

©Коллектив авторов

ВОЗДЕЙСТВИЕ БАД ЭПИФАМИН НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ И NADPH-ГЕНЕРИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС

Т.Н. Попова, О.А. Сафонова, А.О. Столярова, А.Н. Веревкин*

Воронежский государственный университет,
Университетская пл., д. 1; эл. почта: solya333@mail.ru

Проведено исследование влияния биологически активной добавки (БАД) с иммуномодуляторным действием эпифамина на активность антиоксидантных (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы) и NADPH-генерирующих (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, NADPH-изоцитратдегидрогеназы) ферментов при экспериментальной ишемии/реперфузии головного мозга у крыс. Получены результаты, свидетельствующие об изменении в сторону контрольных значений возрастающих при патологии активностей данных ферментов, что может быть сопряжено с нормализацией оксидантно-антиоксидантного баланса при коррекции уровня мелатонина. У экспериментальных животных также было выявлено снижение возрастающих при ишемии содержания лактата – маркерного показателя развития патологии, параметров биохемилюминесценции и уровня продуктов липопероксидации при введении эпифамина на фоне развития патологического состояния, что позволяет предполагать проявление тестируемым средством нейротекторных свойств, связанных, возможно, с благоприятным влиянием на интенсивность свободнорадикального окисления. В большинстве случаев изменения носили дозозависимый характер. В связи с вышесказанным эпифамин может представлять интерес с точки зрения коррекции изменений метаболизма при развитии патологии, сопровождающейся окислительным стрессом.

Ключевые слова: ишемия/реперфузия головного мозга, крысы, эпифамин, мелатонин, антиоксидантные ферменты, NADPH-генерирующие ферменты

DOI: 10.18097/PBMC20186401031

ВВЕДЕНИЕ

Важным аспектом современной биомедицины является исследование механизмов регуляции свободнорадикального окисления (СРО), которое играет существенную роль в развитии широкого спектра патологических состояний, в том числе сопряжённых с ишемическим повреждением тканей [1-3]. В физиологических условиях в организме функцию контроля за протеканием этих процессов выполняет антиоксидантная система (АОС), однако при развитии ряда заболеваний имеет место нарушение её функционирования, что делает актуальным разработку новых и совершенствование существующих способов коррекции свободнорадикального гомеостаза в подобных условиях.

В связи с распространённостью, тяжестью и серьёзными последствиями острых нарушений мозгового кровообращения, а также участием свободных радикалов в их патогенезе, важным представляется поиск биологически активных веществ, способных влиять на антиоксидантный статус организма при развитии ишемии мозга. В этом плане интерес вызывает БАД с иммуномодулирующим действием эпифамина (“Клиника Института биорегуляции и геронтологии”, Россия) – комплекс полипептидов и нуклеопротеинов, полученный из эпифиза крупного рогатого скота и свиней (формы выпуска – таблетки с содержанием экстракта 10 мг в упаковке из материалов, разрешённых органами Госсанэпиднадзора). Стандартизацию

проводят на основании оценки содержания белка – не менее 10%, содержания нуклеиновых кислот – не менее 4%, микробиологических и ряда других показателей. Данный БАД, обладающий тропностью к эпителиально-эпифизарной области, относится к классу цитомединов, которые способны обеспечивать коррекцию содержания мелатонина в организме. Эти пептиды не только стимулируют синтез и секрецию мелатонина, но и могут оказывать положительное действие на иммунную систему, нормализовать жировой и углеводный обмен, улучшать микроциркуляцию, а также проявлять антиоксидантное действие [4, 5]. Использование цитаминов рекомендуется, в том числе, для повышения сопротивляемости организма в целом в условиях воздействия неблагоприятных экологических, климатических, профессиональных и других факторов стрессового характера, предупреждения развития различных патологических состояний и их осложнений, а также для поддержания в физиологических границах функциональной активности эндокринной, иммунной и других систем. Актуальность возможного применения эпифамина на фоне развития окислительного стресса объясняется наличием сведений о том, что мелатонин, являющийся дериватом аминокислот и принимающий участие в синхронизации суточных и сезонных ритмов организма, в нейроэндокринной регуляции функций желудочно-кишечного тракта, репродуктивной системы, способен также элиминировать свободные радикалы, обеспечивая нормализацию

