

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ α -ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА ОКСИДАТИВНЫЙ СТАТУС И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС В ОСТРУЮ ФАЗУ АДАПТАЦИИ В ВЫСОКОГОРЬЕ

Г.А. Джантаева – аспирант
КНУ им. Ж. Баласагына

Проведен сравнительный анализ антиоксидантов – альфа-липоевой кислоты, альфа-токоферола и милдроната. Получение новых данных по препарату представляет несомненный практический и теоретический интерес.

Ключевые слова: альфа-липоевая кислота; оксидативный статус; функциональные показатели.

Свободные радикалы могут возникать в организме в значительном количестве вследствие воздействия таких факторов высокогорной среды, как гипоксия и холод, радиоактивное и ультрафиолетовое облучение [1].

Для того, чтобы нивелировать эти нежелательные процессы, представляется наиболее перспективной фармакологическая коррекция, направленная на нейтрализацию окислительного стресса. Поскольку повышение уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) считается важным показателем метаболических расстройств и дестабилизации мембран [2, 3], следует выяснить антиоксидантные эффекты и малоизученные мембранные проявления таких биорегуляторов, как α -липоевая кислота, α -токоферол и милдронат в условиях высокогорья.

Если антиоксидантная значимость двух последних соединений известна, и эти препараты достаточно широко применяют в клинической практике, то значимость α -липоевой кислоты, как антиоксидантного соединения, до последнего времени недооценивали [4].

Сравнительное изучение антиокислительных и мембранотропных свойств α -липоевой

кислоты, α -токоферола и милдроната в I (острую) фазу адаптации в высокогорье позволит выявить особенности влияния указанных биорегуляторов на оксидативный статус, биохимическую организацию мембран и функциональные показатели опытных животных. В этой связи основная цель данного исследования состояла в систематизации особенностей оксидативных, мембранных и функциональных эффектов α -липоевой кислоты и других использованных антиоксидантов в начальную фазу адаптации к высокогорью.

Методы исследования. Исследование выполнено на 80 лабораторных крысах обоего пола, массой 140–160 г, находившихся в течение 14 суток в условиях высокогорья (3200 м над ур. м.; +15 °С; Центральный Тянь-Шань, июль-август). Первой группе крыс вводили α -токоферол в дозе 15 мг/100 г в сутки, второй группе – α -липоевую кислоту® (Берлин-Хеми АГ) в дозе 1,5 мг/кг в сутки, внутримышечно, третьей группе крыс – милдронат® (Grindex) в дозе 5 мг/кг в сутки, внутримышечно. В качестве контроля использовали группу с введением физиологического раствора (плацебо).

О мембранотропных эффектах применяемых биорегуляторов судили по изменению содержания конечных продуктов ПОЛ и lyso-PL [5].

Конечные продукты ПОЛ – диеновые конъюгаты регистрировали по характерной флуоресценции на спектрофлуориметре MFF (Hitachi, Япония) [6].

Эритроцитарные мембраны получали из гепаринизированной крови методом осмотического шока [6]. Уровень lyso-PL в плазматических мембранах определяли после экстракции липидов из бислюя по методу Фолча, с разделением на пластинках для тонкослойной хроматографии (Silufol, Чехия) в системе хлороформ/метанол/уксусная кислота/вода (60:50:1:4) и последующей количественной оценкой по содержанию липидного фосфора [6, 7].

Молекулярно-структурный статус клеточных мембран оценивали методом инфракрасной (ИК) спектроскопии мембран [2, 8].

Функциональное состояние животных и степень выраженности у них кислородного голодания мозга оценивали на основании результатов тестов по физической работоспособности локомоторной активности, поисково-исследовательскому поведению и эмоциональному состоянию (тест “открытое поле”) [9].

Результаты исследований и их обсуждение. Проводившиеся исследования по изучению оксидативного статуса и динамики накопления

лизоформ мембранных фосфолипидов (lyso-PL) у животных и человека в условиях высокогорья, а также при повышенном радиационном фоне (80–100 мкР/ч; 30 суток) выявили достаточно однозначно, что повышение содержания лизоформ в мембранах является неперенным атрибутом воздействия экстремальных факторов среды. Вероятно, что основная причина повышения уровня lyso-PL лежит в активации свободнорадикальных процессов [9, 10].

Мембранные и функциональные эффекты применения указанных выше биорегуляторов при воздействии физических факторов высокогорной среды приведены в табл. 1, 2.

Установлено, что в плазматических мембранах крыс в результате 14-суточной экспозиции в высокогорье (3200 м) происходит существенное накопление конечных продуктов ПОЛ, а также повышение уровня лизоформ фосфолипидов.

Спектральные характеристики эритроцитарных мембран крыс после введения α -липоевой кислоты, а также при лечении адреналового стресса милдронатом отчетливо указывали на приближение структуры бислюя к исходным параметрам (табл. 2). Следует отметить, что ИК-спектральный анализ бислюя мембран проводили на 14-е сутки после курса терапии, поэтому не исключена возможность стабилизации бислюя в более поздние сроки.

