

БИОХИМИЯ

УДК 576.8.097-29 + 612.42 + 547.582.3 + 661.247

М. К. Карагезян, Г. Р. Вардапетян, академик К. Г. Карагезян

Нарушения процессов свободнорадикального окисления липидов в митохондриальной фракции головного мозга белых крыс при зеараленоновой интоксикации и корригирующее действие тиосульфата натрия на этом фоне

(Представлено 13/Х 2009)

Ключевые слова: *зеараленоновая интоксикация, свободнорадикальное окисление, митохондриальная фракция, тиосульфат натрия, перекиси липидов*

Зеараленовая интоксикация (ЗИ) у беспородных белых крыс сопровождается ярко выраженными деструктивными преобразованиями митохондриальной фракции головного мозга и параллельно развивающимися расстройствами метаболических процессов. Последние касаются, в частности, активирования процессов свободнорадикального окисления (СРО) липидов в неферментативной (аскорбатзависимой) и особенно ферментативной системе перекисеобразования с выходом значительных количеств продуктов перекисления — гидроперекисей (ГП) и малонового диальдегида (МДА).

В научной информации последних лет [1-8] отмечено вредоносное действие ЗИ на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях. Большой интерес представляет изучение особенностей действия ЗИ на процессы СРО полиеновых жирных кислот, высвобождающихся в значительных количествах при деацилировании фосфолипидов-глицеридов и интенсивно вовлекающихся в реакции перекисеобразования с выходом высоких концентраций ГП и МДА в различных биологических структурах, в том числе и в поверхностях раздела клеток и субклеточных образованиях [9]. В подобной постановке вопроса специального внимания заслуживает изучение особенностей токсического действия ЗИ на системы, катализирующие реакции митохондриального окисления и обеспечивающие дыхательную функцию клетки в целом через аккумуляцию и трансформацию в ней энергии [10,11].

При изучении специфики токсических эффектов ЗИ чрезвычайно важно использование наиболее эффективных детоксицирующих средств, среди которых особого внимания заслуживает тиосульфат натрия (ТСН). Исследование корригирующего действия ТСН как мощного синергиста эндогенного α -токоферола — одного из основных составляющих системы антирадикальной защиты клетки в условиях СРО липидов [12] является целью настоящей статьи.

Исследования проводились на 20 беспородных белых крысах-самцах массой 180-200 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животные обезглавливались под легким эфирным наркозом. Изоляцию головного мозга, его декапсулирование, очистку от кровеносных сосудов и получение митохондриальной фракции (МХФ) проводили методом дифференциального центрифугирования [13] на холоду в максимально ограниченные промежутки времени. О содержании липидных перекисей судили по интенсивности окрашивания образуемых ими комплексов [14]. Для ГП основанием служило их окисляющее действие на Fe^{2+} , переходящий в Fe^{3+} и образующий с тиоцианатом аммония комплексное соединение, окрашивающееся в малиновый цвет. Измерение оптической плотности интенсивности окрашивания этого соединения при максимуме поглощения E_{480} и являлось показателем среднего количественного содержания ГП в данном биологическом материале. Количественное определение МДА основывалось на его взаимодействии с тиобарбитуровой кислотой с образованием триметинового комплекса в виде розового хромогена с максимальным поглощением при E_{532} . Молярный коэффициент экстинкции этого комплекса $\varepsilon = 1.56 \times 10^5$, см^{-1} , M^{-1} . Количественное содержание продуктов перекисления липидов в обоих случаях рассчитывалось на 1 мг предварительно определенного количества белка [15] в виде $E_{480}/\text{мг}$ белка и $E_{532}/\text{мг}$ белка для ГП и МДА соответственно.

Как вытекает из полученного фактического материала, основной механизм вредоносного действия ЗИ скрывается в чрезмерной интенсификации процессов СРО липидов в МХФ мозговой ткани экспериментальных животных (табл. 1). Прямым подтверждением имеющего при этом место деацилирования фосфолипидов-глицеридов под действием максимально активировавшейся фосфолипазы A_2 с образованием значительных концентраций неэстерифицированных жирных кислот полиенового ряда является их интенсивное вовлечение в качестве субстратов окисления в реакции СРО с образованием высоких концентраций промежуточных и конечных продуктов перекисления в виде ГП и МДА.

Из приведенных данных становится очевидным, что токсические эффекты ЗИ характеризуются ярко выраженным активированием реакций

перекисеобразования, особенно в ферментативной (NADPH-зависимой) и в меньшей степени неферментативной (аскорбатзависимой) системе перекисления липидов.

