

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ КОРРЕКЦИИ СВОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ ПОЛЛЮТАНТОВ

© 2011 М.В. Мажитова

Астраханский государственный университет

Поступила в редакцию 04.10.2011

Окислительный стресс является неспецифической реакцией организма на любое воздействие, в том числе и токсической природы. Наиболее уязвимой структурой при отравлениях серосодержащим газом является центральная нервная система (ЦНС). Ее неоднородность позволяет предположить разную степень устойчивости к воздействию токсиканта. В данной работе изучено хроническое влияние природного газа Астраханского месторождения на свободнорадикальные процессы в разных отделах центральной нервной системы самцов и самок белых крыс двух возрастных групп. Показано положительное влияние антиоксидантов  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина на изучаемые показатели в условиях хронического воздействия серосодержащего газа Астраханского месторождения.

Ключевые слова: свободные радикалы, мозг, перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков, антиоксиданты

При действии на организм человека и животных различных чужеродных веществ происходит интенсификация образования свободных радикалов, активных форм кислорода и перекисей липидов, которые могут участвовать в окислительной деградации разных компонентов клеток. Хотя повреждения биомолекул наблюдаются во всех органах, устойчивость отдельных клеток и тканей к таким повреждениям разная. Учитывая важность поддержания функций ЦНС для правильной работы всего организма в целом, а также чувствительность клеток мозга к недостатку кислорода, который сопровождает многие патологические процессы, в том числе токсикогенной природы, своевременное применение антиоксидантов способно предотвратить или сгладить последствия сероводородной интоксикации. Серосодержащий газ Астраханского месторождения (ССГ) обладает широким спектром токсического воздействия на организм.

**Цель работы:** исследовать возможность антиоксидантной коррекции свободнорадикальных процессов в разных отделах центральной нервной системы белых крыс разного пола и возраста при хроническом воздействии серосодержащими поллютантами.

Для достижения поставленной цели группы животных были сформированы по половому и возрастному признакам: самцы и самки 6-ти месячного и 24-х месячного возраста, а также по

типу воздействия: 1 – контрольные группы животных (без воздействия); 2 – крысы, получавшие ингаляторно ССГ в концентрациях 150 мг/м<sup>3</sup> по сероводороду в течение 6 недель по 4 часа в день (понедельник – пятница); 3 – крысы, получавшие на фоне ССГ  $\alpha$ -токоферол в дозе 1 мг/100 г массы тела (per os); 4 – крысы, получавшие на фоне ССГ водный раствор эмоксипина (0,5 мг/100 г массы тела, внутримышечно). Животные содержались в условиях вивария на стандартном рационе при свободном доступе к воде и пище. Декапитацию животных производили после наркотизации этаминалом натрия (5 мг/100 г массы тела). Объектами исследования служили большие полушария, промежуточный, средний мозг, мозжечок, продолговатый и спинной мозг. Гомогенаты из ткани готовили на фосфатном буферном растворе (рН 7,45). Спектрофотометрически определяли уровень свободнорадикальных процессов: перекисное окисление липидов (ПОЛ) по уровню ТБК-реактивных продуктов (ТБК-рп), скоростям спонтанного (сп.ПОЛ) и аскорбатзависимого (аскПОЛ) процессов [2], а также по состоянию окислительной модификации белков (ОМБ) [1]. Достоверность различий двух средних или относительных величин определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Все работы с лабораторными крысами проводили в соответствии с принципами биоэтики согласно принципам гуманного отношения к животным (Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, 1993) и правилам лабораторной практики (Правила лабораторной практики в РФ, 2003).

Мажитова Марина Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры неорганической и биоорганической химии. E-mail: marinamazhitova@yandex.ru

