

ИССЛЕДОВАНИЕ Z-ПОТЕНЦИАЛА БЕЛКА ТАММА-ХОРСВАЛЛА И ЕГО ОТЛИЧИЯ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И БОЛЬНЫХ УРОЛИТИАЗОМ

Ланда С.Б.^{1,2}, Верлов Н.А.², Эммануэль В.Л.¹, Измайлов М.Р.¹

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова
ул. Л. Толстого 6-8, г. Санкт-Петербург, 197022, РФ
e-mail: vladimirem1@gmail.com

²Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
мкрн Орлова роща, 1, г. Гатчина, 188300, РФ
e-mail: sergey.landa@gmail.com

Аннотация. Уролителиаз относится к наиболее распространенным, тяжелым и часто рецидивирующим урологическим заболеваниям, представляющим серьезную проблему социального значения [1]. Образование мочевых камней связано с физико-химическими процессами, при которых происходит снижение порога растворимости солей или превышения их концентрации над порогом растворимости [2]. Однако в моче присутствуют факторы препятствующие кристаллизации мочевых солей. Главным из них считается белок Тамма-Хорсвалла (БТХ). Ранее было показано, что БТХ в различных условиях может существовать в различных олигомерных формах [9,10]. Целью настоящей работы являлось оценка степени десалирования БТХ по величине Z-потенциала и поиск различий между больными уролителиазом и лицами без патологии мочевыводящей системы. Измерения Z-потенциала БТХ показали, что у здоровых доноров распределение частиц БТХ по Z-потенциалу одномодально. Среднее значение Z-потенциала БТХ здоровых доноров составляло – 28.4 mV. У больных уролителиазом распределение по Z-потенциалу было бимодальным. Средние значения мод составляли – 29.7 mV b – 6.2 mV. В работе обсуждается связь степени десалирования с олигомерными формами БТХ и возможные механизмы ингибирования или сенсбилизации процесса камнеобразования.

Ключевые слова: Мочекаменная болезнь, уролителиаз, белок Тамма-Хорсвалла, олигомерные формы, Z-потенциал, сиаловые кислоты, почечные конкременты.

INVESTIGATION OF Z-POTENTIAL OF TAMM-HORSFALL PROTEIN OLIGOMEROUS FORMS OF A HEALTHY PERSONS AND A UROLITHIASIS PATIENTS.

Landa S.B.^{1,2}, Verlov N.A.², Emanuel V.L.¹, Izmailov M.R.¹

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
L'va Tolstogo str. 6/8, Saint Petersburg, Russia, 197022 RF
e-mail: vladimirem1@gmail.com

B. P. Konstantinov Peterburg Nuclear Physics Institute NRC "Kurchatov Institute"
Orlova Roscha, 1, Gatchina, Leningrad district, 188300, RF
e-mail: sergey.landa@gmail.com

Summary. Urolithiasis refers to the most common, severe and often recurring urological diseases, representing a serious problem with social significance [1]. The formation of urinary stones is associated with physicochemical processes in which the threshold solubility of salts decreases or their concentration exceeds the threshold solubility [2]. However, there are factors that prevent the crystallization of urinary salts in the urine. The main one is the Tamm-Horsfall protein (THP). Previously, it was being shown that THP under different conditions can exist in different oligomeric forms [9,10]. The purpose of this work was to assess the THP desialisation degree in terms of the Z-potential and to search for differences between patients with urolithiasis and those without a urinary system pathology. Measurements of the THP Z-potential showed that in healthy donors the distribution of THP particles along the Z-potential is unimodal. The average value of the THP Z-potential in healthy donors was 28.4 mV. In patients with urolithiasis, the Z-potential distribution was bimodal. The average values of the modes were - 29.7 mV b - 6.2 mV. The paper discusses the relationship between the degree of desialization with oligomeric forms of BTHX and the possible inhibition or sensitization process mechanisms stone formation.

Key words: Urolithiasis, Tamm-Horsfall protein, Oligomeric forms, Zeta-potential, Sialic acids, Kidney stones

Уролителиаз занимает одно из важных мест в структуре урологической заболеваемости [1]. Основным компонентом большинства мочевых конкрементов является моногидрат оксалата кальция (СОМ). Формирование СОМ агрегатов является результатом четырех важных процессов: формирования ядра СОМ микрокристалла (нуклеация), роста микрокристаллов, агрегации отдельных микрокристаллов и образование конкремента и прикрепление кристаллов/конкрементов к эпителиальным клеткам [3]. Если роль двух последних процессов в патогенезе уролителиаза изучена достаточно подробно [4,5], то роли процессов нуклеации и роста микрокристаллов посвящены единичные исследования [6,7].

