

УДК [577.1:615.357:615.014.425:549.31]-092.9:569.323.4(045)

РАКТОПАМИН, ПРЕДНИЗОНОН И ДИАЦЕТОФЕНОНИЛСЕЛЕНИД: СТРУКТУРНОЕ СХОДСТВО И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Бородулин В.Б., Русецкая Н.Ю.

*ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского»
Минздрава России, Саратов, e-mail: borodulinvb@mail.ru*

Установлено гормоноподобное действие селеноорганического соединения 1,5-дифенил-3-селенпентадиона-1,5 (диацетофенонилселенид, ДАФС-25), который подобно глюкокортикоидному препарату преднизолону способствовал усилению углеводного обмена у белых беспородных мышей. У мышей обеих экспериментальных групп достоверно увеличивалась активность одного из ключевых ферментов глюконеогенеза глюкозо-6-фосфатазы печени. Значительное увеличение активности аланинаминотрансферазы сыворотки крови сопровождалось достоверным снижением концентрации пирувата в сыворотке крови. При этом активность аспаргатаминотрансферазы оставалась неизменной по сравнению с контролем. Гормоноподобное действие препарата ДАФС-25 также подтверждалось увеличением содержания гликогена в печени и глюкозы в сыворотке крови у обеих экспериментальных групп мышей. Для объяснения механизма гормоноподобного действия ДАФС-25 и рактопамина предлагается концепция структурно-функционального подобия трех различных классов органических соединений: гормонального препарата преднизолон, селеноорганического соединения ДАФС-25 и рактопамина.

Ключевые слова: диацетофенонилселенид (ДАФС-25), глюкокортикоиды, рактопамин, глюконеогенез

RACTOPAMIN, PREDNISOLONUM AND DIACETOPHENONYLSELENIDE: STRUCTURAL SIMILARITY AND BIOLOGICAL ACTIVITY

Borodulin V.B., Rusetskaya N.Y.

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: borodulinvb@mail.ru

Hormonal similar action of selenorganic compound 1,5-difenil-3-selenpentandiona-1,5 (diacetophenonylselenide, DAPS-25), which similarly to glucocorticoid drug prednisolonum promoted strengthening of a carbohydrate metabolism at white not purebred mice is established. The activity of one of key enzymes of gluconeogenesis glucose-6-phosphatase in a liver authentically increased at mice of both experimental groups. Significant growth of alanine aminotransferase activity in blood serum was accompanied by authentic decrease of pyruvate concentration in blood serum. Thus aspartate aminotransferase activity remained invariable in comparison with the control. Hormonal similar action of DAPS-25 also proved by increase of glycogen concentration in a liver and glucose concentration in blood serum at the both experimental groups of mice. For an explanation of hormonal similar action mechanism of DAPS-25 and ractopamin it is offered the concept of structurally functional similarity of three various classes of organic compounds: a hormonal drug prednisolonum, selenorganic compound DAPS-25 and ractopamin.

Keywords: diacetophenonylselenide (DAPS-25), glucocorticoids, ractopamin, gluconeogenesis

В животноводстве и птицеводстве ряда регионов России применяется селеноорганический препарат 1,5-дифенил-3-селенпентадиона-1,5 (диацетофенонилселенид, ДАФС-25), который позволяет нормализовать деятельность иммунной, антиоксидантной и детоксицирующей систем организма животных и птиц, увеличивает сохранность поголовья молодняка и взрослых животных, приводит к увеличению яичной и мясной продукции [2, 3, 7].

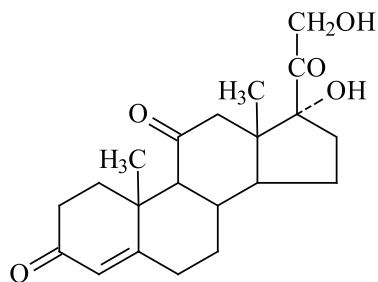
Вместе с тем в настоящее время в животноводстве США, Канады, Бразилии, Мексики и других стран применяется пищевая добавка рактопамин, которая способствует увеличению мышечной массы у свиней и крупного рогатого скота. В России ветеринарные препараты на основе рактопамина не относятся к числу препаратов, включённых в «Реестр лекарственных средств и кормовых добавок для животных, зарегистрированных и разрешенных к при-

менению на территории Российской Федерации» (<http://rosпотреbnadzor.ru>).

