лейкоцитов лимфоцитов и снижением числа Т-супрессоров, снижением РТМЛ, активацией ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов АМРD, АD, 5'Н и фермента антиоксидантной защиты ГПО, увеличением уровня ДК, как интегрированного показателя перекисного окисления липидов (табл. 2), то введение этим животным комплекса аденозин+АМФ по 100 мкг в день в течение 10 дней в суммарной дозе 1000 мкг приводит к снижению общего числа лейкоцитов, Т-супрессоров, повышает количество Т-лимфоцитов и уровень РТМЛ (табл.1).

Таблица 1.

Влияние сочетанного действия комплекса АМФ и аденозин на иммунный статус при гиперadreналиемии.

Показатель	Контроль n=20	Адреналин n=15	Адреналин аденозин+АМФ n=15
Лейкоциты общ.число (10 ⁹ /л)	7,20±0,48	9,35±0,12*	8,10±0,45**
Лимфоциты %	41,40±2,39	40,93±3,02	42,87±1,44
Лимфоциты, абс. содержание (10 ⁹ /л)	2,79±0,46	3,77±0,14*	3,46±0,20
Т-лимфоциты %	38,47±1,67	36,73±1,94	41,33±1,72**
Т-лимфоциты абс. содержание (10 ⁹ /л)	1,12±0,12	1,38±0,10*	1,43±0,09
Т-хелперы %	22,47±3,04	20,07±1,32	22,73±1,37
Т-хелперы абс. содержание (10 ⁹ /л)	0,66 ±0,07	0,76±0,05	0,83±0,08
Т-супрессоры %	14,53±2,54	15,47±1,92	13,93±1,45
Т-супрессоры абс. содержание (10 ⁹ /л)	0,77±0,40	0,55±0,08*	0,48±0,05**
В лимфоциты %	21±2,09	20,53±1,87	19,80±1,51
В-лимфоциты абс. содержание (10 ⁹ /л)	0,63±0,13	0,77±0,08	0,68±0,05
РТМЛ ФГА %	21±2,01	15,47±1,87*	19,80±1,46**
НСТ	7,53±1,08	4,40±1,62*	5,27±1,20
<i>Примечание:</i> * - p<0,05 в сравнении с контролем ** - p<0,05 в сравнении с адреналином			

Одновременно, комплекс аденозин +АМФ при гипердреналинемии повышает уровень активности ферментов метаболизма пуринов

AD, AMPD, 5'Н, снижает активность ГПО, каталазы и уровень МДА, повышает активность ГР в сыворотке крови (табл.2).

Таблица 2.

Влияние сочетанного действия комплекса АМФ и аденозин на активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и антиоксидантной системы в сыворотке крови при гипердреналинемии.

Показатель	Контроль n=20	Адреналин n=15	Адреналин аденозин+АМФ n=15
AD мкмоль/мл в мин	532,60±26,20	1309,09±150,49*	1765,30±40,81**
AMPD мкмоль/мл в мин	419,83±54,68	558,29±50,35*	644,49±30,35**
5'Н мкмоль/мл в мин	27,49±1,31	37,54±3,02*	45,21±1,83**
ГР мкмоль NADPH /мл в мин	3,54±0,58	3,54±0,36	5,32±0,37**
ГПО мкмоль окис. глутатион/ мл в мин	469,7±30,74	570,09±15,20*	247,67±23,24*
Каталаза мкат/л в мин	81,62±4,54	80±2,63	58,87±6,44**
МДА нмоль/л	0,73±0,11	0,63±0,05	0,44±0,05**
ДК уд.един./мл	1,18±0,23	1,60±0,13*	1,73±0,19
<i>Примечание</i> * - p<0,05 в сравнении с контролем ** - p<0,05 в сравнении с адреналином			

Эти данные свидетельствуют о том, что при гипердреналинемии в сыворотке крови введение комплекса АМФ и аденозин сопровождается снижением процессов пероксидации и адекватно этому вызывает снижение уровня активности ГПО и каталазы и активацию ГР - фермента восстанавливающего уровень глутатиона.

В следующей серии изучено действие комплекса аденозин и АМФ при симпатической гиперактивации, вызванной введением адреналина, на активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и антиоксидантной системы в сердце (табл.3) и печени (табл.4).

Таблица 3.

Влияние сочетанного действия комплекса АМФ и аденозин на активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и антиоксидантной системы в сердце при гипердреналинемии.

