

БИОХИМИЯ

УДК 541.427.7+678.046.7+547.953+612.432+616.853+616.8-009.12

С. С. Овакимян

**Особенности корригирующего эффекта нового синтетического
препарата антиконвульсивного действия сакрицина при расстройствах
метаболизма фосфолипидов в мозговой ткани белых крыс с
модулированными коразолом эпилептиформными судорогами***

(Представлено академиком К.Г. Карагезяном 6/XI 2009)

Ключевые слова: *сакрицин, коразоловые припадки, метаболизм фосфолипидов, малоновый диальдегид, α -токоферол, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза*

Эпилептический разряд, формирующийся в клетках ЦНС, сопровождается их неминуемыми расстройствами. Это касается главным образом функциональной активности клеточных мембран, обусловленной многообразием нарушений качественно-количественного состава локализованных здесь фосфолипидов (ФЛ) различных категорий, сочетание которых с мембраносвязанными белками и углеводами является основой формирования единой системы, ответственной за обеспечение физиологического статуса нейронального аппарата [1,2].

В настоящей статье рассмотрены особенности метаболических расстройств ФЛ в различные периоды развития судорожной реакции организма. Из существующих средств антисудорожного действия как одно из наиболее эффективных отобран сакрицин, являющийся производным полициклической карбоновой кислоты.

Изучены особенности метаболических нарушений ФЛ и ФЛ – ФЛ соотношений в общемозговом гомогенате белых крыс в различные периоды развития у них коразол-индуцированных эпилептиформных судорог и их корригирования под действием сакрицина на этом фоне.

*эл. вариант

Объектом исследования служила модель коразол-индуцированных судорог, выработанная на 20 белых крысах-самцах массой 180-200 г путем однократного внутривентриального введения коразола в дозе 45 мг/кг массы тела. Аналогично производилась и дача сакрицина в дозе 600 мг/кг массы тела.

Симптомокомплекс патогенетических проявлений изучаемого болезненного состояния характеризовался глубиной функциональных расстройств активности мембраносвязанных ферментов [3], числом рецепторов [4], действием нейротрансмиттеров с вероятным гидролизом фосфатидинозитов (ФИ) основных транспортеров нервных импульсов, выступающих в роли поставщиков ФИ, и диглицеридов как вторичных мессенджеров [5,6], ответственных за обеспечение функциональной активности клетки.

Животных декапитировали под легким эфирным наркозом через 2 мин после введения коразола (предсудорожный период), через 6-10 мин (стадия генерализованной судороги) и через 60 мин после введения сакрицина. Об интенсивности течения свободнорадикального окисления (СРО) липидов судили по выходу образовавшегося конечного продукта – малонового диальдегида (МДА) в общемозговом гомогенате как в ферментативной – NADPH-, так и неферментативной – аскорбатзависимой системах перекисления. Адекватность интенсивности развития цветного окрашивания комплексного соединения МДА с тиобарбитуровой кислотой регистрировали спектрофотометрически при длине волны 535 нМ [7] и выражали в нМ/мг белка.

Количественное содержание свободного α -токоферола (α -Т) в исследуемой ткани определяли в мг% на флюоресцентном спектрофотометре (Hitachi, модель MRGAA) при максимумах возбуждения (295 нМ) и флюоресценции (330 нМ).

Активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы определяли в % по методике Бартлея [8].

Экстракцию нейтральных и кислых ФЛ (НФЛ и КФЛ соответственно) из общемозгового гомогената производили по Фолчу [9] в модификации Карагезяна [10]. Фракционирование индивидуальных представителей НФЛ: фосфатидилхолинов (ФХ), лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), сфингомиелинов (СФМ) и фосфатидилэтанолламинов (ФЭ), и КФЛ: монофосфоинозитидов (МФИ), фосфатидилсеринов (ФС), кардиолипинов (КЛ) и фосфатидных кислот (ФК) проводили методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля (пластинки "МЕРК", Германия) с использованием системы растворителей – хлороформ : метанол : аммиак (в объемных соотношениях 65:35:5). Пятна ФЛ, окрашивающиеся в желтый цвет при

выдерживании пластинок в среде, насыщенной парами йода, идентифицировали с помощью соответствующих свидетелей (фирма "СИГМА", США). Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде концентрированных азотной и серной кислот, а его количество выражали в мкг/мг ацетонового порошка общемозгового гомогената [10].