Кроме того было показано, что в моче присутствуют факторы препятствующие кристаллизации мочевых солей. Главным из них считается белок Тамма-Хорсвалла (БТХ) [8]. Ранее нами было показано, что БТХ в различных условиях может существовать в двух основных олигомерных формах Т&Н(7) с МВ 7 MD и Т&Н(28) с МВ 28 MD [9]. Протектирующая роль БТХ сильно зависит от рН и концентрации одновалентных катионов [10]. Кроме того, было показано, что защитная роль БТХ зависит от наличия в нем гликанов,

содержащих сиаловые кислоты [11], что ведет к наличию сильного отрицательного заряда молекул БТХ, которые покрывают поверхность СОМ микрокристаллов и их взаимному отталкиванию. При этом сильный отрицательный заряд БТХ, является причиной того, что его рI в норме составляет 3.2 [12]. В экспериментах на лабораторных грызунах на двух моделях МКБ было показано сходство с процессами, наблюдаемыми в клинической практике [13]. В то же время, измерение изоэлектрической точки белков в составе олигомерных комплексов достаточно сложная задача. Трудности связаны в основном с тем, что частицы с МВ в несколько МД плохо входят или даже совсем не входят в гели в процессе изоэлектрической фокусировки. Однако существует менее трудоемкий метод оценки поверхностного заряда молекул. Это метод измерения Z-потенциала частиц в растворе, он же метод доплеровского электрофореза или электрофореза без поддерживающей среды.

Данный метод измеряет малые сдвиги частоты света, рассеянного на частицах, к которым приложено электрическое поле с заданными параметрами. Скорость частиц рассчитывается на основании сравнения частоты биений луча, рассеянного на образце, с эталонной частотой, полученной за счёт модуляции опорного луча на осциллирующем зеркале. Для измерения величины Z-потенциала мы использовали запатентованный метод МЗ-PALS (Phase Analysis Light Scattering) [14]. Метод PALS использует ту же оптическую схему, что и обычный электрофорез без поддерживающей среды. Однако вместо сдвига частоты, в данном методе, определяется зависимость сдвига фазы от времени. Сдвиг фазы, в свою очередь, зависит от положения частицы, которая направленно движется под воздействием электрического поля. Для метода PALS характерна высокая производительность, более чем в 100 раз превышающая производительность классического метода. Для частиц с низкой электрофоретической подвижностью, в случае классического метода, для получения значимого частотного сдвига необходимо прикладывать электрическое поле с высокой напряжённостью, что приводит к большому тепловыделению, особенно для сильно проводящих систем. Метод PALS позволяет избежать этого, что в конечном счёте позволяет работать на системах с большей проводимостью или высокой плотностью, за счёт приложения меньшего напряжения к электродам кюветы, что, в свою очередь, приводит к меньшему нагреву исследуемого образца. Также метод хорошо подходит для исследования частиц с высокой подвижностью, для которых характерно быстрое «пробегание» через область регистрации. Применение PALS в таких случаях позволяет получить данные о сдвиге фазы (да величину до половины длины волны, что, впрочем, достаточно для определения её подвижности) при относительно низких величинах напряжённости поля. Процесс измерения состоит из серии циклов, в каждом из которых приложенное напряжение быстро изменяет свою величину и полярность. В результате чередующихся циклов измерения получается набор кривых с характерными наклонами, соответствующими измеренной разности фаз зависящей от времени, которые являются результатом приложения быстро меняющегося поля. При дальнейшем расчёте можно получить гистограмму распределения частиц по Z-потенциалу (PZD, аналогичную PSD) или усреднение для определения средней разности фаз и, следовательно, средний Z-потенциал.

Таким образом, получив PZD можно оценить субфракционный состав частиц БТХ по их поверхностному заряду, что в свою очередь позволит выделить субфракции БТХ с высокой и низкой степенью десалирования.

