

Таким образом, было установлено, что новый противовоспалительный препарат, содержащий в качестве активного действующего вещества толфенамовую кислоту, является высокоэффективным противовоспалительным средством и может включаться в схемы лечения лактирующих коров, больных маститом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богуш, А. А. Мастит коров и меры его профилактики: книга / А. А. Богуш, В. И. Иванов, Л. М. Бородич – Мн.: Белпринт, 2009. – 160 с.
2. Валюшкин, К. Д. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных: учебник / К. Д. Валюшкин, Г. Ф. Медведев. – Мн.: Ураджай, 1997. – С. 542-544.
3. Корочкин, Р. Стафилококкозы животных и стафилококковый мастит коров / Р. Корочкин // Ветеринарное дело. – 2020. – №8 (110). – С. 5-10.
4. Летунович, А. А. Разработка новых средств и способов диагностики, лечения и профилактики маститов у коров: автореф. дис. ...канд. вет. наук: 16. 00. 07 / А. А. Летунович; УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2006. – 27 с.
5. Лучко, И. Т. Воспаление молочной железы у коров (этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика): монография / И. Т. Лучко. – Гродно: ГГАУ, 2019. – 184 с.
6. Маститы у коров (профилактика и лечение) / В.А. Париков [и др.] // Ветеринария. – 2000. – № 11. – С. 34-37.

УДК 577.164.11:577.17:612.273

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТА ОСТРОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС И ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНА В₁

Макарчиков А. Ф., Колос И. К., Кудырко Т. Г., Кубышин В. Л., Кулеш И. В.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

***Аннотация.** В статье приведены результаты исследования действия острой гипобарической гипоксии, вызванной имитацией подъема крыс на высоту 9500 м в декомпрессионной камере, на развитие окислительного стресса и систему антиоксидантной защиты в головном мозге. Показано, что 30-минутное пребывание животных на высоте приводит к существенному снижению активности аконитазы, тогда как концентрации малонового диальдегида, восстановленного глутатиона, активности каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы остаются неизменными. Введение крысам тиамина или тиаминмонофосфата за 1 ч до эпизода гипоксии не оказывало действия на исследованные биохимические показатели.*

***Summary.** The article presents the results of studying the effects of acute hypobaric hypoxia, simulating an altitude of 9.500 m in a decompression chamber, on the development of oxidative stress and the antioxidant defense system in rat brain. It was shown that a 30-minute stay of animals at altitude led to a significant decrease in*

aconitase activity, while the concentrations of malondialdehyde, reduced glutathione, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase remained unchanged. Administration of thiamine or thiamine monophosphate to rats 1 hour before the hypoxic episode had no effect on the studied biochemical parameters.

Ключевые слова: гипобарическая гипоксия, окислительный стресс, ферменты антиоксидантной защиты, витамин В₁, крысы.

Key words: hypobaric hypoxia, oxidative stress, antioxidant defense enzymes, vitamin B₁, rats.

Гипоксия сопровождает течение широкого круга заболеваний (ишемическая болезнь сердца, нарушения функций мозга, печени, почек, легких, апноэ и др.), нередко определяя их исход. На уровне биохимических процессов следствием гипоксии является метаболический стресс, обусловленный пертурбациями метаболизма вследствие недостаточной продукции АТФ, и запуск адаптационных механизмов, которые направлены на сохранение жизнеспособности и гомеостаза [1]. Кроме того, гипоксия служит причиной развития окислительного стресса [2]. В научной литературе [3] описаны положительные эффекты применения высоких доз витамина В₁ (тиамина) в терапии критических состояний организма, сопровождающихся тканевой гипоксией, таких как инфаркт миокарда, инсульт, остановка кровообращения, травмы, кровопотери, шок. Не исключено, что эти эффекты могут быть связаны со способностью производных тиамин-2-тиофосфоната служить скавенджерами свободных радикалов [4], однако экспериментальные свидетельства антиоксидантного действия витамина В₁ при гипоксии отсутствуют. Цель настоящей работы заключалась в исследовании действия краткосрочной острой гипобарической гипоксии на развитие окислительного стресса в головном мозге крыс и защитного действия витамина В₁.

