

Sevrukov O. V., Volkovoy V. A., Bereznyakova M. E., Karabut L. V., Fomina G. P., Lukyina L. V. Дослідження антиоксидантної дії дезапуру на моделі емоційно-больового стресу у щурів = Studying of dezapur antioxidant action on model of emotionally-painful stress in rats. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016;6(8):417-426. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.60747>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3768>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 01.08.2016. Revised 08.08.2016. Accepted: 19.08.2016.

УДК 615.275.4:547.822.7:616.36-002:616.127

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ ДЕЗАПУРУ НА МОДЕЛІ ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ

О. В. Севрюков¹, В. А. Волковой¹, М. Є. Березнякова¹, Л. В. Карабут¹,
Г. П. Фоміна¹, Л. В. Лук'янова²

¹Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

² Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

Резюме

Досліджено комплексний вплив дезапуру на показники вільнорадикального окиснення на моделі емоційно-больового стресу у щурів. Встановлено, що при введенні дезапуру знижувався рівень ТБК-активних продуктів, дієнових та триєнових кон'югатів, шифових основ; підвищувався рівень активності супероксиддисмути. Таким чином, дезапур сприяв зниженню процесів токсикації перекисами. За допомогою регресійного аналізу встановлено прямий кореляційний зв'язок між вмістом продуктів вільнорадикального окиснення в міокарді та ступенем ушкодження міокардиоцитів, а також зворотній зв'язок з активністю СОД. Доведено, що дезапур проявляє більш виражену тропність дії до міокарду порівняно з системою крові, що і визначає його протекторну дію при гіпоксичних ураженнях. За показниками вільнорадикального окиснення дезапур проявив виражений антиоксидантний ефект та перевершував референс-препарату – мексидол.

Ключові слова: дезапур, вільнорадикальне окиснення, модель емоційно-больового стресу, гіпоксія.

STUDYING OF DEZAPUR ANTIOXIDANT ACTION ON MODEL OF EMOTIONALLY-PAINFUL STRESS IN RATS

O. V. Sevrakov¹, V. A. Volkovoy¹, M. E. Bereznyakova¹, L. V. Karabut¹,
G. P. Fomina¹, L. V. Lukyina²

¹National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

²Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

Abstract

Studied the complex effect of dezapur on the indicators of free radical oxidation on the model of emotionally-painful stress in rats. Established that during dezapur introduction was decreased level of TBA-active products, diene and triene conjugates, schiff's bases; increased level of superoxidodismutase activity. So dezapur effected to reduce of intoxication process by peroxide. Using regression analysis was established a direct correlation between the content of free radical oxidation products in the myocardium and degree of damage myocardiocytes and feedback from SOD activity. Proved that dezapur shows a more tropism action to the myocardium than to the blood system, what determinate its protective effect during anoxic damage. By indicators of free radical oxidation was showed high antioxidant effect and superior of reference-compound – mexidol.

Keywords: dezapur, free radical oxidation, model emotionally-painful stress, hypoxia.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ДЕЗАПУРА НА МОДЕЛИ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССА У КРЫС

А. В. Севрюков, В. А. Волковой, М. Е. Березнякова, Л. В. Карабут,
Г. П. Фомина, Л. В. Лукьянова

¹Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

²Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

Резюме

Исследовано комплексное влияние дезапура на показатели свободнорадикального окисления на модели эмоционально-болевого стресса у крыс. Установлено, что при введении дезапура снижался уровень ТБК-активных продуктов, диеновых и триеновых конъюгатов,

шиффовых оснований; повышался уровень активности супероксиддисмутазы. Таким образом, дезапур способствовал снижению процессов интоксикации перекисями. С помощью регрессионного анализа установлена прямая корреляционная связь между содержанием продуктов свободнорадикального окисления в миокарде и степени повреждения миокардиоцитов, а также обратная связь с активностью СОД. Доказано, что дезапур проявляет более выраженную тропность действия до миокарда, чем в системе крови, что и определяет его протекторное действие при гипоксических повреждениях. По показателям свободнорадикального окисления дезапур проявил выраженный антиоксидантный эффект и превосходил эффективность референс-препарат – мексидол.

