

ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА И α -ТОКОФЕРОЛА НА СОДЕРЖАНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ У КРЫС ПРИ БОЛЕВОМ СТРЕССЕ

В. А. Батулин, С. А. Сергеев, В. В. Фишер¹

Исследовано влияние острого болевого стресса на содержание ионизированного кальция и магния в эритроцитах крови крыс на фоне применения мексидола. Цитоспектрофотометрическим методом оценивали внутриклеточную концентрацию кальция и магния до стрессирования, через 2 ч и далее по окончании 1 и 3 сут после стресса. Сразу после болевого стресс-воздействия внутриклеточное содержание кальция и магния увеличивалось во всех группах. Через 1 сут уровень магния начинал снижаться, а содержание кальция в эритроцитах продолжало нарастать. В группе крыс, получавших мексидол, концентрация кальция через 24 и 72 ч после стресс-процедуры была заметно ниже, чем в контрольной группе животных. Кроме того, мексидол предотвращал критическое снижение магния ниже исходного уровня к окончанию периода исследования.

Ключевые слова: стресс; внутриклеточный кальций; внутриклеточный магний; мексидол; α -токоферол.

ВВЕДЕНИЕ

Внимание исследователей привлекают лекарственные средства, способные повышать адаптационные возможности организма и ограничивать повреждающее влияние стресса. В последние годы появились сообщения о наличии подобных свойств у этилметилгидроксипиридина сукцината, который производит фармацевтическая промышленность России в виде препарата мексидол [3]. Механизмы стресс-протекторного действия мексидола изучены мало. Вместе с тем известно, что важную роль в механизмах повреждения клеток при стрессе играет изменение внутриклеточных концентраций кальция и магния [6, 7]. В связи с этим представлялось интересным изучить влияние мексидола на содержание внутриклеточного кальция и магния при остром болевом стрессе.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 90 белых крысах-самцах линии Wistar массой 200 – 220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Животные получали обычный рацион питания и находились на свободном питьевом режиме. Программа исследований одобрена локальным этическим комитетом.

Оценивали исходные уровни внутриклеточного магния и кальция в эритроцитах крови крыс. После этого всех животных помещали в фиксирующий пенал, где наносили электроболевое раздражение на хвост, предварительно смоченный физиологическим раствором (длительность одной стимуляции 0,5 с, напряжение 40 В, сила тока 0,1 А) [1]. Первой группе крыс за 30 мин до стрессирования вводили внутри-

брюшинно мексидол (этилметилгидроксипиридина сукцинат, производство ЗАО “Фармасофт”, Россия) в дозе 50 мг/кг (30 животных). Второй группе крыс внутримышечно за 1 ч до стресс-воздействия вводили α -токоферол (производство Ай Си Эн Октябрь, Россия) в дозе 15 мг/кг (30 животных). Контрольной группе крыс внутрибрюшинно инъецировали физиологический раствор [3, 5].

Затем у крыс забирали кровь из хвостовой вены в количестве не более 0,1 мл через 2, 24 и 72 ч после процедуры стрессирования. В эритроцитах крови определяли содержание внутриклеточного магния и кальция.

Уровень ионизированного внутриклеточного магния и кальция определяли цитохимическими методами. Содержание кальция в эритроцитах оценивали по методу Лилли с щавелевой кислотой. Определение внутриклеточного магния выполняли по Д. Глику, Е. Фрейеру, М. Оксу. Оценку концентрации осуществляли методом цитоспектрофотометрии с использованием насадки ФМЛ-1 к люминесцентному микроскопу ЛЮМАМ И-2 [10]. На основании данных полученной оптической плотности и логарифма величины, обратной пропусканию света, судили о концентрации вещества, выраженной в цитоспектрофотометрических единицах (ЦФЕ).

Полученные результаты подвергали статистическому анализу с применением пакета программ Microsoft Office Excel, StatSoft Statistica 6.0 и использованием критериев Стьюдента и Манна — Уитни. Различия между экспериментальными группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

¹ ГБОУ ВПО “Ставропольский государственный медицинский университет”, Россия, Ставрополь, ул. Мира, 310.

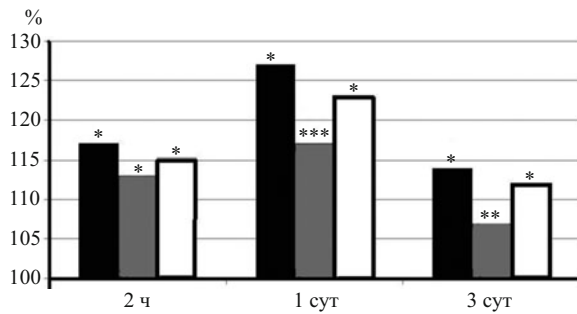


Рис. 1. Изменение концентрации внутриклеточного кальция в эритроцитах крыс. Серые столбики — мексидол, 50 мг/кг; белые столбики — α -токоферол, 15 мг/кг, черные — контроль. Значение показателей представлено в процентах относительно исходного уровня.