Как явствует из таблицы, закономерности, отмеченные во взаимотрансформации между отдельными представителями НФЛ и КФЛ, их суммы (СНФЛ и СКФЛ соответственно), суммы всех ФЛ (СФЛ), а также коэффициент (К) отношения СНФЛ к СКФЛ ($K = \text{СНФЛ} / \text{СКФЛ}$) обусловлены качественно-количественными сдвигами в филогенетически стабилизированном постоянстве ФЛ-ФЛ соотношений [1] как основного условия в обеспечении физиологической активности ЦНС. Согласно результатам проведенных исследований это главным образом проявилось со стороны холинсодержащих ФЛ – ФХ и ЛФХ.

Выявленные изменения фракционного состава ФЛ на относительно стабильном фоне суммы изучаемых соединений подтверждают важность филогенетически стабилизированного постоянства качественного и количественного спектров ФЛ в ЦНС как одного из основных условий обеспечения физиологического статуса ее функциональной активности. Увеличение содержания ФС в общемозговом гомогенате на фоне коразоловых приступов мы склонны объяснить активированием обратимо функционирующей ФС-декарбоксилазы, катализирующей реакции взаимопревращений ФЭ и ФС [11]. Особого внимания заслуживает перманентность взаимосвязи и взаимообусловленности на фоне коразоловых припадков между процессами образования как ФС из ФХ через промежуточный этап формирования ФЭ, так и образования высоких концентраций ЛФХ как продукта деацилирования ФХ. Освобождающиеся при этом большие количества жирных кислот (ЖК) полиенового ряда активно вовлекаются в реакции СРО, сопровождающиеся выходом чувствительных концентраций продуктов перекисления, обладающих мощным мембранотоксическим, мембранолитическим действием. Наряду с этим известно также об относительно низком, но вполне определенном строго лимитированном стационарном уровне интенсивности течения процессов перекисления в нормально метаболизирующих тканях [7], нарушающемся при перенапряжениях функциональной активности организма и в большей степени при его экстремальных и патологических состояниях [12]. Значительный интерес при этом представляет образование конечного продукта СРО липидов – МДА.

В предсудорожном периоде содержание МДА в ферментативной системе окисления в общемозговом гомогенате претерпевает статистически досто-

верное увеличение, еще более обостряющееся во время приступа (рис. 1). В аскорбатзависимой системе перекисления колебания активности перекисеобразовательного процесса не являются статистически достоверными по сравнению с контролем. На фоне сакрицинового действия отмечается ярко проявляющаяся нормализация выхода МДА в обеих системах перекисления ЖК, что постоянно контролируется со стороны соответствующих регуляторных механизмов клеточного аппарата возбужденного организма и устанавливается в пределах допустимых норм физиологически функционирующих звеньев ЦНС.

Результаты как ранее проведенных [13,14], так и настоящих исследований специфики перекисеобразовательного процесса на разных этапах развития изучаемого болезненного состояния оказываются максимально адекватными и свидетельствуют о качественных и количественных нарушениях в содержании тотальных, кислых и нейтральных ФЛ, выступающих в роли основных поставщиков неэстерифицированных ЖК как субстратов, активно вовлекающихся в реакции СРО липидов.

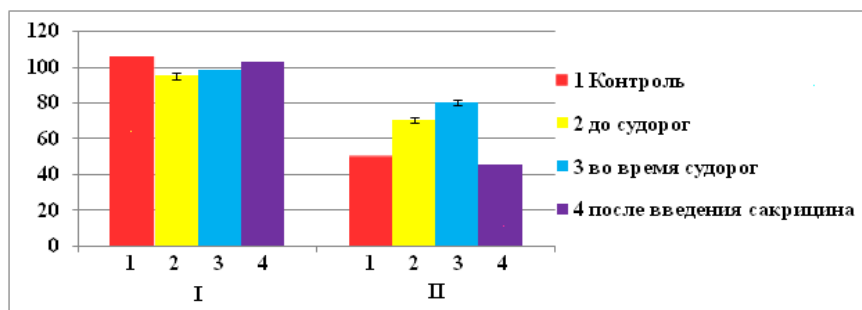


Рис. 1. Особенности изменения аскорбатзависимого (I) и NADPH-зависимого (II) процессов перекисеобразования (по выходу МДА в нМ/мг белка) в общемозговом гомогенате белых крыс в различные периоды развития коразоловых судорог и после введения сакрицина на этом фоне.