Показатель	Контроль n=20	Адреналин n=15	Адреналин аденозин+АМФ n=15
AD мкмоль/мг в мин	0,19±0,01	0,26 ±0,02*	0,40 ±0,01**
AMPD мкмоль/мг в мин	0,09±0,01	0,13±0,01*	0,18±0,01**
5'Н мкмоль/мг в мин	0,02±0,001	0,01±0,001*	0,01±0,001
AD+AMPD/5'Н	14,0±0,15	39,02±0,21*	58,00±0,01**
ГР мкмоль NADPH /г в мин	32,13±1,78	35,31±1,39*	23,84±1,70**
ГПО мкмоль окис. глутатион/ г в мин	2,69±0,30	3,12±0,21*	1,35±0,08**
Каталаза мкат/г в мин	69,85±7,28	81,58±3,08*	61,44±8,69**
МДА нмоль/г	0,04±0,001	0,05±0,01*	0,01±0,001**
ДК уд.един./г	0,02±0,001	0,02±0,001	0,01±0,001**
<i>Примечание:</i> * - p<0,05 в сравнении с контролем ** - p<0,05 в сравнении с адреналином			

В сердце (табл.3) гипердреналемия, сопровождается активацией ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов AD, AMPD снижением активности 5'Н и увеличением соотношения активностей ферментов AD+AMPD/5'Н, происходит увеличение уровня МДА и активация ферментов антиоксидантной защиты каталазы и ГПО.

Введение животным комплекса АМФ и аденозин на фоне симпатической гиперактивации в сердце приводит к активации AD и AMPD, вызывает снижение количества МДА и ДК и адекватно этому снижается активность ГР, ГПО и каталазы, что

свидетельствует о снижении процессов перекисидации в этом органе. Одновременно увеличивается соотношение активностей AD+AMPD/5'Н в сторону усиления катаболизма аденозина и AMP (табл.3).

В печени введение адреналина животным вызывает увеличение уровня МДА и ДК, активацию каталазы и ферментов метаболизма пуринов AD, AMPD и 5'Н (табл.4). Эти данные свидетельствуют о том, что и в печени животных, как и в сердце при введении адреналина происходят сдвиги, приближенные к состоянию окислительного стресса.

Таблица 4.

Влияние сочетанного действия комплекса АМФ и аденозин на активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и антиоксидантной системы в печени при гипердреналемии.

Показатель	Контроль n=20	Адреналин n=15	Адреналин аденозин+АМФ n=15
AD мкмоль/мг в мин	0,29±0,21	0,40±0,02*	0,48±0,01**
ADPD мкмоль/мг в мин	0,20±0,01	0,27±0,01*	0,31±0,001**
5'Н мкмоль/мг в мин	0,04±0,001	0,05±0,001*	0,05 ±0,001
AD+AMPD/5'Н	12,25±0,38	13,4±0,5	17.6±0,001**
ГР мкмоль NADPH /г в мин	24,69±2,16	22,01±1,01	22,07±1,83
ГПО мкмоль окис. глутатион/ г в мин	2,86±0,37	3,37±0,26	1,41±0,16**
Каталаза мкат/г в мин	60,57±4,58	81,61±4,68*	59,90±6,77**
МДА нмоль/г	0,04±0,001	0,05±0,01*	0,01±0,001
ДК уд.един./г	0,02±0,001	0,03±0,001*	0,01±0,001**
Примечание::	* - p<0,05 в сравнении с контролем ** - p<0,05 в сравнении с адреналином		

Известно, что диеновые конъюгаты (ДК) образуются при свободнорадикальном окислении арахидоновой кислоты и фактически являются первичными продуктами ПОЛ. В свою очередь, малоновый диальдегид (МДА) является интегральным показателем процессов свободнорадикального окисления, и, как правило, процессы перекисного окисления липидов оцениваются по скорости и количеству образования МДА, количество которого поддерживается на определенном уровне при участии ферментов антиоксидантной защиты. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) запускается появлением токсичных форм кислорода (H_2O_2 , O_2^* , OH^*), усиленное образование которых,

может происходить при не ферментативном окислении адреналина с образованием адренохрома и H_2O_2 , и при катаболизме пуринов в ксантиноксидазной реакции.

Аденозин и АМФ, введенные на фоне симпатической гиперактивации, снижают в печени уровень МДА и ДК, и адекватно этому снижается активность ГПО и каталазы, вызывают увеличение активности AD, AMPD и соотношение активности ферментов AD+AMPD/5'Н, тем самым снижают состояние окислительного стресса, вызванное введением адреналина.