Примечательно, что интенсивность образования ГП наиболее отчетливо проявляется через 72 ч после ЗИ, несколько доминируя над динамикой формирования МДА в неферментативной системе окисления.

Таблица 1

Сдвиги содержания ГП (E_{480} /мг белка) и МДА (нМ/мг белка) в митохондриальной фракции головного мозга белых крыс в ферментативной и неферментативной системах перекисления липидов в контроле (К) и через 30-40 мин (1), 24 ч (2), 48 ч (3) и 72 ч (4) после выработки ЗИ

Показатели	Ферментативная система окисления								
	К	1	% разницы от К	2	% разницы от К	3	% разницы от К	4	% разницы от К
ГП	0.51 ± 0.03	0.99 ± 0.05^a	+94.0	1.12 ± 0.07^a	+120.0	1.27 ± 0.10^a	+149.0	1.33 ± 0.09^a	+161.0
МДА	2.02 ± 0.07	4.67 ± 0.06^a	+131.0	4.81 ± 0.09^a	+138.1	4.99 ± 1.03^a	+147.0	5.27 ± 1.09^a	+161.0
	Неферментативная система окисления								
ГП	0.75 ± 0.03	1.25 ± 0.05^a	+67.0	1.36 ± 0.05^a	+81.0	1.43 ± 0.07^a	+91.0	1.51 ± 0.07^a	+101.0
МДА	4.21 ± 0.09	6.42 ± 0.11^a	+52.0	6.55 ± 0.17^a	+56.0	6.69 ± 0.19^a	+59.0	7.07 ± 0.21^a	+68.0

Примечание: $n = 12$; $a - P < 0.001$.

Прогрессирование отмеченных нарушений, наблюдающееся по истечении даже 72 ч после ЗИ, прерывается начиная уже с 30-40 мин после однократного внутримышечного введения 1 мл 10% р-ра ТСН на фоне ЗИ (табл. 2).

В наибольшей степени детоксицирующее действие этого физиологически активного соединения проявляется в виде нормализации интенсивности течения процессов СРО липидов в МХФ мозговой ткани, когда на фоне 30-40 мин ЗИ применение ТСН сопровождалось ярко выраженным нивелированием явлений интоксикации.

Антиоксидантное действие ТСН проявлялось в еще более выраженной форме в последующие 24, 48 и 72 ч после его однократной внутримышечной инъекции в примененной дозировке как в неферментативной, так и особенно ферментативной системах окисления.

Следует заметить, что в первой из них абсолютные уровни ГП и МДА как в контроле, так и на всем протяжении эксперимента оказывались доминирующими. Примечательно, что при одном только изолированном введении ТСН интактным животным его стабилизирующий эффект оказывался наиболее демонстративным и отчетливо проявлялся в отношении изучаемых продуктов СРО липидов. Более того, когда ЗИ вырабатывалась на фоне предварительно введенного ТСН, наблюдалось полное отсутствие характерных для ее токсического действия негативных проявлений в уровне продуктов перекисления липидов в обеих системах СРО липидов (табл. 3).

Таблица 2

Сдвиги содержания ГП (E_{480} /мг белка) и МДА (нМ/мг белка) в митохондриальной фракции головного мозга белых крыс в ферментативной и неферментативной системах перекисления липидов в контроле (К) и через 30-40 мин после выработки ЗИ (1) и спустя 30-40 мин (2), 24 ч (3), 48 ч (4) и 72 ч (5) после инъекции ТСН на этом фоне

По- ка- за- те- ли	Ферментативная система окисления											
	К	1	% раз- ницы от К	2	% раз- ницы от К	3	% раз- ницы от К	4	% раз- ницы от К	5	% раз- ницы от К	
ГП	0.60 ± 0.03	1.12 ± 0.05^a	+87.0	0.93 ± 0.04^a	+55.0	0.81 ± 0.03^b	+35.0	0.68 ± 0.03^c	+13.0	0.68 ± 0.03^c	+5.0	
МДА	2.12 ± 0.07	4.79 ± 0.05^a	+126.0	3.93 ± 0.05^a	+85.0	3.00 ± 0.04^b	+42.0	2.41 ± 0.07^c	+14.0	2.41 ± 0.07^c	+8.0	
	Неферментативная система окисления											
ГП	0.81 ± 0.03	1.39 ± 0.06^a	+72.0	1.11 ± 0.05^a	+37.0	1.00 ± 0.04^b	+23.0	0.83 ± 0.03^c	+2.0	0.83 ± 0.03^c	-1.0	
МДА	4.33 ± 0.09	6.59 ± 0.08^a	+52.0	5.51 ± 0.07^a	+27.0	5.00 ± 0.07^b	+15.0	4.60 ± 0.08^c	+6.0	4.60 ± 0.08^c	+4.0	

Примечание: $n = 12$; $a - P < 0.001$, $b - P < 0.01$, $c - P < 0.5$.