Целью настоящей работы являлась оценка степени десалирования БТХ по величине Z-потенциала и поиск различий между больными уролитиазом и лицами без патологии мочевыводящей системы.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено в группе из 5 человек с верифицированным уролитиазом в возрасте 17-40 лет и группе сравнения – 5 практически здоровых лиц, соответствующего пола и возраста, не имеющих патологии мочевыводящей системы.

Выделение и очистка БТХ.

Для выделения БТХ из мочи мы использовали метод высаливания [15]. К известному объёму мочи при постоянном перемешивании добавляли хлористый натрий до конечной концентрации 0.6 М. После растворения соли мочу помещали в холодильник на 24 часа при температуре + 4 градуса С. Затем образцы центрифугировали при 11 000 g в течение 30 минут при 4°C. После окончания центрифугирования надосадочную жидкость аккуратно сливали, а осадок ресуспендировали 3 мл PBS-буфера. К ресуспендированному осадку мочи добавляли равный объём 1М натриевой соли ЭДТА и помещали в диализный мешок с размером пор до 30 кДа. Диализ проводили в течение 24 часов против 1000-2000 кратного объёма дистиллированной воды при постоянном перемешивании при +4С. Полученный диализат разводили подщелоченной (рН 9.0) дистиллированной водой до объёма 0.5 л. и повторяли процедуры осаждения и центрифугирования. После центрифугирования супернатант аккуратно удаляли, а осадок ресуспендировали в 15 мМ PBS буфере с добавлением 0.1 М азида натрия (PBS_A буфер). Качество очистки контролировали методом денатурирующего электрофореза в ПААГ. Образцы белка хранили в холодильнике не замораживая.

Измерение размеров частиц осуществляли на спектрометре динамического светорассеяния «ПЛСС» («ООО ИНТОКС МЕД», Россия - РУ № 2014/1650/2014г) как было описано нами ранее [9]. Исследования соотношения олигомерных форм БТХ у здоровых людей и больных уролитиазом проводили в 15 мМ PBS_A буфере. Низкая ионная сила буферного раствора не позволяла de novo образовываться олигомерным формам с МВ 28 МД и мы будем видеть соотношение олигомерных форм у здоровых людей и больных уролитиазом не зависящее от концентрации одновалентных катионов.

Дета-потенциал белка (ζ) измеряли методом динамического рассеяния света на приборе Zetasizer Nano ZS производства Malvern Instruments. Измерение производилось в стандартной одноразовой U-образной капиллярной кювете (DTS1070). Образец белка Тамма-Хорсфалла, полученный из мочи методом высаливания,

разводился в 15 mM PBSA буфере в соотношении 50 мкл. к 1 мл. буфера (в 20 раз), для обеспечения методических требований измерения к концентрации анализируемого образца. Перед измерением приготовленный образец в кювете выдерживался 1 час, для исключения влияния процессов конвективного массопереноса на процедуру измерения.

Результаты исследования. В ходе данной работы было исследовано 5 пациентов с верифицированным уролитиазом и 5 пациентов без выраженной почечной патологии. Измерения проводились в растворе с низкой ионной силой, чтобы исключить образование олигомерной формы T&HE(28). Усредненное по 3 измерениям распределение частиц по размерам типичное для БТХ, выделенного из мочи здорового человека представлено на рисунке 1А.

Основной вклад в светорассеяние вносят частицы со средним гидродинамическим радиусом (R_h)