Таблица 1

Эффекты антиоксидантов на образование лизоформ фосфолипидов (lyso-PL) и продуктов ПОЛ в ткани мозга крыс при 14-суточной экспозиции в условиях высокогорья (3200 м; +15 °С)¹

Биорегуляторы	ДК, нмоль/г	Lyso-PL, мкгР/г	Показатель поведения	Физическая работоспос., г
Контроль (760 м)	0,18±0,3	5,9±1,4	Норма	273±40
Плацебо	0,33±0,3*	6,6±1,5	Усиление локомоции**, повышение эмоциональности*	269±29
α -токоферол	0,22±0,5	5,8 ±0,7	Снижение локомоции* и ориентировочной активности*, повышение эмоциональности*	280±28
α -липоевая кислота	-	4,7±0,5*	Общая нормализация	301±28
Милдронат	-	5,6±0,8	Повышение эмоциональности*	357±33*

¹ Лизоформы фосфолипидов (lyso-PL) приведены в микрограммах фосфолипидного фосфора на грамм (мкг Р/г ткани); ДК – диеновые конъюгаты приведены в нмоль/г ткани мозга; *p<0,05; **p<0,02 – достоверное отличие от контроля.

Данные ИК-спектрального анализа мембран эритроцитов крыс при введении биорегуляторов в условиях высокогорья (3200 м; +15 °С; 14 суток)

Показатель	1655 см ⁻¹	1400–1450 см ⁻¹	2880/2850 см ⁻¹	1740 см ⁻¹
	уровень кластеризации бислоя	ориентация жирнокислотных цепей	микровязкость бислоя	соотношение липид/белок в мембране
Контроль (низкогорье)	44,5±5,8	51,5±5,7	49,0/43,0=1,15	56,5±7,3
Плацебо	65,0±4,5	70,9±7,0	69,0/69,0=1	73,0±5,9
Адреналин	53,0±6,3	49,5±4,6	68,0/69,0=0,99	77,5±4,8
Адреналин + милдронат	69,0±7,8	63,5±5,3	55,0/52,5=1,01	72,0±6,6
α-токоферол	82,0±5,0**	83,0±4,2**	53,9/53,0=1,01	85,3±5,9*
α-липоев. кислота	45,5±8,2	41,0±4,5	57,5/57,5=1	49,0±4,8

Верхняя горизонтальная графа – интенсивность трансмиссии частот, %; *p<0,05; **p<0,02 – достоверное отличие от контроля (плацебо); n=6.

Исследования показали что lyso-PL обладают большей цитотоксичностью и детергентным потенциалом по сравнению с продуктами ПОЛ.

Выводы

Трехкратная терапевтическая доза α-липоевой кислоты адаптирующимся крысам 3200 м; +15° С; 14 суток) оказывает адаптогенный и общестимулирующий эффект на организм животных, что проявляется в стабилизации показателей поведения крыс: локомоторной активности, поисково-исследовательского поведения и эмоционального состояния.

Сравнительный анализ антиокислительных и мембранных эффектов α-липоевой кислоты, α-токоферола и милдроната в первую фазу адаптации к высокогорью (3200 м; +15 °С; 14 суток) выявил различный характер мембранных эффектов данных биорегуляторов: мембранопротективное действие α-липоевой кислоты связано с lyso-PL-ограничивающим влиянием этого препарата, а α-токоферола и милдроната – с ПОЛ-ограничивающим эффектом.

Литература

1. Гогодзе В.Г. Участие фосфолипазы А2 в индуцируемом продуктами перекисного окисления липидов разобщении митохондрий печени крыс / В.Г. Гогодзе, Н.Н. Брустовецкий, А.А. Жукова // Биохимия. – 1990. – Т.55. – Вып. 12. – С. 2195–2199.
2. Рыскулова С.Т. Радиационная биология плазматических мембран. – М.: Энергоатомиздат, 1986. – 128 с.
3. Фаллер Д., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. – М.: Биком-Пресс, 2004. – 268 с.
4. Балаболкин М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии и возможность его коррекции препаратами α-липоевой кислоты / М.И. Балаболкин, В.М. Кремнинская, Е.М. Клебанова // Проблемы эндокринологии. – 2005. – Т. 51. – №3. – С. 22–31.
5. Кармен Н.Б. Окислительная модификация мембран эритроцитов в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы и ее коррекция клонидином // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2003. – Т. 136. – №10. – С. 410–414.
6. A highperformance liquid chromatographic method for the determination of polyphosphoinositides in brain / T. Nakamura, Y. Hatori, K. Yamada et al. // Analytical Biochemistry – 1989. – Vol. 179. – P. 127–130.
7. Маркеры структурных нарушений эритроцитарных мембран при бронхиальной астме у детей / А.А. Вишневецкий, В.М. Яковлев, Г.А. Захаров и др. // Педиатрия. – 2000. – N.2. – С. 9–11.
8. Lipid-Protein interactions in human and bobine lens membranes by fourier transform raman and Infrared spectroscopies / S.Hidetoshi, B.Douglas, Om P.Lamba // Exp. Eye Rec. – 1996. – V. 62. – P. 47. – 53.

М.И. Рекаева, З.А. Лупинская, А.М. Мурзалиев. Состояние...

9. Снижение чувствительности к глюкокортикоидам как фактор стрессогенных сдвигов активности моноаминоксидазы, перекисного окисления липидов и поведения у крыс / И.А. Волчегорский, В.Э. Цейликман, Д.С. Смирнов и др.

// Проблемы эндокринологии. – 2003. – Т. 49. – №5. – С. 48–51.

10. Активность фосфолипазы А2 различной локализации в липосомах / Е.Г. Кармалита, В.Ю. Серебров, С.В. Новицкий и др. // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2002. – Т. 134. – №9. – С. 291–294.