Таким образом, установленные нами закономерности в процессах перекисеобразования при ЗИ выявили их патогенетическую роль в формировании характерных для действия пищевых ядов грибкового происхождения нарушений процессов метаболизма соединений липидной природы, ответственных за регуляцию клеточной активности в норме и патологии.

Однократное внутримышечное введение 1 мл 10% р-ра ТСН является надежным гарантом нивелирования токсического воздействия ЗИ на изучаемые процессы перекисеобразования, особенно при предварительном его введении перед ЗИ.

Таблица 3

Сдвиги содержания ГП (E_{480} /мг белка) и МДА (нМ/мг белка) в митохондриальной фракции головного мозга белых крыс в ферментативной и неферментативной системах перекисления липидов в контроле (К) через 30-40 мин после однократного внутримышечного введения 1 мл 10% раствора ТСН (1) и выработки на этом фоне ЗИ в течение 30-40 мин (2), 24 ч (3), 48 ч (4) и 72 ч (5)

По- ка- за- те- ли	Ферментативная система окисления										
	К	1	% раз- ницы от К	2	% раз- ницы от К	3	% раз- ницы от К	4	% раз- ницы от К	5	% раз- ницы от К
ГП	0.55 ± 0.03	0.58 ± 0.04^c	+5.0	0.55 ± 0.04^c	0	0.57 ± 0.03^c	+ 4.0	0.56 ± 0.03^c	+ 2.0	0.56 ± 0.03^c	+ 2.0
МДА	2.19 ± 0.06	2.21 ± 0.07^c	+1.0	2.20 ± 0.06^c	0	2.17 ± 0.06^c	-1.0	2.20 ± 0.06^c	+0.1	2.21 ± 0.06^c	+1.0
	Неферментативная система окисления										
ГП	0.77 ± 0.03	0.72 ± 0.03^c	-6.0	0.74 ± 0.03^c	-4.0	0.79 ± 0.04^c	+3.0	0.73 ± 0.04^c	5.0	0.76 ± 0.04^c	-1.0
МДА	4.09 ± 0.08	4.11 ± 0.08^c	0	4.14 ± 0.07^c	+1.0	4.14 ± 0.07^c	+1.0	4.14 ± 0.07^c	+1.0	4.10 ± 0.07^c	0

Примечание: $n = 12$; $c - P > 0.5$.

Это объясняется, с одной стороны, участием ТСН в поддержании гидроксипроизводной α -токоферола, являющейся единственно активной в осуществлении антиоксидантного эффекта, а с другой — его ролью в качестве поставщика свободной серы, необходимой для биосинтеза ферментных систем антирадикальной защиты клетки и восстановленного глутатиона.

Научно-технологический центр органической
и фармацевтической химии НАН РА
Российско-Армянский (Славянский) университет

Մ. Կ. Կարաгезյան, Գ. Ք. Կարաгезյան, ակադեմիկ Կ. Գ. Կարաгезյան

Нарушения процессов свободнорадикального окисления липидов в митохондриальной фракции головного мозга белых крыс при зеараленоновой интоксикации и корригирующее действие тиосульфата натрия на этом фоне

Согласно полученным результатам зеараленоновая интоксикация у беспородных белых крыс сопровождается ярко выраженными деструктивными преобразованиями митохондриальной фракции головного мозга и параллельно развивающимися расстройствами метаболических процессов. Последние касаются, в частности, активирования в ней процессов свободнорадикального окисления липидов в неферментативной (аскорбатзависимой) и особенно в ферментативной системе перекисеобразования с выходом значительных количеств продуктов переокисления — гидроперекисей и малонового диальдегида. Применение тиосульфата натрия на фоне зеараленоновой интоксикации характеризуется проявлением свойств нормализующего агента антиоксидантного действия, выступающего в качестве мощного нейтрализующего активного начала, нивелирующего токсические эффекты изучаемого яда, однократно введенного внутривенно на фоне предварительно инъецированного 1 мл 10% раствора тиосульфата натрия.

