

Влияние эмоксипина и полидисульфида галловой кислоты на процессы перекисного окисления липидов в мозге крыс при черепно-мозговой травме

В опытах на экспериментальных животных показана активация процессов перекисного окисления липидов в мозге крыс при черепно-мозговой травме. Предварительное введение животным синтезированного водорастворимого антиоксиданта полидисульфида галловой кислоты приводит к снижению уровня продуктов перекисного окисления липидов в мозге при его травматическом повреждении. Антиоксидантная активность данного препарата изучалась в сравнении с эмоксипином.

Ключевые слова: процессы перекисного окисления липидов, антиоксидантная система, антиоксиданты, черепно-мозговая травма, эмоксипин, полидисульфид галловой кислоты.

Факт активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при различных церебральных патологиях сейчас не вызывает сомнений. Активация ПОЛ описана при ишемии, гипоксии, травме, инсульте, опухолях мозга, болезнях Альцгеймера, Паркинсона и др. [6, 9,12].

Антиоксиданты приобрели важное значение в медицине в связи с их способностью ингибировать процессы перекисного окисления липидов, стабилизировать мембраны клеток и тем самым создавать оптимальные условия для гомеостаза клеток и тканей при самых разнообразных воздействиях патогенных факторов на организм.

Эффективными ингибиторами процессов ПОЛ являются производные фенола. Наиболее широкое применение в биологии и медицине нашли одноатомные производные фенола (аналоги токоферолов, флавоноидов) [2]. Гораздо менее изучены производные двух- и трехатомных фенолов, которые могут взаимодействовать с радикалами любой природы [9].

Целью нашего исследования явилось: изучение влияния производного трехатомных фенолов полидисульфида галловой кислоты (ПГК) на процессы ПОЛ при черепно-мозговой травме (ЧМТ) у крыс.

ПГК обладает высокой антиоксидантной активностью на моделях *in vitro*. Это сульфид, полученный на основе галловой кислоты и впервые нами изучаемый. Галловая кислота входит в состав дубильных веществ, поэтому ПГК – это природный водорастворимый антиоксидант. Его антиоксидантную активность сравнивали с известным водорастворимым антиоксидантом эмоксипином. Эмоксипин-антиоксидант биогенного типа, аналог витамина В6 и относится к производным оксипиридинов. В настоящее время эмоксипин широко используется в медицине, в том числе и при патологиях ЦНС [8].

Материал и методы

В эксперименте использовали нелинейных белых крыс-самцов, массой 180-250 г. Животные были разделены на следующие группы (по 10-15 штук в каждой):

1-я группа-контрольная, в которой крысы подвергались только воздействию наркоза. Для наркоза применяли тиопентал натрия в дозе 60 мг\кг веса.

2-я группа-крысы, которым за 1 час до ЧМТ внутрибрюшинно вводили эмоксипин в дозе 25 мг/кг массы тела;

3-я группа-крысы, которым за 1 час до ЧМТ эмоксипин в указанной выше дозе вводили внутривенно;

4-я группа-крысы, которым за 1 час до ЧМТ внутрибрюшинно вводили полидисульфид галловой кислоты в дозе 25 мг/кг массы тела;

5-я группа-крысы, которым ПГК вводили внутривенно в указанной дозе за 1 час до ЧМТ;

6-я группа-крысы, которым за 1 час до ЧМТ внутрибрюшинно вводили 0,9% раствор NaCl в объеме равном объему растворителя для исследуемых веществ;

7-я группа-крысы, которым за 1 час до ЧМТ 0,9% раствор NaCl вводили внутривенно.

ЧМТ моделировали путем нанесения удара свободно-падающим грузом (0,45-50 Дж) по конвекситальной поверхности черепа крыс, находившихся под наркозом и зафиксированных с помощью специального устройства [12].

Через 2 часа после ЧМТ крыс декапитировали, извлекали головной мозг и готовили общий гомогенат мозга (ОГМ) на трис-HCl-буфере (pH 7,4) в соотношении 1:10 (ткань: буфер). В ОГМ крыс определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) [4], содержание диеновых конъюгатов (ДК) [6], концентрацию НЭЖК [11]. Уровень флюоресцирующих продуктов ПОЛ (ФП ПОЛ) оценивали по методу [10] и выражали в относительных единицах (Jфл о.е.) в пересчете на 1 мг белка. Экспериментальные данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Экспериментальные данные представлены в таблице 1 и таблице 2.

Результаты исследования влияния внутрибрюшинного введения полидисульфида галловой кислоты и эмоксипина на уровень продуктов ПОЛ в ОГМ крыс представлены в табл. 1.

