

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

ВЛИЯНИЕ ЦИТОФЛАВИНА И КАРДИОКСИПИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ КРЫС С ДИСЛИПИДЕМИЕЙ

О. А. Водопьянова, И. Я. Моисеева, О. П. Родина, И. Н. Кустикова, Н. В. Антропова¹

В условиях экспериментального нарушения липидного обмена у белых нелинейных крыс обоего пола проведено сравнительное исследование влияния цитофлавина в дозе 1,75 мл/кг (175 мг/кг по янтарной кислоте) и кардиоксипина в дозе 52,5 мг/кг на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в эритроцитах. Выявлено, что исследуемые препараты вызывали снижение содержания малонового диальдегида в эритроцитах, приводили к повышению антиоксидантной активности и резерва липидов для перекисного окисления в крови.

Ключевые слова: дислипидемия; перекисное окисление липидов; антиоксидантное действие; цитофлавин; кардиоксипин.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушение липидного обмена является основной причиной атеросклеротического поражения сосудов и ассоциированных с атеросклерозом заболеваний: ишемической болезни сердца, острых и хронических нарушений мозгового кровообращения, окклюзионно-стенозных поражений артерий нижних конечностей. В патогенезе атеросклероза важное значение имеют свободнорадикальные процессы [13]. Образование свободных радикалов становится причиной повреждения биомолекул — перекисного окисления липидов (ПОЛ), нуклеиновых кислот, белковых молекул и полисахаридов, а также изменения интегративных межклеточных и внутриклеточных сигнальных процессов [7, 10]. При активации ПОЛ нарушается жидкостно-мозаичная структура мембран и повышается их гидрофильность, происходит набухание органелл, в том числе, митохондрий, что в сочетании с угнетением ферментных систем транспорта электронов приводит к грубым нарушениям энергетического обмена: разобщению дыхания и окислительного фосфорилирования [9]. Поэтому интерес для изучения представляют препараты с антиоксидантной и цитопротекторной активностью, которые могут быть корректорами возникающих нарушений [4]. В нашем исследовании в качестве таких средств использованы отечественные препараты цитофлавин и кардиоксипин. Учитывая нейро- и кардиопротекторное действие препаратов, наличие у них антигипоксантажного и антиоксидантного эффекта [1, 4], мы предположили, что

использование цитофлавина и кардиоксипина может скорректировать окислительный стресс, возникающий при экспериментальной дислипидемии.

Цель исследования — изучение в сравнительном аспекте влияния цитофлавина и кардиоксипина на процессы липопероксидации в эритроцитах крыс с дислипидемией.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использовали препараты кардиоксипин (30 мг метилэтилпиридинола в 1 мл раствора, ОАО “Бiosинтез”, Пенза) и цитофлавин (в 1 мл раствора: кислоты янтарной 100 мг, никотинамида 10 мг, рибоксина 20 мг, рибофлавина мононуклеотида 2 мг, ООО “НТФФ “ПОЛИСАН””, Санкт-Петербург).

Исследование проведено на 44 белых нелинейных крысах обоего пола, массой тела 180–350 г, содержащихся в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (ETSN 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.), и были одобрены локальным этическим комитетом. Нарушение липидного обмена моделировали в течение 20 сут путем ежедневного введения внутрь холестерина в дозе 40 мг на 1 кг массы тела животного [12].

Подопытные животные были разделены на 4 группы: 1-я группа ($N = 14$) — интактные; 2-й (контрольной) группе ($N = 10$) моделировали дислипидемию и с 11-х сут эксперимента внутрибрюшинно (в/б) вводили физиологический раствор (“плацебо”) в объеме, эквивалентном объему вводимых исследуемых препара-

¹ Пензенский государственный университет, 440026, Пенза, ул. Красная, д.40.

тов; животным 3-й группы ($N = 10$) с 11-го дня эксперимента на фоне модели дислипидемии проводили коррекцию метаболических нарушений при помощи кардиоксипина, который вводили в дозе 52,5 мг/кг в/б в течение 10 сут; животным 4-й группы ($N = 10$) моделировали дислипидемию и с 11-го дня эксперимента вводили цитофлавин в объеме 1,75 мл/кг (175 мг/кг по янтарной кислоте) в/б в течение 10 сут. Дозы изучаемых препаратов были рассчитаны, исходя из максимальных разовых доз изучаемых препаратов для человека, с учетом коэффициента межвидового переноса доз. На 21-й день исследования животных выводили из эксперимента, получали кровь, которую центрифугировали при 2000 об/мин в течение 15 мин, отбирали плазму, из эритроцитов готовили гемолизаты 1:1 (v:v). Материалом исследования служили гемолизаты эритроцитов белых крыс.