Здесь и на рис. 2:

* Статистически значимые отличия по сравнению с исходными данными в каждой группе ($p < 0,05$); ** по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования обнаружено, что в постстрессорном периоде у крыс контрольной группы, получавших вместо лекарственных средств физиологический раствор, через 2 и 24 ч после болевого раздражения увеличивается содержание внутриклеточного кальция в эритроцитах, по сравнению с исходными величинами ($0,9 \pm 0,08$) ЦФЕ на 17 и 27 %, соответственно ($p < 0,05$). При этом значения уровня кальция через 24 ч после стресса были максимальными. Через 72 ч после стресс-воздействия отмечалась тенденция к снижению данного показателя. Однако уровень внутриклеточного кальция на протяжении всего исследуемого периода был достоверно выше исходных значений.

При использовании мексидола содержание внутриклеточного кальция через 2 и 24 ч после стресса достоверно повышалось (на 13 и 17 %, по сравнению с исходными значениями, соответственно, $p < 0,05$). Однако увеличение было менее выражено, чем в контрольной группе крыс, и уровень внутриклеточного кальция был через 24 ч после стресса статистически достоверно ниже, чем у контрольных животных ($p < 0,05$). Через 3 сут величина данного показателя приблизилась к исходному уровню.

У крыс, получавших α -токоферол, различия с контрольной группой животных в динамике показателей внутриклеточного кальция были минимальны. Через 2 ч и особенно через 24 ч содержание кальция в эритроцитах крыс существенно повышалось. Через 72 ч после болевого раздражения уровень кальция снижался, но оставался заметно выше ($p < 0,05$), чем до стресс-воздействия (рис. 1).

Уровень внутриклеточного магния до стрессирования был оценен в ($0,86 \pm 0,07$) ЦФЕ. Максимальное увеличение данного показателя (на 16 %) происходило

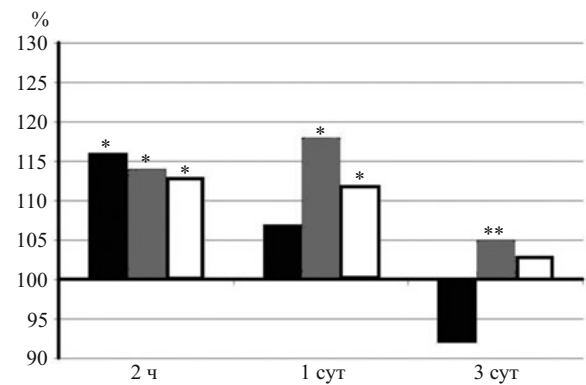


Рис. 2. Изменение концентрации внутриклеточного магния в эритроцитах крыс.

через 2 ч ($p < 0,05$) после стресс-воздействия. Через 24 ч после болевого раздражения наметилась тенденция к снижению внутриклеточного магния, хотя средние его значения по-прежнему были выше, чем до стрессирования. Через 72 ч содержание внутриклеточного магния снижалось ниже исходного уровня на 8 %, однако сдвиг не был статистически достоверен по отношению к исходному содержанию.

Уровень внутриклеточного магния у крыс, получавших мексидол, увеличивался через 2 ч после стресс-воздействия практически так же, как и в контрольной группе. Впрочем, через 24 ч повышение концентрации внутриклеточного магния продолжалось. Уровень магния в эритроцитах превысил исходные показатели на 18 % ($p < 0,05$). Важно отметить, что через 72 ч после стрессирования у крыс, получавших мексидол, содержание внутриклеточного магния по-прежнему превышало исходную величину на 5 % и не снижалось ниже исходного уровня, как у контрольных животных. При этом различия в концентрации магния по сравнению с контрольной группой были достоверны ($p < 0,05$).

У крыс, получавших α -токоферол, различия с контрольной группой животных в показателях внутриклеточного магния были минимальны. Отмечено снижение концентрации внутриклеточного магния на 3 % через 2 ч после стрессирования, по сравнению с группой, получавшей физиологический раствор. Через 72 ч после стресса у крыс, получавших α -токоферол, отмечалось снижение уровня внутриклеточного магния практически до исходных величин (рис. 2).

Впервые феномен “гипермагниевой постстрессорной мочи” описал И. С. Чекман у крыс после экспериментального плавательного теста [9]. Позднее в работах [11, 12] показано, что острый стресс приводит к выведению магния из организма.