* - адресат для переписки

редокс-регулирующих систем организма [6, 7], а также проявлять нейропротекторные свойства при повреждениях мозга различной этиологии [8, 9]. Особое внимание привлекает наличие у мелатонина адаптогенных и иммуномодулирующих свойств, то есть способность корректировать протекающие в организме процессы, в том числе и функционирование АОС, в направлении нормы [10, 11]. Кроме того, потенциальным преимуществом мелатонина как антиоксиданта является возможность вовлечения в обезвреживание свободных радикалов не только самого гормона, но и его метаболитов, что обеспечивает так называемый “антиоксидантный каскад” [12, 13]. При этом чрезвычайно важное значение может иметь амфифильность мелатонина и его способность проникать во все органы и ткани, в том числе преодолевать гематоэнцефалический барьер.

В связи с вышесказанным, целью данной работы было исследование влияния БАД эпифамин в различных дозах на активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1), каталазы (КФ 1.11.1.6), глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9), глутатионредуктазы (КФ 1.8.1.7), глутатионтрансферазы (КФ 2.5.1.18)) и NADPH-генерирующих ферментов (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.49), NADP-изоцитратдегидрогеназы (КФ 1.1.1.42)), способных участвовать в лимитировании скорости процессов СРО путём поставки восстановленных эквивалентов для работы глутатион-зависимой АОС, а также на параметры биохемилюминесценции и уровень продуктов липопероксидации в головном мозге и сыворотке крови крыс и содержание мелатонинсульфата в моче животных на фоне развития экспериментальной ишемии/реперфузии головного мозга (ИРГМ).

МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования использовали беспородных самцов белых лабораторных крыс (*Rattus rattus* L.) массой 150-200 г. Все процедуры эксперимента соответствовали требованиям международных правил гуманного отношения к животным, отражённых в санитарных правилах по отбору и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). ИРГМ у животных опытных групп воспроизводили под наркозом путём 30-минутной окклюзии общих сонных артерий и последующего снятия окклюдоров [14]. Восстановление кровотока контролировали визуально. Спустя 3 суток животных забивали. Кровь забирали из сердца, головной мозг извлекали из черепной коробки. Для сбора мочи животных перед забоем высаживали на 12 ч (в ночное время) в специально оборудованные индивидуальные клетки – метаболические камеры для крыс (НПК “Открытая Наука”, Россия). Анализ всего биоматериала проводили через 3 суток после моделирования ИРГМ. Экспериментальные животные были разделены на 4 группы: 1-ую группу (контрольную) составили ложнооперированные животные (животные, подвергнутые оперативному вмешательству,

не включающему окклюзию артерий). Во 2-ую группу выделили крыс с ИРГМ. В 3-ей группе животным с постишемической реперфузией вводили внутривенно эпифамин в дозе 1,25 мг/кг веса в виде раствора в 0,5 мл 0,9% NaCl три раза в сутки в течение 3-х дней. 4-ую группу составили крысы с патологией, которым вводили эпифамин в дозе 2,5 мг/кг по той же схеме. В ходе работы таблетки эпифамина растирали в фарфоровой ступке и готовили навеску, которую растворяли в 0,5 мл 0,9% NaCl.

Используемые дозы протектора были подобраны в соответствии с рекомендациями к применению эпифамина в клинике.