Для определения концентрации малонового диальдегида (МДА) и Fe-МДА в эритроцитах использовали метод, основанный на измерении оптического поглощения бутанольного экстракта триметинового комплекса [11, 14]. На основе полученных данных рассчитывали антиоксидантную активность (АОА) по формуле:

$$\text{АОА} = [\text{Fe} - \text{МДА}] - [\text{МДА}] [5],$$

и резерв липидов для перекисного окисления (РЛПО) крови и тканей по формуле:

$$\text{РЛПО} = ([\text{Fe} - \text{МДА}] - [\text{МДА}]) / [\text{МДА}] [2].$$

Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по методу, базирующемуся на непрямом торможении скорости реакции в оксидоредуктазных системах, сопровождающихся образованием супероксид-анион-радикала [3, 6]. Каталазную активность определяли по реакции с молибдатом аммония [8].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета статистических программ: русифицированная версия программы STATISTICA 6.0 (StatSoft — Russia, 1999), BIOSTAT (S. A. Glantz, McGrawHill, 1998). Определяли основные статистические характеристики: среднее, стан-

дартное квадратическое отклонение. Достоверность различий рассчитана с помощью Т-критерия Стьюдента в случае равенства дисперсий, его модификации (Т-критерий с отдельными оценками дисперсий) — в случае неравенства дисперсий и с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Критическая величина уровня значимости принята равной 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика показателей перекисного окисления в эритроцитах на фоне введения цитофлавина и кардиоксипина представлена в таблице.

Экспериментальная дислипидемия приводила к значимому возрастанию уровня МДА в эритроцитах лабораторных животных, по сравнению с крысами интактной группы (таблица). У животных, получавших в качестве фармакологической коррекции изучаемые препараты, содержание МДА в крови было значимо ниже ($p < 0,05$), чем в группе контроля: у крыс, получавших кардиоксипин, уровень МДА составлял $13,33 \pm 0,11$ мкмоль/л (на 30 % ниже, чем в группе контроля); у крыс, получавших цитофлавин, аналогичный показатель составлял $12,50 \pm 0,72$ мкмоль/л (на 53 % ниже, чем в группе контроля).

Аналогичную картину наблюдали в отношении содержания Fe-МДА: у животных, получавших кардиоксипин, содержание Fe-МДА в среднем на 14,8 % меньше, чем в группе контроля, тогда как у животных, получавших цитофлавин, на 19,8 % меньше, чем в группе контроля (таблица).

На основе полученных данных по содержанию МДА и Fe-МДА были рассчитаны некоторые интегральные показатели ПОЛ — АОА и РЛПО эритроцитов (таблица). Применение цитофлавина и кардиоксипина приводило к статистически значимому ($p < 0,05$) возрастанию АОА и РЛПО по отношению к группе контроля: АОА эритроцитов крыс, получавших кардиоксипин, повышалась на 82 %, аналогичный показатель у крыс, получавших цитофлавин, был выше на 73 %; РЛПО относительно контроля возрастал в 2,65 раза в обеих группах животных, получавших фармакологическую коррекцию исследуемыми препаратами (таблица).

Влияние цитофлавина и кардиоксипина на показатели ПОЛ в эритроцитах крыс с дислипидемией ($M \pm m$)

| Показатель, единицы измерения | Группа | | | |
|----------------------------------|------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| | интактные | контроль | кардиоксипин | цитофлавин |
| МДА, мкмоль/л | $12,70 \pm 1,28$ | $19,14 \pm 0,07^{\&}$ | $13,33 \pm 0,11^*$ | $12,50 \pm 0,72^*$ |
| Fe-МДА, мкмоль/л | $15,01 \pm 0,20$ | $22,20 \pm 2,46^{\&}$ | $18,90 \pm 0,85^{\&*}$ | $17,8 \pm 1,73^{\&*}$ |
| Каталаза, мккат/сек/л | $0,32 \pm 0,03$ | $0,21 \pm 0,03^{\&}$ | $0,19 \pm 0,07^{\&}$ | $0,25 \pm 0,02^{\&}$ |
| СОД, у. е./г Hb | $0,85 \pm 0,05$ | $0,92 \pm 0,04$ | $0,88 \pm 0,05$ | $0,94 \pm 0,03^{\&}$ |
| АОА | $2,31 \pm 1,05$ | $3,06 \pm 1,36$ | $5,57 \pm 0,86^{\&*}$ | $5,30 \pm 0,72^{\&*}$ |
| РЛПО | $0,18 \pm 0,06$ | $0,16 \pm 0,07$ | $0,42 \pm 0,06^{\&*}$ | $0,42 \pm 0,03^{\&*}$ |

