

БИОХИМИЯ

УДК 541.427.7 + 66.094.38 + 634.2 + 634.836 + 543.87 + 615.099

В. Х. Мамиконян¹, О. М. Амирханян¹, Т. Е. Сеферян², Г. А. Гюлбудагян¹

Корректирующее действие антиоксидантного фактора косточек
винограда на процесс свободнорадикального окисления при
хроническом отравлении тетрахлоруглеродом

(Представлено академиком К.Г. Карагезяном 7/Х 2008)

Ключевые слова: хемилюминесценция, мембранные структуры, соль Морра, экстракт виноградных косточек, тетрахлор углерод

Введение. В последнее время активировались исследования с позиций клинической мембранологии, поскольку инициирование любого патологического процесса начинается с повреждения мембранных структур, ответственных за поддержание физиологических норм гомеостаза клеток [1-3]. Среди основных патогенетических факторов, ведущих к повреждению мембранных структур, важное место отводится активированию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), совершающихся в физиологически метаболизирующих биологических системах в строго лимитированных пределах [4-6]. Одним из универсальных механизмов повышения ПОЛ и гибели клеток любых органов является чрезмерная его активизация с образованием высоких концентраций продуктов перекисления липидов и главным образом конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА), оказывающих вредоносное действие на функциональное состояние биологических систем, в том числе и различных клеточных образований [7,8].

Поддержанию ПОЛ на определенном физиологическом уровне помогает система антиоксидантной защиты организма, представленная комплексом ферментов и низкомолекулярных соединений небелковой природы. В физиологических условиях существует определенное равновесие между степенью ПОЛ и состоянием антиоксидантной системы, понижение активности которой или ее несостоятельность способствуют интенсификации

ПОЛ, что в конечном счете приводит к патологическим процессам [9,10] мембранотоксического, мембранолитического действия.

В последнее время наряду с многими другими натуральными низкомолекулярными антиоксидантами широкое распространение получили некоторые соединения полифенольного характера, содержащиеся в виноградных косточках (ВК) и обладающие более высоким антиоксидантным действием [11,12], превосходящим многие известные антиоксиданты — токоферолы, каротиноиды, убихинон, аскорбиновую кислоту [6,13].

Целью настоящего исследования явилось изучение антирадикальных свойств водных экстрактов ВК (ВЭК) в гомогенатах мозговой и печеночной тканей и интенсивности течения процесса свободнорадикального окисления (СРО) липидов в мозге, печени и мембранах эритроцитов (МЭ) крови белых крыс при CCl_4 -отравлении и корригирующего действия на эти процессы антиоксидантных факторов, содержащихся в ВК (АФВК).