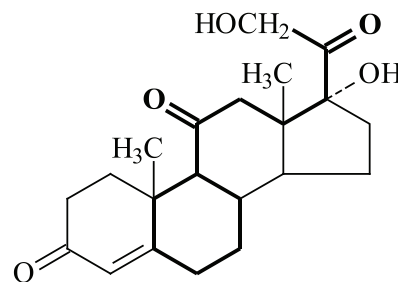
Фармакологически рактопамин – это бета адренергический агонист, принадлежащий к классу фенетаноламинов [13, 14]. При использовании в качестве пищевой добавки рактопамин доставляется через кровь в мышечные клетки, где он связывается с бета-рецепторами, стимулируя синтез белка и приводя в конечном итоге к общему росту мышечной массы животных.

Анаболический эффект ДАФС-25 и рактопамина, по нашему мнению, обусловлен определёнными чертами сходства этих препаратов с пространственной структурой стероидных гормонов, в том числе глюкокортикоидов.

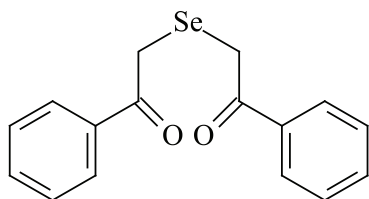
На рисунке представлено химическое строение гормонального препарата преднизолон, селеноорганического соединения ДАФС-25 и кормовой добавки рактопамина в оптимизированной форме:



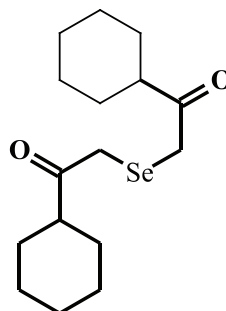
Преднизолон



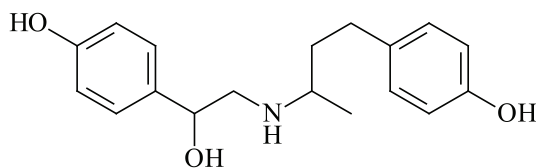
Преднизолон в оптимизированной форме



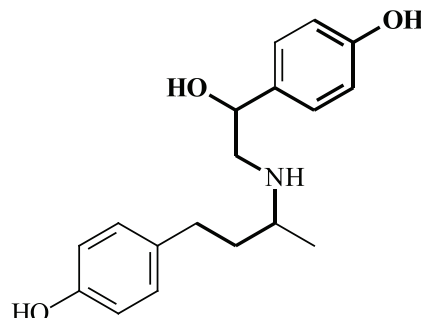
ДАФС-25



ДАФС-25 в оптимизированной форме



Рактопамин



Рактопамин в оптимизированной форме

Химическое строение гормонального препарата преднизолон, селеноорганического соединения ДАФС-25 и кормовой добавки рактопамина в оптимизированной форме

Известно, что преднизолон обладает выраженным дозозависимым действием на метаболизм углеводов, белков и жиров. Преднизолон стимулирует глюконеогенез, способствует захвату аминокислот печенью и почками и повышает активность ферментов глюконеогенеза. В печени преднизолон усиливает депонирование гликогена, стимулируя активность гликогенсинтетазы [12]. Кроме того, данный гормон подавляет захват глюкозы жировыми клетками, что приводит к активации липолиза [11].

В связи с тем, что рактопамин запрещен к применению в России, целью нашей работы явилось изучение влияния селеноорганического препарата 1,5-дифенил-3-селенпентадиона-1,5 (ДАФС-25) и гормонального препарата преднизолон на показатели углеводного обмена у самцов белых беспородных мышей.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проводился на самцах белых мышей возрастом 2 месяца и весом 20 г. Каждая группа

животных включала 7 мышей. Животные контрольной группы содержались на стандартном рационе вивария. Мышам первой экспериментальной группы *reg os* вводили 8 мкл раствора преднизолона в концентрации 0,5 мг/кг. Эта доза преднизолона применяется в ветеринарии для подавления воспаления у мелких домашних животных [9].

