

УДК 618.19:617

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АНТИОКСИДАНТОВ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Бизенкова М.Н., Романцов М.Г., Чеснокова Н.П.

*Саратовский государственный медицинский университет, Саратов
Научно-технологическая фармацевтическая фирма «Полисан»,
Санкт-Петербург*

Изучены метаболические изменения и эффекты антиоксидантов, возникающие в условиях гипоксической гипоксии. В работе исследованы процессы липопероксидации и состояние ферментного звена антиоксидантной системы головного мозга. Проведена сравнительная оценка состояния процессов свободно-радикального окисления при различных условиях. Показано депотенцирующее действие оксипутирата натрия и цитофлавина.

Гипоксия - типовой патологический процесс, осложняющий течение различных заболеваний инфекционной и неинфекционной природы. Несмотря на различие иницирующих механизмов развития гипоксии при тех или иных формах патологии, приводящих к расстройствам системной гемодинамики, регионарного кровотока, микроциркуляции, изменениям качественного и количественного состава крови, активности ферментов тканевого дыхания, результирующим метаболическим сдвигом при гипоксии является недостаточность окислительно-восстановительных процессов и энергообеспечения тканей (5,6).

Как известно, характерными особенностями гипоксического синдрома являются избыточное накопление промежуточных продуктов гликолиза, липолиза, протеолиза, развитие метаболического ацидоза с последующими вторичными неспецифическими метаболическими и функциональными сдвигами, усугубляющими течение основного заболевания (6). Под влиянием избытка ионов H^+ в условиях гипоксии возникает повышение проницаемости лизосомальных мембран и соответственно развитие деструктивных процессов в тканях под влиянием лизосомальных гидролаз. Последние иницируют образование эйкозаноидов и простаноидов, в процессе взаимного превращения которых возникают свободные радикалы (2).

Причиной избыточного образования свободных радикалов при гипоксии являются блокада конечного звена дыхательной цепи в митохондриях, утечка электронов по пути следования к цитохромоксидазе, что приводит к одноэлектронному восстановлению кислорода с образованием его активных форм. Как известно, в условиях гипоксии усиливается трансформация ксантиндегидрогеназы в ксантинооксидазу, иницирующей образование супероксидного анион-

радикала (2,6). В то же время активация симпатoadренальной системы, формирующаяся при гипоксии различного генеза также сопровождается усилением образования активных форм кислорода при аутоокислении адреналина (4,6).

В последние годы высказывается точка зрения, что высоко активные радикалы, такие как NO, супероксид и продукт их реакции – пероксинитрит играют важную роль в патогенезе различных заболеваний, являясь медиаторами воспаления, модифицируя белки и повреждая нуклеиновые кислоты (1,3). Мутагенный эффект избыточных концентраций пероксинитрита при хронических формах инфекционного воспалительного процесса может инициировать развитие канцерогенеза (Маеда Х., Акаике Т., 1998). И, наконец, в условиях ишемии, на фоне антигенной стимуляции макро- и микрофагами, неизменно включается лейкоцитарный механизм активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Глоба А.Г., Демидова В.С., Темяков В.Г., 1991), (5,6).

Вышеизложенное указывает на то, что эффективным звеном системных функциональных и метаболических расстройств при гипоксиях различного генеза является активация свободно-радикального окисления, в частности, липопероксидация. В связи с этим очевидна значимость экспериментальных исследований, направленных на изучение метаболических эффектов различных видов антиоксидантов, антигипоксантов, мембранопротекторов в условиях острой гипоксии.

Целью настоящего исследования являлась сравнительная оценка действия цитофлавина и оксипутирата натрия на состояние процессов липопероксидации и активности антиоксидантной системы в тканях коры головного мозга в условиях острой гипоксической гипоксии.

Материалы и методы. Эксперименты выполнялись на 60 белых беспородных мышах, самцах массой 16 – 18 г. Гипоксическую гипоксию моделировали согласно методике, предложенной научно-технологической фармацевтической фирмой «Полисан», Санкт-Петербург в 2000г. Об активности процессов липопероксидации судили по уровню малонового диальдегида (МДА) и гидроперекисей липидов (ГПЛ) в тканях коры головного мозга, определяемых общепринятыми спектрофотометрическими методами исследования (Супланов С.Н., Баркова Э.Н., 1985г, Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И., 1983г.). О состоянии ферментного звена антиоксидантной системы головного мозга судили по активности каталазы гомогената мозга (Copen S., Denbuc D., Marses S., 1970).

