

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ МЕЛАКСЕНА И ВАЛЬДОКСАНА НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНОВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И НАДФН-ГЕНЕРИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ В СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПЕРТИРЕОЗЕ

М. В. Горбенко¹, Т. Н. Попова¹, К. К. Шульгин¹, С. С. Попов²

Исследовано влияние мелаксена и вальдоксана на активность глутатионовой антиоксидантной системы и некоторых НАДФН-генерирующих ферментов при экспериментальном гипертиреозе. Содержание восстановленного глутатиона (GSH) при действии исследуемых препаратов увеличивалось по сравнению со значениями при патологии. Установлено, что активность глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и НАДФ-изоцитратдегидрогеназы возрастающие в патологическом состоянии, изменялись в сторону контрольных значений при введении данных препаратов. Применение мелаксена и вальдоксана, способных оказывать антиоксидантное действие, по-видимому, приводило к торможению свободнорадикальных процессов и, как следствие, снижению степени мобилизации глутатионного звена антиоксидантной системы.

Ключевые слова: гипертиреоз; свободнорадикальное окисление; глутатионовая антиоксидантная система; мелаксен; вальдоксан

ВВЕДЕНИЕ

К распространенным патологическим состояниям эндокринной системы относят синдром тиреотоксикоза, проявление которого включает различные многосистемные сдвиги, возникающие при избытке тиреоидных гормонов (ТГ). Установлено, что увеличение количества ТГ ускоряет митохондриальный окислительный метаболизм сердца, что приводит к расстройствам сердечно-сосудистой системы [7]. Известно, что гипертиреоз индуцирует гипердинамическое сердечно-сосудистое состояние, которое проявляется тахикардией, расширением левого желудочка, высокой распространенностью суправентрикулярных тахиаритмий. К хорошо известным осложнениям гипертиреоза из-за прямого действия ТГ на организм относятся тиреотоксическая миопатия и сердечно-сосудистая недостаточность [5]. Патофизиологическая основа данного заболевания не ясна. Предполагается, что активация митохондриальной дыхательной цепи ТГ приводит к окислительному повреждению ткани через увеличение продукции активных форм кислорода (АФК).

Защиту клеток от эндогенных свободных радикалов (СР) осуществляет многоуровневая антиоксидантная система (АОС) организма, важнейшим звеном которой является глутатионредуктазная/глутатионпероксидазная система (ГР/ГП), обеспечивающая детоксикацию липопероксидов и H_2O_2 за счет восстановленного глутатиона [9]. Для восстановления глутатиона используется НАДФН, поставщиками которого могут служить глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ) и НАДФ-ИДГ (изоцитратдегидрогеназа).

В связи с необходимостью поиска новых эффективных средств для антиоксидантной терапии приобретает актуальность исследование препаратов, способных оказывать влияние на содержание гормона мелатонина. К ним относятся мелаксен и вальдоксан. Мелаксен является препаратом, имеющим в своем составе мелатонин. Мелатонин — гормон, секретируемый шишковидной железой и нейроэндокринными клетками желудочно-кишечного тракта. Он является универсальным регулятором биологических ритмов, а также физиологическим иммуномодулятором [10]. Главный биохимический механизм действия мелатонина на клетки — антиоксидантный. Его структура позволяет взаимодействовать с кислородными и гидроксильными радикалами, что приводит к образованию нетоксичного соединения — N1-ацетил-N5-формил-5-метоксикинурамина. Установлено, что эффекты мелатонина реализуются в основном посредством специфических мелатониновых рецепторов двух типов (MT1 и MT2), которые различаются по локализации и функ-

¹ Кафедра медицинской биохимии и микробиологии (зав. — Т. Н. Попова) биолого-почвенного факультета Воронежского государственного университета, 394006, Воронеж, Университетская пл., 1. E-mail: marina.gorbenko87@mail.ru

² Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко, 394000, Воронеж, ул. Студенческая, 10.

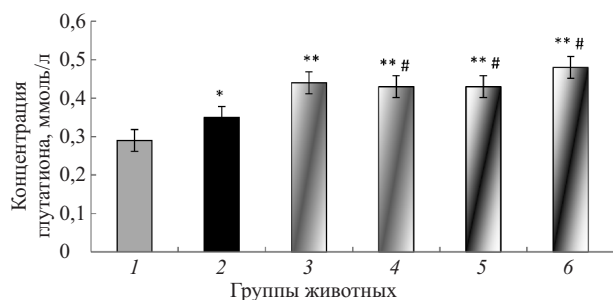


Рис. 1. Концентрация глутатиона в сердце крыс в норме (1), при патологии (2), при введении мелаксена в дозах 5 и 10 мг/кг на фоне гипертиреоза (3, 4), при введении вальдоксана в дозах 5 и 10 мг/кг при развитии патологии (5, 6).