Для получения гомогената головного мозга крысы навеску ткани растирали в охлажденной среде выделения (50 mM трис-HCl-буфер (pH 7,8), содержащий 1 mM ЭДТА, 1% β-меркаптоэтанол) при соблюдении соотношения масса навески: объём среды выделения 1:3 и центрифугировали при 5000 g в течение 10 мин. Для дальнейших исследований использовали полученный супернатант. Для получения сыворотки крови венозную кровь набирали в стеклянную пробирку без антикоагулянта и помещали на 15 мин в термостат при температуре 37°C, затем центрифугировали при 2500 g в течение 15 мин. Супернатант использовали для дальнейших исследований. Определение содержания лактата проводили с помощью диагностического набора фирмы “Витал” (Россия). Принцип метода заключается в образовании из лактата окрашенного комплекса с λ_{max} 505 нм под действием лактатоксидазы и пероксидазы. Активность супероксиддисмутазы (СОД) анализировали по ингибированию скорости восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) в неэнзиматической системе феназинметасульфата и NADH при 540 нм. За единицу активности (Е) СОД принимали количество фермента, необходимого для 50% ингибирования восстановления НСТ. Активность каталазы определяли по образованию окрашенного комплекса с максимумом поглощения при 410 нм в результате взаимодействия H_2O_2 с молибдатом аммония. Активность глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), NADP-изоцитратдегидрогеназы (NADP-ИДГ) оценивали спектрофотометрически при длине волны 340 нм [15]. За единицу активности (Е) каталазы, ГП, ГР, ГТ, Г6ФДГ, NADP-ИДГ принимали количество фермента, катализирующее образование 1 мкмоль продукта реакции или превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин при температуре +25°C. Определение общего белка проводили по методу Лоури. Активность ферментов выражали в виде удельной активности (Е/мг белка). Уровень процессов СРО и общую антиоксидантную активность оценивали методом биохемилюминесценции (БХЛ), индуцированной Fe^{2+} и H_2O_2 , по результатам определения таких параметров, как светосумма (S) (сумма световых сигналов за время измерения, мВ·с), интенсивность максимальной вспышки (I_{max}) (максимальная интенсивность сигнала за время опыта, мВ) и тангенс угла падения кинетической

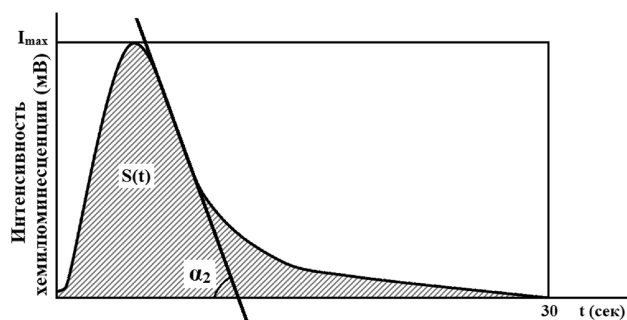


Рисунок 1. Типичная кривая биофлуоресценции.

кривой ($\tan \alpha_2$). Регистрацию кривой БХЛ (рис. 1) осуществляли на биофлуориметре БХЛ-07 в течение 30 с, указанные параметры рассчитывались автоматически за счёт использования программного обеспечения к прибору.

Определение содержания диеновых конъюгатов (ДК) проводили на спектрофотометре Hitachi U-1900 ("Hitachi", Япония) при 233 нм после экстракции липидной фазы в системе гептан: изопропанол, расчёт проводили с использованием коэффициента молярной экстинкции анализируемых соединений. Содержание мелатонинсульфата в моче животных определяли иммуноферментным методом с использованием набора реактивов Rat melatonin sulfate (MS) ELISA Kit ("MyBiosource, Inc.", США).

