

BIOLOGICAL SCIENCES

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА У КРЫС И ЛЕГОЧНЫХ ПРЭСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Балаева-Тихомирова О.М.,
канд. биол. наук, доц., заведующая каф. химии
Кацнельсон Е.И.,
преподаватель каф. химии
Цапко Г.В.,
магистрант каф. химии
Володько А.С.,
магистрант каф. химии
Шелег Н.Н.,
студентка 4 курса
Закирова Ю.Э.
студентка 4 курса

Витебский государственный университет имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь

ESTIMATION OF INDICATORS OF CELLULAR METABOLISM IN RATS AND PULMONARY FRESHWATER MUSLUS IN THE EXPERIMENT

Balaeva-Tikhomirova O.,
Cand. biol. Sciences, Assoc., Head of the department of chemistry
Katsnelson E.
teacher of the department of chemistry
Tsapko G.,
undergraduate of the department of chemistry
Volodko A.
undergraduate of the department of chemistry
Sheleg N.,
4 year student
Zakirova Yu.
4 year student

Vitebsk State University named after P.M. Masherov, Vitebsk, Republic of Belarus

АННОТАЦИЯ

Объектами исследования являлись крысы линии Вистар и легочные моллюски – прудовик обыкновенный и катушка роговая. На исследуемых организмах проводился модельный эксперимент, по результатам которого у крыс и моллюсков определялись показатели обмена веществ: в печени крыс и гепатопанкреасе моллюсков – общий белок, ДНК, РНК, гликоген; в сыворотке крови крыс и гемолимфе моллюсков – мочевиная кислота, общий белок, мочевина, общий холестерол, холестерол липопротеинов высокой плотности, триацилглицеролы, глюкоза.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о возможности замены позвоночных лабораторных животных на более простых в использовании и содержании легочных пресноводных моллюсков. Сходный обмен веществ моллюсков и позвоночных животных позволит их в дальнейшем использовать в модельном эксперименте и мониторинге окружающей среды.

ABSTRACT

The objects of study were Wistar rats and pulmonary mollusks – the common pond and horn coil. A model experiment was conducted on the studied organisms, according to the results of which metabolism indicators were determined in rats and mollusks: in rat liver and mollusk hepatopancreas, total protein, DNA, RNA, glycogen; in rat blood serum and mollusk hemolymph - uric acid, total protein, urea, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, triacylglycerols, glucose.

The results allow us to conclude that it is possible to replace vertebrate laboratory animals with simpler to use and maintain pulmonary freshwater mollusks. A similar metabolism of mollusks and vertebrates will allow them to be further used in a model experiment and environmental monitoring.

Ключевые слова: липидный обмен, углеводный обмен, белковый обмен, легочные пресноводные моллюски, крысы.

Keywords: lipid metabolism, carbohydrate metabolism, protein metabolism, pulmonary freshwater mollusks, rats.

Негативные воздействия факторов окружающей среды вызывают у живых организмов стресс-реакцию. При кратковременном действии стресса умеренной интенсивности происходит усиление функционирования и мобилизация организма. При интенсивной или длительной стресс-реакции в клетках происходит активация свободно-радикального окисления, угнетение энергопродукции, снижение синтеза белка и его денатурация [1]. Для влияния различных факторов среды на жизнеспособность организма определяют показатели углеводного, азотного и липидного обменов и изучают скорость мобилизации и утилизации энергетических субстратов, при воздействии различных факторов [2, 3].

Использование модельных организмов основано на том, что все живые организмы имеют общее происхождение и сохраняют общие характеристики в механизмах хранения и реализации наследственной информации, метаболизме. Лабораторные исследования на позвоночных животных являются одним из важнейших видов научных исследований [4].

В последние десятилетия активно осуществляется поиск альтернативных кроликам, крысам, мышам живых организмов, что соответствует мировым тенденциям трансформации научных исследований на простых живых системах, обладающих близким метаболизмом с высшими животными. Часто используют два вида легочных пресноводных моллюсков *Lymnaea stagnalis* (прудовик обыкновенный) и *Planorbis corneus* (катушка роговая) [5, 6]. Первый из них признан модельным организмом для исследования действия водорастворимых химических агентов в ЕЭС в 2010 году [7].

Цель исследования – сравнить основные показатели обмена углеводов, белков и липидов у крыс и легочных моллюсков в эксперименте.