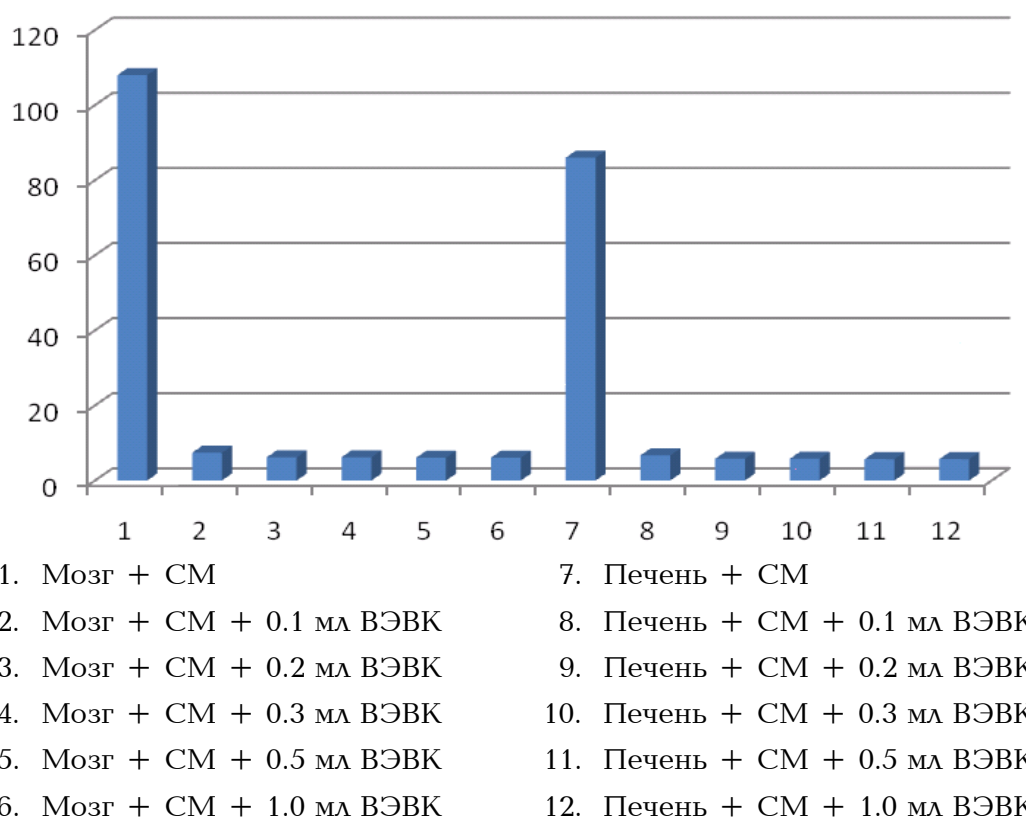
Материалы и методы. В качестве антиоксидантов использовали ВЭК и ВК. Для получения ВЭК использовали порошок сухих измельченных косточек винограда из широко распространенного в Армении сорта *Vitis Vinifera Satira Naugeniq (VVSH)* по следующей методике. В мерный стеклянный термостойкий стакан емкостью 250 мл помещали 10 г порошка ВК, добавляли 200 мл кипяченой дистиллированной воды и кипятили смесь на магнитной мешалке в течение 1 ч, после чего содержимое стакана отфильтровывали на стеклянном фильтре (размер пор 0.45μ) и к фильтрату добавляли дистиллированную воду до объема 200 мл.

Для изучения динамики течения окислительных и антирадикальных процессов в мозге и печени под действием разных концентраций ВЭК нами были использованы методы анализа спонтанной и хемоиндуцированной хемилюминесценции [14], а также метод количественного определения одного из конечных продуктов СРО липидов — МДА [15]. Индуцирование СРО липидов проводилось добавлением к гомогенатам соли Морра (СМ) $[FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O]$ [2,5].

С целью выявления токсичных эффектов CCl_4 и нормализующего действия ВК исследования проводили на 40 беспородных белых крысах-самцах массой 180-200 г, разделенных на 4 экспериментальные группы: 1) контрольная; 2) опытная с экспериментальным CCl_4 -отравлением в течение 28 дней; 3) опытная с экспериментальным CCl_4 -отравлением, получавшая ежедневно на протяжении 28 дней взамен воды 10-12 мл ВЭК и 0.5 г порошка ВК как добавку к рациону молочных продуктов; 4) опытная с пролонгированным периодом лечения дачей ВЭК и ВК до 56 дней с момента отравления.

В течение 28 дней животным из опытных групп 2, 3 и 4 через каждые четыре дня внутрибрюшинно вводили 50%-ный растительно-масляный раствор CCl_4 из расчета 0.25 мл/100 г массы тела.

Результаты и обсуждение. В приведенной гистограмме показаны результаты влияния различных концентраций ВЭВК на хемилюминесценцию в мозговой и печеночной тканях, индуцированную СМ.



Как явствует из приведенных данных, ВЭВК обладает высокой степенью антиоксидантной активности начиная с концентрации 0.1 мл/г свежей ткани. Дальнейшее увеличение дозы ВЭВК не оказывает существенного влияния на фон СРО, что, по-видимому, указывает на аллостерическую регуляцию активности ферментов, участвующих в этих процессах. Относительно высокая степень СРО в мозге по сравнению с таковым в печени объясняется значительно большим содержанием в нем липидов как единственных субстратов окисления. Интенсивность течения процессов ПОЛ определяется по выходу МДА, образующего с тиобарбитуровой кислотой комплексное соединение типа розового хромогена, по изменениям экстинции которого при длине волны 535 нМ [15] судят о количественных сдвигах липидных перекисей. Содержание последних в мозговой, печеночной тканях и МЭ выражали в нМ на 1 мг белка, определенного по Лоури [16], с последующей обработкой полученных результатов методом вариационной статистики по критерию Стьюдента – Фишера.