Аналитические определения проводили как минимум в 2-х повторностях. В каждую экспериментальную группу включали не менее 8 животных. Полученные данные обрабатывали статистически с помощью программного пакета STATISTICA 6,0 с оценкой числовых переменных – средней арифметической, ошибки средней и определением статистической значимости (p). Данные из совокупностей с нормальным распределением сравнивали с помощью t -критерия Стьюдента для независимых выборок с поправкой Бонферони. Критический уровень значимости принимался равным 1,25% ($p < 0,0125$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, при нарушении кровоснабжения ткани наблюдается сдвиг протекающих в ней метаболических процессов в сторону анаэробных, прежде всего гликолиза, сопровождающегося накоплением лактата, в связи с чем, в данной работе в качестве маркера развития патологического состояния использовали определение уровня данного соединения в мозге животных экспериментальных групп. Показано, что при действии эфепина происходит изменение данного параметра, возрастающего при патологии в 3,3 раза, в сторону контрольных значений. Так, введение эфепина в дозах 1,25 мг/кг и 2,5 мг/кг крысам с постишемической реперфузией головного мозга сопровождалось уменьшением содержания лактата в 2,8 и 3,0 раза по сравнению с животными с патологией. Обнаруженная частичная компенсация

постгипоксического метаболического ацидоза в условиях действия эфепина на фоне развития патологии, по-видимому, может быть следствием реализации нейрометаболических и церебропротекторных свойств исследуемого средства.

Нами было показано ранее, что в условиях ИРГМ наблюдается увеличение активности ферментов-антиоксидантов в тканях экспериментальных животных [15], что может быть обусловлено адаптивной реакцией организма на развитие патологического состояния, сопровождающегося окислительным стрессом [16, 17]. Известно, что в ответ на действие стрессора может происходить индукция клеточного стрессового ответа. Имеются исследования, свидетельствующие о существовании бифазного дозо-зависимого адаптивного ответа, для которого характерны стимуляция в ответ на низкие дозы и торможение в ответ на высокие дозы стрессового воздействия, включая силу и время воздействия [18]. Реализация бифазного ответа, очевидно, связана также с потенциальными возможностями компенсаторных механизмов, в том числе сопряжённых с функционированием АОС, способных активироваться на стадии компенсации стрессорного воздействия и впоследствии подавляться на стадии декомпенсации.

В основе реализации компенсаторных механизмов, выявленных нами, могут лежать различные процессы, в том числе индукция генов антиоксидантных ферментов на фоне повышения уровня активных форм кислорода при патологии [19], контролируемая транскрипционным путём, ключевыми компонентами которого являются антиоксидант-реактивный элемент (ARE), транскрипционные факторы Nrf2, NF- κ B, AP-1 и некоторые другие [16, 20]. Кроме того, важную роль могут играть изменения активности антиоксидантных ферментов за счёт конформационных перестроек, что сопровождается изменением кинетических параметров каталитического действия ферментов, их регуляторных характеристик [21, 22].

В условиях эксперимента подтверждение интенсификации процессов СРО осуществляли с помощью оценки параметров биофлуоресценции, содержания продуктов липопероксидации и активности аконитатгидратазы – чувствительной мишени действия свободных радикалов [23, 24], что соотносилось с литературными данными об участии подобных патогенетических механизмов в развитии постишемических повреждений головного мозга [1-3].

Согласно полученным в данной работе результатам, воздействие эфепина на фоне развития ИРГМ приводило к снижению активности ферментов АОС относительно значений при патологии. Так, при действии средства в дозах 1,25 мг/кг и 2,5 мг/кг было отмечено уменьшение удельной активности СОД в ткани мозга в 1,4 и 1,6 раза, в сыворотке крови – в 1,5 и 1,7 раза. В этих условиях активность каталазы снижалась в мозге животных в 1,2 и 1,4 раза, в сыворотке крови – в 1,2 раза соответственно по сравнению с данными