Материал и методы. Объектами исследования являлись крысы линии Вистар и легочные моллюски – прудовик обыкновенный и катушка роговая. На данных объектах проводился модельный эксперимент, по результатам которого у крыс и моллюсков определялись показатели обмена веществ: в печени крыс и гепатопанкреасе моллюсков – общий белок, ДНК, РНК, гликоген; в сыворотке крови крыс и гемолимфе моллюсков – мочевая кислота, общий белок, мочевины, общий холестерин (ОХС), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), триацилглицеролы (ТГ), глюкоза. Устанавливалось корректирующее действие экстракта куколок дубового шелкопряда (ЭКДШ) при развитии инсулинорезистентности, ГХ и гипергликемии. Определение показателей в гемолимфе проводили с использованием наборов реагентов НТПК «Анализ Х» (глюкоза, общий белок, мочевая кислота, мочевины, ТГ, ОХС, ХС ЛПВП) [8]. **Определение концентрации белка проводили по методу Лоури [9].** Содержание ДНК и РНК устанавливали по методу Blober и Potter [10]. Гликоген определяли методом Krisman [11]. Математическую обработку полученных результатов проводили

методами параметрической и непараметрической статистики с использованием пакетов статистических программ Microsoft Excel 2012, STATISTICA 6.0.

Ранее на кафедре химии ВГУ имени П.М. Машерова проводились исследования гемолимфы куколок дубового шелкопряда и полученного из нее экстракта [12]. Установлено, что гемолимфа куколок дубового шелкопряда формируется в процессе запрограммированной гибели клеток и в период диапаузы накапливает антиоксидантный потенциал за счет увеличения количества мочевой кислоты, свободных аминокислот. Эндогенная антиоксидантная система гемолимфы содержит витамины С, А, Е, мочевую кислоту, аминокислоты, глутатион, биофлавоноиды. Антиоксидантная активность экстракта проявляется в разведениях $1:10^4$ - $1:10^5$. Поэтому в модельных экспериментах в качестве фактора, снижающего негативное воздействие на обмен веществ, исследуемых объектов использовался ЭКДШ [13]. Стандартизацию флаконов с экстрактом проводили по сумме свободных аминокислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в лаборатории Института органической химии. Содержание суммы свободных аминокислот колебалось в пределах 550-850 мг/л.

Характеристика моделей:

1. Для моделирования инсулинорезистентности (ИР) в эксперименте были выбраны крысы-самки (157) линии Вистар массой 180-250г. Инсулинорезистентность воспроизводили содержанием животных на высокожировой диете (ВЖД) по Либери-Де Карли в течение 2-х и 3-х месяцев [14]. Для создания высокожировой диеты к базовой диете производства Ssniff Special diaten GmbH (Soest, Германия) добавляли кукурузное масло в количестве 40г на 1кг диеты, согласно оригинальной прописи авторов [15]. Потребление пищи животными ежедневно регистрировалось.

Крысы были разделены на пять групп: 1 группа – контроль (n=10); 2 группа – ВЖД 2 месяца (n=10); 3 группа – ВЖД 3 месяца (n=10); 4 группа – ВЖД 3 месяца + ЭКДШ ежедневно в течение последнего месяца ВЖД в дозе 7 мг свободных аминокислот/100 г массы тела (n=9); 5 группа – ВЖД 3 месяца + ЭКДШ ежедневно в течение последнего месяца ВЖД в дозе 70 мг свободных аминокислот/100 г массы тела (n=10). Водный ЭКДШ получали по методу Трокоза [16]. Выбор доз основан на опыте использования жидкого содержимого ЭКДШ в ветеринарии согласно патенту Трокоза. Контрольной группе вводили эквивалентное количество дистиллированной воды. Декапитация животных проводилась через 24 часа после последнего введения препаратов.

2. Моделирование алиментарной гиперхолестеринемии (ГХ) проводили внутрижелудочным введением через зонд холестерина в дозе 40 мг/кг и эргокальциферола 350000 Ед/кг в подсолнечном масле [17-18]. Животные были разделены на 7 групп: 1 группа – контроль (n=10); 2 группа – алиментарная ГХ 5 суток (n=13); 3 группа – алиментарная ГХ 5 суток + ЭКДШ 7 мг свободных аминокислот/100 г массы тела 5 суток (n=8); 4 группа – алиментарная ГХ 5 суток + ЭКДШ 70 мг свободных аминокислот/100

г массы тела 5 суток (n=8); 5 группа – алиментарная ГХ 10 суток (n=7); 6 группа – алиментарная ГХ 10 суток с параллельным введением с 6-х по 10 сутки эксперимента ЭКДШ 7 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела (n=6); 7 группа – алиментарная ГХ 10 суток с параллельным введением с 6-х по 10 сутки эксперимента ЭКДШ 70 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела (n=6). Контрольным животным вводили эквивалентное количество дистиллированной воды.

