

УДК 577.352.335:616-001.18

**ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ
БИОМЕМБРАН, ИНДУЦИРОВАННЫХ ХОЛОДОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ****В.А.Доровских, Н.В.Симонова, О.Н.Ли, Ю.В.Доровских***Амурская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95***РЕЗЮМЕ**

Современные условия окружающей среды резко повысили уровень радикалообразующих процессов в организме. Холодовое воздействие стимулирует генерацию активных форм кислорода, индуцирующих процессы перекисного окисления липидов, вследствие развития гипоксии. В экспериментальных условиях исследована возможность коррекции свободнорадикального окисления липидов мембран организма крыс введением николизина. Животные были разделены на 3 группы, в каждой по 40 крыс: интактные животные, которые содержались в стандартных условиях вивария; контрольная группа, где крысы подвергались воздействию холода в течение трех часов ежедневно; подопытная группа, где животным перед охлаждением ежедневно вводили внутримышечно николизин в дозе 30 мг/кг. Установлено, что ежедневное холодное воздействие в течение трех часов способствует повышению содержания гидроперекисей липидов (на 18-50%), диеновых конъюгатов (на 33-80%), малонового диальдегида (на 22-37%) на фоне снижения активности основных компонентов антиоксидантной системы. Введение крысам николизина в условиях холодной нагрузки способствует достоверному снижению в плазме крови гидроперекисей липидов на 14-22%, диеновых конъюгатов – на 26-44%, малонового диальдегида – на 20-25% по сравнению с крысами контрольной группы. При анализе влияния николизина на активность компонентов антиоксидантной системы было установлено, что содержание церулоплазмينا в крови животных было достоверно выше аналогичного показателя у крыс контрольной группы на 39-57%, витамина Е – на 22-33%, каталазы – на 23-33%. Таким образом, использование николизина в условиях длительного воздействия холода на организм экспериментальных животных приводит к стабилизации процессов перекисаации на фоне повышения активности основных компонентов антиоксидантной системы.

Ключевые слова: николизин, холодовой стресс, перекисное окисление липидов биологических мембран, продукты перекисаации (гидроперекиси липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид), антиоксидантная система.

SUMMARY**THE POSSIBLE CORRECTION OF PROCESSES
OF LIPID PEROXIDATION OF BIOMEMBRANES
INDUCED BY THE COLD EXPOSURE****V.A.Dorovskikh, N.V.Simonova, O.N.Li,****Yu.V.Dorovskikh***Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str.,
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

Modern environmental conditions greatly increased the level of radical forming processes in the body. Cold exposure stimulates the generation of reactive oxygen species inducing peroxidation of lipids as a result of hypoxia development. In experimental conditions the possibility to correct free radical lipid oxidation of rats' organism membranes was studied with the introduction of nikolizin. The animals were divided into 3 groups and each of them had 40 rats: intact animals which were held in standard conditions of vivarium; the control group in which rats were exposed to cold during three hours daily; the experimental group in which before cooling animals had a daily intake of nikolizin in a dose of 30 mg/kg. It was found out that a daily cold exposure during three hours contributes to the increase of lipid hydroperoxides level (by 18-50%), of diene conjugate (by 33-80%), and of malonic dialdehyde (by 22-37%) against the decrease of antioxidant system activity in the blood of intact animals. The introduction of nikolizin to rats in the conditions of cold exposure contributes to the significant decrease in the blood of lipid hydroperoxides by 14-22%, of diene conjugates by 26-44%, of malonic dialdehyde by 20-25% in comparison with the rats of the control group. While analyzing the effect of nikolizin on the activity of the components of antioxidant system it was shown that the level of ceruloplasmin in the blood of animals was significantly higher by 39-57%, of vitamin E by 22-33%, of catalase by 23-33% in comparison with the same parameters of the rats of the control group. So, the application of nikolizin in the conditions of long cold exposure on the organism of animals under experiment leads to stabilization of the processes of peroxidation against the increase of antioxidant system activity.

Key words: nikolizin, cold stress, biological membranes lipid peroxidation, products of peroxidation (lipid hydroperoxides, diene conjugates, malonic dialdehyde), antioxidant system.