Как известно, многие экстремальные и патологические состояния организма, а также чрезмерное перенапряжение его физиологической активности сопровождаются существенными срывами в системе регуляции и ферментативных систем антирадикальной защиты клетки, ответственных, в частности, за обеспечение перманентного статуса балансирования между окисленной и восстановленной формами глутатиона. Нами прослежена динамика изменений глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, а также количественного содержания α -Т в общемозговом гомогенате белых крыс при коразол-индуцированных припадках и действии сакрицина на этом фоне.

Период развития коразоловых припадков характеризуется незначительным повышением активности глутатионпероксидазы, сменяющимся ее резким падением во время судорог (рис. 2). Спустя 60 мин после введения сакрицина

отмечается отчетливо проявляющаяся нормализация активности фермента. Таким образом, несколько повышенный фон активности глутатионпероксидазы в предприступный период быстро сменяется на значительное его понижение во время приступа и полнейшее корригирование на фоне действия сакрицина.

Несколько иные сдвиги были зарегистрированы в динамике активности глутатионредуктазы, катализирующей процесс образования восстановленной формы глутатиона. Как явствует из рис. 2, в период назревания судорожного приступа активность глутатионредуктазы в общемозговом гомогенате почти вдвое превышает таковую у практически интактных животных. С развитием судорожных припадков активность фермента резко падает, отчетливо восстанавливаясь под влиянием сакрицина.

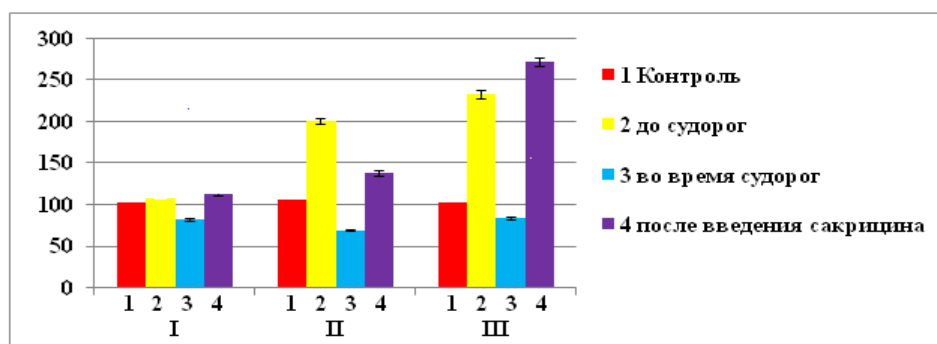


Рис. 2. Особенности изменения активности глутатионпероксидазы (I), глутатионредуктазы (II) и количественного содержания α -Т (III) в общемозговом гомогенате белых крыс в различные периоды развития коразоловых судорог (в %) и после введения сакрицина на этом фоне.

Как видно из рис. 2, дефицит содержания α -Т в общемозговом гомогенате в период коразоловых судорог колеблется в пределах 25% от исходного уровня, превышая его в предсудорожной стадии почти вдвое и оставаясь в условиях действия сакрицина на том же уровне.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об активировании при эпилептическом припадке процессов антирадикальной защиты клетки. При этом чрезмерная генерация активных форм кислорода, выступающих в роли контрмеханизмов, препятствует максимальному проявлению антиоксидантных возможностей организма в экстремальных условиях.

Полученный нами фактический материал свидетельствует об исключительно высокой терапевтической эффективности сакрицина как мощного противосудорожного препарата. Молекулярный механизм нормализующего действия этого физиологически активного соединения в чувствительной степени реализуется через системы, регулирующие реакции тканевых превращений ФЛ различных категорий, главным образом мембраносвязанных,

и процессы СРО. Лимитирующее влияние сакрицина на процессы перекисеобразования, сопровождающиеся образованием различных токсических продуктов, обладающих мембранотоксическим и мембранолитическим действием, характеризует его как эффективное средство протекторного действия, принимающего активное участие в стабилизации эндогенной системы антирадикальной защиты клетки.

