УДК 616-092.8+577.115

СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ ФЕНОТИПАМИ МИКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЭКЗОГЕННОГО ГЛЮКОКОРТИКОИДА

Мишарина М.Е.[1], Цейликман В.Э.[1], Цейликман О.Б.[2], Лапшин М.С.[2], Комелькова М. В.[1], Мекешкин Е.А.[2], Горбачева Ю.В.[2], Деев Р.В.[1], Горностаева А.Б.[1], Никитина А.А.[1], Цытович А.Л.[1]

[1]ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия, (454092, Челябинск, ул.Воровского 64), e-mail:biochem2009@yandex.ru
[2]ФГБОУ ВПО «ЮУрГУ» (НИУ) ФГБОУ ВПО, Челябинск, Россия (454080, Челябинск. пр.Ленина 76), e-mail: diol2008@yandex.ru

Проведен анализ результатов биохимических исследований ткани коры головного мозга при введении экзогенного глюкокортикоида - триамценалона ацетонида. В исследовании для разделения популяции на фенотипические группы «быстрых», и «медленных метаболизаторов» оценивали состояние микросомального окисления по «времени гексеналового сна». В изученных образцах определены основные параметры перекисного окисления липидов (содержание первичных, вторичных и конечных молекулярных продуктов в гептан-изопропанольных экстрактах исследуемого материала), активность моноаминооксидазы – А и Б. У быстрых метаболизаторов введение триамциналона ацетонида привело к снижению устойчивости к карбонильному стрессу, что проявляется в повышенном содержании Fe^{+2}/H_2O_2 индуцированных карбонильных белков. У медленных метаболизаторов введение триамциналона ацетонида привело к усилению активности моноаминооксидазы – Б в различных отделах головного мозга при одновременном увеличении уровня Fe^{+2}/H_2O_2 индуцированного карбонилирования белков.

Ключевые слова: Свободно-радикальное окисление, быстрые и медленные метаболизаторы.

CONTENTS OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS IN CEREBRAL CORTEX IN RATS WITH DIFFERENT PHENOTYPES OF MICROSOMAL OXIDATION AT THE ADMINISTRATION OF EXOGENOUS GLUCOCORTICOIDS

Misharina M.E.[1], Tseylikman V.E.[1], Tseylikman O.B.[2], Lapshin M.S.[2], Komelkova M.V.[1], Mekeshin E.A.[2], Gorbacheva U.V.[2], Deev R.V.[1], Gornostaeva A.B.[1], Nikitina A.A.[1], Tsytovich A.L.[1]

[1]South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia (454092, Chelyabinsk, street Vorovsky 64), e-mail:biochem2009@yandex.ru
[2] South Ural State University, Chelyabinsk, Russia (454080, Chelyabinsk, street Lenina 76), e-mail: diol2008@yandex.ru.

There was performed the analysis of the biochemical researches' results of the cerebral cortex tissue at administration of exogenous glucocorticoid. In this study for the separation of populations on the phenotypic groups of rats with ultraextensive metabolism and poor metabolism we assessed the level of microsomal oxidation by the time of "hexobarbital sleep". In the samples were determined the main options of lipid peroxidation (content of primary, secondary and final molecular products in heptane-isopropanol extracts of the material), the activity of MAO-A and MAO-B. In rats with ultraextensive metabolism exogenous glucocorticoid injection resulted in lower resistance to carbonyl stress, which manifests in a high content of Fe^{+2}/H_2O_2 induced carbonyl protein. In rats with poor metabolism the administration of exogenous glucocorticoids led to an activity increase of MAO-B, while increase levels of Fe+2/H2O2 induced carbonyl proteins.

Keywords: Free radical oxidation, ultraextensive metabolism and poor metabolism

Введение

Все стероидные лекарственные препараты метаболизируются через определённые изоформы цитохрома P450. Известно, что величина периода полувыведения лекарственных соединений, подвергающихся биологической трансформации в печени, имеет достаточно