3. Мониторинг состояния водных экосистем был проведен на 216 легочных пресноводных моллюсках, разделенных на две группы: 108 особей *Lymnaea stagnalis* и 108 особей *Planorbis cornutus*. Моллюски собирались весной (апрель-май), летом (июль) и осенью (сентябрь-октябрь) из водоемов четырех районов Витебской области (Ви-

тебский, Дубровенский, Ушачский и Шумилинский районы). В каждой исследовательской подгруппе содержалось по 9 моллюсков.

Результаты и их обсуждение. Воспроизведение инсулинорезистентности по Либеру-Де Карли является одной из наиболее распространенных экспериментальных моделей для воспроизведения ИР и неалкогольного стеатогепатита. Данная модель патогенетически близка аналогичной патологии у человека. Установлены особенности метаболизма глюкозы в печени крыс при моделировании ИР, которыми являются снижение утилизации глюкозы, активация гликогенолиза и глюконеогенеза в сочетании с ингибированием гликолиза. Нарушения обмена глюкозы в печени сопряжены с усилением гипергликемии и гиперлипидемии, а также с биохимическими проявлениями стеатогепатоза.

Таблица 1

Содержание гликогена в печени и глюкозы в сыворотке крови крыс при моделировании ИР и применении ЭКДШ ($M \pm m$)

Группа животных	Показатель	
	Глюкоза ммоль/л	Гликоген мг/г
Контроль	5,41±0,12	12,9±0,34
ВЖД 2 месяца	6,29±0,09 ¹	0,64±0,05 ¹
ВЖД 3 месяца	6,81±0,14 ¹	0,87±0,08 ¹
ВЖД 3 месяца + ЭКДШ 7 мкг/100 г	5,99±0,18 ^{1,3}	2,17 ±0,14 ^{1,2,3}
ВЖД 3 месяца + ЭКДШ 70 мкг/100 г	6,72±0,47 ¹	1,73 ±0,38 ¹

Примечание: ¹P<0,05 по сравнению с контрольной группой; ²P<0,05 по сравнению с группой ВЖД 2 месяца; ³P<0,05 по сравнению с группой ВЖД 3 месяца.

При введении ЭКДШ в дозе 7 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела в течение последнего месяца диеты отмечено снижение концентрации глюкозы в крови по сравнению с уровнем глюкозы у животных, получавших ВЖД 3 месяца. При этой же дозе экстракта выявлено увеличение содержания гликогена в печени, которое оставалось сниженным по сравнению с контрольной группой, но статистически значимо увеличилось по сравнению с содержанием гликогена в печени крыс, которым ЭКДШ не вводился. При введении экстракта в дозе 70 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела аналогичного эффекта не наблюдалось (таблица 1).

Усиление синтеза ТГ в печени является компенсаторным механизмом, препятствующим накоплению свободных жирных кислот, высвобождающихся при липолизе из жировой ткани. Увеличение содержания липидов в печени может быть обусловлено избыточным поступлением их с пищей, нарушением окисления жирных кислот и изменением экспорта ТГ из печени в составе липопротеинов очень низкой

плотности. Для оценки синтеза и метаболизма транспортных форм липидов в печени было изучено содержание липидов в сыворотке крови.

Как следует из данных таблицы 2, в сыворотке крови крыс, питавшихся ВЖД, отмечено увеличение уровня ТГ по сравнению с контролем, что обусловлено усилением их синтеза и выведением из печени в составе липопротеинов очень низкой плотности. Нарушения метаболизма этого класса липопротеинов связано с изменением активности липопротеинлипазы и печеночной триацилглицероллипазы, регулируемой инсулином. При инсулинорезистентности снижается тормозящее действие инсулина на высвобождение липопротеинов очень низкой плотности в печени, вследствие чего нарушается баланс между липопротеинами очень низкой плотности, поступающими из кишечника и высвобождающимися из печени. Выявлен позитивный эффект при введении ЭКДШ в обеих применяемых дозах: концентрация ТГ была выше, чем в контроле, но статистически значимо уменьшилась по сравнению с уровнем ТГ в сыворотке крови крыс, находившихся на ВЖД в течение 3-х месяцев.

Таблица 2

Показатели липидного обмена в сыворотке крови крыс при моделировании ИР и применении ЭКДШ ($M \pm m$)

Группа животных	Показатель		
	ОХС, ммоль/л	ХС ЛПВП, ммоль/л	ТГ, ммоль/л
Контроль	2,31±0,18	0,82±0,03	0,92±0,05
ВЖД 2 месяца	1,98±0,09	0,63±0,04 ¹	0,98±0,04 ¹
ВЖД 3 месяца	3,28±0,12 ¹	0,59±0,03 ¹	1,27±0,08 ¹
ВЖД 3 месяца + ЭКДШ 7 мкг/100г	1,52±0,11 ^{1,2}	0,78±0,02 ²	1,08±0,09 ^{1,2}
ВЖД 3 месяца + ЭКДШ 70 мкг/100г	1,27±0,08 ^{1,2}	0,65±0,02	1,11±0,07 ^{1,2}

Примечание: ¹P<0,05 по сравнению с контрольной группой; ²P<0,05 по сравнению с группой ВЖД 3 месяца.