Обсуждение результатов

Введение животным комплекса аденозин и АМФ в суммарной доза 1000 мкг на фоне

адреналина, снижает общее число лейкоцитов, Т-лимфоцитов и Т-супрессоров, повышает уровень РТМЛ, активность ферментов метаболизма пуринов AD, AMPD, 5'Н, ГР и снижает активность ГПО, каталазы и уровень МДА в сыворотке крови. Эти данные свидетельствуют о том, что в сыворотке крови при введении адреналина, сочетанное введение животным АМФ и аденозина уменьшает процесс пероксидации и адекватно этому снижается активность ферментов антиоксидантной системы.

В сердце введение адреналина, сопровождается активацией AD, AMPD, каталазы, увеличением уровня МДА, снижением активности 5'Н и увеличением соотношения активностей ферментов AD+AMPD/5'Н в сторону усиления дезаминирования аденозина и АМФ.

Как было отмечено, что диеновые конъюгаты (ДК) образуются при свободнорадикальном окислении арахидоновой кислоты и фактически являются первичными продуктами ПОЛ. В свою очередь, малоновый диальдегид (МДА) является интегральным показателем процессов свободнорадикального окисления, и, как правило, процессы перекисного окисления липидов оцениваются по скорости и количеству образования МДА, количество которого поддерживается на определенном уровне при участии ферментов антиоксидантной защиты. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) запускается появлением токсичных форм кислорода (H_2O_2 , O_2^* , OH^*), усиленное образование которых, может происходить при не ферментативном окислении адреналина с образованием адренохрома и H_2O_2 , и при катаболизме пуринов в ксантиноксидазной реакции.

Поскольку окислительный стресс есть состояние дисбаланса между наличием в биологической системе оксидантов и антиоксидантов в сторону преобладания оксидантов, в этой связи можно считать, что введение адреналина животным вызывает состояние близкое к окислительному стрессу.

При гипердреналинемии в сердце после введение животным комплекса аденозин и АМФ в суммарной дозе 1000мг происходит

активация AD и AMPD, снижается количество МДА и ДК и адекватно этому снижается активность ГР, ГПО и каталазы, одновременно увеличивается соотношение активностей AD+AMPD/5'Н в сторону усиления катаболизма аденозина и АМФ. Эти данные свидетельствуют о том, что в сердце при гипердреналинемии, сочетанное введение комплекса аденозин и АМФ в указанной дозе, уменьшает процесс пероксидации и адекватно этому снижается активность ферментов антиоксидантной защиты.

В печени введение адреналина животным вызывает увеличение уровня МДА и ДК.

Диеновые конъюгаты (ДК) образуются при свободнорадикальном окислении арахидоновой кислоты и фактически являются первичными продуктами ПОЛ. В свою очередь, малоновый диальдегид (МДА) является интегральным показателем процессов свободнорадикального окисления, и, как правило, процессы перекисного окисления липидов оцениваются по скорости и количеству образования МДА, количество которого поддерживается на определенном уровне при участии ферментов антиоксидантной защиты. Одновременно в печени при симпатической гиперактивации имеет место активация каталазы и ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов AD, AMPD и 5'Н. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) запускается появлением токсичных форм кислорода и при катаболизме пуринов в ксантиноксидазной реакции.

Эти данные свидетельствуют о том, что и в печени животных, как и в сердце при введении адреналина происходят сдвиги, приближенные к состоянию окислительного стресса.

Комплекс аденозин и АМФ, введенные на фоне симпатической гиперактивации, вызывают увеличение активности AD, AMPD и соотношение активности ферментов AD+AMPD/5'Н, приводит к снижению в печени уровень МДА и ДК, и адекватно этому снижается активность ГПО и каталазы. Эти данные свидетельствуют о том, что комплекс аденозин и АМФ, введенные на фоне симпатической гиперактивации, снижают состояние окислительного стресса, вызванное введением адреналина.

Заключение

В крови, в сердце и в печени животных при гипердреналинемии происходят сдвиги, приближенные к состоянию окислительного стресса. Введение комплекса АМФ и аденозин при гипердреналинемии в крови приводит к снижению общего числа лейкоцитов, Т-супрессоров, повышает количество Т-лимфоцитов и уровень РТМЛ.