Исследованиями последних лет показано, что в механизмах приспособления организма к факторам внешней среды важную роль играют активные формы кислорода: супероксидный и гидроксильный радикалы, перекись водорода и другие [1, 3, 7, 13]. Установлено, что эти свободно-радикальные метаболиты кислорода, которые до недавнего времени рассматривались лишь как повреждающие агенты, являются сигнальными молекулами и регулируют адаптивные

преобразования тканей и систем организма [6, 14]. В то же время известно, что при усилении продукции и накоплении в организме активных форм кислорода, то есть при так называемом окислительном стрессе, их физиологическая функция может трансформироваться в патологическую с развитием перекисного окисления биополимеров и повреждением вследствие этого клеток и тканей [10]. Очевидно, что возможность такой трансформации определяется, прежде всего, скоростью инактивации активных форм кислорода антиоксидантными системами (АОС) [2, 11]. В связи с этим, особый интерес представляет исследование изменений инактиваторов активных форм кислорода – ферментных антиоксидантных систем организма, при длительном воздействии на организм холода и возможности повышения антиоксидантного статуса организма применением лекарственных средств, обладающих антиокислительной активностью.

Цель исследования – изучение влияния николизина на антиоксидантный статус теплокровного организма в условиях холодового воздействия.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре госпитальной терапии с курсом фармакологии Амурской государственной медицинской академии. Эксперимент проводили на 120 белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г в течение 28 дней.

Протокол экспериментальной части исследования на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), Приказе МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

При завершении научных исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации с соблюдением требований гуманности согласно приложению №4 к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных – приложение к приказу МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления животного)». Исследование одобрено Этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии.

Охлаждение животных осуществляли ежедневно в течение 3 часов в условиях климатокамеры Fentron (Германия), создавая температурный режим -15°C с соблюдением адекватных условий влажности и вентиляции [3]. Животные были разделены на 3 группы, в каждой по 40 крыс: 1 группа – интактные животные, которых содержали в стандартных условиях вивария;

2 группа – контрольная, где крысы подвергались воздействию холода по 3 часа ежедневно; 3 группа – подопытная, где животным перед охлаждением (время экспозиции – 3 часа) ежедневно внутримышечно вводили николизин в дозе 30 мг/кг.

Николизин (никотиноил-Д- α -лизин) – белый или белый со слабым желтым оттенком мелкокристаллический порошок, получен группой исследователей Одесского медицинского института по идее и под руководством профессора Я.Б.Максимовича. Вещество хорошо растворимо в воде, малорастворимо в этаноле и диметилформалине, в ряду других органических растворителей практически не растворим. pH 1% водного раствора составляет 7,63. Водный раствор термостабилен. Стерилизация производится путем кипячения. Вещество не теряет биологической активности при хранении свыше двух лет.

Забой животных путем декапитации производили на 7, 14, 21 и 28 сутки. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали, исследуя содержание гидроперекисей липидов (ГП), диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и компонентов АОС – церулоплазмина, витамина Е, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Гл-6-ФДГ), каталазы в крови животных по методикам, изложенным в ранее опубликованной нами работе [9]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Стьюдента (t) с помощью программы Statistica v.6.0. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено (табл. 1), что воздействие низких температур на крыс сопровождается активацией процессов ПОЛ и накоплением продуктов перекисидации в крови контрольных животных: увеличением содержания ГП на 50% (7 день), 30% (14 день), 18% (21 день) и 21% (28 день эксперимента) в сравнении с аналогичным показателем в группе интактных крыс; ДК – на 80% (7 день), 74% (14 день), 41% (21 день) и 33% (28 день эксперимента); МДА – на 36% (7 день), 37% (14 день), 22% (21 день) и 23% (28 день эксперимента), что согласуется с результатами исследований, опубликованных нами ранее [4, 5, 12]. В свою очередь, введение николизина в условиях холодового воздействия сопровождалось достоверным снижением содержания продуктов радикального характера в сравнении с показателями в контрольной группе: концентрация ГП уменьшилась на 22% (7 день), 19% (14 день), 14% (21 день) и 21% (28 день эксперимента); ДК – на 44% (7 день), 40% (14 день), 26% (21 день) и 41% (28 день эксперимента); МДА – на 25% (7 день), 22% (14 день) и 20% (21 и 28 дни эксперимента).