Спустя 2 часа после ЧМТ концентрация МДА в ОГМ крыс по отношению к контрольной группе животных возрастает на 34,5%, содержание ДК – в 2,2 раза, а уровень ФППОЛ увеличивается в 3,4 раза. Таким образом, спустя 2 часа после травмы все исследуемые показатели значительно возрастают. Эти результаты опыта показывают, что одной из реакций мозга на его травматическое повреждение является усиление активности ПОЛ и образование продуктов ПОЛ. Как известно, высокотоксичные перекисные продукты оказывают разрушающее действие на биомембраны, изменяя их физико-химические и структурные свойства, повышают секрецию биологических веществ, изменяется сосудистая проницаемость, что приводит к отеку тканей. Активация ПОЛ и накопление перекисных продуктов происходит в мозге на фоне недостаточности антиоксидантной системы, что может рассматриваться одним из звеньев патогенеза ЧМТ [4, 5]. Поэтому для коррекции этих процессов в мозге при его травматическом повреждении актуально применение антиоксидантов.

Предварительное внутрибрюшинное введение антиоксиданта эмоксипина в дозе 25 мг/кг веса за 1 час до ЧМТ снижает концентрацию МДА в ОГМ на 36% и уменьшает уровень ФППОЛ на 59,4%. Содержание ДК и НЭЖК при этом увеличивается на 25% и 12%, соответственно.

Предварительное за 1 час до ЧМТ внутрибрюшинное введение ПГК в дозе 25 мг/кг веса снижает содержание МДА в ОГМ крыс на 34,8%, концентрацию ДК – на 65,4%, уровень НЭЖК – на 38%.

Внутривенное введение за 1 час до ЧМТ ПГК в дозе 25 мг/кг веса снижает содержание, как видно из табл.2, всех исследуемых показателей: концентрацию МДА на 19,7%, содержание ДК – на 18%, а уровень ФППОЛ – на 32,7%, НЭЖК – на 50%.

После внутривенного введения за 1 час до ЧМТ крысам эмоксипина в дозе 25 мг/кг веса содержание МДА уменьшается на 20%, уровень НЭЖК-на 33,7%, однако, концентрация ДК и ФППОЛ увеличивается в 2,1 раза и 2,3 раза, соответственно.

Таблица 1

Влияние внутрибрюшинного введения полидисульфида галловой кислоты и эмоксипина на показатели ПОЛ в ОГМ крыс с черепно-мозговой травмой

№ п\п	Исследованная группа	Статистические показатели	МДА нмольхмг белкахмин.	ДК нмольхмг белка	ФП ПОЛ О.е.хмг белка	НЭЖК мкмольхмг ткани	ОБ мгхг ткани
1	Контрольная группа	M + m	31,20 1,70	2,60 0,3	2,05 0,35	0,66 0,09	90,80 2,80
2	0,9% раствор хлорида натрия + ЧМТ	M + m P _{1,2}	42,0 2,71 <0,001	5,60 0,39 <0,001	6,63 0,67 <0,001	0,66 0,11 >0,5	71,60 5,02 <0,01
3	Эмоксипин + ЧМТ	M+ m P _{1,2} P _{1,3}	26,90 2,21 <0,05 <0,001	7,00 0,26 <0,01 <0,05	3,10 0,81 >0,5 <0,01	0,75 0,57 >0,5 >0,5	89,20 1,70 >0,5 <0,01
4	ПГК + ЧМТ	M + m P _{1,4} P _{2,4} P _{3,4}	25,90 2,40 >0,5 <0,01 >0,5	3,02 0,3 >0,5 >0,5 <0,05	12,53 2,45 <0,001 <0,001 <0,001	0,38 0,03 <0,05 <0,05 <0,01	115,0 14,16 >0,5 <0,05 <0,05

Таблица 2

Влияние внутривенного введения полидисульфида галловой кислоты и эмоксипина на показатели ПОЛ в ОГМ крыс с черепно-мозговой травмой

№ п\п	Исследованная группа	Статистические показатели	МДА нмольхмг белкахмин.	ДК нмольхмг белка	ФП ПОЛ О.е.хмг белка	НЭЖК мкмольхмг ткани	ОБ мгхг ткани
1	Контрольная группа	M + m	30,20 1,80	2,60 0,61	2,05 0,35	0,66 0,07	90,95 2,75
2	0,9%раствор хлорида натрия + ЧМТ	M + m P _{1,2}	41,97 2,71 <0,01	3,68 0,22 <0,05	6,63 0,67 <0,001	0,66 0,11 >0,5	71,60 5,02 <0,01
3	Эмоксипин + ЧМТ	M+ m P _{1,3} P _{1,4}	33,59 1,99 >0,5 <0,05	7,59 1,36 <0,01 <0,05	14,92 3,18 <0,01 <0,05	0,434 0,079 <0,25 >0,1	87,20 1,82 >0,5 <0,01
4	ПГК + ЧМТ	M + m P _{1,4} P _{2,4} P _{3,4}	33,70 7,82 >0,5 >0,5 >0,5	3,02 0,3 >0,5 >0,5 <0,05	4,46 1,25 <0,05 >0,5 <0,001	0,33 0,06 <0,05 <0,05 >0,5	90,40 2,59 >0,5 <0,001 >0,5

Таким образом, предварительное введение животным изучаемых соединений ПГК и эмоксипина в указанной дозе при ЧМТ приводит к снижению уровня продуктов ПОЛ в мозге крыс, что указывает на наличие у данных препаратов антиоксидантного эффекта. Эффективность исследуемых препаратов от способа введения (внутрибрюшинное, внутривенное) изменяется незначительно.

