

Введение Ионы тяжелых металлов играют существенную роль во многих физиологических процессах. В следовых количествах, некоторые из металлов необходимы для обмена веществ, роста и развития организма. Однако их избыток приводит к повреждению клеток, в частности, катионы тяжёлых металлов, реагируя с различными функциональными группами белков, инициируют нарушение их структурной организации [1]. Основным механизмом токсического действия тяжёлых металлов на клетки является процесс образования свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК) путем прямого переноса электрона с участием катионов металлов или опосредованного ингибирования метаболических реакций. Следует подчеркнуть, что реактивные формы кислорода непрерывно производится на определённом уровне при нормальных процессах в организме. Увеличение синтеза АФК является одной из начальных реакций на различные стрессовые факторы в биологических системах, которые являются причиной многих патологий [2]. Антиоксиданты непосредственно или косвенно защищают клетки от токсичных радикальных реакций [2-3]. Одним из фармакологических препаратов, которые способны ограничивать активность процессов свободнорадикального окисления является пирацетам (2-оксо-1-пирролидинацетамид). Согласно «мембранной гипотезе» [4], механизм действия пирацетама неспецифичен в отношении клеток или органов и является не столько биохимическим, сколько «механическим». Молекулы препарата связываются с полярными головками фосфолипидов мембраны, в результате чего повышается подвижность липидов относительно друг друга и, как следствие, эластичность мембраны клетки. При этом препарат воздействует на мембрану лишь в том случае, если ее эластичность нарушена (например, в результате старения), и не влияет на мембраны с нормальной эластичностью [4]. Целью данной работы стало исследование влияния антиоксидантных соединений на патологические процессы в клетке, инициируемые действием тяжёлых металлов. Экспериментальная часть В качестве объекта исследования влияния химических веществ выбрана инфузория *Paramecium caudatum*, которая обладает морфологическими признаками клетки и реагирует на внешнюю среду подобно многоклеточным организмам. Клетки *Paramecium caudatum* инкубировали до 30 суток при температуре 21 ± 1 °C. Эффекты антиоксидантных соединений - мексидола и двух структурных форм пирацетама - изучали в конечных концентрациях 1, 10, 25, мкМ, 50 мкМ и 1 мМ. При оценке выживаемости контролем являлись интактные клетки инфузорий. В опытах к 1 мл среды с парамециями добавляли 1 мл антиоксиданта и 1 мл токсиканта. Для регистрации числа инфузорий использовали счётную камеру Горяева. В данной работе исследовалось цитотоксичность хлорида кадмия, ацетата свинца и сульфата меди. *Paramecium caudatum* обладают высокой чувствительностью к действию токсикантов, т. к. способны реагировать на металлы при их

концентрации в диапазоне от 0,1 до 0,0001 мг/мл. Одним из механизмов токсического действия металлов является изменение внутриклеточных условий из-за нарушения проницаемости мембраны. Ионы Cd, Pb и Cu вызвали набухание органелл цитоплазмы, влекущее за собой разрыв мембраны клетки *Paramecium caudatum*. Гибель клеток отмечалась через 10-20 минут после внесения в среду соли тяжёлого металла. Предварительное внесение в среду антиоксидантного соединения способствовало выживаемости клеток (рис.1-2, 4). Рис. 1 - Динамика роста культуры *Paramecium caudatum* при внесении в среду ацетата свинца и пирацетама Рис. 2 - Динамика роста культуры *Paramecium caudatum* при внесении в среду сульфата меди и пирацетама Ранее нами установлено, что диацетат свинца и хлорид кадмия в водном растворе выступают в роли катализаторов структурных перестроек нейротропного препарата - пирацетама [5]. При растворении в присутствии солей тяжелых металлов структура препарата подвергается изменениям с образованием промежуточных продуктов, которые значительно влияют на функциональные свойства лекарственного соединения. В исследованиях адаптивных реакций крыс в ответ на воздействие тяжёлых металлов стресс-протекторный эффект пирацетама был неоднозначным из-за различия в фармакологическом действии полиморфных форм пирацетама кристаллического и аморфизированного. Структурно-модифицированная форма препарата аналогичная структурной форме пирацетама, обнаруженной в растворе в результате каталитического действия солей кадмия и свинца, оказала негативное влияние на выработку адаптивных реакций [5-7]. В данной работе растворы лекарственной формы пирацетама (АКРИХИН, Россия) и аморфизированного пирацетама способствовали нормальному функционированию клеток культуры *Paramecium caudatum* (рис.3). Аморфизированный пирацетам по сравнению с кристаллической фармацевтической формой препарата оказал больший положительный эффект на рост численности инфузорий. Это объясняется тем, что эта структурно - модифицированная форма пирацетама обладает хорошей растворимостью и высокой биодоступностью. Обе формы пирацетама защитили клетки от токсического действия ацетата свинца и сульфата меди (рис. 1-2). Выживаемость клеток *Paramecium caudatum* к 20-ым суткам составила более 50%. При воздействии хлорида кадмия на инфузории протекторный эффект пирацетама не установлен. Рис. 3 - Влияние пирацетама на динамику роста культуры *Paramecium caudatum* ПИР эт - раствор лекарственной формы пирацетама; ПИР ам - раствор структурно-модифицированного пирацетама; контроль физ. раствор Для сравнения в опыте использовался мексидол (2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат) - широко применяемый в медицинской практике синтетический антиоксидант. Мексидол помогает сохранению структурно-функциональной организации биомембран. Механизм действия мексидола определяется прежде всего, его антиоксидантным действием:

способностью ингибировать перекисное окисление липидов биомембран и усиливать активность антиоксидантных ферментов [8-9] и мембранопротекторными эффектами: уменьшение вязкости мембраны и увеличение ее текучести, повышение соотношения липид-белок [10].

Добавление мексидола (рис. 4) в среду с *Paramecium caudatum* на протяжении 30 суток положительно влияло на численность клеток. Значительный рост культуры клеток относительно контроля ($p < 0,05$) был зарегистрирован на 15-20 сутки. Рис. 4 - Динамика роста культуры *Paramecium caudatum* при внесении в среду солей тяжёлых металлов и мексидола. Кроме того, мексидол способствовал защите клеток инфузорий от токсического воздействия ацетата свинца до 10 суток, хлорида кадмия до 15 суток и сульфата меди до 30 суток. Таким образом, в хроническом эксперименте установлено, что два антиоксидантных соединения - пирацетам и мексидол защищали клетки инфузорий от развития окислительного стресса, вызываемого солями тяжёлых металлов. В пробах с антиоксидантом и солью тяжёлого металла отсутствовали особи с патологически изменённой формой клетки - характерной для токсического воздействия металла «вакуолизацией» клеточных мембран. Внесение в среду с парамециями антиоксидантов со специфическим мембрано - протекторным действием оказалось достаточным для предотвращения окисления мембранных липидов, вызывающего гибель клетки. Заключение

Высокая чувствительность к химическим соединениям инфузории *Paramecium caudatum* позволяет дать предварительную оценку токсичности ксенобиотиков, вызывающих окислительный стресс, и эффективности антиоксидантных соединений. Антиоксиданты с мембранопротекторными эффектами значительно уменьшают токсическое действие ионов Cd, Pb и Cu, тем самым способствуя адаптации одноклеточного организма к окислительному повреждению мембран и органелл, инициируемого воздействием тяжёлых металлов.