В крови крыс, питавшихся ВЖД 3 месяца, выявлена гиперхолестеролемиа, которая, связана с нарушением рецепторного захвата липопротеинов печенью и периферическими тканями при развитии ИР. При применении экстракта в обеих дозах отмечено статистически значимое снижение уровня ОХС в крови. ВЖД вызывала снижение уровня ХС ЛПВП, что предотвращалось введением ЭКДШ в обеих дозах.

Изменение синтеза липопротеинов может быть обусловлено снижением белоксинтезирующей функции печени при моделировании ИР, что доказывается результатами изучения содержания белка

в печени. Исследование содержания белка в печени крыс выявило статистически значимое снижение данного показателя у животных, находящихся на ВЖД в течение 3-х месяцев (таблица 3), и увеличение содержания РНК через 2 и 3 месяца ВЖД. Применение ЭКДШ в дозе 7 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела повысило содержание белка как в контроле и нормализовало содержание РНК, а при использовании ЭКДШ в дозе 70 мкг/100 г массы тела отмечены тенденции к нормализации содержания белка в печени и отсутствие эффекта на содержание РНК, что связано с содержанием в ЭКДШ свободных аминокислот.

Таблица 3

Содержание общего белка, ДНК и РНК в печени крыс при моделировании ИР и применении ЭКДШ ($M \pm m$)

Группа животных	Показатель		
	Общий белок, мг/г	ДНК, мг/г	РНК, мг/г
Контроль	247±12,6	3,15±0,18	8,14±0,28
ВЖД 2 месяца	230±10,6	2,97±0,08	9,40±0,52 ¹
ВЖД 3 месяца	217±10,4 ¹	3,00±0,20	10,2±0,47 ¹
ВЖД 3 месяца + ЭКДШ 7 мкг/100 г	263±8,1 ²	3,08±0,17	8,37±0,63 ²
ВЖД 3 месяца + ЭКДШ 70 мкг/100 г	222±9,8 ³	3,42±0,20	9,71±0,30 ¹

Примечание: ¹P<0,05 по сравнению с контрольной группой; ²P<0,05 по сравнению с группой ВЖД 2 месяца; ³P<0,05 по сравнению с группой ВЖД 3 месяца.

ВЖД в течение 3-х месяцев вызывает уменьшение содержания мочевины в сыворотке крови (таблица 4). Аналогичные изменения отмечены и у животных, получавших большую дозу препарата. Полученные результаты могут быть следствием снижения скорости катаболизма белков. Нормализация содержания мочевины в сыворотке крови при

введении ЭКДШ в малой дозе до значений контрольных животных может быть обусловлена стимуляцией образования мочевины за счет содержания в составе экстракта аминокислот, участвующих в синтезе мочевины.

Таблица 4

Показатели белкового обмена в сыворотке крови крыс при моделировании инсулинорезистентности и применении ЭКДШ ($M \pm m$)

Группа животных	Показатель		
	Общий белок, г/л	Мочевина, ммоль/л	Мочевая к-та, мкмоль/л
Контроль	64,5±10,96	5,66±0,68	104,0±17,3
ВЖД 2 месяца	67,2±5,56	5,52±0,55	104,4±21,5
ВЖД 3 месяца	70,1±12,84	4,90±0,51 ¹	110,3±14,6
ВЖД 3 месяца + ЭКДШ 7 мкг/100 г	68,1±4,99	5,46±0,44 ²	102,1±21,0
ВЖД 3 месяца + ЭКДШ 70 мкг/100 г	74,6±19,81	4,72±0,76 ¹	101,4±21,6

Примечание: 1. МК – мочевая кислота. ²P<0,05 по сравнению с контрольной группой; ²P<0,05 по сравнению с группой ВЖД 3 месяца.

Не обнаружено отличий в содержании мочевой кислоты во всех экспериментальных группах, которая является одним из конечных продуктов метаболизма нуклеиновых кислот. Однако для того, чтобы сделать вывод о влиянии ЭКДШ на регенеративные процессы в печени, необходимо так же исследовать содержание нуклеиновых кислот в печени. В эксперименте на крысах была воспроизведена алиментарная ГХ. Высокое содержание холестерина в пище приводит к увеличению массы тела, развитию ИР и гиперлипидемии у человека и животных. Используемые в настоящее время методы

коррекции нарушений липидного обмена направлены на повышение чувствительности тканей к действию инсулина, ингибирование синтеза ХС и нормализацию функции печени. Одной из перспективных субстанций для коррекции метаболизма является ЭКДШ.