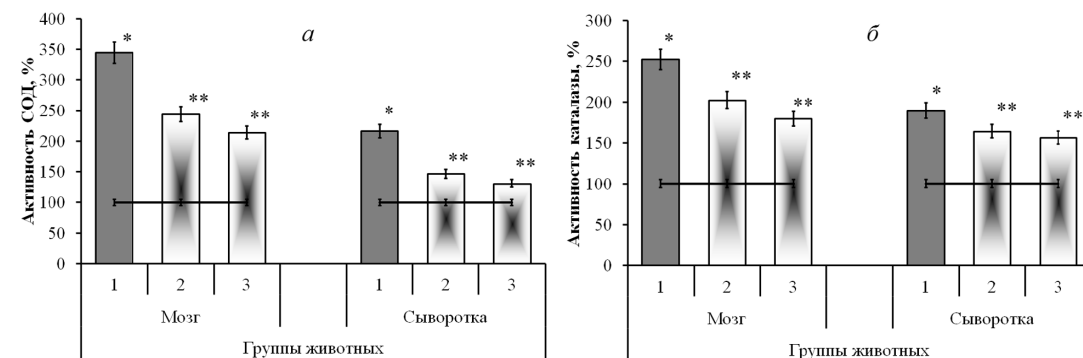


Рисунок 2. Активность супероксиддисмутазы (а) и каталазы (б) в головном мозге и сыворотке крови крыс экспериментальных групп: 1 - животные с ИРГМ, 2 - крысы с патологией, которым вводили эпифамин в дозе 1,25 мг/кг, 3 - животные с ИРГМ, которым вводили эпифамин в дозе 2,5 мг/кг. Здесь и на рисунках 3-6: за 100% принимали контрольные значения; * - статистически значимые различия по сравнению с контролем; ** - статистически значимые различия по сравнению с патологией.

при ИРГМ (рис. 2). При введении эпифамина в дозах 1,25 мг/кг и 2,5 мг/кг также отмечалось уменьшение активности ГП в головном мозге в 1,1 и 1,2 раза, ГР – в 1,4 и 1,6 раза, ГТ – в 2,0 и 2,4 раза соответственно (рис. 3). При исследовании данных параметров в сыворотке крови были отмечены сходные изменения, однако, выраженные в меньшей степени (рис. 3). Таким образом, изменение активности исследуемых антиоксидантных ферментов в сторону контрольных значений может являться следствием нормализации протекающих в организме процессов, что, по-видимому, подтверждает наличие адаптогенных свойств у тестируемого средства.

Поскольку в роли основных индуцирующих факторов для усиления экспрессии генов антиоксидантных ферментов выступают свободные радикалы и реактивные молекулы (в частности, O_2^- и H_2O_2) [16, 19, 20], то способность мелатонина взаимодействовать с ними может иметь существенное значение для поддержания окислительно-антиоксидантного баланса, и, как следствие, степени мобилизации активности ферментов АОС. По-видимому, нормализация данного баланса имеет существенное значение, так как чрезмерная активация редокс-регулирующих систем может сопровождаться торможением ряда процессов с участием свободных радикалов, сопряжённым с негативными последствиями [10].

В качестве гипотетического механизма для объяснения полученных результатов в условиях введения БАД эпифамина можно предположить коррекцию в организме уровня мелатонина, способного оказывать антиоксидантное и протекторное действие в условиях патологии, сопровождающееся торможением процессов СРО биомолекул и, как следствие, меньшей степенью мобилизации АОС.

Данное предположение подтверждают результаты сравнительного анализа действия эпифамина и мелатонина, свидетельствующие о сходстве и однонаправленности их эффектов, а также приведённые ниже данные по оценке уровня основного метаболита мелатонина – мелатонинсульфата – в моче животных экспериментальных групп.