широкий межиндивидуальный диапазон различий. Широкий диапазон колебаний метаболической активности обнаружен для изоформ подсемейства CYP3A, осуществляющих биологическую трансформацию глюкокортикоидных гормонов. По уровню микросомального окисления, как человеческие популяции, так и лабораторные животные разделялись на фенотипические группы быстрых, средних и медленные метаболизаторов. Принадлежность организма к различным фенотипическим группам метаболизаторов в значительной степени предопределяет эффективность терапии и характер побочного действия препарата. В экспериментальных исследованиях показано, что глюкокортикоидный препарат пролонгированного характера триамцинолон ацетонид (ТА), вызывая у беспородных крыс стабильную инволюцию вилочковой железы, оказывал различного характера психотропные, нейротропные и гепатотропные эффекты. Кроме того, ТА вызывал неоднозначные изменения свободно-радикального окисления в различных органах. Иными словами, в нескольких экспериментальных сериях, оставалась проблематичной воспроизводимость эффектов ТА. Скорее всего, это связано с различным соотношением между типами метаболизаторов в популяциях беспородных крыс. Поэтому мы изучали влияние ТА на особенности свободно-радикального окисления в различных структурах головного мозга у медленных и быстрых метаболизаторов.

Материалы и методы исследования

Интегральным тестом, позволяющим оценить состояние микросомального окисления у животных, является продолжительность гексеналового сна[4]. Окончанием сна считали момент восстановления рефлекса переворачивания. Для разделения популяции на фенотипические группы «быстрых» и «медленных метаболизаторов» оценивали состояние микросомального окисления по «времени гексеналового сна». В группу «быстрых метаболизаторов» были отнесены животные с временем гексеналового сна не более 15 минут, к «медленным метаболизаторам» животные с временем гексеналового сна более 27 минут. Это позволило, по скорости метаболизма гексенала, разделить особей на фенотипические группы по каталитической активности изоформ цитохрома Р-450 зависимых монооксигеназ. Содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали спектрофотометрически в липидном экстракте исследуемых тканей по методике Волчегорского И.А. и соавт. [1]. Определение конечных продуктов перекисного окисления липидов, а также интенсивность аскорбат-индуцированного ПОЛ, производилось спектрофотометрически методом Львовской Е.И. [3]. Окислительную модификацию белков оценивали по уровню образования динитрофенилгидрозанов по методу Дубининой Е.Е.[2]. Определение активности моноаминоксидазы Б производили, используя метод Волчегорского И.А. и соавт. [1].Определение активности моноаминооксидазы А производили, используя

метод Popova N.[10]. Результаты обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики и выражались в виде среднеарифметической (M) и ее стандартной ошибки (м).

Статистические взаимосвязи изучали при помощи непараметрического корреляционного анализа, выполняя расчет коэффициентов корреляции рангов по Спирмену(rs).Для обработки результатов исследования использован пакет прикладных программ Statistica 6.0 for Windows.

Результаты исследования и их обсуждение

Влияние ТА на МАО-активность и свободно-радикальное окисление в коре головного мозга у медленных и быстрых метаболизаторов.

Установлено, что уровень моноаминоксидазной активности и свободно-радикального окисления в коре головного мозга существенно различается у крыс, которые по продолжительности гексеналового сна были разделены на быстрых (Б), и медленных(М) метаболизаторов.