Эксперимент проводили на крысах-самцах линии Вистар массой 333 ± 21 г. Животных в случайном порядке разбивали на 4 группы по 5 голов. Первая группа (К) служила контролем, крыс второй группы (Г) подвергали действию гипоксии, крыс третьей (Т + Г) и четвертой (ТМФ + Г) групп за 1 ч до гипоксии вводили соответственно раствор тиамин-2-тиофосфоната (внутрибрюшинно в дозе 100 мг/кг массы тела). Гипоксию моделировали путем имитации подъема животных на 9500 м в декомпрессионной камере в течение 2 мин с 30-минутной задержкой на высоте и 2-минутным спуском. После декапитации животных головной мозг замораживали в жидком азоте и хранили при -75 °С до исследования.

Содержание тиамин-2-тиофосфоната определяли методом ион-парной обращенно-фазной ВЭЖХ на колонке PRP-1 в 50 мМ К-фосфатном буфере, pH 8,8, содержащем 25 мМ тетра-н-бутиламмонийгидросульфат и 4 %

тетрагидрофуран, с предколоночной дериватизацией. Детекция тиохрома осуществлялась при длине волны возбуждения 365 нм, эмиссии – 433 нм [5].

Концентрации восстановленного глутатиона (GSH) и малонового диальдегида (МДА) определяли, как описано в статьях [6, 7], в депротеинизированных гомогенатах мозга с помощью 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной) (ДТНБ) и тиобарбитуровой кислот соответственно.

Ферментативные активности определялись в экстрактах, полученных на 50 мМ трис-НСl буфере, рН 7,5, содержащем 1 мМ ЭДТА и 0,15 М КСl. Активность аконитат-гидратазы (КФ 4.2.1.3) измеряли по образованию цис-аконитовой кислоты из цитрата, регистрируя изменения оптической плотности при 240 нм [8]. Активность глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.8.1.7) измеряли по скорости восстановления окисленного глутатиона в присутствии НАДФН, за уменьшением концентрации которого следили при 340 нм [9]. При определении активности глутатионпероксидазы (ГП, КФ 1.11.1.9) в качестве субстратов использовались GSH и H_2O_2 ; количество GSH в реакционной смеси устанавливали с помощью ДТНБ [10]. Активность каталазы (КАТ, КФ 1.11.1.6) оценивалась по скорости разложения H_2O_2 , концентрацию которого измеряли при 410 нм после превращения в желтый комплекс с молибдатом аммония [11]. Активность СОД (КФ 1.15.1.1) определяли в реакции ингибирования автоокисления адреналина [12].

За единицу ферментативной активности принимали количество, катализирующее превращение 1 мкмоль субстрата или образование продукта за 1 мин в условиях испытания. За единицу активности СОД принимали количество, вызывающее 50%-е ингибирование реакции автоокисления адреналина за 1 мин.

Известно, что гипоксия провоцирует окислительный стресс, увеличивая выработку активных форм кислорода (АФК) в митохондриях, причем основными являются супероксид-анионы (O_2^-), образующиеся в качестве побочного продукта восстановления O_2 в результате утечки электронов из дыхательной цепи [13]. Ионы O_2^- сами по себе достаточно активны и могут повреждать некоторые важные молекулярные мишени; они также генерируют другие реактивные формы, включая H_2O_2 , который образуется в результате спонтанной или ферментативной дисмутации, и пероксинитрит (ONOO^-) [14], тем самым инициируя окислительный стресс.

Наиболее изученным пагубным эффектом иона O_2^- является инактивация белков, содержащих каталитически активные кластеры $[4\text{Fe-4S}]$, включая аконитазу млекопитающих, которая, по сути, является одной из основных мишеней супероксида в митохондриях [15]. Чтобы оценить способность витамина B_1 предотвращать возникновение окислительного