Проведена сравнительная оценка состояния процессов свободно-радикального окисления в четырех сериях экспериментов:

1) на фоне развития гипоксической гипоксии без медикаментозной коррекции;

2) в группе животных с экспериментальной гипоксией, развивающейся на фоне предварительного внутривенного введения физиологического раствора (контроль);

3) в группе животных с экспериментальной гипоксией, развивающейся на фоне предварительного внутривенного введения антиоксиданта оксибутирата натрия (500мг/кг);

4) в группе животных с гипоксической гипоксией на фоне предварительного внутривенного введения цитофлавина (1.2мл/кг). Метаболические эффекты цитофлавина и оксибутирата натрия проводили спустя 30 мин. с момента развития острой гипоксической гипоксии, также как и оценка состояния расстройств метаболизма в экспериментах на животных с острой гипоксической гипоксией без медикаментозной коррекции.

Результаты и их обсуждение. Результаты проведенных исследований позволяют установить, что в условиях экспериментальной острой гипоксической гипоксии продолжительность жизни животных составляет около 32 мин. (рис. 1).

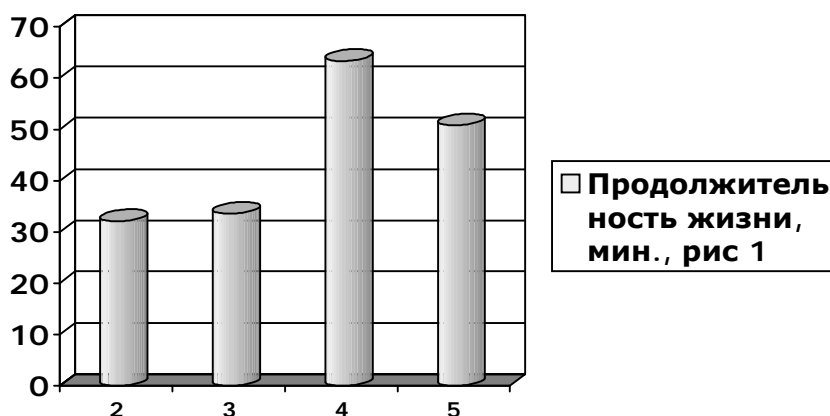


Рисунок 1. Продолжительность жизни животных (мин) в условиях гипоксической гипоксии: 2 – интактные животные, 3 – при введении физиологического раствора, 4 – при введении оксибутирата натрия, 5 – при введении цитофлавина.

Примечание: в рис. приведены статистически достоверные данные P- в тексте.

Острая гипоксическая гипоксия сопровождалась нарастанием ГПЛ (рис. 2) и МДА (рис.3) в тканях коры головного мозга экспериментальных животных и снижением активности каталазы (рис.4).

В сравнительной серии экспериментов с предварительным введением плацебо (физиологический раствор) и последующим развитием гипоксической гипоксии выявлено достоверное снижение продолжительности жизни животных, как и в группе сравнения животных с гипоксической гипоксией без введения физиологического раствора (рис. 1). Одновременно имело место возрастание уровня ГПЛ ($p < 0.001$) и МДА ($p <$

0.02) в тканях коры головного мозга по сравнению с таковыми показателями в группе животных с гипоксической гипоксией без введения физиологического раствора (рис. 2 и 3 соответственно). Активность каталазы ($p < 0.001$) оставалась низкой, как и в группе животных с гипоксической гипоксией без введения физиологического раствора (рис.4).

Таким образом, введение физиологического раствора без фармакологических препаратов не привносило сколько-нибудь существенных изменений в интенсивность ПОЛ и состояние активности каталазы гомогената мозга.

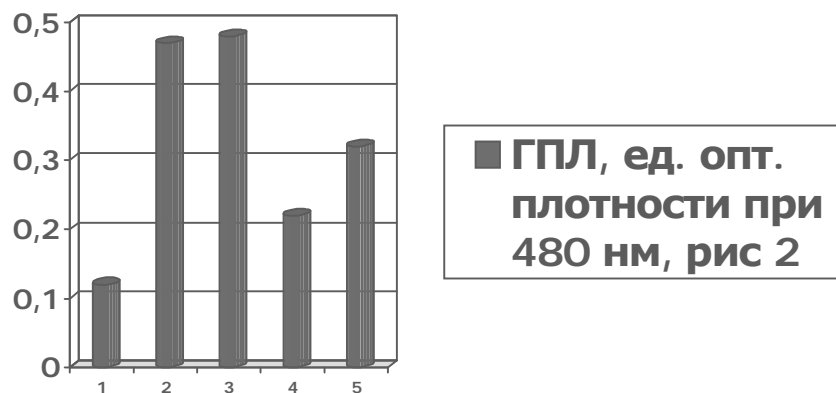


Рисунок 2. Значение величины гидроперекиси липидов (ГПЛ) 1 - у интактных животных, 2 - при гипоксической гипоксии, 3 – в условиях гипоксической гипоксии при введении физиологического раствора, 4 – в условиях гипоксической гипоксии при введении оксибутирата натрия, 5 – в условиях гипоксической гипоксии при введении цитофлавина.