Полученные результаты свидетельствуют об изменении уровня свободнорадикального окисления (СРО) на фоне хронического воздействия, которое проявилось в неодинаковой степени в разных отделах ЦНС. В больших полушариях на фоне хронического воздействия произошло накопление ОМБ у животных разного пола и возраста, увеличение скорости спонтанного ПОЛ лишь у молодых самцов ( $P < 0,05$ ). В промежуточном мозге окислительная провокация ССГ привела к усилению сп.ПОЛ ( $P < 0,05$ ), ОМБ ( $P < 0,05$ ) и снижению аск.ПОЛ ( $P < 0,05$ ) у молодых самцов. У молодых самок достоверно снизилась скорость спонтанного ПОЛ ( $P < 0,05$ ), увеличился уровень ОМБ ( $P < 0,05$ ). В среднем мозге под действием стрессора у молодых животных несмотря на повышение сп.ПОЛ у самцов ( $P < 0,05$ ) и уровня ТБК-рп у самок ( $P < 0,05$ ), скорость аск.ПОЛ значимо снижается, причем у самцов более резко. Однако о напряжении антиоксидантной системы среднего мозга говорит факт повышения уровня ОМБ почти в 2 раза у молодых самцов, 1,7 раза – у молодых самок. В мозжечке хронические ингаляции ССГ вызвали увеличение уровня ТБК-рп, сп.ПОЛ, ОМБ у молодых самцов. У самок того же возраста изменения оказались менее выраженными, чем у самцов и проявились в снижении скорости спонтанного ПОЛ, но в усилении уровня ОМБ. Изменения уровня СРО в продолговатом мозге в ответ на действие ССГ имеет схожие черты с изменениями, происходящими в ткани среднего мозга. Однако у молодых самцов в продолговатом мозге помимо кинетических показателей изменился уровень ТБК-рп ( $P < 0,05$ ) в сторону увеличения. В спинном мозге молодых самцов на фоне хронического воздействия газообразного поллютанта отмечено увеличение уровня ТБК-рп, снижение скорости индуцированного ПОЛ. У самок того же возраста данное воздействие привело к снижению уровня ТБК-рп, скорости спонтанного ПОЛ.

В больших полушариях введение  $\alpha$ -токоферола на фоне хронического воздействия вызвало усиление ПОЛ у молодых самок. У молодых самцов и старых крыс обоего пола витамин Е снизил некоторые показатели ПОЛ по сравнению с опытной группой. Эмоксипин в отличие от  $\alpha$ -токоферола вызвал усиление перекисидации липидов у молодых самцов, которое проявилось в увеличении уровня ТБК-рп в 1,5 раза ( $P < 0,05$ ), но скорости спонтанного и индуцированного процесса снизились. Окислительная модификация белков под влиянием обоих антиоксидантов значимо снизилась во всех группах животных. В промежуточном мозге молодых животных введение антиоксидантов на фоне воздействия ССГ привело к активизации свободнорадикальных процессов, о чем говорит увеличение уровня ТБК-рп и аск.ПОЛ у самцов и самок после

введения витамина Е. Эмоксипин увеличил лишь содержание ТБК-рп у самок, но снизил скорость аск.ПОЛ. Введение на фоне ингаляций антиоксидантов привело к значимому снижению ПОЛ, ОМБ в промежуточном мозге старых животных. В среднем мозге введение  $\alpha$ -токоферола на фоне ССГ привело к снижению ОМБ у молодых самцов и самок. В отличие от самцов у молодых самок витамин Е усилил ПОЛ по показателям ТБК-рп и скорости аск.ПОЛ, что косвенно свидетельствует о высокой активности собственной антиоксидантной защиты среднего мозга молодых самок по сравнению с самцами. В среднем мозге старых животных и  $\alpha$ -токоферол, и эмоксипин снизили усиление перекисидации на фоне ингаляции ССГ, что выразилось в снижении уровня ТБК-рп, ОМБ и скорости аскорбат-зависимого ПОЛ.

В мозжечке введение  $\alpha$ -токоферола на фоне воздействия газом усилило скорость спонтанного ПОЛ ( $P < 0,05$ ) молодых самцов. Несмотря на усиление перекисидации липидов, ОМБ на этом фоне снизилось ( $P < 0,05$ ). Эмоксипин, напротив, снизил все показатели ПОЛ ( $P < 0,05$ ) и ОМБ ( $P < 0,05$ ). В старших возрастных группах самцов и самок оба антиоксиданта привели к снижению ПОЛ и ОМБ в мозжечке. В продолговатом мозге сочетанное введение  $\alpha$ -токоферола и ССГ смодулировало показатели ПОЛ следующим образом: увеличенный на фоне ингаляций ССГ уровень ТБК-рп под действием витамина снизился ( $P < 0,05$ ), и, напротив, сниженная на фоне воздействия токсиканта скорость спонтанного процесса увеличилась ( $P < 0,05$ ).  $\alpha$ -Токоферол снизил также ОМБ ( $P < 0,05$ ) в продолговатом мозге молодых самцов. Эмоксипин привел к равнозначным изменениям свободнорадикальных процессов в продолговатом мозге молодых самцов, что и  $\alpha$ -токоферол. В продолговатом мозге у молодых самок  $\alpha$ -токоферол на фоне ингаляторного воздействия ССГ усилил ПОЛ по показателям ТБК-рп ( $P < 0,05$ ) и скорость индуцированного ПОЛ ( $P < 0,05$ ), сравнив их с контрольными значениями, а также значимо снизил уровень ОМБ ( $P < 0,05$ ). Эмоксипин увеличил скорости ПОЛ при неизменном уровне ТБК-рп и снизил ОМБ ( $P < 0,05$ ) и ОВП ( $P < 0,05$ ) в продолговатом мозге молодых самок.