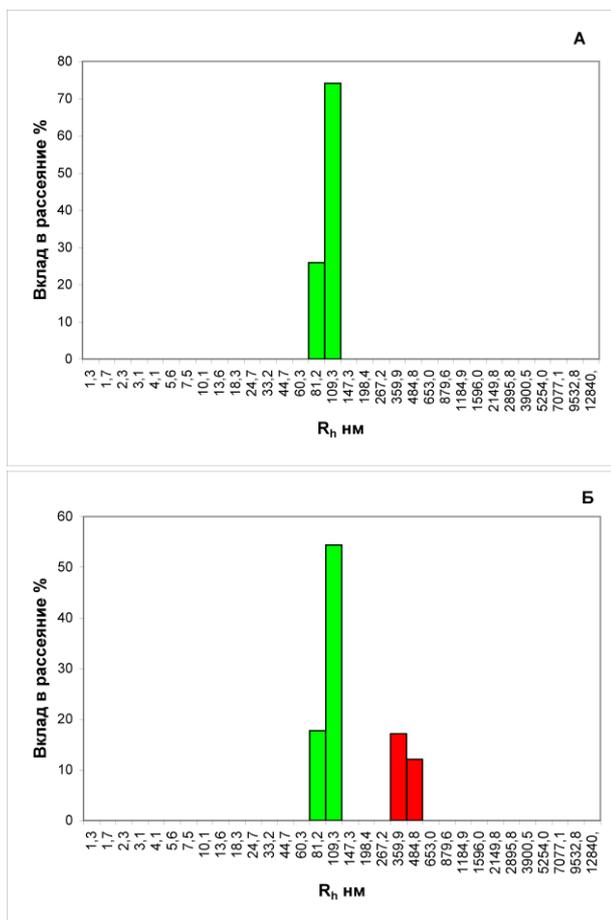


Рисунок 1 – Гистограммы распределения частиц БТХ, выделенного из мочи здоровых доноров (А) и больных уролитиазом (Б) по размерам (PSD)

значениям. Как видно из приведенных данных, у здоровых доноров распределение БТХ по Z-потенциалу одномодальное, со средним значением – 28.4 mV. СКО среднего значения во всех измерениях составляло 1.4 mV или около 5%. Вид распределения близок нормальному, дисперсия около 20 mV. Данная величина близка к величине Z-потенциала нормального БТХ, полученной в других лабораториях [16].

У больных уролитиазом распределение БТХ по Z-потенциалу сильно отличалось от вышеописанного. Во всех измеренных случаях распределение было бимодальным. Первая мода по среднему значению Z-потенциала близка к Z-потенциалу нормального БТХ (– 29.7 mV). Дисперсия распределения также близка к 20 mV. Среднее значение второй моды составляло – 6.2 mV. Данная величина близка к Z-потенциалу десалированного БТХ (4 – 6 mV) [16]. С большой долей вероятности можно предположить, что и в нашем случае этот пик соответствует десалированному БТХ. Количественное соотношение нормального и десалированного БТХ можно оценить по соотношению площадей под пиками, если принять площадь под всем графиком за 100%. В наших экспериментах доля десалированного БТХ у разных больных колебалась от 8% до 30%.

Обсуждение. В результате выполненных исследований нам удалось показать, что БТХ, у пациентов с подтвержденным диагнозом уролитиаз по Z-потенциалу существенно отличается от БТХ нормальных доноров. БТХ таких пациентов по величине Z-потенциала делится на две субфракции: первая, практически неотличимая от БТХ нормальных доноров с Z-потенциалом около – 30 mV и вторая, с Z-потенциалом – 6 mV. С большой долей вероятности можно предположить, что эта субфракция представляет собой десалированный БТХ. Другим

101 ± 3 nm для олигомерной формы T&HE(7). На рисунке 1Б представлено усредненное по 3 измерениям распределение частиц по размерам белка Тамма-Хорсвалла выделенного из мочи больного уролитиазом. Как видно из рисунка, кроме олигомеров T&HE(7) с $R_h = 101 \pm 1$ nm, в данном образце присутствуют олигомеры T&HE(28) с $R_h = 412 \pm 4$ nm. Вклад в рассеяние олигомеров T&HE(28) варьирует у разных больных от 10 % до 30 %. Таким образом, у здоровых людей БТХ представлен только олигомерной формой T&HE(7), тогда как у больных уролитиазом даже в растворах с низкой ионной силой присутствует олигомерная форма T&HE(28). Вклад в рассеяние этой формы может значительно отличаться у разных пациентов. Оценить отношение концентраций двух вышеуказанных олигомерных форм затруднительно, в силу различных форм факторов этих форм: гауссов клубок у формы T&HE(7) и линейный полимер у формы T&HE(28). Можно только дать предельную оценку преобладания формы T&HE(7) – на одну форму T&HE(28) приходится не более 60-70 форм T&HE(7). На самом деле, это соотношение может быть значительно ниже, так как вклад в рассеяние линейных полимеров пропорционален 1 степени его R_h . Тогда на 1 форму T&HE(28) будет приходиться примерно 4 формы T&HE(7).