Ключевые слова: дезапур, свободнорадикальное окисление, модель эмоционально-болевого стресса, гипоксия.

Вступ. Дослідження механізмів вільнорадикального окиснення (ВРО) є актуальною проблемою сучасної медицини та фармакології, оскільки дисбаланс окисного метаболізму є важливою патогенетичною ланкою в розвитку багатьох захворювань. ВРО – важливий і багатоетапний біохімічний процес перетворення кисню, ліпідів, нуклеїнових кислот, білків та інших сполук під дією вільних радикалів, а пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) та білків – один з його наслідків [1]. Усі продукти ВРО поділяють на дві групи: нестабільні (продукти радикальної природи) й стабільні (продукти нерадикальної природи, серед яких виділяють: первинні продукти ВРО – гідропероксиди, ліпідні пероксиди, епоксиди, дієнові кон'югати (ДК); вторинні продукти ВРО – альдегіди та газоподібні продукти окиснювальної деградації жирних кислот і білків (етан, пентан, гептан). Надлишок різноманітних продуктів ПОЛ характеризується вираженою цитотоксичною активністю. Вони пригнічують процеси енергоутворення в клітині, порушують синтез нуклеїнових кислот і білка [2]. Пероксидне окиснення мембранних фосfolіпідів є одним із найбільш розповсюджених механізмів деструкції мембранних структур. Враховуючи те, що основою всіх біологічних мембран є ліпіди, усі порушення можуть призвести до морфологічних змін у різних структурах ендотелію серця та судин, зокрема, і в кардіоміоцитах [3, 4].

Захист тканин і органів людини від агресивної дії вільних радикалів забезпечується антиоксидантною системою, але далеко не в усіх випадках ендогенні антиоксиданти можуть захистити організм людини від розвитку оксидативного стресу. Тому використання лікарських засобів з потенційним антиоксидантним ефектом призводить до зменшення наслідків ВРО. Одним із них являється дезапур (1-Фенетил-5,7-дигідро-1Н-піроло-[2,3-d]піримідин-2,4,6-триону), який за попередніми доклінічними дослідженнями проявив виражену антиоксидантну дію.

Тому **метою** нашої роботи було поглиблене вивчення впливу дезапуру на інтенсивність процесів ПОЛ при моделюванні емоційно-больового стресу у щурів.

Матеріали і методи: досліди проводили на білих нелінійних щурах- самцях масою 170-190 г. Усі щури знаходилися під впливом емоційно-больового стресу протягом 15 діб, який викликав активацію ВРО з наступною активацією ліполізу, підвищенням вмісту вільних жирних кислот, деградацією мембранних фосфоліпідів з нагромадженням їх лізоформ, а також внутрішньоклітинним накопиченням дволанцюгових форм жирних кислот та ацетилкоензиму А [5]. Усі тварини були розподілені на 3 групи: 1 група – інтактні тварини, які отримували дистильовану воду; 2 група – тварини, яким вводили референс-препарат – мексидол в його ефективній дозі 100 мг/кг; 3 група – тварини, які отримували дезапур в ефективній дозі 10 мг/кг. Досліджувані сполуки вводили внутрішньошлунково у вигляді водного розчину, стабілізованого твіном-80. Тварин декапітували під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг внутрішньоочеревинно). Дослідженню підлягали сироватка крові та гомогенат міокарда. Міокард гомогенізували в 5-кратному об'ємі молярного фізіологічного розчині, центрифугували при 4000 об/хв. протягом 15 хв і брали супернатант для дослідження. В крові (сироватці) і міокарді досліджували ТБК-активні продукти, вміст дієнових (ДК) і трисєнових кон'югатів (ТК), шифових основ (ШО) і активність супероксиддисмутази (СОД) з використанням загальноприйнятих біохімічних методів [6, 7].

При роботі з тваринами дотримувалися «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986) [8].