стресса в головном мозге при острой гипоксии, мы определили активность аконитазы после 30-минутной имитации пребывания крыс на высоте 9500 м на фоне введения тиамина или ТМФ в дозе 100 мг/кг массы тела за 1 час до подъема на высоту. На рисунке 1А видно, что концентрация тиамина в головном мозге крыс, подвергнутых гипоксии после введения тиамина или ТМФ, увеличилась более чем в 5 раз по сравнению с группами К и Г. Гипоксия привела к снижению активности аконитазы на 39,7 % (рисунок 1Б), что указывает на повышенное образование супероксида в ткани головного мозга. Однако существенной разницы в активности фермента между группами Г, Т + Г и ТМФ + Г не наблюдалось. Таким образом, витамин В₁, по-видимому, не способен препятствовать возникновению окислительного стресса при острой гипоксии путем обезвреживания АФК. Здесь следует упомянуть работу М. Sambon с соавт. [16], которые обнаружили, что тиамин, бенфотиамин и сульбутиамин защищают клетки нейробластомы от токсичности параквата, являющегося мощным индуктором образования ионов O²⁻, не за счет прямого эффекта нейтрализации АФК, а скорее косвенно, возможно, через какой-то антиоксидантный сигнальный путь.

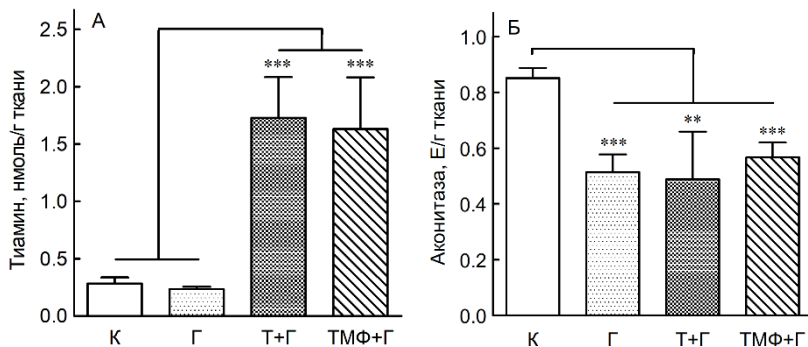


Рисунок 1 – Содержание свободного тиамина (А) и активность аконитазы (Б) в ткани головного мозга крыс, подвергнутых острой гипобарической гипоксии на фоне введения тиамина и ТМФ (средние значения $\pm$ стандартное отклонение). Статистически значимые различия между группами: ** $P < 0,05$; *** $P < 0,01$

В ряде исследований было показано, что воздействие на крыс непрерывной или прерывистой гипобарической гипоксии в течение периода от нескольких часов до нескольких дней приводит к окислительному стрессу в головном мозге. В частности, согласно Lira-B. Mejía с соавт. [17], уровни АФК, МДА и СОД повышались в разных областях мозга, в

то время как активность КАТ снижалась, когда крысы подвергались действию гипоксии в горах на высоте 3151 м и 4214 м в течение 1-28 дней, причем более выраженное воздействие наблюдалось на большей высоте. Аналогичным образом, уровни АФК, МДА, а также оксида азота были значительно повышены в коре головного мозга, гиппокампе и полосатом теле крыс, подвергнутых воздействию высоты, эквивалентной 6100 м, в декомпрессионной камере для животных в течение 3 и 7 дней [18]. Однако в этом исследовании активность СОД, ГР, ГП и концентрация GSH были снижены. Следует отметить, что в литературе периодически появляются сообщения о повышенных уровнях АФК и МДА в сочетании со снижением антиоксидантного статуса (GSH, СОД) в головном мозге крыс в результате действия длительной непрерывной гипобарической гипоксии [19, 20, 21, 22].

Как видно из данных таблицы 1, при краткосрочной острой гипоксии различий в уровнях МДА между группами К и Г не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии окислительного стресса. Достоверных изменений в глутатионовой системе головного мозга крыс и эффектов на нее витамина В₁ при 30-минутной гипоксии также не обнаружено. Аналогичным образом, ни в одной из экспериментальных групп не было отмечено изменений активности СОД и КАТ. Очевидно, что причиной отсутствия изменений антиоксидантной системы защиты при краткосрочной острой гипоксии может быть слишком малый временной интервал, в течение которого неблагоприятный фактор действует на организм, тогда как длительные изменения доступности кислорода для ткани мозга задействуют более медленные механизмы, требующие транскрипционной активации, для реализации которых необходимо время.