Здесь и на рис. 2 и 3 различия достоверны ($p \leq 0,05$) по сравнению: * — с нормой, ** — с экспериментальным гипертиреозом, # — с дозой мелаксена 5 мг/кг.

ции. В связи с этим представляет интерес исследование препаратов с мелатонинергическим типом действия [1]. К ним относятся вальдоксан, действующим веществом которого является агомелатин.

Цель настоящей работы — исследование влияния мелаксена и вальдоксана на активность глутатионовой АОС, а также ферментов, участвующих в поддержании определенного уровня восстановленных эквивалентов при экспериментальном гипертиреозе.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использовали самцов белых крыс (*Rattus rattus L.*) массой 150–200 г. Животные были разделены на следующие экспериментальные группы: 1-я группа (контроль; $n = 16$) содержалась на стандартном режиме вивария; 2-я группа ($n = 19$) — животные, которым для индуцирования экспериментального гипертиреоза (ЭГ) вводили внутривенно трийодтиронин (“Sigma”, США, субстанция кристаллическая) в дозе 100 мкг на 100 г массы тела в виде раствора в 0,9 % NaCl, инъекции осуществляли трижды в течение 6 дней [6]. В 3-й и 4-й группах ($n = 18$) животным после индуцирования ЭГ вводили внутривенно мелаксен (“Юнифарм”, США, таблетки) в дозе 5 и 10 мг/кг массы животного ежедневно в течение трех дней в утренние часы. В 5-й и 6-й группах ($n = 18$) крысам с ЭГ вводили внутривенно вальдоксан (“Лаборатория Сервье Индастри”, Франция, таблетки) в дозах 5 и 10 мг/кг массы животного. Раствор мелаксена и вальдоксана готовили в керамической ступке путем растирания таблеток и последующего добавления 1 мл 0,9 % раствора NaCl непосредственно перед использованием. Полученные растворы мелаксена и вальдоксана были бесцветные, прозрачные, без запаха, pH около 7,2–7,3. Аликвота раствора мелаксена, вводимого животным в дозах 5 и 10 мг/кг, содержала 0,0122 и 0,0244 мг мелатонина соответственно. Аликвота раствора вальдоксана в дозах 5 и 10 мг/кг содержала 0,191 и 0,381 мг агомелатина.

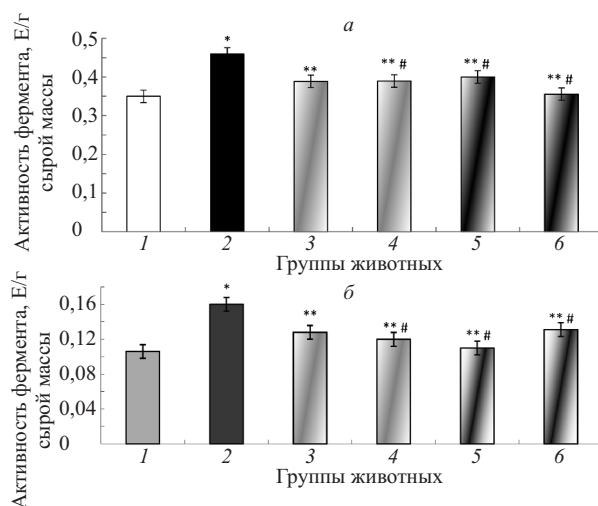


Рис. 2. Активность глутатионпероксидазы (а), глутатионредуктазы (б), выраженная в виде Е на грамм сырой массы сердца крыс, в норме (1), при экспериментальном гипертиреозе (2), при введении мелаксена в дозах 5 и 10 мг/кг (3, 4), при введении вальдоксана в дозах 5 и 10 мг/кг (5, 6).

Обозначения те же, что на рис. 1.

Образцы для анализа забирали на 7-е сутки после начала эксперимента.

При получении гомогената навеску сердца крысы гомогенизировали в 3-кратном объеме охлажденной среды выделения (0,1 М трис-НСl-буфер, pH 7,8), содержащий 1 мМ ЭДТА, 1 % β -меркаптоэтанол) и центрифугировали при 10000 г в течение 15 мин.

