

УДК 591.494(678.048):616-001.18/19]616-092.9

DOI: 10.12737/article_5c126def73b749.24896834

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ И РЕАМБЕРИНА ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**Н.В.Симонова¹, В.А.Доровских¹, А.В.Кропотов², М.А.Котельникова¹, М.А.Штарберг¹,
А.Г.Майсак¹, А.А.Чернышева¹, М.А.Кабар¹**

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 690002, г. Владивосток, просп. Острякова, 2

РЕЗЮМЕ

Поиск и разработка способов коррекции окислительного стресса в условиях воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды являются актуальной проблемой современной медицины. В экспериментальных условиях исследована возможность коррекции свободнорадикального окисления липидов мембран организма крыс введением янтарной кислоты и сукцинатсодержащего препарата Реамберин (НТФФ «Полисан», Санкт-Петербург). Животные были разделены на 4 группы, в каждой по 20 крыс: интактные животные, которые содержались в стандартных условиях вивария; контрольная группа, где крысы подвергались воздействию ультрафиолетового облучения в течение 3 минут ежедневно; подопытная группа, где животным перед ультрафиолетовым облучением ежедневно внутривенно вводили янтарную кислоту в дозе 100 мг/кг; подопытная группа, где животным перед ультрафиолетовым облучением ежедневно внутривенно вводили Реамберин в дозе 100 мг/кг (20 мл/кг). Установлено, что ежедневное ультрафиолетовое облучение в течение трех минут способствует повышению содержания гидроперекисей липидов (на 48-53%), диеновых конъюгатов (на 43-48%), малонового диальдегида (на 48-61%) на фоне снижения активности основных компонентов антиоксидантной системы. Введение крысам янтарной кислоты способствует снижению в плазме крови гидроперекисей липидов на 15-16%, диеновых конъюгатов – на 9-16%, малонового диальдегида – на 15% по сравнению с крысами контрольной группы. Введение крысам сукцинатсодержащего препарата Реамберин в условиях окислительного стресса способствует снижению в плазме крови гидроперекисей липидов на 27-28%, диеновых конъюгатов – на 23-28%, малонового диальдегида – на 26-29% по сравнению с крысами контрольной группы. При анализе влияния сукцинатсодержащих препаратов на активность компонентов антиоксидантной системы было установлено, что содержание церулоплазмина в крови животных было достоверно выше аналогичного показателя у крыс контрольной группы на 25-32%, витамина Е – на 28-33%. Таким образом,

использование сукцинатсодержащих антиоксидантов в условиях ультрафиолетового облучения животных приводит к стабилизации процессов перекисидации на фоне повышения активности основных компонентов антиоксидантной системы. Внутривенное введение лабораторным животным Реамберина в дозе 100 мг/кг по сукцинату препятствует накоплению продуктов перекисного окисления липидов и увеличивает активность основных компонентов антиоксидантной системы в плазме крови крыс, что превосходит аналогичный эффект янтарной кислоты в дозе 100 мг/кг в условиях окислительного стресса.

Ключевые слова: янтарная кислота, Реамберин, окислительный стресс, ультрафиолетовое облучение, перекисное окисление липидов биологических мембран, продукты перекисидации (гидроперекиси липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид), антиоксидантная система, крысы.

SUMMARY**COMPARATIVE EFFECTIVENESS OF SUCCINIC ACID AND REAMBERIN IN THE OXIDATIVE STRESS IN EXPERIMENT****N.V.Simonova¹, V.A.Dorovskikh¹, A.V.Kropotov²,
M.A.Kotelnikova¹, M.A.Shtarberg¹, A.G.Maysak¹,
A.A.Chernysheva¹, M.A.Kabar¹**

¹Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str.,
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

²Pacific Medical University, 2 Ostryakova Ave.,
Vladivostok, 690002, Russian Federation