Примечание: в рис. приведены статистически достоверные данные P- в тексте.

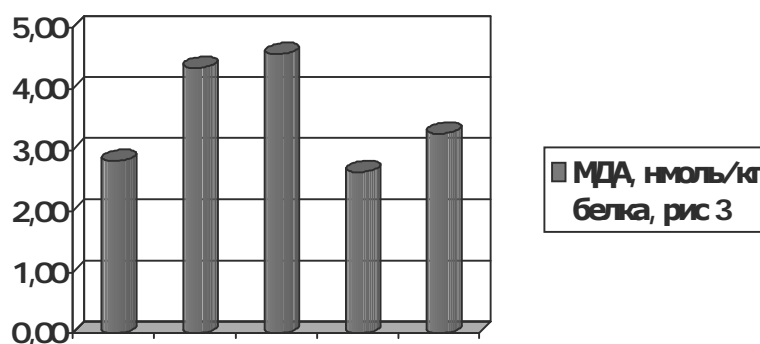


Рисунок 3. Содержание малонового диальдегида (МДА) 1 - у интактных животных, 2 - при гипоксической гипоксии, 3 – в условиях гипоксической гипоксии при введении физиологического раствора, 4 – в условиях гипоксической гипоксии при введении оксибутирата натрия, 5 – в условиях гипоксической гипоксии при введении цитофлавина.

Примечание: в рис. приведены статистически достоверные данные P- в тексте.

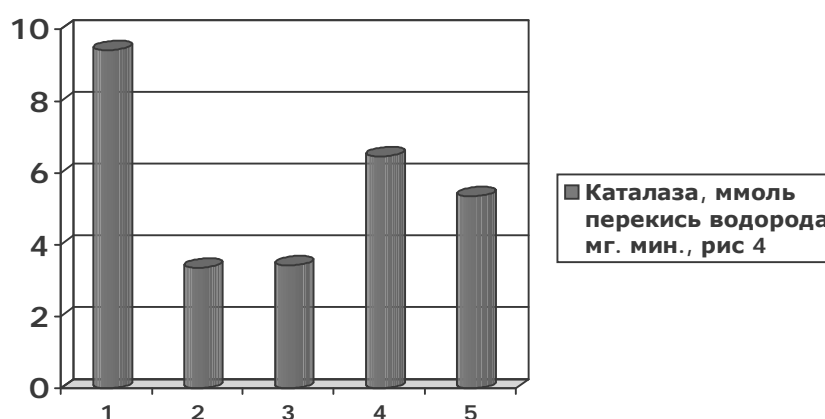


Рисунок 4. Значение активности каталазы 1 - у интактных животных, 2 - в условиях гипоксической гипоксии, 3 – в условиях гипоксической гипоксии при введении физиологического раствора, 4 – в условиях гипоксической гипоксии при введении оксибутирата натрия, 5 – в условиях гипоксической гипоксии при введении цитофлавина.

Примечание: в рис. приведены статистически достоверные данные P- в тексте.

Целью последующих экспериментов являлось исследование возможности фармакологической коррекции метаболических сдвигов в тканях мозга в условиях гипоксической гипоксии на фоне предварительного введения антиоксидантов оксипутирата натрия и цитофлавина. Причем экспериментальные исследования проводились, как и в группе животных без медикаментозной коррекции, спустя 30 мин. с момента развития гипоксической гипоксии.

Оксипутират натрия - препарат, обладающий противосудорожной активностью, улучшающий микроциркуляцию, предотвращающий невротические расстройства и вегетативные реакции на стрессовые воздействия, повышает устойчивость организма к гипоксии.

Как показали проведенные исследования, в условиях предварительного введения оксипутирата натрия и последующего развития гипоксии отмечалось резкое увеличение продолжительности жизни животных ($p < 0.001$, рис.1). При этом содержание ГПЛ ($p < 0.001$, рис. 2) и МДА ($p < 0.02$, рис. 3) в тканях мозга было значительно ниже, чем в группе животных с гипоксической гипоксией без медикаментозной коррекции. В то же время, введение оксипутирата натрия приводило к частичной реактивации ключевого фермента антиоксидантной системы: активность каталазы ($p < 0.001$) возрастала по сравнению с соответствующим показателем группы животных с гипоксической гипоксией без медикаментозной коррекции, не достигая, однако, показателя группы интактных животных (рис. 4).

В последующих сериях экспериментов изучены метаболические эффекты другого антиоксиданта - цитофлавина.