Научно-технологический центр органической
и фармацевтической химии НАН РА

С. С. Овакимян

Особенности корректирующего эффекта нового синтетического препарата антиконвульсивного действия сакрицина при расстройствах метаболизма фосфолипидов в мозговой ткани белых крыс с модулированными коразолом эпилептиформными судорогами

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о чувствительном нарушении процессов метаболизма фосфолипидов различных категорий, фосфолипид-фосфолипидных соотношений и интенсивности течения процессов свободнорадикального окисления липидов в мозговой ткани белых крыс с модулированными коразолом эпилептиформными припадками. Применение на этом фоне вновь синтезированного физиологически активного соединения сакрицина корректирует вышеназванные расстройства липидного обмена в мозговой ткани, способствуя восстановлению функциональной активности ЦНС.

Ս. Ս. Նովակիմյան

Նակակոնվուսիվ ակտիվությանը օժտված "սակրիցին" կոչվող նոր սինթետիկ նյութի կարգավորիչ ազդեցության առանձնահատկությունները գլխուղեղի հոմոգենատում տեղի ունեցող ֆոսֆոլիպիդային փոխանակության խանգարումների ժամանակ սպիրակ առներների մոդ կորագրով առաջացված էպիլեպտիկանման ցնցումների պայմաններում

Յույց է տրված, որ առներների մոդ կորագրով առաջացված էպիլեպտիկանման նախացնցումային և ցնցումային փուլերում գլխուղեղում զարգացող ֆունկցիոնալ վիճակները զուգորդվում են այնպիսի ֆոսֆոլիպիդների որակաքանակական, ֆոսֆոլիպիդ-ֆոսֆոլիպիդային փոխհարաբերակցության, ինչպես նաև ազատռադիկալային գործընթացների խիստ արտահայտված խանգարումներով: Սակրիցինի ազդեցության ներքո արձանագրվում է վերոնշյալ

խանգարումների կանոնավորման փաստ, որը վկայում է նշված ֆիզիոլոգիապես ակտիվ միացության բարձր թերապևտիկ արդյունավետության մասին:

S. S. Hovakimyan

Peculiarities of Normalizing Action of Sacricine, a New Synthetic Compound with Anticonvulsion Action on Phospholipids Metabolism Disorders in Brain Tissue of Rats with Corasol-Induced Epileptic Seazors

The data obtained have shown that disease mentioned is accompanied by significant disorders of phospholipids metabolism, phospholipid-phospholipid interrelations and free radical peroxidation of lipids in brain tissue of rats with corasol-induced epilepsy. Using of sacricine, the new physiologically active compound on this background is characterized by normalization of all disorders mentioned in brain tissue of animals.

Литература

1. *Крепс Е.М.* Липиды клеточных мембран. Л. Наука. 1981. 330 с.
2. *Карагезян К.Г.* Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван. Айастан. 1972. 267 с.
3. *Глебов Р.Н., Крижановский Т.Н.* - Успехи физиол. наук. 1983. Т. 14. N 1. С. 102-119.
4. *Ханбабян М.В.* Норадренергические механизмы мозга. Л. Наука. 1981. 124 с.
5. *Тадевосян Ю.В., Карагезян К.Г., Батикян Т.Б.* - ДАН СССР. 1997. Т. 295. N 5. С. 1254-1257.
6. *Agranoff B.W.* Inositol lipids Cell. Sig. Banburg meet. New York. 1987. P. 169.
7. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М. Наука. 1972. 252 с.
8. *Pinto R.E., Barley W.* - Biochem. J. 1969. V. 112. P. 100115.
9. *Folch J., Lees M., Sloane-Stane G.* - J. Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497-509.
10. *Зубер В.А.* В сб.: Методы биохимических исследований. Изд. ЛГУ. 1982. С.19-22.
11. *Gurr M.J., Janes A.T.* - An Introduction. 1975. N 7. P. 244.
12. *Rehncrona S.* - Med. Voil. 1984. V. 62. N 2. P. 122-124.
13. *Карагезян К.Г., Симонян Л.А., Овсепян Л.М., Симонян А.А.* - ДНАН Армении. 2004. Т. 104. N 4. С. 349-354.
14. *Симонян Л.А.* Молекулярные механизмы нарушений тканевого метаболизма при коразол-индуцированных эпилептиформных припадках у больных крыс, пути их нивелирования и коррекции. Автореф. канд. дис. Ереван. 2005. 25 с.
15. *Grossmann A., Wendel A.* - Eur. J. Biochem. 1983. V. 135. N 3. P. 549 - 552.