На рисунке 2 приведены данные измерения Z-потенциала БТХ выделенного из мочи здорового донора (см. рис. 2А) и больного уролитиазом (см. рис. 2Б). Измерения проводились в буфере с низкой ионной силой, что позволило не только получить среднее значение Z-потенциала, но и зарегистрировать его распределение. Здесь приведены данные, наиболее близкие к средним

важным моментом является корреляция соотношением олигомерных форм и распределением Z-потенциала БТХ выделенного из мочи больных уролитиазом.

Существует множество данных о роли БТХ в процессах роста и агрегации СОМ кристаллов. Большинство из них говорят о ингибирующем влиянии БТХ на рост кристаллов [17, 18] и др, однако, отмечается что БТХ может ускорять рост СОМ кристаллов [19].

Отмечается также влияние на рост кристаллов внешних факторов, таких как рН, ионная сила и концентрация БТХ [17].

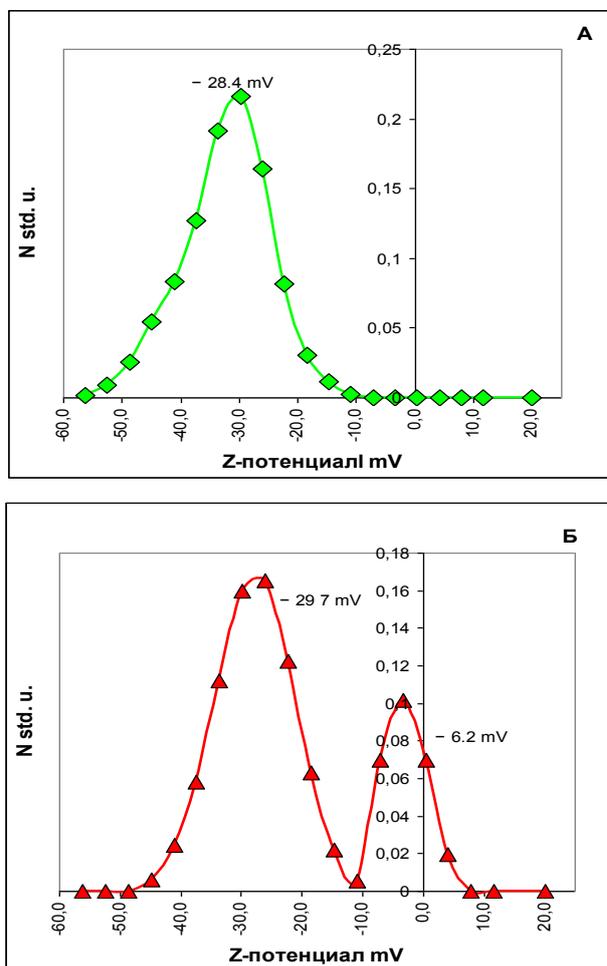


Рисунок 2 – Распределение частиц БТХ, выделенного у здоровых доноров (А) и больных уролитиазом (Б) по Z-потенциалу

низкому Z-потенциалу и линейному форм-фактору, эта форма не сорбируется на СОМ-кристаллы, а агрегирует в тяжи, которые в свою очередь, образуют гиалиновые цилиндры.

Поскольку значительная часть БТХ у больных уролитиазом десалирована, образование формы Т&НЕ(28) становится возможным в физиологическом диапазоне рН и ионной силы мочи. В этом случае концентрации формы Т&НЕ(7) становится недостаточно для сплошного покрытия поверхности СОМ кристалла и на нем остаются области с положительным зарядом. Существование перемежающихся областей с положительным и отрицательным зарядом приводит к агрегации СОМ кристаллов и образованию почечных конкрементов (см. рис 3а). Для смены ингибирующей функции БТХ на сенсibiliзирующую достаточно чтобы около 40% – 50% площади СОМ кристалла оказалась свободной от формы Т&НЕ(7).

Нами было показано влияние рН и концентрации одновалентных катионов на поведение самого БТХ в растворе [10]. Вероятно, способность БТХ ингибировать рост СОМ кристаллов, или ускорять их рост и агрегацию зависит от степени десалирования БТХ, = величине Z-потенциала его частиц. Отметим также, что Z-потенциал является важнейшим фактором устойчивости коллоидных систем [20]. При величине Z-потенциала ниже ± 30 mV система начинает терять устойчивость, а при величине ниже ± 10 mV начинается массовая агрегация наночастиц в коллоидных системах. Десализация БТХ на 40 % приводит к изменению рI на 1.5 – 1.9 единиц [16], что может свидетельствовать о снижении Z-потенциала десалированного БТХ до критических величин, хотя данных прямых измерений Z-потенциала авторы не приводят.