Таблица 1 – Уровни МДА, GSH и активность антиоксидантных ферментов в головном мозге крыс, подвергнутых краткосрочной острой гипобарической гипоксии

Группа	МДА, нмоль/г ткани	GSH, ммоль/г ткани	СОД, Е/г ткани	КАТ, Е/г ткани	ГР, Е/г ткани	ГП, Е/г ткани
К	28,2 ± 10,9	1,6 ± 0,2	712 ± 47	47,8 ± 4,6	1,6 ± 0,1	3,1 ± 0,7
Г	30,0 ± 2,8	1,8 ± 0,1	657 ± 64	48,4 ± 3,6	1,6 ± 0,1	2,9 ± 0,5
Т + Г	27,2 ± 5,4	1,7 ± 0,2	712 ± 46	50,0 ± 3,3	1,5 ± 0,1	2,9 ± 0,4
ТМФ + Г	29,2 ± 10,4	1,5 ± 0,1	703 ± 51	48,8 ± 5,3	1,6 ± 0,1	2,9 ± 0,7

Закключение. Острая гипобарическая гипоксия, вызванная у крыс имитацией пребывания на высоте 9500 м в течение 30 мин, приводит к существенному снижению активности аконитазы в головном мозге, что указывает на усиленное образование супероксид-ионов, инициирующих окислительный стресс. Введение тиамина или ТМФ за 1 ч до эпизода гипоксии не оказывало влияние на активность фермента. Признаков

развития окислительного стресса в головном мозге крыс в условиях проведенной модели не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wheaton, W. W. Hypoxia. 2. Hypoxia regulates cellular metabolism / W. W. Wheaton, N. S. Chandel // *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. – 2011. – Vol. 300. – P. C385-C393.
2. Miyata, T. Hypoxia. 1. Intracellular sensors for oxygen and oxidative stress: novel therapeutic targets / T. Miyata, S. Takizawa, C. van Ypersele de Strihou // *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. – 2011. – Vol. 300. – P. C226-C231.
3. Виноградов, В. В. Стресс и витамины / В. В. Виноградов. – Гродно, 2000. – 260 с.
4. Окисленные производные тиамина: образование, свойства, биологическая роль / Ю. М. Пархоменко [и др.] // *Украинский биохимический журнал*. – 2012. – Т. 84, № 6. – С. 5-24.
5. Determination of thiamin and its phosphate esters in cultured neurons and astrocytes using an ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic method / L. Bettendorff [et al.] // *Analytical Biochemistry*. – 1991. – Vol. 198. – P. 52-59.
6. Nagy, L. Protein and non-protein sulphydryls and disulfides in gastric mucosa and liver after gastrotoxic chemicals and sucralfate: Possible new targets of pharmacologic agents / L. Nagy, M. Nagata, S. Szabo // *World Journal of Gastroenterology*. – 2007. – Vol. 13. – P. 2053-2060.
7. Method for the simultaneous determination of free/protein malondialdehyde and lipid/protein hydroperoxides / K. Grintzalis [et al.] // *Free Radical Biology & Medicine*. – 2013. – Vol. 59. – P. 27-35.
8. Racker, E. Spectrophotometric measurements of the enzymatic formation of fumaric and cis-aconitic acids / E. Racker // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1950. – Vol. 4. – P. 211-214.
9. Racker, E. Glutathione reductase from bakers' yeast and beef liver / E. Racker // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1955. – Vol. 217. – P. 855-865.
10. Разыграев, А. В. Метод определения глутатионпероксидазной активности с использованием пероксида водорода и 5,5'-дитиобис(2- нитробензойной кислоты) / А. В. Разыграев // *Клинико-лабораторный консилиум*. – 2004. – № 4. – С. 19-22.
11. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // *Лабораторное дело*. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
12. Сирота, Т. В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т. В. Сирота // *Вопросы медицинской химии*. – 1999. – Т. 45, № 3. – С. 263-272.
13. Cellular and molecular mechanisms in the hypoxic tissue: role of HIF-1 and ROS / A. B. Zepeda [et al.] // *Cell Biochemistry and Function*. – 2013. – Vol. 31. – P. 451-459.
14. Superoxide Anion Chemistry – Its Role at the Core of the Innate Immunity / C. M. C. Andrés [et al.] // *International Journal of Molecular Science*. – 2023. – Vol. 24(3):1841.
15. Flint, D. H. The inactivation of Fe-S cluster containing hydro-lyases by superoxide / D. H. Flint, J. Tuminello, M. Emptage // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1993. – Vol. 268. – P. 22369-22376.
16. Thiamine and benfotiamine protect neuroblastoma cells against paraquat and β -amyloid toxicity by a coenzyme-independent mechanism / M. Sambon [et al.] // *Heliyon*. – 2019. – Vol. 5(5): e01710.
17. Impact of Exposure Duration to High-Altitude Hypoxia on Oxidative Homeostasis in Rat Brain Regions / B. Lira-Mejía [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2025. – Vol. 26(17): 8714.
18. Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain / P. Maiti [et al.] // *Neurochemistry International*. – 2006. – Vol. 49. – P. 709-716.
19. Acetyl-L-Carnitine ameliorates hypobaric hypoxic impairment and spatial memory deficits in rats / K. Barhwal [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2007. – Vol. 570. – P. 97-107.