Результати досліджень обробляли за допомогою описової статистики. Статистичну достовірність оцінювали з використанням однофакторного дисперсійного аналізу. Достовірною вважали різницю при $p \leq 0,05$.

Для виявлення кореляційних зв'язків між показниками ВРО користувалися регресійним аналізом [9].

Результати та їх обговорення. Нами встановлено, що рівень ТБК-активних первинних продуктів при введенні дезапуру знижувався: в міокарді на 72,4 %; в сироватці крові на 71,6 % відносно контрольної групи тварин. Мексидол знижував аналогічні показники на 63,8 та 62,7 % відповідно (табл.1).

Таблиця 1

Вплив дезапуру на рівень ТБК-активних первинних продуктів у міокарді та сироватці крові тварин за умов емоційно-больового стресу ($M \pm m$, $n=10$)

Біологічний матеріал	1 група – контрольна, %	2 група – мексидол, %	3 група – дезапур, %
Міокард	100,00±4,6	36,2±4,8*	27,6±3,7*
Сироватка крові	100,00±5,4	37,3±3,7*	29,4±2,9*

Примітки: * – $p < 0,001$ відносно контролю.

При дослідженні ДК та ТК доведено, що введення дезапуру знижує рівень дієнів та триєнів в міокарді на 77,1 та 84,6 %, в сироватці крові – на 59,7 та 71,7 % відносно контрольної групи тварин (табл. 2). Референс-препарат мексидол знижував рівень даних показників в міокарді на 11,7 та 35,8 %; в сироватці крові на 17,86 та 31,9 % відповідно.

Таблиця 2

Вміст дієнових та триєнових кон'югатів у міокарді та сироватці крові тварин за умов емоційно-больового стресу ($M \pm m$, $n = 10$)

Група тварин	Міокард		Сироватка крові	
	дієни, %	триєни, %	дієни, %	триєни, %
Контроль	100,00±10,6	100,00±9,2	100,00±8,3	100,00±9,7
Мексидол	78,3±7,1	64,2±10,7*	82,14±9,2	68,1±8,2*
Дезапур	22,9±5,2	15,4±3,8**	41,3±6,4**	28,3±6,4**

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ відносно контролю.

При вивченні ШО одержані результати вказують на те, що при введенні дезапуру їх рівень в міокарді знижувався на 38,7 %, в сироватці крові – на 32,9 % відносно контролю (табл. 3). Дезапур перевершував показники вмісту ШО референс-препарату – мексидолу в міокарді на 17 %, в сироватці крові – на 15 %.

Таблиця 3

Вміст шифових основ у міокарді і сироватці крові тварин за умов емоційно-больового стресу ($M \pm m$, $n = 10$)

Біологічний матеріал	1 група – контрольна, %	2 група – мексидол, %	3 група – дезапур, %
Міокард	100,00±4,8	78,3±3,8*	61,3±8,3**
Сироватка крові	100,00±4,2	83,1±2,1*	67,1±6,2**

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ відносно контролю.

При порівнянні фармакологічної активності досліджуваних сполук встановлено, що дезапур більшою мірою попереджає нагромадження продуктів ПОЛ [10]. Відомо, що попереднє введення СОД перешкоджає стресовому і реперфузійному ушкодженню міокардіоцитів, зберігає силу і швидкість скорочення міокарду, попереджує гальмівну дію низького рН на швидкість споживання кальцію саркоплазматичним ретикулом. Важливе значення має й той факт, що СОД знешкоджує супероксиданіон-радикал, перетворюючи його в перекис водню (практично нетоксичну сполуку).

Таблиця 4

Вплив дезапuru на динаміку росту активності СОД міокарда і в еритроцитах крові ($M \pm m$, $n = 10$)

Біологічний матеріал	1 група – контрольна, %	2 група – мексидол, %	3 група – дезапур, %
Міокард	100,00±4,7	136,4±7,1*	208,2±8,9*
Кров (еритроцити)	100,00±5,6	128,1±7,6*	183,4±9,8*

Примітки: * – $p < 0,05$ відносно контролю.