Полученные нами данные позволяют предположить, что БТХ с высоким Z-потенциалом ассоциируется с олигомерной формой Т&НЕ(7). В физиологическом диапазоне изменений значений рН ионной силы мочи недостаточно для перехода формы Т&НЕ(7) в форму Т&НЕ(28) и эта форма является доминирующей. Она существует в виде гауссова клубка с концентрацией отрицательного заряда на поверхности частицы. Такие частицы легко сорбируются на поверхности СОМ кристалла, покрывая большую часть его поверхности (см. рис. 3б). При этом на поверхности кристалла создается сплошной отрицательный заряд, препятствующий агрегации кристаллов в конгломерат.

БТХ с низким Z-потенциалом ассоциируется олигомерной формой Т&НЕ(28). Эта форма существует в виде линейного полимера диаметром 40 нм и длиной от 600 нм до 1000 нм. Благодаря

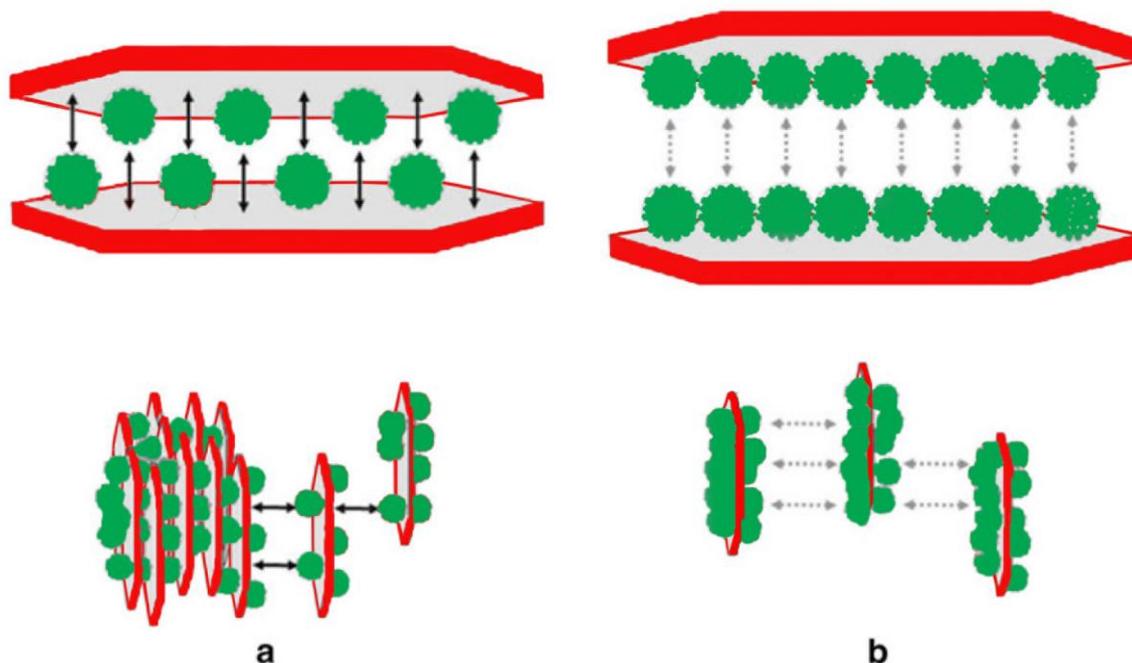


Рисунок 3 – Молекулярная модель сенсбилизирующей (а) и ингибирующей (б) роли БТХ в процессе камнеобразования

Список литературы / References:

1. Дзеранов Н.К., Захаров В.Н., Байбарин К.А. Современные литотрипторы для дистанционной литотрипсии мочевого камня. *Лечащий врач*, 2005, № 7, с. 72-76. [Dzeranov N.K., Zakharov V.N., Baibardin K.A. Modern lithotriptors for distant lithotriptions of urinary stones. *Lechaschiy vrach*, 2005, no. 7, pp 72-76. (In Russ.)]
2. Единый Ю.Т., Дзюрак В.С., Желтовская Н.И. Концентрация водородных ионов мочи как один из патогенетических факторов мочекаменной болезни. *Врачебное дело*, 1987, № 12, с. 57-59. [Ediny U.T., Dzurak V.S., Geltovskaja N.I. Urinary pH is a one of pathogenic factors of urolithiasys. *Vrachebnoe delo*, 1987, no. 12, pp. 57-59. (In Russ.)]
3. Wesson J.A., Ward M.D. Pathological biomineralization of kidney stones. *Elements*, 2007, vol. 3, pp. 415-421.
4. Grover P.K., Moritz R.L., Simpson R.J., Ryall R.L. Inhibition of growth and aggregation of calcium oxalate crystals in vitro: A comparison of four human proteins. *Eur. J. Biochem.*, 1998, vol. 253, pp. 637-644.
5. Beshensky A.M., Wesson J.A., Worcester E.M., Sorokina E.J., Snyder C.J., Kleimann J.G. Effects of urinary macromolecules on hydroxyapatite crystal formation. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2001, vol. 12, pp. 2108-2116.
6. Hallson P.C., Choong S.K., Kasidas G.P., Samuell C.T. Effects of Tamm-Horsfall protein with normal and reduced sialic acid content upon the crystallization of calcium phosphate and calcium oxalate in human urine. *Br. J. Urol.*, 1997, vol. 80, pp. 533-538.
7. Chen W.C., Lin H.S., Chen H.Y., Shin C.H., Li C.W. Effects of Tamm-Horsfall protein and albumin on calcium oxalate crystallization and importance of sialic acids. *Mol. Urol.*, 2001, vol. 5, pp. 1-5.
8. Williams J., Marshall R.D., van H.H., Vliegthart J.F. Structural analysis of the carbohydrate moieties of human Tamm-Horsfall glycoprotein. *Carbohydr Res.*, 1984, vol. 134, pp. 141-155.
9. Ланда С.Б., Аль-Шукри С.Х., Горбачев М.И., Егоров В.В., Эмануэль В.Л., Эмануэль Ю.В. Патохимические особенности олигомерных форм белка Тамма-Хорсвалла при уролитолизе. *Клиническая лабораторная диагностика*, 2016, т. 61, № 6, с. 335-342. [Landa S.B., Al-Shukri S.H., Gorbachev M.I., Egorov V.V., Emanuel Yu.V., Emanuel V.L. The pathochemical characteristics of oligomeric forms of Tamm-Horsfall protein under urolithiasis. *Clin. Lab. Diag.*, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 335-342. (In Russ.)]
10. Эмануэль В.Л., Ланда С.Б., Эмануэль Ю.В., Измайлов М.Р. Патофизиологическая интерпретация биофизической модуляции патохимических форм основного протеома мочи при уролитолизе. *Лабораторная служба*, 2017, т. 6, № 2, с. 21-27. [Emanuel V.L., Landa S.B., Emanuel Yu.V., Izmaylov M.R. Pathophysiological interpretation of biophysical modulation of basic urine proteome pathochemical forms in case of urolithiasis. *Laboratornaya sluzhba*, 2017, vol. 6, no. 2, pp. 21-27. (In Russ.)]
11. Konya E., Amasaki N., Umekawa T., Iguchi M., Kurita T. Influence of urinary sialic acid on calcium oxalate crystal formation. *Urol Int.*, 2002, vol. 68, pp. 281-285.
12. Youhanna S., Weber J., Beaujean V., Glaudemans B., Sobek J., Devuyt O. Determination of uromodulin in human urine: influence of storage and processing. *Nephrol Dial Transplant.*, 2014, vol. 29, no. 1, pp. 136-145.