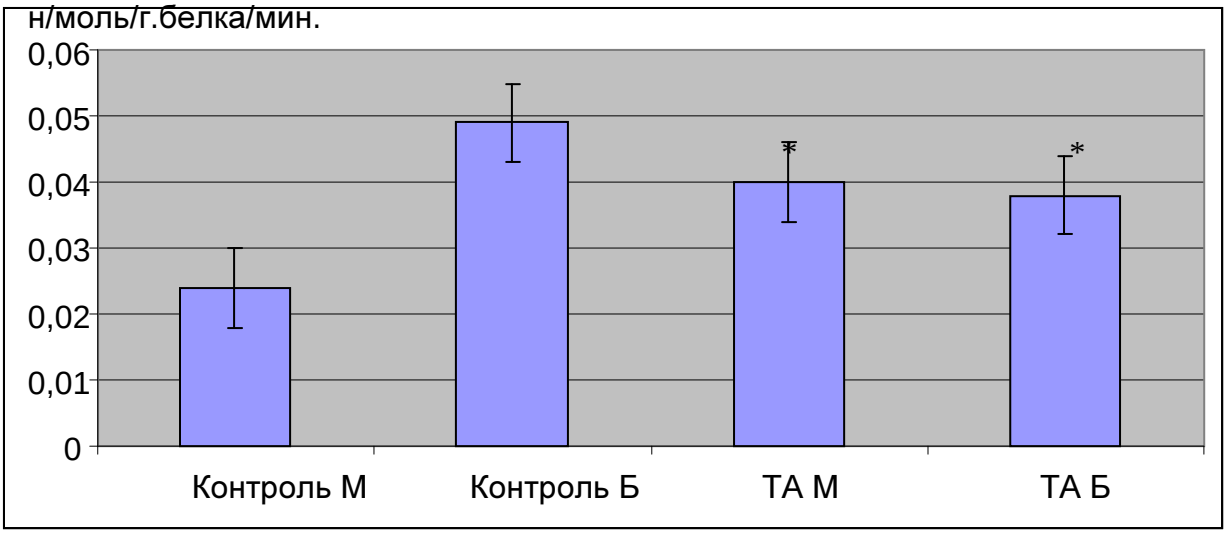

Рисунок 1. Уровень активности МАО-А в коре головного мозга у быстрых и медленных метаболизаторов.

Примечание: *-статистически значимые отличия от показателей контрольной группы,р-0,05.

Обработка произведена с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Так, у быстрых метаболизаторов по сравнению с медленными метаболизаторами, повышена активность МАО-А, МАО-Б (рисунок 1,2), а также содержание Fe^{+2}/аскорбат индуцированных изопропанол-растворимых диеновых конъюгатов (таблица 1). Кроме того, быстрые метаболизаторы по сравнению с медленными метаболизаторами, характеризуются сниженной устойчивостью к карбонильному стрессу, что проявляется в повышенном

содержании Fe^{+2}/H_2O_2 индуцированных карбонильных белков (рисунок 3). При этом обнаружена положительная корреляция между уровнем активности МАО-А и содержанием Fe^{+2}/H_2O_2 индуцированных карбонильных белков (Rs=0,634;P=0,032).

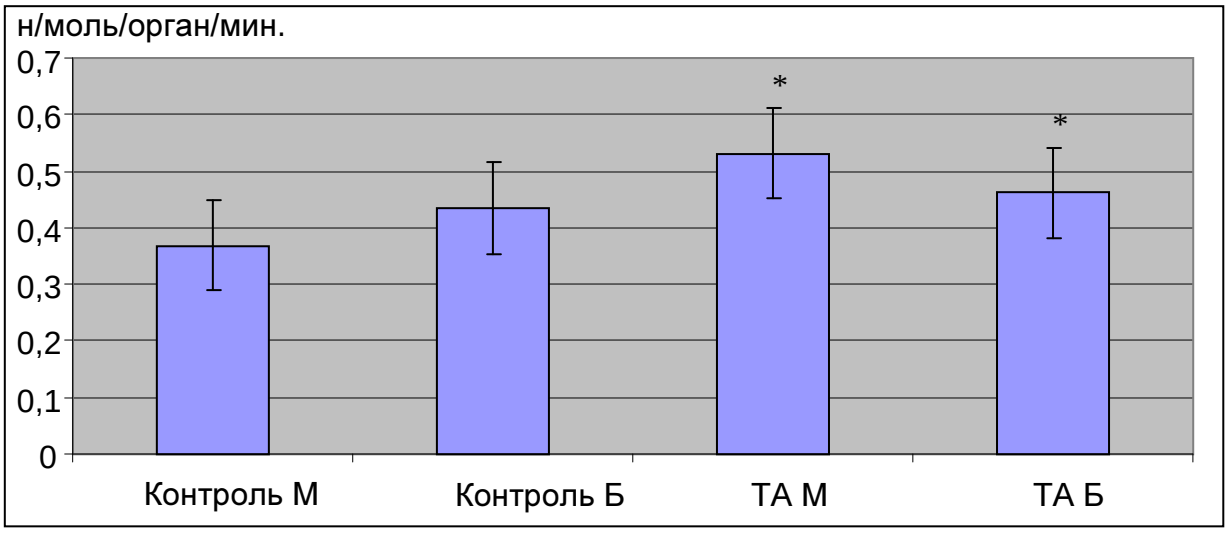

Рисунок 2. Уровень активности МАО-Б в коре головного мозга у быстрых и медленных метаболизаторов.

Примечание: :*-статистически значимые отличия от показателей контрольной группы,p<0,05. Обработка произведена с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Введение ТА быстрым метаболизаторам сопровождалось снижением активности МАО-А (рисунок 1) и содержания Fe^{+2}/H_2O_2 индуцированных карбонильных белков. У медленных метаболизаторов введение ТА привело к статистически значимым: усилению активности МАО-Б при одновременном увеличении уровня Fe^{+2}/H_2O_2 индуцированного карбонилирования белков.