При дослідженні активності СОД, нами було виявлене її підвищення в міокарді і сироватці крові під дією дезапuru на 108,2 та 83,4 % відносно контролю. Мексидол підвищував активність СОД в міокарді на 36,4 %, в сироватці крові – на 15 % (табл. 4).

Таким чином, проведені дослідження показали, що введення дезапuru знижує вміст первинних молекулярних продуктів ПОЛ у тканині серця й крові, стимулює активність СОД тканини міокарда і супероксидзахоплюючу активність крові.

Наступним етапом нашої роботи було порівняння одержаних результатів та виявлення кореляційних зв'язків за допомогою регресійного аналізу.

Встановлено, що існує прямий кореляційний зв'язок між вмістом продуктів ВРО в міокарді та ступенем ушкодження міокардіоцитів, а також зворотній зв'язок з активністю СОД.

Рівень ДК лінійно з $r=0,94$ ($p<0,001$) зворотно залежить від активності СОД (рис. 1). Ця залежність однаково реалізується як у міокарді, так і у сироватці крові. При цьому дезапур перевершує в цьому відношенні референс-препарат за рахунок своєї комплексної дії.

Рівень ШО також лінійно негативно залежить від активності СОД ($r=0,86$; $p<0,05$) (рис. 2), хоча нахил кривої менший, ніж у випадку ДК.

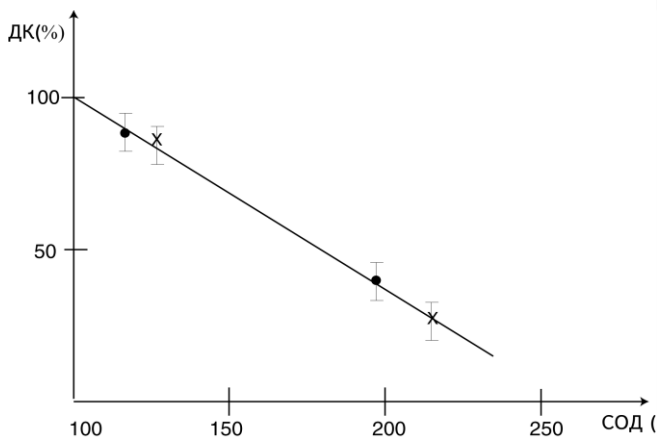


Рис. 1. Залежність рівня ДК від активності СОД:
 $y = -0,65x + 165$ ($r = 0,94$) $Pr < 0,001$

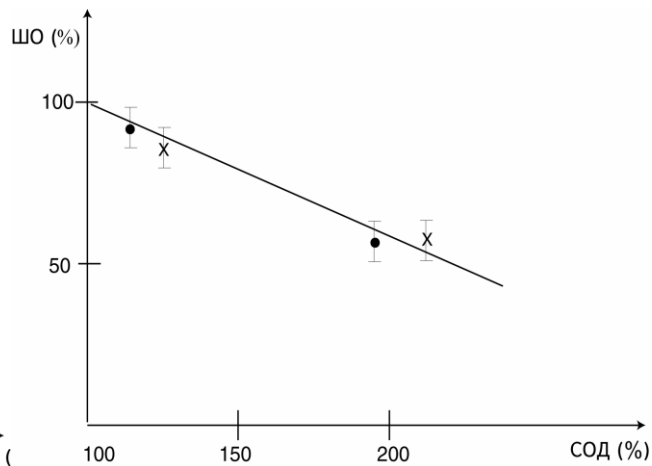


Рис. 2. Залежність рівня ШО від активності СОД
 $y = -0,43x + 143$ ($r = 0,86$) $Pr < 0,05$

—x—x— міокард; —•—•— кров

Це дозволяє припустити більш складний механізм формування ШО, ніж при утворенні ДК, оскільки вони являються кінцевими продуктами ПОЛ. В цьому випадку дезаур більш ефективно, ніж мексидол, втручається в процес утворення кінцевих продуктів ПОЛ.