Мышам второй экспериментальной группы *reg os* вводили 10 мкл раствора препарата ДАФС-25 в концентрации 800 мкг/кг в течение 14 дней. Суточная доза селена составляет 70–200 мкг [6]. Препарат ДАФС-25 растворяли в растительном масле. Молекулярная масса исследованного препарата ДАФС-25 равна 317, в которой атомная масса селена соответствует 79, что составляет 25% от общей молекулярной массы препарата. В эксперименте использовали ДАФС-25 в дозе 800 мкг/кг, поскольку она соответствует суточной дозе селена 200 мкг/кг, содержащегося в препарате ДАФС-25.

Все работы с лабораторными мышами проводили согласно принципам гуманного отношения к животным в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Правилами лаборатор-

ной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). После центрифугирования крови получали сыворотку крови, в которой определяли основные показатели углеводного обмена: концентрацию глюкозы, пирувата, активность ферментов аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаргатаминотрансферазы (АсАТ). Содержание пирувата в сыворотке крови определяли по методу Умбрайт [1]. Определение концентрации гликогена печени проводили по методу Хорейши [8]; после гидролиза гликогена печени концентрацию глюкозы определяли глюкозооксидазным методом на полуавтоматическом анализаторе «Hospitex screen master plus». Учитывая, что молекулярная масса свободной глюкозы 180, а глюкозы в составе гликогена – 162, для определения концентрации гликогена мы умножали полученный результат на коэффициент 0,9. Для проведения клинико-лабораторного исследования сыворотки крови опытных животных использовали полуавтоматический анализатор «Hospitex screen master plus» с использованием стандартных наборов реактивов фирмы «Диакон-ДС». Кроме того, в печени определяли активность фермента глюкоконеогенеза глюкозо-6-фосфатазы [10].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли на персональном компьютере при помощи программы Microsoft Office Excel. Большинство

данных не удовлетворяют закону нормального распределения случайной величины, поэтому для сравнения значений использовали T -критерий Манна–Уитни, на основании которого оценивали уровень доверительной вероятности $1 - \alpha$ (комплементарная ей величина α называется уровнем значимости). Критический уровень доверительной вероятности при проверке статистических гипотез принимали равным $1 - \alpha = 0,95$ (критический уровень значимости $\alpha = 0,05$) [5].

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные результаты демонстрируют стимулирующее действие гормонального препарата преднизолон и селеноорганического соединения ДАФС на показатели углеводного обмена экспериментальных животных. Активность одного из ключевых ферментов глюконеогенеза глюкозо-6-фосфатазы печени достоверно увеличивалась у мышей обеих экспериментальных групп: на 128,9% (преднизолон) и 60,7% (ДАФС) соответственно по сравнению с контролем (уровень доверительной вероятности $1 - \alpha > 0,95$) (см. таблицу).

Влияние препарата ДАФС и преднизолон на показатели углеводного обмена экспериментальных животных*

Показатели углеводного обмена	Контроль	Преднизолон	ДАФС
Глюкозо-6-фосфатаза, ед./л	11,2 (10,1; 12,0)	25,5 (23,7; 27,1) $T = 77$ $1 - \alpha > 0,95$	17,9 (16,4; 19,9) $T = 77$ $1 - \alpha > 0,95$
АлАТ, ед./л	112,8 (105,0; 117,0)	283,7 (273,0; 295) $T = 77$ $1 - \alpha > 0,95$	271,3 (285,0; 278,0) $T = 70$ $1 - \alpha > 0,95$
АсАТ, ед./л	174,7 (166,0; 179,0)	191,7 (178,0; 205,0) $T = 30$ $1 - \alpha < 0,95$	183,0 (173,0; 190,0) $T = 29$ $1 - \alpha < 0,95$
Гликоген печени, моль/л	3,6 (3,3; 3,8)	6,2 (5,9; 6,4) $T = 77$ $1 - \alpha > 0,95$	5,3 (5,0; 5,6) $T = 77$ $1 - \alpha > 0,95$
Глюкоза, ммоль/л	3,4 (3,4; 3,4)	6,8 (6,7; 6,9) $T = 77$ $1 - \alpha > 0,95$	4,8 (4,7; 4,8) $T = 70$ $1 - \alpha > 0,95$
Пируват, моль/л	10,8 (9,9; 11,8)	5,7 (5,7; 5,8) $T = 28$ $1 - \alpha > 0,95$	6,6 (6,3; 6,7) $T = 28$ $1 - \alpha > 0,95$

Примечание. *Приведены сначала медиана, затем в скобках нижний и верхний квартили. Обозначения: T – статистический критерий Манна–Уитни; $1 - \alpha$ – уровень доверительной вероятности (α – уровень значимости).