Динамика интенсивности течения СРО липидов (в нМ МДА/мг белка) в головном мозге, печени и мембранах эритроцитов при отравлении CCl_4 и воздействии АФВК

Исследуемая ткань	Контроль (n = 10)	CCl_4 (n = 10)	CCl_4 + АФВК (n = 10)	Лечение с помощью АФВК 56 дней (n = 10)
Мозг	6.84±0.18	13.78±1.25 $P < 0.002$ + 201%*	7.04±0.33 $P < 0.001$ -49%**	6.55±0.27*** $P > 0.5$
Печень	5.96±0.20	17.00±1.65 $P < 0.002$ + 285%*	7.02±0.41 $P < 0.001$ -59%**	5.82±0.31*** $P > 0.25$
Мембраны эритроцитов	3.00±0.12	8.05±0.96 $P < 0.002$ + 260%*	3.25±0.18 $P < 0.001$ -60%**	2.88±0.09*** $P > 0.5$

Примечания: * – в сравнении с контролем; ** – в сравнении с группой, получавшей CCl_4 ; *** – в сравнении с группой, получавшей CCl_4 + АФВК.

Как показали результаты проведенных исследований, семикратная внутрибрюшинная инъекция CCl_4 значительно усиливает течение процессов СРО липидов в головном мозге, печени и МЭ.

Механизм токсического действия CCl_4 , по всей видимости, связан с его повреждающим действием через образование свободных радикалов, таких как CCl_3 и Cl^- , индуцирующих развитие СРО липидов с последующим повреждением клеточных мембран, в том числе и МЭ. Ингибирующий эффект АФВК на активность течения процессов перекисеобразования в мозговой ткани оказывается более демонстративным, чем в печени и МЭ.

Таким образом, во всех трех исследуемых биологических объектах уровень МДА у экспериментальных животных не достигает нормы в течение 28 дней. При дальнейшем удлинении сроков лечения с помощью АФВК уровень МДА к 56-му дню не только достигает нормы, но и устанавливается в пределах, уступающих исходным величинам.

Накопленный нами фактический экспериментальный материал проливает свет на имеющиеся в литературе указания [7] относительно существования обратно пропорциональной связи между содержанием антиоксидантов и скоростью течения процессов перекисеобразования.

¹Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА

²Ереванский государственный университет

В. Х. Мамиконян, О. М. Амирханян, Т. Е. Сеферян, Г. А. Гюлбудагян
Корректирующее действие антиоксидантного фактора косточек винограда на процесс свободнорадикального окисления при хроническом отравлении тетрахлорутлеродом

Исследовалось влияние антиоксидантных факторов виноградных косточек (АФВК) на процесс перекисного окисления липидов в норме и при хроническом CCL_4 -отравлении. Результаты исследований показали, что при отравлении, инициированном с помощью CCL_4 , наблюдается значительное активирование процесса свободнорадикального окисления липидов с параллельным увеличением выхода малонового диальдегида (МДА) в мозговой, печеночной тканях и мембранах эритроцитов. Одновременное введение в организм АФВК в течение всего периода отравления способствует поддержанию нормального уровня течения свободнорадикальных реакций.