Одновременно, введение комплекса аденозин+АМФ в суммарной дозе 1000 мкг при гипердреналинемии повышает активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов AD, AMPD, 5'N, снижает уровень МДА, повышает активность ГР - фермента восстанавливающего уровень глутатиона в сыворотке крови, приводит к снижению процессов пероксидации и адекватно этому к снижению уровня активности ГПО и каталазы.

В сердце и в печени сочетанное введение животным АМФ и аденозина при гипердреналинемии снижает процессы пероксидации, что проявляется снижением количества МДА и ДК и адекватно этому снижением активности ГР, ГПО и каталазы.

Таким образом, полученные данные вскрывают некоторые особенности метаболических эффектов комплекса аденозин и АМФ, действие которых направлено на уменьшение процессов пероксидации, вызванные гипердреналинемией.

Выводы: для коррекции изменений в системе антиоксидантной защиты, активности ферментов метаболизма пуринов и иммунных реакций, наблюдаемые при гипердреналинемии и окислительного стресса любого происхождения, можно использовать комплекс АМФ и аденозин.

Конфликт интересов: Коллектив авторов заявляет об отсутствии потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием статьи

Вклад авторов

Таббергенов С.О. – научное руководство, обработка данных, анализ полученных данных, написание статьи.

Советов Б.С. – практическое проведение всех этапов эксперимента, обработка данных, участие в анализе литературных данных.

Таббергенов А.Т. – проведение эксперимента, анализ литературы.

Ганн Элина – обработка полученных данных, анализ литературы.

Данное исследование проводилось в плане диссертационного исследования на кафедре биохимии и химических дисциплин и в рамках научно-исследовательской работы Государственного медицинского университета г. Семей.

Литература:

1. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей. // Лабораторное дело. 1990. №8, С. 19-22.
2. Гаврилов В.Б., Гаврилов А.Р., Хмара А.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов // Лабораторное дело. 1988. №2. С. 60-64.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Т. Метод определения активности каталазы. // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16-18.
4. Козловский В.И., Зинчук В.В., Станкевич П.Б., Хлопицкий С. Роль аденозина в регуляции функций сердечно-сосудистой системы // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2007. Вып. 1 №17, С. 49-53
5. Маколкин В.И., Ахмедова О.О., Бувальцев В.И. и др. Клинические и метаболические эффекты кардиоселективных β-блокаторов небиволола и метопролола у больных артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа // Кардиология. 2003. №2. С. 40-43.
6. Нагоев, Б.С., Шубич М.Г. Значение теста восстановления нитросинего тетразолия для изучения функциональной активности лейкоцитов // Лабор. дело 1981. №4. С.195-198.
7. Таббергенов С.О., Таббергенова С.М. Диагностическое значение определения активности аденилатдеаминазы сыворотки крови // Лабораторное дело. 1984. №2. С.104-107.
8. Таббергенов С.О., Таббергенов Т.С. Ферменты метаболизма пуриновых нуклеотидов в оценке функциональной

полноценности иммунитета // Биомедицинская химия. 2005. Вып. 51. №2. С.199-205

9. *Табергенов С.О., Табергенов Т.С.* Ферменты метаболизма пуриновых нуклеотидов и иммунный статус при стрессорных состояниях разного происхождения // Успехи современного естествознания. 2009. №7. С.92-93.

10. *Табергенов С.О., Табергенов А.Т.* Влияние симпатической гиперактивации и адреноблокатора метопролола на иммунный статус и активность ферментов пуриновых нуклеотидов // Международный журнал экспериментального образования. 2013. № 3. С. 147-150.

11. *Табергенов С.О., Советов Б.С., Табергенов А.Т.* Особенности воздействия аденозина, АМФ и гиперadreналинемии на иммунный статус, ферменты метаболизма пуриновых нуклеотидов и систему антиоксидантной системы // Биомедицинская химия. 2016. №62. 6. С.645-649

12. *Терешенко С.Н., Косицына И.В., Джаиани Н.А.* Все ли мы знаем об особенностях метопролола в лечении ишемической болезни сердца? // Кардиология. 2005. № 4. С. 98-101.

13. *Belardinelli L., Giles W.R.* Ionic mechanisms of adenosine actions in pacemaker cells from rabbit heart // J. Physiol. 1988. Vol. 405, P. 615-633.

14. *Clausen J.E.* Tuberculin-induced migration inhibition of human peripheral leucocytes in agarose medium // Acta Allergol., 1971. Vol. 26(1), P.56-80.