В группах старых крыс эффект антиоксидантов имел схожие между собой черты. И  $\alpha$ -токоферол, и эмоксипин на фоне ингаляторного воздействия ССГ снизили содержание ТБК-рп и ОМБ в продолговатом мозге старых самцов. Однако витамин Е снизил уровень ОМБ в 2 раза, по сравнению с группой, получавшей только ССГ, а эмоксипин – в 1,3 раза. У старых самок в продолговатом мозге действие применяемых антиоксидантов проявилось по разному.  $\alpha$ -токоферол более значимо на 61,4% снизил уровень ТБК-рп (по сравнению с опытом), чем эмоксипин, и

приблизил это значение к контрольному. Несмотря на то, что эмоксипин снизил этот показатель на 54,6% по сравнению с опытной группой, уровень ТБК-рп остался выше контроля. Кинетические же показатели ПОЛ снизились только на фоне предварительного введения эмоксипина. Оба антиоксиданта предотвратили накопление ОМБ на фоне хронических ингаляций и снизили ОВП в продолговатом мозге.

В спинном мозге у молодых самок ССГ вызвал резкое снижение показателей ПОЛ (ТБК-рп и сп.ПОЛ). Введение витамина Е привело к значимому увеличению ТБК-рп и скорости спонтанного ПОЛ до уровня превышающего даже контрольные значения, а эмоксипина – к увеличению уровня ТБК-рп ( $P < 0,05$ ), но падению скоростей ПОЛ и по сравнению с опытной, и по сравнению с контрольной группой. У старых самцов повышение под действием ССГ уровня ТБК-рп, окисленной модификации белков в спинном мозге были успешно снижены антиоксидантами. В спинном мозге старых самок оба антиоксиданта предотвратили последствия окислительного стресса, вызванного ССГ, в результате чего были снижены ПОЛ и ОМБ.

**Выводы:** анализируя полученные нами результаты по исследованию влияния ССГ Астраханского месторождения можно заключить, что реакция разных отделов ЦНС на токсикант неодинакова, что еще раз подтверждает факт неоднородности мозга и разной чувствительности его к изученному воздействию. Своевременное применение антиоксидантов может способствовать нормализации многих характеристик СРО.

Результаты наших экспериментальных исследований свидетельствуют о необходимости поддержания гомеостаза в достаточно узком интервале, поэтому как повышение, так и снижение СРО могут повлечь необратимые изменения в структуре клеточных и внутриклеточных мембран и, как следствие, изменение их физико-химических характеристик. Во всех тканях ЦНС повышенное содержание ОМБ в опытной группе под действием антиоксидантов снижалось. Таким образом и  $\alpha$ -токоферол, и эмоксипин проявили себя как достаточно сильные антиоксиданты. Ткань мозга более чутко реагирует на действие  $\alpha$ -токоферола, чем на эмоксипин, что проявляется в модуляции ПОЛ на фоне снижения ОМБ у молодых животных. Введение антиоксидантов на фоне воздействия ССГ у старых крыс приводит к более выраженному антиоксидантному эффекту во всех изучаемых нами отделах ЦНС, что говорит о своевременности и целесообразности антиоксидантной терапии на этом этапе, однако снижение уровня ОМБ говорит о положительных эффектах антиоксидантной терапии и у молодых животных.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Дубинина, Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, И.Г. Поротов // Вопросы мед. химии. 1995. № 1. С. 24-26.
2. Стальная, И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Т. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. С. 66-68.

## THE EXPERIMENTAL STUDYING OF POSSIBILITY THE ANTIOXIDATIC CORRECTION OF FREE-RADICAL PROCESSES IN CENTRAL NERVOUS SYSTEM AT CHRONIC INFLUENCE OF SULFUR-CONTAINING POLLUTANTS

© 2011 M.V. Mazhitova

Astrakhan State University

The oxidising stress is nonspecific reaction of organism to any influence, including toxic nature. The most vulnerable structure at poisonings with sulphur-containing gas is the central nervous system (CNS). Its heterogeneity allows to assume different degree of stability to toxicant influence. In the given work chronic influence of natural gas from Astrakhan deposit on free-radical processes in different departments of central nervous system at males and females of white rats of two age groups is studied. Positive influence of antioxidants  $\alpha$ -tocopherol and emoxipine on studied indicators in the conditions of chronic influence of sulphur-containing gas from Astrakhan deposit is shown.

Key words: *free radicals, brain, lipids peroxidation, proteins oxidising modification, antioxidants*

Marina Mazhitova, Candidate of Biology, Associate  
Professor at the Non-organic and Bioorganic Chemistry  
Department. E-mail: marinamazhitova@yandex.ru