Активность исследуемых ферментов определяли на спектрофотометре Hitachi U-1900 с программным обеспечением. Измерение активности ГП проводили в среде спектрофотометрирования следующего состава: 50 мМ калий-фосфатный буфер (pH 7,4), содержащий 1 мМ ЭДТА, 0,12 мМ НАДФН, 0,85 мМ GSH, 0,37 мМ H_2O_2 , 1 ед/мл ГР. Контрольная проба не содержала восстановленный глутатион. Измерение активности ГР проводили в 50 мМ калий-фосфатном буфере (pH 7,4), содержащем 1 мМ ЭДТА, 0,16 мМ НАДФН и 0,8 мМ GSH. Среда спектрофотометрирования Г-6-ФДГ представляла 50 мМ трис-НСl-буфер (pH 7,8), содержащий 3,2 мМ глюкозо-6-фосфат, 0,25 мМ НАДФ. Активность НАДФ-ИДГ определяли в среде 50 мМ трис-НСl-буфера (pH 7,8), содержащего 1,5 мМ изоцитрата, 0,25 мМ НАДФ. О скорости ферментативной реакции судили по изменению оптической плотности при 340 нм. За единицу ферментативной активности (Е) принимали количество фермента, катализирующее образование 1 микромоля продукта реакции за 1 мин при 25 °С. Активность ферментов выражали в ферментативных единицах в расчете на грамм сырой массы.

Концентрацию восстановленного глутатиона определяли с помощью реакции с 5,5- дитио- бис-(2-нитробензойной) кислотой [2].

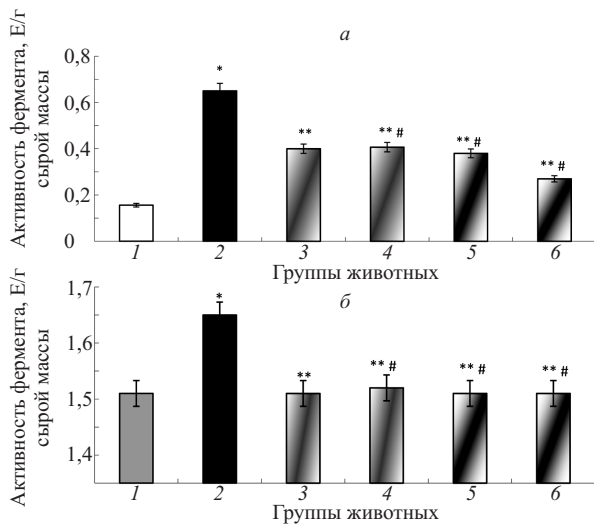


Рис. 3. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (а), НАДФ — изоцитратдегидрогеназы (б), выраженная в виде Е на грамм сырой массы сердца крыс, в норме (1), при экспериментальном гипертиреозе (2), при введении мелаксена в дозах 5 и 10 мг/кг (3, 4), при введении вальдоксана в дозах 5 и 10 мг/кг (5, 6).

Обозначения те же, что на рис. 1.

Данные обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента с вычислением среднего значения, стандартного отклонения. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$ [3]. В ходе работы использовали НАДФН, НАДФ, ЭДТА, ГР, изоцитрат (“Sigma”, США), трис-НСl-буфер (“Serva”, Германия), окисленный и восстановленный глутатион (INC, США), остальные реактивы — отечественного производства марки “хч” или “чда”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что при введении исследуемых препаратов на фоне развития ЭГ в сердце крыс возрастает содержание восстановленного глутатиона по сравнению с данными при патологии. Воздействие мелаксена в дозах 5 и 10 мг/кг на концентрацию глутатиона приводило к его возрастанию в сердце крыс в 1,5 и 1,2 раза, по сравнению со второй группой животных (рис. 1). Увеличение данного параметра наблюдалось и в сердце крыс, которым вводили вальдоксан в дозах 5 и 10 мг/кг, в 1,2 и 1,4 раза ($p \leq 0,05$). Полученные данные согласуются с информацией о том, что мелатонин оказывает ингибирующее влияние на уровень свободнорадикального окисления (СРО) биомолекул в организме при развитии патологии, приводящее к снижению степени мобилизации антиоксидантной системы (АОС) [4].

Показано, что внутрибрюшинное введение мелаксена и вальдоксана на фоне гипертиреоза приводило к снижению активности ГП, ГР, Г-6-ФДГ, НАДФ-ИДГ в сердце крыс, возрастающей при ЭГ.

Установлено, что активность ГР в сердце крыс, выраженная в Е на грамм сырой массы, снижалась в 1,3

раза при введении мелаксена в дозах 5 и 10 мг/кг. Активность ГП при воздействии мелаксена в исследуемых дозах уменьшалась в 1,2 раза (рис. 2, а). Использование вальдоксана в дозах 5 и 10 мг/кг приводило к снижению ГП в 1,2 и 1,3 раза ($p \leq 0,05$) по сравнению со 2-й группой животных. При этом активность ГР уменьшалась в 1,4 и 1,2 раза соответственно (рис. 2, б).