Викликає інтерес взаємовідношення ТБК і СОД, представлене на рис. 3 і 4. На рис. 3 представлена залежність ТБК від СОД у звичайних координатах.

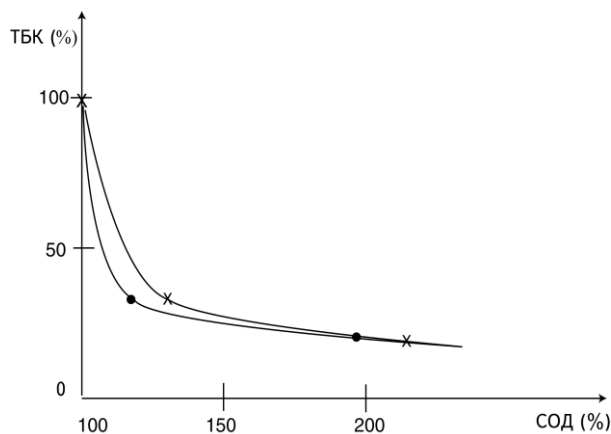


Рис. 3. Залежність рівня ТБК-активних продуктів від активності СОД (у звичайних координатах)

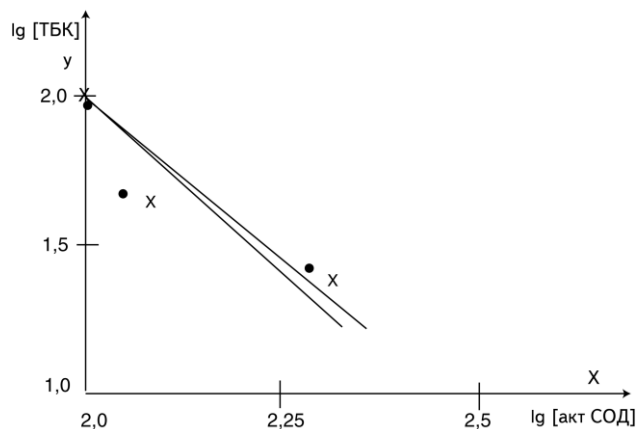


Рис. 4. Залежність рівня ТБК-активних продуктів від активності СОД (у логарифмічних координатах):

$$\lg y = -\lg x + \lg 5700$$
 ($r = 0,83$)

—x—x— міокард; —•—•— кров

З нього випливає, що зв'язок ТБК і СОД нелінійний і негативний, що свідчить про складні непрямі взаємовідношення між даними показниками, тобто СОД втручається в утворення ТБК. Однак воно залежить ще й від інших ферментів, таких як: каталаза, пероксидаза, незалежних від СОД. Лінійний зв'язок між ТБК і СОД описується в логарифмічних координатах (рис. 3) з досить сильним коефіцієнтом кореляції ($r=0,83$).

Біологічне значення цього зв'язку не зовсім зрозуміле в даному випадку, хоча відомо, що найкращим способом в логарифмічних координатах описується взаємозв'язок рецепторів і медіаторів, рецепторів і гормонів. Слід зазначити, що і у відношенні ТБК-активних продуктів дезапур поводитьься більш ефективно, ніж відомий антиоксидант мексидол.

Аналіз представлених даних показав, що при введенні дезапуру спостерігається виражений протекторний ефект на моделі емоційно-больового стресу у щурів.

Висновки:

1. За показниками вільнорадикального окиснення на моделі емоційно-больового стресу дезапур проявив більш виражену антиоксидантну активність, ніж референс-препарат – мексидол.

2. Дезапур має більш виражену тропність до міокарду порівняно з системою крові, ніж мексидол, що і визначає його захисну дію кардіоміоцитів від гіпоксичних ушкоджень.

Список використаної літератури:

1. Клес О. В. Порівняльна характеристика параметрів вільнорадикального гомеостазу тканин серця, печінки та крові щурів за дії різних рівнів іонізуючого випромінювання / О. В. Клес, М. Р. Гжегоцький // Буковинський медичний вісник. – 2007. – Т. 11, № 4. – С. 101–104.