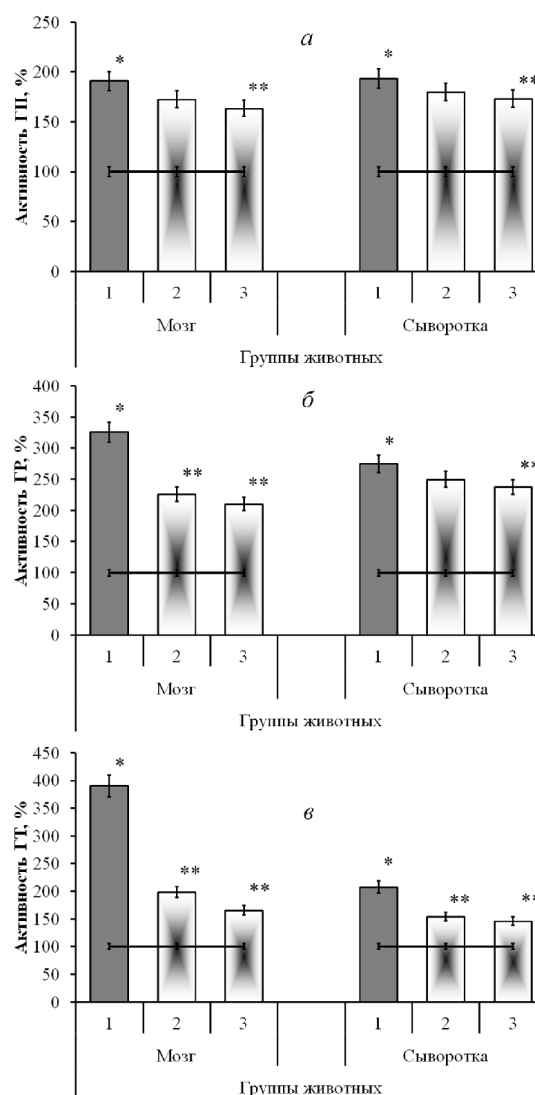


Рисунок 3. Активность глутатионпероксидазы (а), глутатионредуктазы (б) и глутатионтрансферазы (в) в головном мозге и сыворотке крови крыс экспериментальных групп: 1 - животные с ИРГМ, 2 - крысы с патологией, которым вводили эпифамин в дозе 1,25 мг/кг, 3 - животные с ИРГМ, которым вводили эпифамин в дозе 2,5 мг/кг.

Исследование по воздействию мелаксена, содержащего химический аналог гормона мелатонина, на оксидативный статус тканей млекопитающих при ИРГМ [24], а также оценка влияния эпифамина и мелатонина на интенсивность процессов СРО и активность АОС организма при других патологиях, сопряжённых с развитием оксидативного стресса, в частности, при сахарном диабете 2 типа [25, 26], были проведены ранее. Из литературных источников известно, что в основе проявления мелатонином антиоксидантного действия могут лежать различные механизмы [27]. В частности, данный гормон может напрямую выступать в роли ловушки свободных радикалов, в том числе за счёт связывания $\cdot\text{OH}$ -радикалов [13]. Кроме того, показано, что экзогенно введенный мелатонин способен уменьшать образование $\text{NO}\cdot$ и поглощать ONOO^- , тем самым проявляя свои защитные эффекты. При этом необходимо отметить, что в качестве сквенджера свободных радикалов может выступать не только сам гормон, но и продукты его взаимодействия с данными частицами, что многократно повышает его эффективность как антиоксиданта. Так, в процессе формирования N' -ацетил- N_2 -формил-5-метоксикинурамина из мелатонина нейтрализуется до четырёх различных типов свободных радикалов [13]. Именно участие в реакциях детоксикации антиоксидантного каскада позволяет мелатонину и его метаболитам проявлять выраженный антиоксидантный эффект [12, 13].