15. *Ehlenberger A.G., McWilliams M., Phillips-Quagliata J.M.* Immunoglobulin-bearing and complement-receptor lymphocytes constitute the same population in human peripheral blood // J Clin Invest. 1976. Vol. 57 (1). P. 53-56.

16. *Lerman B. B., Belardinelli L.* Cardiac electrophysiology of adenosine. Basic and clinical concepts // Circulation. 1991. Vol. 83, P.1499-1509.

17. *Limatibul S., Shore A., Dosch H.M., Gelfand W.* Theophylline modulation of E-rosette formation: an indicator of T-cell maturation // J. Clin. and Exp. Immunol., 1978. Vol 33, (3), P.503-510.

18. *Naamani O., Chaimovitz C., Douvdevani A.* Pharmacological preconditioning with

adenosine A(1) receptor agonist suppresses cellular immune response by an A(2A) receptor dependent mechanism // Int Immunopharmacol. 2014 Vol. 20. №1, P.205-212

19. *Jondal M., Holm G., Wigzell H.* Surface markers on human T and B lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells // J.Exp., Med., 1972. Vol. 136, P. 207-209.

20. *Pelleg A., Mitsuoka T., Mazgalev T., Michelson E.L.* Vagal component in the chronotropic and dromotropic actions of adenosine and ATP // Prog Clin Biol Res. 1987. Vol. 230, P.375-384.

21. *Uchiyama M., Mihara M.* Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Analyt. Biochemia. 1978. №86. P.271-278.

References:

1. *Vlasova S.N., Shabunina E.I., Pereslegina I.A.* Aktivnost' glutationzavisimyykh fermentov eritrotsitov pri khronicheskikh zabolevaniyakh pecheni u detei. [Activity of glutathione-dependent erythrocyte enzymes in chronic liver diseases in children]. *Laboratornoye delo* [Laboratory work]. 1990, №8, pp. 19-22. [in Russian]

2. *Gavrilov V.B., Gavrilov A.R., Hmara A.F.* Izmerenie dienovykh kon'yugatov v plazme po ul'traioletovomu pogloshheniyu heptanovykh i izopropil'nykh ekstraktov [Measurement of diene conjugates in plasma by ultraviolet absorption of heptane and isopropyl extracts]. *Laboratornoye delo* [Laboratory work]. 1988, №2, pp. 60-64. [in Russian]

3. *Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Majorova I.T.* Metod opredeleniya aktivnosti katalazy. [Method for the determination of catalase activity]. *Laboratornoye delo* [Laboratory work]. 1988, № 1, pp. 16-18. [in Russian]

4. *Kozlovskii V.I., Zinchuk V.V., Stankevich P.B, Hlopickij S.* Rol' adenzina v regulyatsii funktsii serdechno-sosudistoi sistemy [The role of adenosine in the regulation of cardiovascular functions]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University] 2007, Vyp.1. №17, P.49-53 [in Russian]

5. *Makolkin V.I., Ahmedova O.O., Buval'tsev V.I.* i dr. Klinicheskie i metabolicheskie efekty kardioselektivnykh β -blokatorov nebivolola i

metoprolola u bol'nykh arterial'noi gipertoniei i ishemicheskoi bolezniyu serdtsa v sochetanii s sakharnym diabetom 2-go tipa [Clinical and metabolic effects of cardioselective β -block of nebivolol and metoprolol in patients with arterial hypertension and ischemic heart disease in combination with type 2 diabetes mellitus]. *Kardiologiya* [Cardiology]. 2003. №2, P.40-43. [in Russian]

6. Nagoev B.S., Shubich M.G. Znachenie testa vosstanovleniya nitrosinogo tetrazoliya dlya izucheniya funktsional'noi aktivnosti leukotsitov. [The value of the test for the reduction of nitrosine tetrazolium for the study of the functional activity of leukocytes]. *Laboratornoye delo* [Laboratory work]. 1981, №4, pp.195-198. [in Russian]

7. Tapbergenov S.O., Tapbergenova S.M. Diagnosticheskoe znachenie opredeleniya aktivnosti adenilatdeaminazy syvorotki krovi. [Diagnostic value of determination of serum adenylate deaminase activity]. *Laboratornoye delo* [Laboratory work]. 1984, 2, pp.104-107. [in Russian]

8. Tapbergenov S.O., Tapbergenov T.S. Fermenty metabolizma purinovykh nukleotidov v otsenke funktsional'noi polnotsennosti immuniteta [The enzymes of the metabolism of purine nucleotides in the evaluation of the functional usefulness of immunity]. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical chemistry]. 2005, Vyp. 51. №2, pp.199-205 [in Russian]