Изменение активностей ГП и ГР под действием мелаксена и вальдоксана в сторону контрольных значений свидетельствуют о реализации мелатонином антиоксидантных свойств, благодаря которым он взаимодействует с СР с образованием малотоксичных или нетоксичных, метаболизируемых в организме соединений [8].

Наряду с этим введение мелаксена в дозах 5 и 10 мг/кг на фоне развития ЭГ приводило к снижению активности Г-6-ФДГ в сердце в 1,6 раза по сравнению со второй группой животных (рис. 3, а). Уменьшение данного параметра наблюдалось и в сердце крыс, которым вводили вальдоксан в дозах 5 и 10 мг/кг, в 1,7 и 2,4 раза ($p \leq 0,05$). Установлено, что активность НАДФ-ИДГ в сердце крыс снижалась при введении мелаксена в дозах 5 и 10 мг/кг на 9 и 8 %, а при введении вальдоксана — на 9 % (рис. 3, б).

Возможно, введение исследуемых препаратов способствует торможению процессов СРО, что в свою очередь приводит к снижению степени мобилизации ГР/ГП АОС, а также НАДФН-генерирующих ферментов.

ВЫВОДЫ

1. При введении мелаксена и вальдоксана животным с экспериментальным гипертиреозом увеличивается концентрация глутатиона в тканях крыс относительно значений при патологии.
2. При введении животным исследуемых препаратов на фоне развития тиреотоксикоза происходит снижение активности НАДФН — генерирующих ферментов — Г-6-ФДГ и НАДФ-ИДГ в тканях крыс по сравнению с данными показателями при экспериментальном гипертиреозе.
3. Статистически значимой зависимости от дозы в эффектах мелаксена и вальдоксана не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. Б. Арушанян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(7), 41 – 45 (2011).
2. В. С. Бузлама, *Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты организма у животных РАСХН*, Воронеж (1997).
3. Э. Ллойд, У. Ледерман, *Справочник по прикладной статистике Т. 1, Финансы и статистика*, Москва (1991).
4. В. Baydas, I. Meral, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **32**(7), 541 – 544 (2005).
5. К. Voelaert, J. A. Franklyn, *J. of Endocrinol.*, **187**(1), 1 – 15 (2005).

6. V. Fernandez, K. Simizu, S. B. M. Barros, *Endocrinology*, **129**(1), 85 – 91 (1991).
7. K. J. George, W. H. Dillmann, *Endocr. Rev.*, **26**(5), 704 – 728 (2005).
8. H. Loo, A. Hale, H. Dhaenen, *International Clinical Psychopharmacology*, **17**(5), 239 – 247 (2002).
9. G. Salemi, M. C. Gueli, M. D'Amelio, *Neurological Sciences*, **30**(4), 361 – 364 (2009).
10. C. Tomás-Zapico, A. Coto-Montes, Recent Patents on Endocrine, *Metabolic & Immune Drug Discovery*, № 1, 63 – 82 (2007).

Поступила 13.05.13

EFFECTS OF MELAXEN AND VALDOXAN ON THE ACTIVITY OF GLUTATHIONE ANTIOXIDANT SYSTEM AND NADPH-PRODUCING ENZYMES IN RAT HEART UNDER EXPERIMENTAL HYPERTHYROIDISM CONDITIONS

M. V. Gorbenko¹, T. N. Popova¹, K. K. Shul'gin¹, and S. S. Popov²

¹ Voronezh State University, Universitetskaya pl. 1, Voronezh, 394006, Russia.

² Burdenko Voronezh State Medical Academy, ul. Studencheskaya 10, Voronezh, 394000, Russia.

The effects of melaxen and valdoxan on the activity of glutathione antioxidant system and some NADPH-producing enzymes have been studied under conditions of experimental hyperthyroidism in rat heart. Under the action of these drugs, reduced glutathione (GSH) content increased as compared to values observed under the conditions of pathology. It has been established that the activities of glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GP), glucose-6-phosphate dehydrogenase, and NADP isocitrate dehydrogenase (increased under pathological conditions) change toward the intact control values upon the introduction of both drugs. The influence of melaxen and valdoxan, capable of producing antioxidant effect, leads apparently to the inhibition of free-radical oxidation processes and, as a consequence, the reduction of mobilization degree of the glutathione antioxidant system.

Keywords: hyperthyroidism; free-radical oxidation; glutathione antioxidant system; melaxen; valdoxan