Многочисленными литературными данными показано, что активация ПОЛ при холодовом воздействии на крыс развивается на фоне напряжения и истощения АОС, что подтверждается результатами проведенных нами исследований (табл. 2): содержание церулоплаз-

мина в крови контрольных крыс в сравнении с интактными животными снизилось на 36% (7 день), 35% (14 день), 29% (21 день) и 24% (28 день эксперимента); витамина Е – на 29% (7 день), 21% (14 день) и 19% (21 и 28 дни эксперимента); Гл-6-ФДГ – на 9% (7 день), 11% (14 день), 2% (21 день) и 6% (28 день эксперимента); каталазы – на 29% (7 и 14 дни эксперимента), 19% (21 день) и 18% (28 день эксперимента), что согласуется с проведенными нами ранее исследованиями [4, 5, 12]. Использование николизина для коррекции холодового воздействия способствовало повышению активности

АОС в крови подопытных животных: содержание церулоплазмينا выросло на 57% (7 день), 48% (14 день), 41% (21 день) и 39% (28 день эксперимента) по сравнению с аналогичным показателем в группе контрольных крыс; уровень витамина Е увеличился на 33% (7 день), на 22% (14 день), 25% (21 день) и 23% (28 день эксперимента). В свою очередь, исследование активности ферментов АОС в условиях коррекции введением николизина позволило констатировать повышение активности Гл-6-ФДГ в среднем на 7-10%, каталазы – на 23-33%.

Таблица 1

Содержание продуктов ПОЛ в крови экспериментальных животных (M±m)

Показатели, нмоль/мл	Сроки эксперимента	Интактные крысы	Воздействие холода	Воздействие холода и введение николизина
Гидроперекиси липидов	7 день	24,3±1,2	36,5±1,4*	28,4±3,0
	14 день	24,8±1,8	32,3±1,6*	26,1±0,6**
	21 день	24,5±0,8	29,0±0,8*	25,0±0,3**
	28 день	24,2±1,8	29,8±1,0*	23,5±0,5**
Диеновые конъюгаты	7 день	45,2±5,0	81,3±6,5*	46,0±8,0**
	14 день	44,5±7,9	77,4±2,7*	46,2±2,2**
	21 день	49,3±4,2	69,5±3,6*	51,7±3,0**
	28 день	47,5±4,1	63,0±2,7*	37,5±4,8**
Малоновый диальдегид	7 день	5,0±0,1	6,8±0,1*	5,1±0,5**
	14 день	4,9±0,1	6,7±0,2*	5,2±0,3**
	21 день	4,9±0,3	6,0±0,2*	4,8±0,2**
	28 день	4,8±0,4	5,9±0,1*	4,7±0,4**

Примечание: здесь и в следующей таблице * – достоверность различия показателей по сравнению с группой интактных животных (p<0,05); ** – достоверность различия показателей по сравнению с группой животных, к которым применяли только воздействие холода (p<0,05).

Таблица 2

Содержание компонентов АОС в крови экспериментальных животных (M±m)

Показатели, нмоль/мл	Сроки эксперимента	Интактные крысы	Воздействие холода	Воздействие холода и введение николизина
Церулоплазмин, мкг/мл	7 день	46,1±4,8	29,3±3,6*	46,0±3,6**
	14 день	44,5±4,0	29,0±2,6*	42,9±5,1
	21 день	45,7±3,8	32,6±2,8*	46,0±4,0**
	28 день	46,0±4,0	34,8±1,2*	48,4±3,2**
Витамин Е, мкг/мл	7 день	28,1±1,7	20,0±0,6*	26,5±2,0**
	14 день	28,1±1,5	22,1±1,1*	26,9±1,1**
	21 день	27,6±1,2	22,3±1,2*	27,8±0,8**
	28 день	27,5±1,6	22,2±1,0*	27,4±1,5**
Гл-6-ФДГ, мкмоль НАДФН л ⁻¹ с ⁻¹	7 день	17,2±0,1	15,7±0,2*	16,8±0,3**
	14 день	17,3±0,3	15,4±0,1*	17,0±0,4**
	21 день	17,2±0,1	16,8±0,1*	17,0±0,3
	28 день	17,8±0,1	16,7±0,2**	18,4±0,4**
Каталаза, мкмоль Н ₂ О ₂ г ⁻¹ с ⁻¹	7 день	85,5±1,5	61,2±2,8*	77,3±2,0**
	14 день	84,6±5,1	60,5±4,9*	80,6±4,2**
	21 день	85,5±2,1	69,2±3,1*	87,8±4,1**
	28 день	85,6±4,0	70,0±2,8*	86,0±5,0**