Վ. Խ. Մամիկոնյան, Օ. Մ. Ամիրխանյան, Թ. Ե. Սեֆերյան, Գ. Ա. Գյուլբուդաղյան
Խաղողի կորիզների հակաօքսիդանտային գործոնի կարգավորիչ ազդեցությունը ազատ ռադիկալային գործընթացների վրա ածխածնի քառաքլորիդով թունավորումների ժամանակ

Ուսումնասիրվել է խաղողի կորիզների հակաօքսիդանտային գործոնի (ԽԿՆԳ) ազդեցությունը գերօքսիդացման գործընթացների վրա նորմայում և ածխածնի քառաքլորիդով (CCL_4) քրոնիկ թունավորումների ժամանակ: Արդյունքները ցույց են տվել, որ CCL_4 -ով թունավորման ժամանակ դիտվում է լիպիդների ազատ ռադիկալային օքսիդացման գործընթացների ակտիվացում՝ ուղեկցվելով մալոնային դիալդեհիդի պարունակության բարձրացմամբ ուղեղի, լյարդի հյուսվածքներում և էրիթրոցիտների թաղանթներում: ԽԿՆԳ-ի միաժամանակյա ներմուծումը նպաստում է ազատ ռադիկալային ռեակցիաների նորմալ մակարդակի պահպանմանը:

V. Kh. Mamikonyan, H. M. Amirkhanyan, T. E. Seferyan, G. A. Gyulbudaghyan
Correcting Action of Antioxidant Factor of Grape Seeds on Process of Peroxidation at Chronic Poisoning by Carbon Tetrachloride

The influence of antioxidant factor of grape seeds (AFGS) on process of peroxidation in norm and at a chronic poisoning by carbon tetrachloride (CCL_4) has been studied. The obtained results have shown that the initiation of poisoning is characterized by the significant activation of the free radical peroxidation of lipids inducing by qualitative increase of malonyl dialdehyde in brain, liver tissues and membranes of erythrocytes. The simultaneous introduction of AFGS to the organism during the all periods of the mentioned pathological states promotes the maintenance of a normal level of the current of free radical peroxidation.

Литература

1. Блюгер А.Ф., Майоре А.Я. - Биологические мембраны и патология клетки. Рига. 1986. С. 5-10.
2. Едоян А.Р. Специфика корректирующего действия сверхнизких доз факторов химической и физической природы при нарушениях метаболизма фосфолипидов у белых крыс с моделированным алоксаном сахарным диабетом. Канд. дис. Ереван. 2003. 145 с.
3. Karageuzyan K.G., Quinn P.J., Harutyunyan V.M., Sarkissian T.F., Arutyunyan R.M., Emerit I., Elbakyan G.V., Kazaryan K.A., Zohrabian L.S., Hakobian G.S., Simonyan M.A., Hovnanyan K.O., Manukyan Z.M., Kargeuzyan M.K. - 1st International Conference. Jerusalem. Israel. 1997. P. 17-19.
4. Карагезян К.Г., Овакимян С.С., Овсепян Л.М. - Тезисы. IV всесоюзн. биохим. съезда. Л. 1979. С. 101-102.
5. Переслегина И.А. Клинико-патогенетическое значение нарушений перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты организма при хроническом гастродуодените и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у детей. Автореф. докт. дис. 1991. С. 41.
6. Файззулина Р.А. - Педиатрия. 2002. N3. С. 44-48.
7. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М. Наука. 1975. 214 с.
8. Maestro Del R., Thaw H.H., Bjork J. et al. - Acta Physiol. Scand. 1980. V.110. Suppl. 492. P. 43-57.
9. Алексеева Н.В., Юрьева Э.А., Махачев Б.М. и др. Современные способы оценки процессов перекисидации в организме при заболеваниях у детей. Пособие для врачей, М. 2000.
10. Ланкин В.З. Свободнорадикальное окисление в норме и патологии. М. 1976. С. 108 -110.
11. Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Рахманин Ю.А. - Гигиена и санитария. 2003. N5. С. 58-61.
12. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф. - Вестник ДВО РАН. 2006. N2.
13. Xia J., Allenbrand B., Sun G.Y. - Life Sci. 1998. V. 63. N5. P. 383-390.
14. Закарян А.Е., Неркарарян А.В., Погосян Г.А., Айвазян Н.М. Биофизика свободнорадикальных процессов и мембранных структур. Ереван. Норк. 2003.
15. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М. Наука. 1972. 252 с.
16. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. М. Наука. 1975. 327 с.
17. Lowry O.H., Rozenbraugh J. et al. - Biol. Chem. 1951. V.193 (1). P. 265-275.