При моделировании алиментарной ГХ в течение 5 и 10 суток обнаружено статистически значимое увеличение содержания глюкозы в сыворотке крови соответственно на 12,5% и 24,4%, (таблица 5).

Таблица 5
Содержание глюкозы в сыворотке крови, гликогена в печени при моделировании алиментарной ГХ и применении ЭКДШ ($M \pm m$)

Группа животных	Показатель	
	Глюкоза ммоль/л	Гликоген мг/г
Контроль	5,28±0,17	13,6±0,79
ХС 5 суток	5,94±0,20 ¹	0,75±0,11 ¹
ХС 5 суток + ЭКДШ 7 мкг/100	5,88±0,16 ¹	1,32±0,22 ^{1,2}
ХС 5 суток + ЭКДШ 70 мкг/100	6,04±0,07 ¹	2,47±0,31 ^{1,2}
ХС 10 суток	6,81±0,30 ¹	1,16±0,29 ¹
ХС 10 суток + ЭКДШ 7 мкг/100	5,71±0,19 ^{3,4}	1,37±0,06 ^{1,3}
ХС 10 суток + ЭКДШ 70 мкг/100	5,81±0,19 ^{3,4}	2,32±0,20 ^{1,3}

Примечание: ¹P<0,05 по сравнению с контролем, ²P<0,05 по сравнению с группой ХС 5 суток, ³P<0,05 по сравнению с группой ХС 10 суток, ⁴P=0,05–0,1 по сравнению с контролем.

Гипергликемия может быть результатом нарушения захвата печенью глюкозы или повышением поступления глюкозы в кровь из печени вследствие активации гликогенолиза или глюконеогенеза. Как следует из таблицы 5, в печени крыс, получавших ХС, выявлено уменьшение содержания гликогена в 18,1 раза через 5 суток и в 11,7 раза через 10 суток эксперимента. Снижение уровня гликогена обусловлено нарушением процесса его синтеза.

ЭКДШ в обеих дозах не предотвращал повышение уровня глюкозы в сыворотке крови крыс, получавших холестерол в течение 5 суток. При длительности введения холестерола 10 суток уровень глюкозы снижался по сравнению с контролем и имел тенденцию к нормализации по сравнению с контролем. Содержание гликогена в печени хотя оставалось

ниже, чем у интактных животных, увеличивалось по отношению к контролю у крыс, получавших обе дозы препарата.

Увеличение содержания ХС в печени сопровождалось изменением липидного профиля сыворотки крови. Как следует из данных таблицы 6, при алиментарной ГХ в течение 5 суток выявлены статистически значимое увеличение содержания ОХС в сыворотке крови на 23% и ТГ на 36% и снижение уровня ХС ЛПВП на 29,2% по сравнению с контрольными животными. Более длительное воспроизведение алиментарной ГХ характеризовалось аналогичными изменениями, которые были выражены в большей степени: уровень общего ХС увеличился на 56,5%, ТГ – на 174,2%, уровень ХС ЛПВП уменьшился на 25,8%.

Таблица 6
Показатели липидного обмена в сыворотке крови крыс при моделировании алиментарной ГХ и применении ЭКДШ ($M \pm m$)

Группа животных	Показатель		
	ОХС ммоль/л	ХС ЛПВП ммоль/л	ТГ ммоль/л
Контроль	1,54±0,13	0,39±0,01	1,36±0,15
ХС 5 суток	1,90±0,08 ¹	0,33±0,02 ¹	1,85±0,16 ¹
ХС 5 суток + ЭКДШ 7 мкг/100	1,43±0,11 ²	0,33±0,02 ¹	1,14±0,18 ²
ХС 5 суток + ЭКДШ 70 мкг/100	1,52±0,10 ²	0,32±0,02 ¹	1,15±0,24 ²
ХС 10 суток	2,41±0,24 ¹	0,31±0,03 ¹	3,73±0,33 ¹
ХС 10 суток + ЭКДШ 7 мкг/100	1,77±0,07 ³	0,81±0,03 ^{1,3}	2,59±0,37 ^{1,3}
ХС 10 суток + ЭКДШ 70 мкг/100	1,35±0,13 ³	0,38±0,02 ³	1,93±0,32 ³

Примечание – ¹P<0,05 по сравнению с контролем; ²P<0,05 по сравнению с группой ХС 5 суток; ³P<0,05 по сравнению с группой ХС 10 суток.