Активность АлАТ в сыворотке крови обеих экспериментальных групп также увеличивалась на 151,5% (преднизолон) и 140,5% (ДАФС) соответственно ($1 - \alpha > 0,95$).

Однако активность другой аминотрансферазы АсАТ оставалась неизменной по сравнению с контролем ($1 - \alpha < 0,95$). Известно, что любые состояния, требующие срочной мобилизации компонентов белка для покрытия энергетических нужд организма (недостаточное или несбалансированное питание, все

виды стресса и т.п.), связаны с адаптивным, гормонально-стимулируемым биосинтезом аланин- и аспаргатаминотрансфераз, участвующих в глюконеогенезе [4]. Активность АлАТ в клетках печени значительно выше активности АсАТ, поэтому в сыворотке крови мышей обеих экспериментальных групп активность АлАТ увеличивалась на фоне неизменной активности АсАТ.

Значительное увеличение активности АлАТ сопровождалось достоверным

снижением концентрации пирувата в сыворотке крови у обеих групп экспериментальных животных на 47,0% (преднизолон) и 39,4% (ДАФС) соответственно по сравнению с контролем ($1 - \alpha > 0,95$). Это явление можно объяснить усилением распада тканевых белков, обратимым трансаминированием пирувата до аланина при участии фермента АлАТ, включением пирувата/аланина в глюкозо-аланиновый цикл, а в дальнейшем и в процесс новообразования глюкозы в печени. Следует отметить, что концентрация глюкозы в сыворотке крови экспериментальных животных обеих групп увеличивалась на 101,0% (преднизолон) и 40,6% (ДАФС) соответственно по сравнению с контролем ($1 - \alpha > 0,95$).

Гормоноподобное действие препарата ДАФС-25 также подтверждалось увеличением содержания гликогена в печени у обеих экспериментальных групп мышей на 73,0% (преднизолон) и 48,6% (ДАФС) соответственно по сравнению с контролем ($1 - \alpha > 0,95$).

Заключение

Полученные нами данные демонстрируют усиление процессов глюконеогенеза и синтеза гликогена в печени у мышей, получавших гормональный препарат преднизолон и селеноорганический препарат ДАФС. При этом глюкокортикоидный препарат вызывал более выраженное усиление углеводного обмена, чем органическое соединение селена. Вероятно, диацетофенонилселенид в оптимизированной конформации способен взаимодействовать с рецепторами глюкокортикоидов и через них оказывать гормоноподобное действие на клетки экспериментальных животных.

Препарат ДАФС-25 может быть испытан и, возможно, в перспективе рекомендован в качестве лекарственного препарата, заменяющего глюкокортикоиды.

В настоящее время нами проводятся квантово-химические расчёты представленных в статье соединений, которые подтверждают структурно-функциональное соответствие рассматриваемых препаратов (неопубликованные данные).

Список литературы

1. Бабаскин Б.Н. Модифицированный метод Умбрайта определения пировиноградной кислоты // Лаб. дело. – 1976. – № 6. – С. 173.
2. Бердников А.И. Производственный опыт введения в рацион телят ДАФС-25 / А.И. Бердников // Международный вестник ветеринарии. – 2011. – № 1. – С. 35–37.
3. Березина О.В. Влияние режимов применения ДАФС-25 на репродуктивную функцию коров / О.В. Березина, Е.И. Трошин // Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии. – 2010. – Т. 24, № 3. – С. 63–64.
4. Браунштейн А.Е. Основные этапы изучения энзиматического переноса аминоруп // Ист. биол. иссл. – 1983. – С. 16–50.
5. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. Ю.А. Данилова; под ред. Н.Е. Бузикашвили, Д.В. Самойлова. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
6. Гоголева И.В., Громова О.А. Селен. Итоги и перспективы применения в педиатрии // Практика педиатра. – 2009. – С. 6–9.

7. Средство для лечения и профилактики инфекционных заболеваний и отравлений животных и птиц, повышающее их продуктивность и сохранность: патент РФ № 99111064/13, 27.07.2001 / Древо Б.И., Древо Р.И., Антипов В.А., Чернуха Б.А., Яковлев А.Н. – Патент России 2171110.1999. Бюл. № 21.

8. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике: справочник. – М.: Медицина, 1969. – 544 с.

9. Пульняшенко П.Р. Принципы рационального применения глюкокортикоидов в лечении мелких домашних животных: обзор литературы. – 2004. – 13 с.

10. Уварова Е. В. Течение гликогеновой болезни у детей в условиях комплексной терапии: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2005. – С. 57–58.

11. Fain J.N., Czech M.P. Glucocorticoid effects on lipid mobilization and adipose tissue metabolism. In: Blashko H., editor. Adrenal gland. Vol 6, sect 7, Endocrinology. Handbook of physiology. – Washington, DC: American Physiological Society, 1975. – P. 169–172.

12. Lecocq F.R., Mebane D., Madison L.L. The acute effect of hydrocortisone on hepatic glucose output and peripheral glucose utilization // J. Clin. Invest. – 1964. – Vol. 43. – P. 237–246.

13. Liu C.Y., Grant A.L., Kim K.H., Ji S.Q. et al. Limitations of ractopamine to affect adipose-tissue metabolism in swine // J. Anim. Sci. – 1994. – Vol. 72. – P. 62–67.

14. Mills S.E. Biological basis of the ractopamine response // J. Anim. Sci. – 2001. – Vol. 79. – Suppl. 1. – P. 238.

References

1. Babaskin B.N. Lab. delo – Lab. business, 1976, no. 6, p. 173.
2. Berdnikov A.I. Mejjdunarodniyvestnikveterinari – The international bulletin of veterinary science, 2011, no. 1, pp. 35–37.
3. Berezina O.V. VestnikIjevskoygosudarstvennoysselkhozoyaystvennoy akademii – The bulletin of the Izhevsk state agricultural academy, 2010, no.3, pp. 63–64.
4. Brownshtain A.E. Ist. biol. issl. – Historical-biological researches, 1983. pp. 16–50.
5. Glantz S. Mediko-biologicheskaja statistika [Primer of biostatistics]. Transfer from English Y.A. Danilov; under the editorship of N.E. Buzikashvili, D.V. Samoilov. Moscow, Practice, 1998. 459 p.
6. Gogoleva I.V., Gromova O.A. Praktikahediatra – Practice of the podiatrist, 2009, pp. 6–9.
7. The patent of the Russian Federation № 99111064/13, 27.07.2001. Drevko B.I., Drevko R.I., Antipov V.A., Chernuccha B.A., Yakovlev A.N. The Patent of Russia. no. 2171110.1999. Bulletin no. 21.
8. Pokrovskiy A.A. Biochimicheskiye metody issledovaniya v klinike [Biochemical methods of research in clinic (directory)]. Moscow, Medicine, 1969, pp. 230–231.
9. Pulnyashenko P.R. Principyracionalnogo primeneniya glukokortikoidov v lecheni imelkich domashnich jivotnich [Principles of rational application of glucocorticoids in treatment of small pets: the literature Review]. 2004, 13 p.
10. Uvarova E.V. Techeniye glikogenovoy bolezni u detey v usloviyakh kompleksnoy terapii [Current of glycogenosis at children in the conditions of complex therapy]. Moscow, 2005. pp. 57–58.
11. Fain J.N., Czech M.P. Glucocorticoid effects on lipid mobilization and adipose tissue metabolism. In: Blashko H., editor. Adrenal gland. Vol 6, sect 7, Endocrinology. Handbook of physiology. Washington, DC: American Physiological Society; 1975. pp. 169–172.
12. Lecocq F.R., Mebane D., Madison L.L. The acute effect of hydrocortisone on hepatic glucose output and peripheral glucose utilization // J. Clin. Invest. 1964. Vol. 43. pp. 237–246.
13. Liu C.Y., Grant A.L., Kim K.H., Ji S.Q. et al. Limitations of ractopamine to affect adipose-tissue metabolism in swine // J. Anim. Sci. 1994. Vol. 72. pp. 62–67.
14. Mills S.E. Biological basis of the ractopamine response // J. Anim. Sci. 2001. Vol. 79. Suppl. 1. pp. 238.

Рецензенты:

Горошинская И.А., д.б.н., профессор, руководитель биохимической лаборатории, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт», г. Ростов-на Дону;

Гильмиярова Ф.Н., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет Министрства здравоохранения РФ», г. Самара.

Работа поступила в редакцию 26.02.2013.