Таким образом, результаты проведенного эксперимента свидетельствуют о наличии антиоксидантного эффекта у николизина, реализуемого комбинацией входящих в состав средства компонентов: никотиноил улучшает микроциркуляцию, стимулирует метаболизм в тканях, обладает антигипоксической активностью [8], что приобретает особую значимость в условиях гипотермии, индуцирующей развитие гипоксии на фоне накопления внутриклеточного кальция и активации фосфолипазы A_2 с последующим повышением концентрации свободных жирных кислот. В свою очередь, в этих условиях лизин не только предупреждает активацию фосфолипазы A_2 , высвобождение арахидоновой кислоты, вызывая угнетение ферментативного и неферментативного ПОЛ, но и на уровне тканей, которые страдают от гипоксии, нормализует содержание АТФ в клетках, что обеспечивает антиоксидантное и антигипоксическое действие николизина.

В целом, нами впервые экспериментально доказана эффективность применения николизина в условиях холодового стресса, что позволяет рекомендовать данное лекарственное средство в качестве антиоксиданта, а также кандидата для исследования его возможностей в качестве регулятора адаптационных реакций организма при воздействии низких температур.

Выводы

1. Воздействие низких температур на теплокровный организм способствует формированию окислительного стресса в условиях накопления продуктов ПОЛ и снижения уровня основных компонентов АОС в крови крыс.

2. Впервые экспериментально подтверждена возможность коррекции параметров ПОЛ в плазме крови крыс в условиях холодового стресса введением николизина.

3. Внутримышечное введение лабораторным животным николизина в дозе 30 мг/кг в условиях длительного холодового воздействия снижает содержание продуктов перекисидации и увеличивает активность основных компонентов АОС в крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фосфолипиды как антиатеросклеротические лекарственные средства / В.А.Доровских, Е.А.Бородин, М.А.Штарберг, С.А.Штарберг, К.Е.Егоров // Липопротеиды и атеросклероз: тезисы докладов симпозиума, посвященного 110-летию со дня рождения академика Н.Н. Аничкова. М., 1995. С.41–46.

2. Влияние низкоэнергетических лазеров на свободнорадикальное окисление липидов в микросомах печени и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и каталазы эритроцитов / В.А.Доровских, Е.А.Бородин, Г.П.Бородина, С.С.Целуйко, М.А.Штарберг, С.А.Штарберг // Лазерная медицина. 1998. Т.2, №2-3. С.16-20.

3. Адаптогены растительного происхождения в профилактике заболеваний органов дыхания у детей ясельного возраста / В.А.Доровских, Н.В.Симонова, И.В.Симонова, М.А.Штарберг // Дальневост. мед. журн. 2011. №1. С.41–44.

4. Коррекция холодового воздействия с помощью препарата, содержащего янтарную кислоту / В.А.Доровских, Н.В.Симонова, Ю.В.Доровских, О.Н.Ли // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2013. Вып.49. С.82–86.

5. Влияние сукцинатсодержащих препаратов на интенсивность процессов перекисидации в условиях холодового воздействия / В.А.Доровских, О.Н.Ли, Н.В.Симонова, В.Ю.Доровских, М.А.Штарберг, С.Ю.Ландышев, В.П.Мишук, Т.А.Савинова // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2013. Вып.50. С.56–60.

6. Доровских В.А., Симонова Н.В., Анохина Р.А. Лекарственные растения Амурской области. Благовещенск: ДальГАУ, 2016. 266 с.

7. Бронхиальная астма / Ю.С.Ландышев, В.А.Доровских, С.С.Целуйко, Е.Л.Лазуткина, С.И.Ткачева, Т.Н.Чапленко. Благовещенск: АГМА, 2010. 136 с.

8. Островая Т.В., Черный В.И. Церебропротекция в аспекте доказательной медицины // Медицина неотложных состояний. 2007. №2(9). С.48–53.

9. Симонова Н.В., Доровских В.А., Штарберг М.А. Адаптогены в коррекции процессов перекисидного окисления липидов биомембран, индуцированных воздействием холода и ультрафиолетовых лучей // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2011. Вып.40. С.66–70.

10. Симонова Н.В., Доровских В.А., Штарберг М.А. Влияние адаптогенов растительного происхождения на интенсивность процессов перекисидного окисления липидов биомембран в условиях ультрафиолетового облучения // Дальневост. мед. журн. 2010. №2. С.112–115.

11. Влияние настоя на основе сбора из листьев крапивы, березы и подорожника на интенсивность процессов перекисидации в условиях ультрафиолетового облучения / Н.В.Симонова, В.А.Доровских, М.А.Штарберг, Н.П.Симонова // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып. 44. С.90–94.