20. Huperzine A ameliorates cognitive deficits and oxidative stress in the hippocampus of rats exposed to acute hypobaric hypoxia / Q. Shi [et al.] // *Neurochemical Research*. – 2012. – Vol. 37. – P. 2042-2052.
21. Inhibition of glucocorticoid receptors ameliorates hypobaric hypoxia / I. Baitharu [et al.] // *Behavioural Brain Research*. – 2013. – Vol. 240. – P. 76–86.
22. Neuroprotective effect of melatonin in experimentally induced hypobaric hypoxia / C. Vornicescu [et al.] // *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. – 2013. – Vol. 54. – P. 1097-1106.

УДК 611.42-08:612.273.2

ГИПОКСИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ТОНКОМ КИШЕЧНИКЕ ТЕЛЯТ ПРИ КОЛИЭНТЕРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

**Малашко В. В.¹, Ковалевич-Тайандье В. Л.¹, Казыро А. М.¹,
Воронис О. Н.¹, Сенько О. А.¹, Кулеш И. В.¹, Микулич Е. Л.²,
Малашко Д. В.², Омар Хуссейн Али³, Анцута Ю. И.¹**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь;

² – УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»
г. Горки, Республика Беларусь;

³ – Университет Диялы, Ирак

Аннотация. Проведен морфологический и ультраструктурный анализ тонкого кишечника телят на фоне развития гипоксии, вызванной колиэнтеральной инфекцией. Морфологические изменения сопровождаются изменением диаметра сосудов различного калибра, нарушением межклеточных контактов и развитием тканевого ацидоза. При тканевой гипоксии развивается комплекс патобиохимических событий: замедление тканевого дыхания, разобщение окисления и фосфорилирования, увеличение восстановленности редокс-систем, накопление недоокисленных продуктов, свободных жирных кислот и ионов кальция. Самым важным для развития аноксического повреждения клетки является увеличение концентрации Ca^{2+} в цитозоле. Реакция энтероцитов тонкого кишечника на ишемические процессы сопровождается формированием глубоких перетяжек ядер, вплоть до их деления, а также расширения перинуклеарного пространства, реорганизацию канальцев и цистерн эндоплазматической сети и аппарата Гольджи.

Summary. Carried out a morphological and ultra-structural analysis of the small intestine of the calves against the background of the development of hypoxia caused by coithoracic infection. Morphological changes are accompanied by a change in the diameter of different size vessels, disruption of intercellular contacts and development of tissue acidosis. In tissue hypoxia, a complex of pathochemical events develops: the slowing of tissue respiration, the dissociation of oxidation and phosphorylation, increased recovery of redox systems, accumulation of unoxidized products, free fatty acids and calcium ions. Most important for the development of anoxic cell damage is an increase in the concentration of Ca^{2+} in the cytosol. The reaction of the enterocytes of the small intestine to ischemic processes is accompanied by the formation of deep strokes of