The search and development of methods for correction of oxidative stress in conditions of exposure to adverse environmental factors is an actual problem of modern medicine. In experimental conditions the possibility to correct free radical lipid oxidation of rats' organism membranes was studied with the introduction of the succinic acid and of the succinate containing medication called Reamberin (Polysan, St. Petersburg). The animals were divided into 4 groups and each of them had 20 rats: the group with intact animals which were held in standard conditions of vivarium; the control group in which rats were exposed to ultraviolet radiation during three minutes daily; the experimental

group in which before ultraviolet radiation animals had a daily intraabdominal intake of the succinic acid in a dose of 100 mg/kg; the experimental group in which before ultraviolet radiation animals had a daily intraabdominal intake of Reamberin in a dose of 100 mg/kg (20 ml/kg). It was found out that in the blood of experimental animals a daily ultraviolet radiation during three minutes contributes to the increase of lipid hydroperoxides level (by 48-53%), of diene conjugate (by 43-48%), and of malonic dialdehyde (by 48-61%) against the decrease of antioxidant system activity in the blood of intact animals. The introduction of the succinic acid to rats contributes to the significant decrease in the blood of lipid hydroperoxides by 15-16%, of diene conjugates by 9-16%, and of malonic dialdehyde by 15% in comparison with the rats of the control group. The introduction of the succinate containing Reamberin to rats in the conditions of oxidative stress contributes to the significant decrease of lipid hydroperoxides in the blood by 27-28%, of diene conjugates by 23-28%, and of malonic dialdehyde by 26-29% in comparison with the rats of the control group. While analyzing the effect of the succinate containing drugs 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 25-32%, of vitamin E by 28-33% in comparison with the rats of the control group. So, the application of the succinate containing antioxidants in the conditions of ultraviolet radiation under experiment leads to the stabilization of the processes of peroxidation against the increase of antioxidant system activity. The intraabdominal introduction in laboratory animals of Reamberin in a dose of 100 mg/kg of succinate prevents the accumulation of lipoperoxidation products and increases the activity of main components of the antioxidant system in rats' blood plasma, which indirectly exceeds similar effect of succinic acid in a dose of 100 mg/kg in the conditions of oxidative stress.

Key words: succinic acid, Reamberin, oxidative stress, ultraviolet radiation, biological membranes lipid peroxidation, products of peroxidation (lipid hydroperoxides, diene conjugates, malonic dialdehyde), antioxidant system, rats.

Исследования последних лет показали наличие у янтарной кислоты биологической активности с уникальным сочетанием эффектов: по отношению к здоровому организму сукцинаты выступают в роли адаптогенов и актопротекторов, а при наличии патологических изменений проявляют нетипично высокий для адаптогенов терапевтический эффект [1, 5, 6]. При этом амплитуда и направленность модификаций под действием янтарной кислоты зависят от функционального исходного состояния тканей, а ее конечный результат выражается в оптимизации параметров их функционирования [3, 10, 12]. Известно, что янтарная кислота используется в медицине для профилактики состояния пониженной иммунологической реактивности, для повышения резистентности к стрессовым воз-

действиям, поскольку сукцинат положительно влияет на оксигенацию внутренней среды, стабилизирует структуру и функциональную активность митохондрий, является индуктором синтеза некоторых белков, влияет на ионный обмен в клетке. Повышение трансмембранного градиента концентрации кислорода и снижение оксигенации ядра и цитоплазмы свидетельствует о способности янтарной кислоты качественно интенсифицировать диффузию кислорода в различные ткани и органы, стимулируя клеточное дыхание [2, 4, 9, 11, 13]. В связи с этим, разработка НТФФ «ПОЛИ-САН» (Санкт-Петербург, Россия) комбинированных препаратов на основе янтарной кислоты и их апробация в клинике открывает перспективы расширения доказательной базы эффективности сукцинатсодержащих препаратов при различных нозологических формах. При этом, учитывая фармакоэкономический аспект, важным этапом в проведении доклинических и клинических исследований является изучение сравнительной эффективности янтарной кислоты и комбинированных препаратов, в рецептуру которых входит сукцинат.

Цель исследования – изучение сравнительной эффективности янтарной кислоты и Реамберина при окислительном стрессе в эксперименте.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре госпитальной терапии с курсом фармакологии Амурской государственной медицинской академии. Эксперимент проводили на 80 белых беспородных крысах-самцах массой 200-220 г в течение 14 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.

Животные были разделены на 4 группы, в каждой по 20 крыс: 1 группа – интактные крысы, которые содержались в стандартных условиях вивария; 2 группа – контрольная, в которой животных подвергали ульт-