Ранее при развитии ИРГМ было обнаружено возрастание активности Г6ФДГ и NADP-ИДГ, что может иметь адаптивное значение в условиях окислительного стресса [15]. В ходе данной работы было отмечено снижение активности данных ферментов в условиях действия эпифамина на фоне развития ИРГМ у крыс. Так, на фоне введения данного средства в дозах 1,25 мг/кг и 2,5 мг/кг наблюдалось уменьшение активности Г6ФДГ в ткани мозга животных в 1,3 и 1,4 раза по сравнению со значениями при патологии, для сыворотки крови были выявлены сходные изменения (рис. 4). В этих условиях активность NADP-ИДГ снижалась как в головном мозге, так и в сыворотке крови крыс с патологией в 1,1 и 1,2 раза (рис. 4). Полученные результаты можно объяснить снижением необходимости в поставке восстановительных эквивалентов

в виде NADPH для работы глутатионовой АОС в условиях уменьшения степени её активации при действии эпифамина, что соотносится с результатами определения активности ГП и ГР.

Для подтверждения проявления антиоксидантных свойств тестируемым средством был проведён анализ параметров биохемилюминесценции и содержания продуктов липопероксидации – ДК, в ткани мозга и сыворотке крови животных экспериментальных групп. При действии эпифамина на фоне развития постишемического повреждения головного мозга было выявлено снижение параметров БХЛ, возрастающих при патологии, в сторону контрольных значений. Так, при введении данного средства животным в дозах 1,25 мг/кг и 2,5 мг/кг значения S БХЛ в мозге уменьшались в 1,5 и 1,8 раза, в сыворотке крови – в 1,3 и 1,5 раза по сравнению со значениями при ИРГМ. Для значений I_{max} БХЛ в условиях действия эпифамина в тех же дозах было отмечено снижение в мозге в 1,2 и 1,3 раза, в сыворотке крови – в 1,2 и 1,4 раза по сравнению с патологией. Как в мозге, так и в сыворотке крови животных, которым вводили данное средство в дозах 1,25 мг/кг и 2,5 мг/кг, было выявлено снижение $\text{tg}\alpha_2$ хемилюминесценции в 1,1 и 1,2 раза по сравнению с данными при ИРГМ, что также может свидетельствовать об уменьшении степени мобилизации АОС в условиях торможения свободнорадикальных процессов (рис. 5). При введении крысам эпифамина в дозах 1,25 мг/кг и 2,5 мг/кг отмечалось также снижение уровня первичных молекулярных продуктов липопероксидации – ДК, возрастающих при патологии, в головном мозге в 1,6 раза, в сыворотке крови – в 1,4 и 1,5 раза (рис. 6). Данные по изменению параметров БХЛ, отражающих интенсивность процессов СРО и общую активность АОС, а также уровня ДК могут быть объяснены с точки зрения реализации антиоксидантных свойств эпифамина, обеспечивающего коррекцию содержания активного антиоксиданта – мелатонина, в организме [6].

Для подтверждения корректирующего воздействия эпифамина на уровень мелатонина было проведено исследование концентрации его основного метаболита – мелатонинсульфата в моче животных экспериментальных групп. Согласно полученным результатам, при патологии имеет место снижение содержания данного соединения в 1,6 раза