Полученные результаты могут быть следствием увеличения экспорта ХС из печени, уменьшением скорости метаболизма липопротеинов в кровеносном русле и снижением синтеза липопротеинов в печени. ЭКДШ в обеих дозах предотвращал увеличение уровня общего ХС и ТГ в сыворотке крови при воспроизведении алиментарной ГХ в течение 5 суток. При воспроизведении алиментарной ГХ в течение 10 суток экстракт в обеих дозах нормализовал уровень общего ХС в сыворотке крови до значений контрольных животных; в дозе 70 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела – нормализовал уровень ХС ЛПВП и ТГ; в дозе 7 мкг свободных аминокислот/100 г массы тела – повысил уровень ХС ЛПВП и снизил уровень ТГ.

Антропогенная нагрузка оказывает неблагоприятное воздействие на процесс функционирования водных экосистем. Пресноводные моллюски являются важнейшей составляющей водных биоценозов и применяются для оценки загрязнения окружающей среды. Большая численность и широкая распространенность, легкость сбора и идентификации, короткий жизненный цикл позволяют использовать легочных пресноводных моллюсков в практике пассивного и активного биомониторинга.

Прудовики и катушки были отобраны из четырех водоемов Витебской области. Для сравнения клеточного метаболизма крыс и моллюсков были определены те же показатели обмена углеводов, белков и липидов, как и в двух экспериментальных

моделях на крысах. Моллюски из Витебского района отобраны из реки Витьбы, все остальные из озер, которые относятся к водоемам со стоячим типом водообеспечения, поэтому в качестве группы сравнения выбраны моллюски из реки Витьба.

Изменения концентрации глюкозы в гемолимфе сопряжены с изменением содержания гликогена в гепатопанкреасе моллюсков, так у *Planorbarius corneus* обитающих в Шумилинском районе отмечено повышенное содержание глюкозы в гемолимфе и уменьшение концентрации гликогена (таблица 7).

Таблица 7
Содержание глюкозы в гемолимфе и гликогена в гепатопанкреасе *Pl. corneus* и *L. stagnalis* в зависимости от места обитания ($M \pm m$)

Район сбора моллюсков (n=9)	Показатель	
	Глюкоза, (ммоль/л)	Гликоген, (мг/г)
<i>Planorbarius corneus</i>		
Витебский р-н	0,73±0,045	24,05±0,208
Дубровенский р-н	0,67±0,069	24,52±0,327
Ушачский р-н	0,58±0,055	24,86±0,158
Шумилинский р-н	1,15±0,086 ¹	21,15±0,109 ¹
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
Витебский р-н	0,41±0,037	27,42±0,612
Дубровенский р-н	0,36±0,026	28,15±0,481
Ушачский р-н	0,37±0,012	28,27±0,544
Шумилинский р-н	0,54±0,045 ¹	27,01±0,358

Примечание – ¹P<0,05 по сравнению с моллюсками из реки Витьба Витебский р-н

Статистически значимые отличия получены у особей из Шумилинского района по сравнению с Витебским, так содержание глюкозы увеличивается в 1,6 раза у *Planorbarius corneus*, а у *Lymnaea stagnalis* в 1,3 раза, что может свидетельствовать о более интенсивном распаде гликогена у *Planorbarius corneus*, т.к. содержание гликогена снижается в гепатопанкреасе в 1,2 раза, а у *Lymnaea stagnalis* – о малом использовании глюкозы тканями, т.к. концентрация гликогена не снижается.

Из таблицы 8 следует, что наибольшее содержание общего белка в гепатопанкреасе отмечено у моллюсков, обитающих в р. Витьба Витебского района. По сравнению с Витебским районом снижено содержание общего белка в Дубровенском районе в 1,8 раза у *Planorbarius corneus*, и в 1,4 раза *Lymnaea stagnalis*, а в Шумилинском районе у *Planorbarius corneus* и у *Lymnaea stagnalis* в 1,2 раза и в 1,6 раза соответственно.

Таблица 8
Содержание общего белка, ДНК и РНК в гепатопанкреасе *Pl. corneus* и *L. stagnalis* в зависимости от места обитания ($M \pm m$)

Район сбора моллюсков (n=9)	Показатель		
	Общий белок (мг/г)	ДНК (мг/г)	РНК (мг/г)
<i>Planorbarius corneus</i>			
Витебский р-н	256±8,2	1,83±0,10	5,46±0,35
Дубровенский р-н	139±8,6 ¹	2,00±0,07	6,12±0,15
Ушачский р-н	211±9,7	2,94±0,19 ¹	7,02±0,42 ¹
Шумилинский р-н	205±7,5 ¹	2,73±0,29 ¹	6,79±0,58 ¹
<i>Lymnaea stagnalis</i>			
Витебский р-н	323±21,7	2,49±0,03	5,74±0,24
Дубровенский р-н	228±7,8 ¹	1,43±0,03 ¹	6,77±0,25 ¹
Ушачский р-н	169±9,2 ¹	1,93±0,03 ¹	7,28±0,44 ¹
Шумилинский р-н	203±4,3 ¹	2,44±0,08	7,46±0,28 ¹