12. Настой лекарственных растений и окислительный стресс в условиях холодового воздействия / Н.В.Симонова, В.А.Доровских, О.Н.Ли, М.А.Штарберг, Н.П.Симонова // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2013. Вып.48. С.76–80.

13. Симонова Н.В., Доровских В.А., Симонова Н.П. Ультрафиолетовое облучение и окислительный стресс. Возможности фитокаррекции. Благовещенск: АГМА, 2014. 140 с.

14. Ярыгина Е.Г., Прокопьева В.Д., Бохан Н.А. Окислительный стресс и его коррекция карнозином // Успехи современного естествознания. 2015. № 4. С.106–113.

REFERENCES

1. Dorovskikh V.A., Borodin E.A., Shtarberg M.A., Shtarberg S.A., Egorov K.E. Phospholipids as anti-atherosclerotic drugs. In: Abstracts of the symposium «Lipoproteins and atherosclerosis». Moscow; 1995: 41–46 (in russian).

2. Dorovskikh V.A., Borodin E.A., Borodina G.P., Tseluyko S.S., Shtarberg M.A., Shtarberg S.A. Influence of low-energy lasers on free-radical oxidation of lipids in

the liver microsomes and the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and catalase of erythrocytes. *Lazernaya meditsina – Laser medicine* 1998; (2-3):16–20 (in russian).

3. Dorovskikh V.A., Simonova N.V., Simonova I.V., Shtarberg M.A. Adaptogens of vegetable origin in prophylaxis of respiratory diseases in children of young age. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal – Far Eastern Medical Journal* 2011; (1):41–44 (in russian).

4. Dorovskikh V.A., Simonova N.V., Dorovskikh Yu.V., Li O.N. Correction of cold effect by means of the drug with succinic acid. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2013; (49):82–86 (in russian).

5. Dorovskikh V.A., Li O.N., Simonova N.V., Dorovskikh V.Yu., Shtarberg M.A., Landyshev S.Yu., Mishuk V.P., Savinova T.A. Effect of succinate containing drugs on the intensity of peroxidation in the conditions of cold exposure. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2013; (50):56–60 (in russian).

6. Dorovskikh V.A., Simonova N.V., Anokhina R.A. Medicinal plants of the Amur region. Blagoveshchensk: DalGAU; 2016 (in russian).

7. Landyshev Yu.S., Dorovskikh V.A., Tseluyko S.S., Lazutkina E.L. Bronchial asthma. Blagoveshchensk: AGMA, 2010 (in russian).

8. Ostrovaya T.V., Cherniy V.I. Cerebroprotective in the aspect of evidence-based medicine. *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy – Medicine of emergency* 2007; 2(9):48–53 (in russian).

9. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Shtarberg M.A. Adaptogens in the correction of biomembranes lipid peroxidation processes induced by the influence of cold and ultraviolet rays. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2011; (40):66–70 (in russian).

10. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Shtarberg M.A. Effect of adaptogens of plant origin on the intensity of the processes of peroxidation of lipids of membranes under conditions of ultraviolet irradiation. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal – Far Eastern Medical Journal* 2010; (2):112–115 (in russian).

11. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Shtarberg M.A., Simonova N.P. Effect of the tincture made of nettle, birch and plantain leaves on the intensity of peroxidation at ultraviolet radiation. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2012; 44:90–94 (in russian).

12. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Li O.N., Shtarberg M.A., Simonova N.P. Tincture of medicinal plants and oxidative stress in the conditions of cold exposure. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2013; (48):76–80 (in russian).

13. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Simonova N.P. Ultraviolet radiation and oxidative stress. The possibility of phitocorrection. Blagoveshchensk: AGMA; 2014 (in russian).

14. Yarygina E.G., Prokop'eva V.D., Bokhan N.A. Oxidative stress and its correction carnosine. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya – Successes of modern natural science* 2015; (4):106–113 (in russian).

Поступила 05.02.2016

Контактная информация

Владимир Анатольевич Доровских,
доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии,
Амурская государственная медицинская академия,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.

E-mail: dorovskikh@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Vladimir A. Dorovskikh,
MD, PhD, DSc, Professor,
Professor of Department of Hospital Therapy with Pharmacology Course,
Amur State Medical Academy,
95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.
E-mail: dorovskikh@mail.ru