Нами установлено, что стресс увеличивает содержание ионизированного кальция в эритроцитах крыс. Параллельно в первые сутки после болевого воздействия происходит накопление внутриклеточного магния. Такие изменения, видимо, носят адаптационный ха-

рактически и предупреждают кальциевое повреждение клетки [4, 8]. Однако в дальнейшем наблюдается постепенное уменьшение содержания магния в эритроцитах. При этом его концентрация снижается через 3 сут ниже исходных значений. Снижение уровня внутриклеточного магния, как известно, вызывает неконтролируемое повышение активности ионных каналов. При этом кальциевый ток нелинейно возрастает и значительно превышает магниевый, вызывая “срыв” компенсаторных реакций и повреждение клеток [2].

Мексидол способствует ограничению реакции стресс-повреждения. Важно, что на фоне мексидола уменьшается постстрессовое нарастание уровня кальция и предотвращается снижение уровня магния в эритроцитах крыс. При этом мексидол имеет явные преимущества, по сравнению с α -токоферолом.

ВЫВОДЫ

1. Болевое стресс-воздействие у крыс вызывает повышение уровня кальция и магния в эритроцитах. Через 72 ч после стрессирования содержание кальция остается выше исходных значений, а концентрация магния снижается ниже уровня, установленного до применения болевого воздействия.

2. Мексидол ограничивает повышение уровня внутриклеточного кальция после стрессирования крыс. У крыс, которым вводили α -токоферол, уровни внутриклеточного кальция существенно не отличаются от контрольных животных.

3. Мексидол обеспечивает более выраженное постстрессовое повышение внутриклеточного магния в эритроцитах по сравнению с контрольной группой по-

сле болевого раздражения. В более поздние сроки препарат предупреждает снижение концентрации магния ниже исходного уровня, как это происходит в группе сравнения. α -Токоферол менее эффективен.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Батурин, Э. Б. Арушанян, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **55**(6), 3 – 5 (1992).
2. Ю. А. Владимиров, *Соросовский образоват. ж.*, № 3, 20 – 27 (1998).
3. Т. А. Воронина, *Отечественный препарат нового поколения мексидол — основные эффекты, механизм действия, применение*, Москва (2005).
4. Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова, *Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам*, Медицина, Москва (1988).
5. С. В. Оковитый, А. В. Смирнов, С. Н. Шуленин, *Клиническая фармакология антигипоксантов и антиоксидантов*, ФАРМиндекс, Санкт-Петербург (2005).
6. О. Б. Павлов, В. М. Смирнов, *Нарушения водно-электролитного обмена и кислотно-основного состояния*, БГМУ, Минск (2003).
7. Д. М. Попутников, Ф. И. Висмонт, *Повреждение клетки (патофизиологические аспекты): учебно-методическое пособие*, БГМУ, Минск (2013).
8. А. А. Спасов, *Магний в медицинской практике*, ООО “Отрок”, Волгоград (2000).
9. И. С. Чекман, Н. А. Горчакова, С. Л. Николай, *Магний в медицине*, ШТИНИЦА, Кишинев (1982).
10. *Клиническая цитохимия*, А. В. Ягода, Н. А. Локтев (ред.), Ставрополь (2005).
11. F. Mocci, P. Canalis, P. A. Tomasi, et al., *Occup. Med.*, **51**(1), 55 – 61 (2001).
12. E. Poleszak P. Wlaz, E. Kedzie, et al., *Pharm. Reports*, **58**(7), 46 – 52 (2006).

Поступила 10.01.15

INFLUENCE OF MEXIDOL AND α -TOCOPHEROL ON INTRACELLULAR CALCIUM AND MAGNESIUM CONTENT IN BLOOD CELLS OF RATS UNDER PAIN STRESS CONDITIONS

V. A. Baturin, S. A. Sergeev, and V. V. Fisher

Stavropol State Medical University, ul. Mira 310, Stavropol, 355017 Russia

The influence of acute pain stress on the content of ionized calcium and magnesium in erythrocytes on the background of mexidol administration was studied in rat blood serum. The intracellular concentration of calcium and magnesium was determined by the cytospectrophotometric method before stress, in two hours, at the end of the first day, and after three days of stress action. The intracellular content of both calcium and magnesium increased in all groups immediately after the pain stress impact. In one day, the level of magnesium began to decrease, while the content of calcium in erythrocytes continued to increase. In the group treated by mexidol, the concentration of calcium in 24 and 72 h after the exposure to stress was noticeably lower than in the untreated control group of animals. By the end of the observation period, mexidol prevented critical decrease of magnesium content below the initial level.

Keywords: operational stress; intracellular calcium; intracellular magnesium; endothelium cells; α -tocopherol; mexidol.