Примечание – ¹P<0,05 по сравнению с моллюсками из реки Витьба Витебский р-н

У *Planorbarius corneus* по сравнению с особями из Витебского района повышено содержание ДНК и РНК в Ушачском районе в 1,6 и 1,3 раза соответственно, а в Шумилинском в 1,5 и 1,2 раза соответственно. У *Lymnaea stagnalis* отмечено повышение концентрации РНК при снижении содержания ДНК, так в Ушачском районе ДНК уменьшается в 1,3 раза, РНК увеличивается в 1,3 раза; в Дубровенском районе ДНК уменьшается в 1,7 раза, РНК увеличивается в 1,2 раза по сравнению с Витебским районом (таблица 8).

У *Planorbarius corneus* статистически значимых отличий в содержании общего белка, мочевины и мочевой кислоты не отмечено (таблица 9). У *Lymnaea stagnalis* концентрация мочевины в Дубровенском увеличивается в 1,4 раза, и в 1,2 раза в Шумилинском районах по сравнению с Витебским районом. Концентрация мочевины в гемолимфе зависит от активности моллюсков и рациона их питания.

Показатели белкового обмена в гемолимфе *Pl. corneus* и *L. stagnalis* в зависимости от места обитания ($M \pm m$)

Район сбора моллюсков (n=9)	Показатель		
	Общий белок (г/л)	Мочевина (ммоль/л)	Мочевая к-та (мкмоль/л)
<i>Planorbarius corneus</i>			
Витебский р-н	33,31±0,46	6,02±0,06	92,14±2,02
Дубровенский р-н	31,24±0,65	6,34±0,06	82,46±2,16 ¹
Ушачский р-н	35,14±0,60	6,40±0,11	96,36±2,36
Шумилинский р-н	36,35±1,62	6,43±0,10	89,06±2,00
<i>Lymnaea stagnalis</i>			
Витебский р-н	15,87±0,25	6,05±0,03	25,46±0,64
Дубровенский р-н	14,14±0,17	6,55±0,05 ¹	35,31±0,49 ¹
Ушачский р-н	14,35±0,19	6,45±0,11 ¹	28,75±0,57
Шумилинский р-н	14,93±0,24	6,65±0,18 ¹	30,36±0,76 ¹

Примечание – ¹P<0,05 по сравнению с моллюсками из реки Витьба Витебский р-н

Отмечено, что у *Lymnaea stagnalis* содержание ОХС, ХС ЛПВП и ТГ наименьшее в Витебском районе (таблица 10). По сравнению с моллюсками из реки Витьба, содержание показателей повышено в 1,2, 1,5 и 1,4 раза в Дубровенском районе, и в 1,3, 1,3 и 1,2 раза в Ушачском районе соответственно. У *Planorbarius corneus* изменения показателей имели

другие закономерности, так в Дубровенском районе понижается содержание ОХС в 1,2 раза, ХС ЛПВП в 2,1 раза, а ТГ увеличивается в 1,7 раза, а в Ушачском районе увеличивается содержание ОХС в 1,2 раза, ТГ в 1,2 раза, ХС ЛПВП уменьшается в 1,7 раза по сравнению с Витебским районом.

Таблица 10

Показатели липидного обмена в гемолимфе *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* в зависимости от места обитания ($M \pm m$)

Район сбора моллюсков (n=9)	Сезон года		
	ОХС, ммоль/л	ХС ЛПВП, ммоль/л	ТГ, ммоль/л
<i>Lymnaea stagnalis</i>			
Витебский р-н	0,418±0,020	0,056±0,013	0,298±0,008
Дубровенский р-н	0,504±0,018 ¹	0,086±0,008 ¹	0,404±0,006 ¹
Ушачский р-н	0,560±0,015 ¹	0,070±0,008 ¹	0,354±0,008 ¹
Шумилинский р-н	0,494±0,011	0,065±0,009	0,347±0,008 ¹
<i>Planorbarius corneus</i>			
Витебский р-н	0,316±0,022	0,119±0,006	0,192±0,008
Дубровенский р-н	0,281±0,012 ¹	0,058±0,003 ¹	0,324±0,006 ¹
Ушачский р-н	0,368±0,014 ¹	0,072±0,007 ¹	0,232±0,011 ¹
Шумилинский р-н	0,328±0,011	0,073±0,006 ¹	0,226±0,011

Примечание – ¹P<0,05 по сравнению с моллюсками из реки Витьба Витебский р-н

Заключение. При моделировании ИР и применении ЭКДШ установлено, что содержание крыс на ВЖД приводит к развитию инсулинорезистентности, степень выраженности которой зависит от продолжительности диеты. В этой модели обнаружен антиоксидантный эффект ЭКДШ, характеризующийся нормализацией метаболизма в тканях животных. При алиментарной ГХ выявлены метаболические нарушения, характерные для ИР. ЭКДШ проявляет в этих условиях антиоксидантное и гипогликемическое действия.