Анализ экспериментальных данных показывает, что предварительное введение эмоксипина при ЧМТ снижает в основном концентрацию промежуточных и конечных продуктов ПОЛ, а предварительное введение ПГК – концентрацию первичных и промежуточных продуктов ПОЛ. Это обусловлено, вероятно, отличием в механизме действия препаратов. Химическая активность фенолов связана с одной стороны с гидроксильными группами, с другой – с ароматическим кольцом. По мере увеличения числа гидроксильных групп фенольные соединения легче окисляются и сильнее тормозят цепное окисление. [2]. Высокая биологическая активность производного трехатомных фенолов ПГК связана с тем, что помимо гидроксильных групп, участвующих в ингибировании ПОЛ, в молекуле имеется дисульфидный мостик, который вызывает безрадикальный распад гидроперекисей и перекисей до неактивных соединений – спиртов и эфиров [7]. Антиоксидантные свойства эмоксипина обусловлены наличием гидроксила в структуре азотистого цикла. По данным работ Л. Д. Смирнова и соавторов производные 3-оксипиридинов, представителем которых и является эмоксипин, проявляют низкую активность по отношению к супероксидным радикалам [8].

В последние годы спектр природных и синтетических антиоксидантных веществ, обладающих на моделях *in vitro* высокой антиоксидантной активностью значительно расширяется [1, 2, 3, 7]. Действие этих препаратов на моделях *in vivo* может во многом определяться именно этим механизмом. Однако в терапии патологий ЦНС используются немногие. Результаты полученные на моделях *in vitro*, часто не совпадают с результатами опытов *in vivo*. Это, возможно, обусловлено наличием гематоэнцефалического барьера в ЦНС.

Анализируя наши данные, можно отметить, что применение водорастворимых антиоксидантов ПГК и эмоксипина в данном эксперименте при лечении ЧМТ эффективно, причем по антиоксидантной активности ПГК по некоторым исследуемым показателям превосходит эмоксипин.

Выводы:

1. В опытах показано, что ЧМТ сопровождается активацией процессов ПОЛ в мозге крыс и снижением антиоксидантной защиты.
2. Предварительное внутрибрюшинное и внутривенное введение синтезированного водорастворимого антиоксиданта ПГК и эмоксипина в дозе 25 мг\кг веса снижает уровень продуктов ПОЛ в мозге лабораторных животных при ЧМТ.
3. По антиоксидантной активности ПГК в данном эксперименте не уступает эмоксипину.

Литература

1. В.В. Абрамченко. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве. – Санкт-Петербург, 2001г., 400с.
2. В.А. Барабой. Биологические свойства растительных фенольных соединений. – Киев, Наукова думка, 1976, 260 с.
3. Е.Б. Бурлакова, Н.Г. Храпова. Перекисное окисление мембран и природные антиоксиданты. – Успехи химии, 1985, т.54, №9, с.1540-1558.

4. Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука,-1972, 252с.
5. И.В. Картовенко, П.П. Голиков, Б.В. Давыдов, А.А. Андреев. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой. – Пат. Физиология и экспериментальная терапия, 2004 г, №1, с.8-10.
6. В.А. Костюк, А.И. Потапович, Е.Ф. Лунец. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов. – Вопросы медицинской химии, 1984, №4, с125-127.
7. Ю.Н. Лосев, В.М. Нестерович, Я.М. Бабушкин. Стабилизаторы полиалифинов с внутримолекулярным синергизмом.-Международный симпозиум по макромолекулярной химии «МАКРО-83», Бухарест-Румыния, 1983, с.38-45.
8. Л.Д. Смирнов, Н.И. Золотов, В.И. Кузьмин, К.М. Дюмаев. Мембранопротекторные свойства синтетических атиоксидантов из класса 3-оксипиридина. «Биологические мембраны: структура и функции». – Советско-Швейцарский симпозиум. – Рига.-1988-Москва. – 1988, с.126.
9. О.И. Шадыро, Г.Н. Шилов, В.А. Тимощук, А.С. Федулов, Н.И. Мезен. Биоантиоксидантная активность 3,5 – ди-третбутилпирокатехина и его влияние на гипоксию, воспалительный процесс, болевой синдром и ожоги.-Вопросы медицинской химии, 1997, т. 43, вып.3, с.153-157.
10. С.J. Dillard, A.L. Tappel. Fluorescent demage products of peroxidation. – Methods in enzymology, 1984, v.105, p.337-341.
11. K. Falholf, B. Lund, W.Falholf. An easy calorimetric micromethod for routine determination of free fatty acids in plasma.-Clin.Chem. Acta, 1974, v.46, N2, p.105-114.
12. J.W. Lighthall. Experimental models of brain injury.-J.Neurotrauma, 1989, v.6, N2, p.83-97