рафиолетовому облучению (УФО) в течение 3 мин ежедневно в течение 14 дней на фоне ежедневного внутрибрюшинного введения крысам непосредственно перед облучением эквивалентного вводимому препарату Реамберин (4 группа) количества 0,9% раствора натрия хлорида (20 мл/кг); 3 группа – подопытная, где животным непосредственно перед облучением (время экспозиции 3 мин) ежедневно внутрибрюшинно вводили янтарную кислоту в дозе 100 мг/кг; 4 группа – подопытная, где животным непосредственно перед облучением (время экспозиции 3 мин) ежедневно внутрибрюшинно вводили Реамберин в дозе 100 мг/кг по сукцинату (20 мл/кг). Забой животных путем декапитации производили на 7 и 14 сутки. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали, исследуя содержание в плазме крови животных гидроперекисей липидов (ГП), диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и компонентов антиоксидантной системы (АОС) – церулоплазмينا, витамина Е по методикам, изложенным в ранее опубликованных нами работах [6, 8]. Статистическую обработку результатов проводили с использо-

ванием критерия Стьюдента (t) с помощью программы Statistica v.6.0. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Воздействие ультрафиолетовых лучей на теплокровный организм в течение 3 минут ежедневно позволяет моделировать окислительный стресс и способствует накоплению продуктов перекисидации в крови облучаемых животных: увеличению содержания ГП на 53% (7 день) и 48% (14 день эксперимента) относительно интактных крыс, ДК – на 48% (7 день) и 43% (14 день), МДА – на 61% (7 день) и 48% (14 день эксперимента) (табл. 1). Активация ПОЛ при УФО крыс развивается на фоне напряжения и истощения АОС крови (табл. 2), характерные изменения которой включают уменьшение содержания церулоплазмينا на 33% (7 день) и 36% (14 день эксперимента), витамина Е – на 31% (к концу первой и второй недель опыта), что в очередной раз подтверждает прооксидантное действие ультрафиолета [7, 8].

Таблица 1

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

| Показатели | Сроки эксперимента | Интактные крысы | Воздействие УФО (контроль) | Воздействие УФО и введение янтарной кислоты | Воздействие УФО и введение Реамберина |
|---------------|--------------------|-----------------|----------------------------|---|---------------------------------------|
| ГП, нмоль/мл | 7 день | 22,6±1,6 | 34,5±2,1* | 29,0±1,2 | 25,2±1,6** |
| | 14 день | 23,0±2,0 | 34,0±1,6* | 28,8±1,0** | 24,5±1,5** |
| ДК, нмоль/мл | 7 день | 31,5±2,8 | 46,6±2,5* | 42,5±2,0 | 36,0±1,2**, *** |
| | 14 день | 33,2±2,5 | 47,4±2,6* | 40,0±1,1** | 34,2±1,3**, *** |
| МДА, нмоль/мл | 7 день | 4,1 ±0,3 | 6,6 ±0,3* | 5,6 ±0,2** | 4,7 ±0,2**, *** |
| | 14 день | 4,0 ±0,3 | 5,9 ±0,2* | 5,0 ±0,2** | 4,4 ±0,1**, *** |

Примечание: здесь и далее * – достоверность различия показателей по сравнению с животными интактной группы ($p < 0,05$); ** – достоверность различия показателей по сравнению с группой животных, к которым применяли только воздействие УФО ($p < 0,05$); *** – достоверность различия показателей облучаемых животных, получавших Реамберин, по сравнению с группой облучаемых животных, получавших янтарную кислоту ($p < 0,05$).

Проведенными нами ранее исследованиями было показано, что стабилизировать процессы липоперекисидации и повысить активность АОС можно введением экзогенного сукцината, оптимизирующего функцию митохондрий и увеличивающего энергопродукцию с последующей нормализацией энергозависимых процессов, что подтверждает антигипоксантиное и антиоксидантное действие янтарной кислоты [1, 4, 5]. Введение янтарной кислоты в эксперименте в условиях воздействия ультрафиолетовых лучей способствовало достоверному снижению уровня ГП на 16% (7 день) и 15% (14 день эксперимента), ДК – на 9% (7 день) и 16% (14 день), МДА – на 15% (7, 14 день эксперимента). В свою очередь, введение сукцинатсодержащего препарата Реамберин на фоне УФО сопровождалось достоверным снижением содержания продуктов радикального характера в сравнении с показателями в контрольной группе: концентрация ГП уменьшилась на 27% (7 день) и 28% (14 день экспери-

мента); ДК – на 23% (7 день) и 28% (14 день); МДА – на 29% (7 день) и 26% (14 день эксперимента). Указанные изменения согласуются с результатами исследований, опубликованными нами ранее, которыми был показан антиоксидантный эффект сукцинатсодержащих лекарственных средств [1]. Сравнивая содержание продуктов перекисидации в крови облучаемых животных на фоне введения Реамберина и янтарной кислоты, важно отметить, что последняя уступает комбинированному препарату в антирадикальной активности, в частности, уровень ДК и МДА в крови животных, получавших Реамберин, был достоверно ниже аналогичных показателей в крови крыс, получавших янтарную кислоту, на 15% (7 день) и 14% (14 день эксперимента), на 16% (7 день) и 12% (14 день эксперимента), соответственно ($p < 0,05$).