Цитофлавин новый метаболический препарат, предложенный научно-технологической фармацевтической фирмой «Полисан», Санкт-Петербург, 2000 г, обладает свойствами антиоксиданта. Активными компонентами цитофлавина являются: янтарная кислота, никотинамид, рибоксин, рибофлавин мононуклеотид. Вспомогательные вещества: N-метилглукзамин, натрия гидроокись. Основа: вода для инъекций. Янтарная кислота представляет собой универсальный внутриклеточный метаболит, участвующий в обменных реакциях организма и обладающий рядом биологических эффектов таких как:

- антигипоксическим действием за счет влияния на транспорт медиаторных аминокислот и увеличения содержания в мозге ГАМК,
- противоишемическим эффектом, обусловленным не только активацией сукцинатдегидрогеназного окисления, но и восстановлением цитохромоксидазы,

- интенсификация диффузии кислорода в различные ткани и органы, стимуляцией клеточного дыхания, усилением утилизации кислорода, тканями на фоне восстановления НАД - зависимого клеточного дыхания

- ингибированием процессов перекисного окисления липидов.

Никотинамид улучшает углеводный обмен и оказывает сосудорасширяющее действие, являясь простетической группой ферментов – кодегидрогеназы I (НАД) и кодегидрогеназы II (НАДФ).

Рибоксин – производное пурина, рассматривается как предшественник АТФ. Стимулирует обменные процессы в миокарде, улучшая коронарное кровообращение, повышает энергетический баланс миокарда.

Рибофлавин мононуклеотид - входит в состав ферментов, регулирующих окислительно-восстановительные процессы, участвуя в процессах белкового и жирового обмена.

Как оказалось, метаболические эффекты цитофлавина в условиях гипоксической гипоксии были менее выраженными по сравнению с эффектами оксипутирата натрия. Так, продолжительность жизни животных также увеличивалась ($p < 0.001$), однако, в меньшей степени, чем при введении оксипутирата натрия (рис.1). На фоне предварительного введения цитофлавина уровень ГПЛ ($p < 0.001$) значительно снижался по сравнению с таковым показателем в группы контроля (животные с гипоксической гипоксией на фоне предварительного внутривенного введения физиологического раствора) и не достигал показателя группы интактных животных (рис. 2 и 3 соответственно). Содержание МДА в гомогенате головного мозга на фоне предварительного внутривенного введения цитофлавина оставалось в пределах нормы. В то же время имела место частичная реактивация каталазы ($p < 0.02$), не достигающая показателей нормы (рис. 4).

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

1) в ранние сроки наблюдения (спустя 30 мин. с момента развития острой гипоксической гипоксии) метаболические расстройства, свойственные острой гипоксической гипоксии в виде активации процессов липопероксидации и недостаточности антиоксидантной системы, носят обратимый характер и могут быть в значительной мере депотенцированы при использовании антиоксидантов: оксипутирата натрия и цитофлавина.

2) Метаболические эффекты оксипутирата натрия в условиях острой гипоксической гипоксии более выражены по сравнению с влияниями цитофлавина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дубинина В.В, Шугалей И.В. Окислительная модификация белков /В.В. Дубинина, И.В. Шугалей // Успехи современной биологии. – 1993. – Т.113, вып. 1 – с.71-81.
2. Зайчик А.Ш., Гурилов Л.П. Основы общей патологии. Часть 2. / А.Ш. Зайчик, Л.П. Гурилов. – Основы патохимии. – СПб.: ЭЛБИ, 2000. – 687с. – с.363-364.
3. Игнаро Л. Дж. Физиология и патофизиология оксида азота /Л. Дж. Игнаро //Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии: Сб. науч. тр. – Архангельск: Тромсе, 1997. – с.266-269.
4. Логинов А.С., Б.Н. Матюшин. Цитотоксическое действие активных форм кислорода и механизм развития хронического процесса в печени при ее патологии / А.С. Логинов, Б.Н. Матюшин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1996. - №4 – с. 3-6.
5. Патологическая физиология и биохимия: Учебное пособие для ВУЗов / - М.: Издательство «Экзамен». 2005. – 480с. – с.140-151.
6. Типовые патологические процессы / Н.П. Чеснокова: Учебное пособие / - Издательство Саратовского медицинского университета. 2004. –с. 132-136.

METABOLIC EFFECTS OF ANTIOXIDANTS IN ACUTE ANOXIC HEPOXIA

Bizenkova M.N., Romantsov M.G., Chesnokova N.P.

Metabolic changes and antioxidants effects, arising in anoxic hepoxia were studied. The processes of pyrooxidation and the condition of enzymatic chain of encephalon antioxidant system were investigated. The comparative evaluation of free-radical acidification processes in difeerent conditions was carried out. The depotensive action of natrium oxibutirate and cytoflavinum is shown.