

животноводстве // М.П. Семененко, В.А. Антипов, А.С. Фонтанецкий // Материалы первого съезда ветеринарных фармакологов России. - Воронеж. - 2007. - С. 551-553.

УДК 619:615.33

## ВЛИЯНИЕ ВНУТРИМЫШЕЧНОГО ВВЕДЕНИЯ КОЛИСТИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ I ФАЗЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС

Фоменко О.Ю., Богданова Е.В., Туркина А.В.

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии», г. Воронеж, Россия

**Введение.** Колистин – бактерицидный антибиотик, действующий главным образом на грамотрицательные микроорганизмы, в том числе такие, как пастереллы, бордетеллы, эшерихий, сальмонеллы, клебсиеллы, псевдомонасы и другие. Препарат слабо всасывается в желудочно-кишечном тракте и не накапливается в продуктах животноводства. Известно, что за счёт активации или подавления экспрессии генов системы детоксикации ксенобиотиков может происходить ускорение метаболизма поступающих в организм соединений (в том числе, и лекарственных средств), замедление их детоксикации и даже синтез более токсичных метаболитов. Однако в настоящее время вопрос влияния колистина на экспрессию генов биотрансформации ксенобиотиков остаётся практически не изученным.

**Материалы и методы исследования.** Исследование было проведено на 6 самцах белых крыс линии Wistar, содержащихся на общевиварном рационе при свободном доступе к воде. Животные были разделены на 2 группы (контрольную и опытную) по 3 головы, подобранные с учётом массы тела и возраста. Животным первой группы производились внутримышечные инъекции основы препарата (монопропиленгликоль, бензиловый спирт и вода) с целью учёта возможного влияния компонентов основы на экспрессию изучаемых генов. Крысам второй группы ежедневно внутримышечно вводили раствор колистина с концентрацией 1000 е.а./мл по действующему веществу в дозе 0,1 мл/кг массы тела. Через 7 дней после начала эксперимента животные выводились из опыта путём декапитации. При выведении животных из опыта были отобраны образцы тканей печени для проведения молекулярно-биологических исследований и гистологических исследований. Образцы тканей для выделения РНК немедленно замораживали в жидком азоте, а затем переносили в фиксирующую жидкость Intact RNA («Евроген», Россия) и хранили при температуре -20 °С до выделения РНК.

Выделение суммарной клеточной РНК производилось с использованием микроспиновых колонок из набора RNeasy Mini Kit («Qiagen», Германия) согласно рекомендациям фирмы-производителя. Обратную транскрипцию проводили с использованием ревертазы M-MuLV, RNase H- (СибЭнзим, Россия) согласно рекомендациям фирмы-производителя. Количественный ПЦР-анализ проводили с применением флуоресцентного красителя SYBR Green I с использованием набора реактивов фирмы «Синтол» (Россия) и разработанных нами генспецифических праймеров на приборе Bio-Rad CFX90 (Bio-Rad, США). Для проведения реакции брали кДНК, полученную с использованием 200 нг суммарной клеточной РНК. Кроме того, образцы печени были исследованы с применением общепринятых морфологических и гистологических методов.

Нами было изучено влияние внутримышечного введения колистина на профили экспрессии генов CYP1A1, CYP1A2, CYP2B1 и CYP3A1 в клетках печени крыс. В ходе работы нами были получены данные об уровне экспрессии изучаемых генов по сравнению с группой контрольных животных, представленность транскриптов в которой принималась за единицу. Определение относительного уровня экспрессии исследуемых генов проводили с применением  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ -метода [1].

**Результаты исследований.** С использованием гистологических методов установлено, что у животных опытной группы, получавших раствор колистина с концентрацией 1000 е.а./мл по действующему веществу в дозе 0,1 мл/кг массы тела, наблюдались дистрофические изменения тканей печени, проявляющиеся в вакуолизации цитоплазмы гепатоцитов. При этом, однако, сохранялось балочное строение центральной зоны долек печени. Наблюдалось расширение микроциркуляторного русла (синусов и капилляров), сосуды со средним кровенаполнением. Цитоплазма имела губчатое строение.

Нами было показано, что введение колистина с концентрацией 1000 е.а./мл по действующему веществу в дозе 0,1 мл/кг массы тела вызывало резкое увеличение уровней экспрессии цитохромов *Cyp1a2* и *Cyp3a1*. По сравнению с контрольной группой они возросли в 17,37 и 8,87 раза соответственно. Существенных изменений уровней экспрессии цитохромов *Cyp1a1* и *Cyp2b1* в данных условиях обнаружено не было: они увеличивались в 5,09 и 2,78 раза соответственно.

Известно, что при воздействии ксенобиотиков и продуктов их трансформации на экспрессию цитохромов P450 цитозольный рецептор взаимодействует со строго специфичным для каждого члена суперсемейства лигандом, что вызывает изменение его конформации, приводящее к его перемещению в ядро и связыванию со специфическим регионом ядерной ДНК, расположенным выше соответствующего гена (элементом ответа на ксенобиотик). Эта цепь событий изменяет структуру ДНК таким образом, что она становится более доступной для ферментов транскрипции [2]. Подобный механизм регуляции экспрессии генов биотрансформации ксенобиотиков реализуется, вероятно, и в случае с колистином.

**Заключение.** Полученные нами данные позволяют предположить, что резкое повышение уровня экспрессии генов цитохромов P450 в клетках печени крыс при внутримышечном введении колистина свидетельствует о протекании процессов его биотрансформации в печени, что может служить источником образования токсичных метаболитов и активных форм кислорода. Последние, в свою очередь, являются причиной окисления нуклеиновых кислот и окислительной модификации белков, что может являться одной из причин гепато- и нефротоксичности [3].

**Литература.** 1. Livak K.J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method / K.J. Livak, T.D. Schmittgen // *Methods*. – 2001. – v. 25. – p. 402-408. 2. Zhu B.T. On the general mechanism of selective induction of cytochrome P450 enzymes by chemicals: some theoretical considerations / B.T. Zhu // *Expert opinion on drug metabolism and toxicology*. – 2010. – v. 6, № 4. – p. 483-494. 3. Perazella M.A. Renal Vulnerability to Drug Toxicity / M.A. Perazella // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. – 2009. – v. 4, № 7. – P. 1275-1283.

УДК 637.12'639

## ВЛИЯНИЕ СРЕДСТВ ДЛЯ ГИГИЕНЫ ВЫМЕНИ НА САНИТАРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КОЗЬЕГО МОЛОКА

Фотина Т.И., Зажарская Н.Н.

Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

**Введение.** Белки и жиры козьего молока легко усваиваются в организме человека. Оно не вызывает аллергической реакции и расстройств пищеварения у людей, страдающих непереносимостью белков коровьего молока. Козье молоко, как и коровье, относится к группе казеиновых, но оно практически не содержит альфа-1s-казеин - вещество, которое вызывает аллергические реакции у человека на коровье молоко [1].

Ежегодное мировое производство козьего молока достигает 8299 тысяч тонн. В последние пять лет увеличивается количество фермерских хозяйств в Украине, специализирующихся на производстве козьего молока, преимущественно в Львовской,