При исследовании моллюсков, обитающих в разных водоемах, выявлено, что показатели клеточного метаболизма сходны по своим значениям с показателями у крыс. Данные результаты позволяют делать вывод о возможности использования и замены позвоночных лабораторных животных на более простых в использовании и содержании легочных моллюсков. Сходный обмен веществ моллюсков и позвоночных животных позволить их

использовать в модельном эксперименте и мониторинге окружающей среды.

Литература

1. Yilmaz, O. Method reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione concentration in animal tissue / O. Yilmaz // J. Animal Vet. Adv. – 2009. – Vol. 8. – P. 343–347
2. Димитриев, А.Д. Биохимия: Учебное пособие / А.Д. Димитриев, Е.Д. Амбросьева. – М.: Дашков и К. – 2013. – 168 с.
3. Попова, Л.Д. Функциональная биохимия печени / Л.Д. Попова, В.В. Давыдов, В. И. Жуков [и др.]. – Харьков. – 2009. – 115 с.
4. Чадаев, В.Е. Модельные объекты в медицине и ветеринарии / В.Е. Чадаев // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3, Т. 2(95). – С. 140–145.
5. Шевцова, С.Н. Влияние сульфата меди на рост, выживаемость и уровень экспрессии металлопротеинов у пресноводного моллюска *Lymnaea*

- stagnalis / С.Н. Шевцова, А.С. Бабенко, С.Е. Дромашко // Труды БГУ. – 2011. – Том 6, Ч. 1. – С. 152-162.
6. Дромашко, С.Е. Биотестирование – составной элемент оценки состояния окружающей среды: учебно-методическое пособие / С.Е. Дромашко, С.Н. Шевцова. – Минск: ИПНК, 2012 – 82 с.
7. Detailed review paper (DRP) on molluscs life-cycle toxicity testing Environment Directorate // Series on Testing and Assessment. – Paris: OECD Environment, Health and Safety Publications. – №. 121. – 2010. – 182 p.
8. Чиркин, А.А. Липидный обмен / А.А. Чиркин [и др.] // Медицинская литература. – М., 2003. – 122с.
9. Lowry, O.H Protein measurement with Folin phenol reagent / O.H Lowry // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265-275.
10. Blober, G. Distribution of radioactivity between the acid-soluble pool and pools of RNA in the nuclear, nonsedimentable and ribosome fractions of rat liver after a single injection of labeled orotic acid / G. Blober, V.R. Potter // Biochem. Biophys. Acta – 1968. – Vol. 166. – P. 48-54.
11. Krisman, C.R. A method for the colometric estimation of glycogen with iodine / C.R. Krisman // Anal/ Biochem. – 1962. – Vol. 4. – P. 17-23.
12. Толкачева Т.А. Гистологиз: теория и практика: монография / Т.А. Толкачева. – Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2015. - 136с.
13. Балаева-Тихомирова О.М. Гормонально-метаболические взаимосвязи при развитии синдрома инсулинорезистентности. Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2013 – 176 с.
14. Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк [и др.]. – Киев: Виша школа, 1983. – 381 с.
15. Model of nonalcoholic steatohepatitis / Lieber C.S., Leo M.A., Mak K.M., Xu Y., Cao Q., Ren C., Ponomarenko A. // Am. J. Clin. Nutr. – 2004. – Vol. 79. – P. 502-509.
16. Трокоз, В.А. Способ получения лечебного экстракта / В.А Трокоз [и др.]; Авторское свидетельство СССР, № 178439 А1; патент Украины 1696. – 1997.
17. Radiation-induced thyroid carcinogenesis as a function of time and dietary iodine supply: an in vivo model of tumorigenesis in the rat / C. Boltze [et al.] // Endocrinology. – 2002. – Vol. 143, № 7. – P. 2584-2592.
18. Jowsufzal, S.Y. 3-Hydroxy-3-Metylgutaric Acid and Experimental Atherosclerosis in Rats / S.Y. Jowsufzal, M. Siddigi // Experientia. – 1976. – Vol. 8. – P. 1033-1034.