2. Беленічев І. Ф. Продукти вільнорадикального перекисного окиснення та методи їх ідентифікації (огляд літератури) / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, С. І. Коваленко [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. – 2002. - № 4. – С. 9–13.

3. Шевченко О.С. Перекисне окиснення ліпідів та білків мембран клітин у формуванні кальцієзалежного пошкодження міокарда на етапах декомпенсації хронічної серцевої недостатності / О. С. Шевченко // Медична хімія. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 31–35.

4. Шепелев А. П. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней / А. П. Шепелев, И. В. Корниенко, А. В. Шестопапов, А. Ю. Антипов // Вопросы медицинской химии. – 2000. – № 2. – С. 8–25.

5. Левицький В. А. Біохімічні та морфологічні прояви ендотеліальної дисфункції ендокарда і судин міокарда при емоційно-больовому стресі у поєднанні з гіперхолестеринемією / В.А.Левицький, І.М.Лучко // Фізіол. ж. – 2008 – Т. 54, № 5. – С. 75–80.

6. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 911 с.

7. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили; под ред. В. Н. Ореховича // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.

8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.

9. Павлова В. Ю. Основные вопросы статистического анализа в медицинских исследованиях / В. Ю. Павлова // Клиническая онкогематология. – 2009. – Т. 2, № 4. – С. 374–377.

10. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury / H. Jaeschke // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2000. – Vol. 15. – P. 718–724.

11. Halcox J. Endothelial dysfunction and prognosis / J. Halcox // Circulation. – 2002. – Vol. 106. – P. 653–659.

References:

1. Clues O. V. Comparative characteristic parameters of free radical homeostasis of the heart, liver and blood of rats under the influence of different levels of ionizing radiation / O. V. Clues, M. R. Gzhegotskiy // Bukovinian Medical News. – 2007. – Vol. 11, № 4. – P. 101–104.

2. Belenichev I. F. Peroxidation products of free radical oxidation and methods their identification / I. F. Belenichev, J. L. Levytskyj, S. I. Kovalenko [et al.] // Modern problems of toxicology. – 2002. – № 4. – P. 9–13.

3. Shevchenko O.S. Peroxidation of lipids and proteins of cell's membrane in formation of depend myocardial damage at the stage of decompensation of chronic heart / O.S. Shevchenko // Medical Chemistry. – 2005. – Vol. 7, № 2. – P. 31–35.

4. Shepelev A.P. The role of free radical oxidation processes in the pathogenesis of infectious diseases / A. P. Shepelev, I. V. Kornienko, A. V. Shestopalov, A. Yu. Antipov // Problems of medical chemistry. – 2000. – № 2. – P. 8–25.

5. Levytskyj V.A. Biochemical and morphological manifestations of endothelial dysfunction of endocardium and myocardium vessels during emotionally-painful stress with hypercholesterolemia / V. A. Levytskyj, I. M. Luchko // Physiol. J. – 2008. – Vol. 54, № 5. – P. 75–80.

6. Kamyshnikov V. S. Handbook of clinical and biochemical studies, and laboratory diagnostics / V. S. Kamyshnikov. – М.: MEDpress-Inform, 2004. – 911 p.

7. Steel I. D. Method for determination of malondialdehyde via thiobarbituric acid / I. D. Steel, T. G. Garishvili; ed. V. N. Orekhovich // *Modern methods in biochemistry*. – M.: Medicine, 1977. – P. 66–68.

8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.

9. Pavlova V. Yu. Main issues of statistical analysis in medical research / V. Yu. Pavlova // *Clinical oncohematology*. – 2009. – Vol. 2, № 4. – P. 374–377.

10. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury / H. Jaeschke // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2000. – Vol. 15. – P. 718–724.

11. Halcox J. Endothelial dysfunction and prognosis / J. Halcox // *Circulation*. – 2002. – Vol. 106. – P. 653–659.