Таким образом, экспериментально подтвержденное более выраженное стабилизирующее влияние Реамберина на интенсивность процессов перекисидации в

сравнении с янтарной кислотой в условиях УФО связано, по-видимому, с рецептурой комбинированного препарата, включающего, помимо сукцината, натрия хлорид, калия хлорид и магния хлорид, которые обеспечивают стабильность электрофизиологических процессов, происходящих в клетке, стабилизируют клеточные мембраны, что в условиях воздействия ультрафиолетовых лучей, повышающих проницаемость

биомембран и нарушающих биоэнергетические функции митохондрий, приобретает особую значимость. Кроме того, фармакологический эффект препарата Реамберин обусловлен способностью усиливать компенсаторную активность аэробного гликолиза, снижать степень угнетения окислительных процессов в цикле Кребса в условиях гипоксии с увеличением содержания АТФ и креатинфосфата.

Таблица 2

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

| Показатели | Сроки эксперимента | Интактные крысы | Воздействие УФО (контроль) | Воздействие УФО и введение янтарной кислоты | Воздействие УФО и введение Реамберина |
|-----------------------|--------------------|-----------------|----------------------------|---|---------------------------------------|
| Церулоплазмин, мкг/мл | 7 день | 28,0±1,8 | 18,8±1,6* | 21,0±0,8 | 23,5±1,2 |
| | 14 день | 29,2±2,0 | 18,6±1,5* | 23,8±1,1** | 24,6±1,3** |
| Витамин Е, мкг/мл | 7 день | 50,6±3,0 | 34,8±2,1* | 41,5±2,4 | 44,5±2,3** |
| | 14 день | 48,8±2,6 | 33,6±2,0* | 42,0±2,5 | 44,8±2,2** |

Литературными данными показано, что Реамберин активирует антиоксидантную систему ферментов и тормозит процессы ПОЛ в ишемизированных органах, оказывая мембраностабилизирующее действие, что нашло подтверждение в результатах проведенного нами эксперимента (табл. 2): содержание церулоплазмينا в крови облучаемых животных, получавших Реамберин, было выше аналогичного показателя в контроле на 25% (7 день) и 32% (14 день эксперимента), витамина Е – на 28 и 33%, соответственно. По влиянию на активность компонентов АОС в эксперименте Реамберин превосходил янтарную кислоту, введение которой сопровождалось достоверным увеличением уровня церулоплазмينا к концу второй недели опыта на 28% относительно контроля и недостоверным – витамина Е.

Таким образом, с учетом полученных результатов о динамике содержания продуктов ПОЛ и компонентов АОС в плазме крови экспериментальных животных, можно констатировать антиоксидантную активность препарата Реамберин в условиях УФО, превосходящую активность янтарной кислоты, что свидетельствует о целесообразности применения комбинированного сукцинатсодержащего препарата, улучшающего окислительный метаболизм, стабилизирующего процессы липопероксидации и повышающего активность АОС при облучении.

Выводы

1. Экспериментально подтверждена антиоксидантная активность препарата Реамберин в дозе 100 мг/кг по сукцинату в условиях окислительного стресса, индуцированного воздействием ультрафиолетовых лучей, превосходящая по выраженности фармакологического эффекта янтарную кислоту в аналогичной дозе.

2. Внутривенное введение лабораторным животным Реамберина в дозе 100 мг/кг по сукцинату в условиях УФО снижает содержание продуктов пероксидации и увеличивает активность церулоплазмينا и