Таблица 1

Перекисное окисление липидов в коре головного мозга при введении глюкокортикоидного препарата быстрым и медленным метаболизаторам

Показатель	Медленные метаболизаторы (n=5)	Быстрые метаболизаторы (n=6)	Медленные метаболиаторы +ТА (n=6)	Быстрые метаболизаторы + ТА (n=6)
Диеновые конъюгаты (гептановая фаза)	0,624±0,066	0,608±0,0309	0,608±0,086 *	0,625±0,098**
Кетодиены и сопряжённые триены (гептановая фаза)	0,167±0,06	0,171±0,056*	0,171±0,045*	0,166±0,116**
Шиффовы	0,011±0,01	0,095±0,162 *	0,0134±0,005	0,033±0,008**

основания (гептановая фаза)				
Диеновые конъюгаты (изопропанольная фаза)	0,406±0,06 *	0,405±0,038	0,395±0,18**	0,402±0,069
Кетодиены и сопряжённые триены (изопропанольная фаза)	0,173±0,016	0,163±0,019 *	0,158±0,053 *	0,169±0,040**
Шиффовы основания (изопропанольная фаза)	0,0754±0,027	0,055±0,017	0,052±0,007**	0,071±0,022**
Диеновые конъюгаты (изопропанольная фаза; индукция Fe+2/аскарбатом	1,00±0,095	1,23±0,084 *	1,027±0,18 *	1,015±0,23**

Примечание: Статистическая обработка проведена с использованием критериев Манна-Уитни, Вольда-Вольфовица, ,различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Статистически значимые различия между группами *-«медленные метаболизаторы» и «быстрые метаболизаторы»,** «триамциналона ацетонид» и «медленные метаболизаторы» , «триамциналона ацетонид и «быстрые метаболизаторы»

Анализ общей выборки показал, что введение ТА сопровождалось увеличением активности МАО-А и МАО-Б при неизменном уровне свободно-радикального окисления.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что глюкокортикоид-зависимое усиление активности МАО-Б в коре головного мозга наблюдается только у медленных метаболизаторов, имеющих более низкий базальный уровень моноаминооксидазной активности. Введение глюкокортикоидного препарата медленным метаболизаторам сопровождалось снижением устойчивости к карбонильному стрессу. Напротив, у быстрых метаболизаторов, имеющих более высокий базальный уровень моноаминооксидазной активности, введение ТА привело к снижению активности МАО-А с одновременным увеличением устойчивости к карбонильному стрессу.

Выводы

1. У быстрых метаболизаторов по сравнению с медленными метаболизаторами наблюдается повышенный уровень МАО-А и МАО-Б активности в коре головного мозга при одновременном увеличении уровня Fe^{+2}/H_2O_2 индуцированного карбонилирования белков.
2. Введение экзогенного глюкокортикоида медленным метаболизаторам сопровождалось усилением МАО-А и МАО-Б активностей при одновременном увеличении уровня Fe^{+2}/H_2O_2 индуцированного карбонилирования.

3. У быстрых метаболизаторов введение экзогенного глюкокортикоида сопровождается снижением активности МАО-А и уровня Fe^{+2}/H_2O_2 индуцированного карбонилирования.

Исследование выполнено в рамках реализации ГЗ на оказание услуг на 2012 и на плановый период 2013-2014 годов № 4.4022.2011.

Список литературы

1. Волчегорский И.А. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптационных реакций организма. - Челябинск, 2000. - 167 с.

2. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов и др. // Вопр. мед. химии. - 1995. - № 41. - С. 24-26.

3. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов / Е.И. Львовская, И.А. Волчегорский, С.Е. Шемяков, Р.И. Лифшиц // Вопр. мед. химии. - 1991. - №4. - С. 92-94.

4. Сперанский С.В. Оценка избирательности токсических поажений с помощью гексеналовой пробы/ Сперанский С.В, Кравшева Г.Г. //Гигиена окружающей среды.-1980-№28.-С80-85.

5. Popov N., Rosier V., Thiemann Chr., Matthies H. Eine emp-findliche methode zur bestimmung der monoaminoxydase-aktivitat im gewebe durch aldehydsemikarbazon-messung // Acta biol. med. germ. - 1971. - Bd. 26. - S. 239-245.

Рецензенты:

Осиков М.В., д.м.н., профессор, кафедры Патологической физиологии ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России, г.Челябинск.

Рябинин В.Е., д.м.н., профессор, профессор кафедры биохимии государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Южно–Уральского государственного медицинского университета Минздрава России», г.Челябинск.