* — статистически значимое отличие от группы контроля ($p_k < 0,05$);

& — статистически значимое отличие от интактной группы ($p_{\text{и}} < 0,05$).

На фоне дислипидемии в контрольной группе и группе, получавшей кардиоксипин, не выявлено значимых различий, по сравнению с интактной группой по содержанию СОД в эритроцитах ($p < 0,05$) (таблица). В группе животных, получавших цитофлавин, уровень СОД в эритроцитах был значимо ($p < 0,05$) выше, чем у интактных животных на 11 %.

ВЫВОД

Цитофлавин в дозе 1,75 мл/кг (175 мг/кг по янтарной кислоте) в/б и кардиоксипин в дозе 52,5 мг/кг в/б вызывали снижение содержания малонового диальдегида в эритроцитах крыс с экспериментальной дислипидемией, приводили к повышению АОА и РЛПО в эритроцитах.

Конфликт интересов: кардиоксипин для проведения исследования предоставлен на безвозмездной основе ОАО “Биосинтез”, Пенза.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Федин, *Вестник Санкт-Петербургской гос. мед. академии им. И. И. Мечникова*, № 1, 13 – 19 (2008).
2. Б. И. Лаптев, Д. И. Кузьменко, *Вопр. мед. химии*, № 1, 47 – 52 (1999).

3. В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева, *Вопр. мед. химии*, № 2, 88 – 91 (1990).
4. В. И. Инчина, А. В. Зорькина, С. Б. Келейников, *Достижения клинической фармакологии*, Москва (1999).
5. Г. И. Клебанов, *Вестник РАМН*, № 2, 15 – 22 (1999).
6. Г. Ю. Мальцев, А. В. Васильев, *Вопр. мед. химии*, № 2, 56 – 58 (1994).
7. И. Н. Кустикова, И. Я. Моисеева, Л. В. Ионичева и др., *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Мед. науки*, № 1(9), 24 – 32 (2009).
8. М. А. Корольюк, А. И. Иванова, И. Г. Майорова и др., *Лаб. дело*, № 1, 16 – 18 (1988).
9. Н. И. Микуняк, *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Мед. науки*, № 4(16), 36 – 43 (2010).
10. О. П. Родина, И. Я. Моисеева, *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Мед. науки*, № 3, 36 – 41 (2008).
11. С. Г. Конюхова, С. Г. Маркин, А. А. Конюхова и др., *Лаб. дело*, № 9, 40 – 46 (1989).
12. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Медицина, Москва (2005).
13. J. A. Berliner, A. D. Watson, *N. Engl. J. Med.*, **353**(1), 9 – 11 (2005).
14. L. Ernster, C. P. Lee, *Meth. Enzymol.*, **10**, 729 – 738 (1967).

Поступила 02.06.14

THE INFLUENCE OF CYTOFLAVIN AND CARDIOXIPIN ON THE INDICES OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE BLOOD OF RAT WITH DYSLIPIDEMIA

O. A. Vodop'yanova*, I. Ya. Moiseeva, O. P. Rodina, I. N. Kustikova, and N. V. Antropova

Penza State University, ul. Krasnaya 40, Penza, 440026 Russia

* e-mail:cnit@pnzgu.ru

Comparative tests on nonlinear rats of both sex with model violation of lipid metabolism have been performed in order to study the effects of cytoflavin (1.75 ml/kg or 175 mg/kg with respect to succinic acid) and cardioxipin (52.5 mg/kg) on lipid peroxidation and antioxidant protection indices in the blood. It is established that these preparations cause a decrease in the content of malonic dialdehyde (MDA) in erythrocytes that results in increased antioxidant activity and lipid reserves for peroxidation in the blood.

Keywords: dyslipidemia; lipid peroxidation; antioxidant action; cytoflavin; cardioxipin