витамина Е к концу первой и второй недель эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доровских В.А., Симонова Н.В., Коршунова Н.В. Адаптогены в регуляции холодового стресса. Saabrucken, 2013. 266 с.
2. Ландышев Ю.С., Доровских В.А., Авдеева Н.В., Маркина О.И. Руководство для практических врачей по современным методам диагностики, лечения и профилактики бронхиальной астмы. Благовещенск, 2001. 89 с.
3. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013. Т.76, №5. С. 37–47.
4. Оковитый С.В., Шуленин С.Н., Смирнов А.В. Клиническая фармакология антигипоксантов и антиоксидантов. СПб.: ФАРМиндекс, 2005. 72 с.
5. Симонов В.А., Симонова Н.В. Способы коррекции перекисного окисления липидов при беломышечной болезни животных. Красноярск, 2006. 196 с.
6. Симонова И.В., Доровских В.А., Симонова Н.В., Штарберг М.А. Неспецифическая профилактика острых респираторных заболеваний у детей ясельного возраста // Дальневосточный медицинский журнал. 2009. №3. С.56–58.
7. Симонова Н.В. Настои лекарственных растений и окислительный стресс в условиях ультрафиолетового облучения // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И.Вавилова. 2011. №8. С.23–26.
8. Симонова Н.В. Фитопрепараты в коррекции процессов перекисного окисления липидов биомембран, индуцированных ультрафиолетовым облучением: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Благовещенск, 2012. 46 с.
9. Симонова Н.В., Доровских В.А., Анохина Р.А. Лекарственные растения Амурской области. Благовещенск, 2012. 120 с.

щеск, 2016. 266 с.

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

11. Aldini G., Yeum Kyung-Jim, Niki E., Russel R. Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage: principles and practical applications. Wiley-Blackwell, 2010. 380 p.

12. Niizuma K., Endo H., Chan P. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction as determinants of ischemic neuronal death and survival // J. Neurochem. 2009. Vol.109, Suppl.1. P.133–138.

13. Pratt D.A., Tallman K.A., Porter N.A. Free radical oxidation of polyunsaturated lipids: New mechanistic insights and the development of peroxy radical clocks // Acc. Chem. Res. 2011. Vol. 44. №6. P. 458–467.

REFERENCES

1. Dorovskikh V.A., Simonova N.V., Korshunova N.V. Adaptogens in the regulation of cold stress. Saabruken; 2013 (in Russian).

2. Landyshev Yu.S., Dorovskikh V.A., Avdeeva N.V., Markina O. I. Guide for practitioners on modern methods of diagnosis, treatment and prevention of bronchial asthma. Blagoveshchensk; 2001 (in Russian).

3. Novikov V.E., Levchenkova O.S. Promising directions of search for antihypoxants and targets of their action. *Экспериментальная и клиническая фармакология* 2013; 5:37–47 (in Russian).

4. Okovityy S.V., Shulenin S.N., Smirnov A.V. Clinical pharmacology antihypoxants and antioxidants. St. Petersburg: FARMindex; 2005 (in Russian).

5. Simonov V.A., Simonova N.V. Method of lipid peroxidation correcting in animal white muscle disease. Krasnoyarsk; 2006 (in Russian).

6. Simonova I.V., Dorovskikh V.A., Simonova N.V., Shtarberg M.A. Non-specific preventive measures against respiratory diseases for nursery age children. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal* 2009; 3:56–58 (in Russian).

7. Simonova N.V. Infusions of medicinal plants and oxidative stress under ultraviolet irradiation. *Vestnik Saratovskogo agrarnogo universiteta* 2011; 8:23–26 (in Russian).

8. Simonova N.V. Phytopreparations in the correction of lipid peroxidation of membranes induced by ultraviolet irradiation: abstract of PhD (DSc) thesis (Biol.). Blagoveshchensk; 2012 (in Russian).

9. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Anokhina R.A. Medicinal plants of the Amur region. Blagoveshchensk; 2016 (in Russian).

10. Yarygina E.G., Prokop'eva V.D., Bokhan N.A. Oxidative stress and its correction carnosine. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* 2015; 4:106–113 (in Russian).

11. Aldini G., Yeum Kyung-Jim, Niki E., Russel R. Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage: principles and practical applications. Wiley-Blackwell; 2010.

12. Niizuma K., Endo H., Chan P. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction as determinants of ischemic neuronal death and survival *J. Neurochem.* 2009; 109 (Suppl. 1):133–138.

13. Pratt D.A., Tallman K.A., Porter N.A. Free radical oxidation of polyunsaturated lipids: New mechanistic insights and the development of peroxy radical clocks. *Acc. Chem. Res.* 2011; 6:458–467.

Поступила 07.11.2018

Контактная информация

Наталья Владимировна Симонова,

доктор биологических наук, доцент кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии,
Амурская государственная медицинская академия,

675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.

E-mail: simonova.agma@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Natalia V. Simonova,

MD, PhD, DSc, Associate professor of Department of Hospital Therapy with Pharmacology Course,
Amur State Medical Academy,

95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: simonova.agma@yandex.ru