13. Трашков А.П., Васильев А.Г., Коваленко А.Л., Тагиров Н.С. Метаболическая терапия мочекаменной болезни на различных моделях поражения почек у крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2015, т. 78, № 3, с. 17-21. [Trashkov A.P., Vasiliev A.G., Kovalenko A.L., Tagirov N.S. Metabolic therapy of nephrolithiasis in two different rat models of kidney disease. *Experimental and clinical pharmacology*, 2015, vol. 78, no. 3, pp. 17-21. (In Russ.)]
14. Nicoli D., Chang Yu-Jain, Wu Jau-Sien *Methods and apparatus for electrophoretic mobility determination using phase light scattering analysis*. Patent US 7295311 B2, Date of publication 13.11.2007.
15. Serafini-Cessi F., Bellabarba G., Malagolini N., Dall'Olio F. Rapid isolation of Tamm-Horsfall glycoprotein (uromodulin) from human urine. *J Immunol Methods*, 1989, vol. 120, pp. 185-189.
16. Viswanathan P., Rimer J.D., Kolbach A.M., Ward M.D., Kleinman J.G., Wesson J.A. Calcium oxalate monohydrate aggregation induced by aggregation of desialylated Tamm-Horsfall protein. *Urol Res.*, 2011, vol. 39, no. 4, pp. 269-282.
17. Hess B., Nakagawa Y., Parks J.H., Coe F.L. Molecular abnormality of Tamm-Horsfall glycoprotein in calcium oxalate nephrolithiasis. *Am J Physiol.*, 1991, vol., 260, pp. F569-F578.
18. Mo L., Liaw L., Evan A.P., Sommer A.J., Lieske J.C., Wu X.R. Renal calcinosis and stone formation in mice lacking osteopontin, Tamm-Horsfall protein, or both. *Am J Physiol Renal Physiol.*, 2007, vol. 293, pp. F1935-F1943.
19. Hallson P.C., Rose G.A. Uromucoids and urinary stone formation. *Lancet*, 1979, vol. 1, pp. 1000-1002.
20. Greenwood R, Kendall K. Electroacoustic studies of moderately concentrated colloidal suspensions. *Journal of the European Ceramic Society*, 1999, vol. 19, no. 46, pp. 479-488.

ПРЕПАРАТ АНФЕН КАК АДАПТОГЕН К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Жигачева И.В.¹, Расулов М.М.²

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН

ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119334, РФ

e-mail: zhigacheva@mail.ru

²Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений

ш. Энтузиастов, 38, г. Москва, 105118, РФ

e-mail: eos2004@inbox.ru

Аннотация. Исследовано влияние пространственно-затрудненного фенола анфена натрия (1-карбокси-1-(N-метиламид)-2-(3',5'-ди-tert-бутил-4-гидрокси-фенил пропанат натрия) на функциональное состояние митохондрий печени крыс. Стрессовые воздействия вызывали 3-4 кратный рост интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах этих органелл. Препарат снижал интенсивность ПОЛ до контрольных значений, что способствовало сохранению высокой функциональной активности митохондрий. Предотвращение дисфункции митохондрий, вероятно, было сопряжено с повышением устойчивости животных к действию стрессовых факторов. Предполагается, что протекторная активность анфена натрия обусловлена его антиоксидантными свойствами.

Ключевые слова: анфен, адаптоген.

ANPHEN AS ADAPTOGEN TO STRESS IMPACT

Zhigacheva I.¹, Rasulov M.²

¹Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences

st. Kosygina, 4, Moscow, 119334, Russia

e-mail: zhigacheva@mail.ru

²State Research Institute of Chemistry and Technology of Elementoorganic Compounds

Enthusiasts highway, 38, Moscow, 105118, Russia

e-mail: eos2004@inbox.ru

Summary. In the present study we investigated the effect of the spatial-hindered phenol - sodium anphen (1-carboxy-1-(N-methylamide) -2-(3',5'-di-tert-butyl-4-hydroxy-phenyl sodium propanat) on the functional state of rat liver mitochondria. Stress actions caused 3-4 fold increase in fluorescence intensity of lipid peroxidation products in the membranes of these organelles. The preparation decreased the LPO intensity to control values, which contributed to maintaining high functional activity of mitochondria. The prevention of mitochondrial dysfunction, probable, was associated with an increased resistance of animals to stress factors. It is assumed that the protective activity of sodium anphen is due to its antioxidant properties.

Keywords: anphen, adaptogen.

В условиях стресса наблюдается активация симпатoadrenalовой системы и рост уровня катехоламинов в крови, что приводит к выходу Ca^{2+} из сосудистого русла в клетки. Повышение содержания внутриклеточного Ca^{2+} вызывает накопление этих ионов в митохондриях, что влечет за собой рост генерации АФК, АФА и нарушение биоэнергетических функций этих органелл, приводящее к развитию ряда патологических состояний [1,2]. В связи с этим довольно актуальна проблема поиска новых препаратов-адаптогенов, повышающих