Մ. Կ. Կարաгезյան, Գ. Ք. Կարաгезյան, ակադեմիկ Կ. Գ. Կարաгезյան

Սպիրակ առնետների գեարալենոնային թունավորումների ժամանակ ճարպերի ազարոադիկալային պրոցեսների խանգարումները գլխուղեղի միտոքոնդրիալ ֆրակցիայում եւ նարրիումի փոսուլֆատի կարգավորիչ դերը այդ պայմաններում

Նամաձայն սրացված արդյունքների՝ գեարալենոնային թունավորումները սպիրակ առնետների մոտ պայմանավորված են գլխուղեղի միտոքոնդրիալ ֆրակցիայի վառ արքահայրված դեսարուկրիվ խանգարումներով: Վերջիններս գուգորդվում են մեարաբուիկ գործընթացների խախտումներով, մասնավորապես ազարոադիկալային գործընթացների ակրիվացմամբ ինչպես ոչ ֆերմենտարիվ (ասկորբատ կախյալ) եւ առավելապես ֆերմենտարիվ համակարգում: Նշվածի հեարեանքով րեղի է ունենում հիդրոգերոքսիդների եւ մալոնային դիալդեհիդի քանակների զգալի աճ: Նարրիումի փոսուլֆատի 1մլ 10% լուծույթի միանվազ ներմկանային ներարկումը գեարալենոնային թունավորումների պայմաններում ցուցաբերում է վառ արքահայրված հակաօքսիդանրային ակրիվություն, դրսեւորելով թունավորման հեարեանքների կանխարգելող գործոն՝ առավել եւս եթե այն ներ է մուծվում օրգանիզմի թունավորումից առաջ:

M. K. Karagyozyan, H. R. Vardapetyan, academician K. G. Karageuzyan

Peculiarities of the Free Radical Peroxidations Disorders in the Mitochondrial Fraction of Rat Brain under the Conditions of Zearalenon Intoxication and Correcting Action of Sodium Thiosulfate on this Background

According to the data obtained zearalenon intoxication of experimental rats is accompanied by the significant destruction of mitochondrial fraction of the brain with the simultaneous metabolic disorders. These abnormalities are characterized by the significant intensification of the free radical peroxidation processes both in the nonenzymatic (acerbate-depended) and especially in enzymatic systems of peroxide formation. These processes are accompanied with the formation of high quantities of hydroperoxides and malonil dialdehyde. Only one intramuscular administration of 1 ml of 10% solution of sodium tyosulphate as a factor with pronounced antitoxic antioxidant properties is characterized by neutralization of zearalenon-conditioned toxic effects. The prevention of lathers is more demonstrative on the background of sodium tyosulphate administrated previously.

Литература

1. *Карагезян М.К.* - Intern. Journal on Immunorehabilitation. 1999. N 12. P. 134.
2. *Карагезян М.К.* - Укр. биохим. ж. 2000. Т. 72. N 3. С. 77-81.
3. *Карагезян М.К.* - Third Conf. of the Armenian Intern. Brain Research Organization (IBRO) Assoc. Yerevan. 2000. P. 41-42.
4. *Карагезян М.К.* - 6-ой съезд Арм. физиол. о-ва. Ереван. 2001. С. 120-122.
5. *Карагезян М.К.* - J. of Neurochem. Perugia. Italy. 2001. V. 77. S. 1. P. 34-36.
6. *Карагезян М.К.* - Современные аспекты реабилитации в медицине, Материалы I Межд. конф. Ереван. 2003. С. 173.
7. *Карагезян М.К., Карагезуян К.Г., Симонян М.А., Вояжян А.С.* In: Molecular Mechanism of Neurodegeneration. Milan. 2003. P. 47.
8. *Карагезян М.К.* В кн.: Биоантиоксидант. М. Изд. РАН. 2006. С. 148-149.
9. *Крепс Е.М.* Липиды клеточных мембран. 1981. Л. Наука. 340 с.
10. *Скулачев В.П.* Аккумуляция энергии в клетке. 1969. М. Наука. 440 с.
11. *Скулачев В.П.* Трансформация энергии в биомембранах. 1972. М. Наука. 203 с.
12. *Ерин А.Н., Спирин А.Ф., Набидзе Л.В., Каган В.Е.* - Биохимия. 1983. Т. 48. С. 1855-1861.
13. *Ерин А.Н., Скрыпин В.И., Каган В.Е.* - ДАН СССР. 1983. Т. 273. С. 489-493.
14. *Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И., Козлов А.В.* - Свободные радикалы в живых системах. Итоги науки и техн. ВИНТИ. 1991. Т. 29. С. 126-130.
15. *Lowry D.H., Rozenbough N.J., Farr A.L., Rahdall R.J.* - J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265-269.