9. Tapbergenov S.O., Tapbergenov T.S. Fermenty metabolizma purinovykh nukleotidov i immunnyi status pri stressornykh sostoyaniyakh raznogo proishozhdeniya [The enzymes of the metabolism of purine nucleotides and the immune status under stress conditions of different origin]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. [Advances in modern natural science]. 2009, №7. pp.92-93. [in Russian]

10. Tapbergenov S.O., Tapbergenov A.T. Vliyanie simpaticheskoi giperaktivatsii i adrenoblokatora metoprolola na immunnyi status i aktivnost' fermentov purinovykh nukleotidov [Effect of sympathetic hyperactivation and adrenoblocker metoprolol on immune status and activity of purine nucleotide enzymes]. *Mezhdunarodnyi zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya* [International Journal of Experimental Education]. 2013, № 3, pp. 147-150. [in Russian]

11. Tapbergenov S.O., Sovetov B.S., Tapbergenov A.T. Osobennosti vozdeistviya adenzina, AMF i giperadrenalinemii na immunnyi status, fermenty metabolizma purinovykh nukleotidov i sistemu antioksidantnoi sistemy. [Peculiarities of the effect of adenosine, AMP and hyperadrenalinemia on the immune status, enzymes of the purine nucleotide metabolism and the antioxidant system]. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical chemistry]. 2016, V.62, № 6. pp. 645-649 [in Russian]

12. Tereschenko S.N., Kositsyna I.V., Dzhaiani N.A. Vse li my znaem ob osobennostyakh metoprolola v lechenii ishemicheskoi bolezni serdtsa? [Do we all know the peculiarities of metoprolol in the treatment of coronary heart disease?]. *Kardiologiya*. [Cardiology], 2005, № 4. P. 98-101. [in Russian]

13. Belardinelli L., Giles W.R. Ionic mechanisms of adenosine actions in pacemaker cells from rabbit heart. *J. Physiol.*, 1988. Vol. 405, P. 615-633.

14. Clausen J.E. Tuberculin-induced migration inhibition of human peripheral leucocytes in agarose medium. *Acta Allergol.*, 1971, Vol. 26(1), pp. 56-80.

15. Ehlenberger A.G., McWilliams M., Phillips-Quagliata J.M. Immunoglobulin-bearing and complement-receptor lymphocytes constitute the same population in human peripheral blood. *J Clin Invest.* 1976, Vol. 57 (1), pp. 53-56. 80.

16. Lerman B.B., Belardinelli L. Cardiac electrophysiology of adenosine. Basic and clinical concepts. *Circulation.* 1991. Vol. 83, P.1499-1509.

20. Limatibul S., Shore A., Dosch H.M., Gelfand W. Theophylline modulation of E-rosette formation: an indicator of T-cell maturation. *J. Clin. and Exp. Immunol.*, 1978, Vol 33, (3), P.503-510.

17. Limatibul S., Shore A., Dosch H.M., Gelfand W. Theophylline modulation of E-rosette formation: an indicator of T-cell maturation. *J. Clin. and Exp. Immunol.*, 1978, Vol 33, (3), pp. 503-510.

18. Naamani O., Chaimovitz C., Douvdevani A. Pharmacological preconditioning with adenosine A(1) receptor agonist suppresses cellular immune response by an A(2A) receptor dependent mechanism. *Int Immunopharmacol.* 2014, Vol. 20, №1, pp. 205-212

19. Jondal M., Holm G., Wigzell H. Surface markers on human T and B lymphocytes. I. A

large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells. *J. Exp., Med.*, 1972, Vol. 136, pp. 207-209.

20. Pelleg A., Mitsuoka T., Mazgalev T., Michelson E.L. Vagal component in the chronotropic and dromotropic actions of

adenosine and ATP. *Prog Clin Biol Res.* 1987, Vol. 230, pp. 375-384.

21. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analyt. Biochemia.* 1978, №86, pp. 271-278.

Контактная информация:

Тапбергенов Салават Оразович – д.м.н., профессор, академик РАЕ, профессор кафедры биохимии и химических дисциплин Государственного медицинского университета города Семей.

Почтовый адрес: Казахстан, 071400, г. Семей, ул. Абая 103.

E-mail: salavat-tap@mail.ru

Телефон: +87051880623