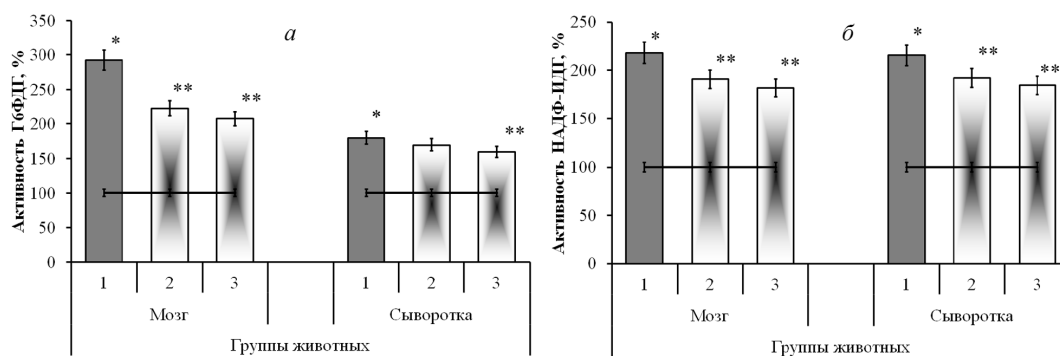


Рисунок 4. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (а) и NADP-изоцитратдегидрогеназы (б) в головном мозге и сыворотке крови крыс экспериментальных групп: 1 - животные с ИРГМ, 2 - крысы с патологией, которым вводили эпифамин в дозе 1,25 мг/кг, 3 - животные с ИРГМ, которым вводили эпифамин в дозе 2,5 мг/кг.

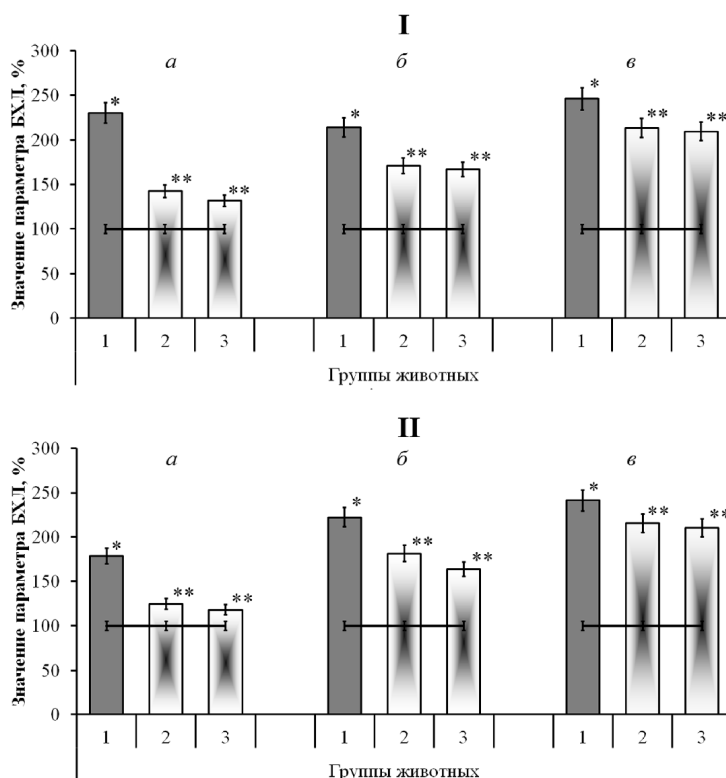


Рисунок 5. Параметры биохимилуминесценции: S (а), I_{\max} (б) и $tg\alpha_2$ (в), в головном мозге (I) и сыворотке крови (II) крыс экспериментальных групп: 1 - животные с ИРГМ, 2 - крысы с патологией, которым вводили эпифамин в дозе 1,25 мг/кг, 3 - животные с ИРГМ, которым вводили эпифамин в дозе 2,5 мг/кг.

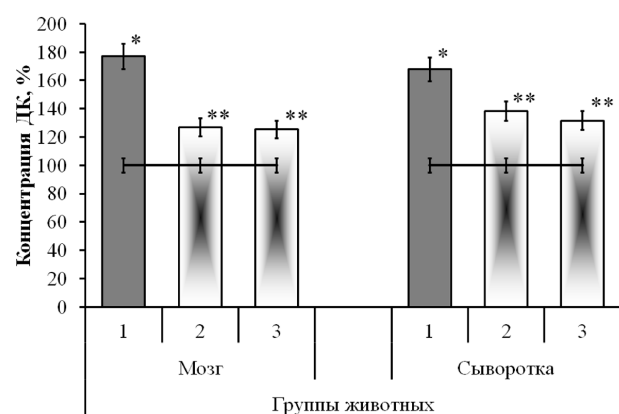


Рисунок 6. Содержание диеновых конъюгатов в головном мозге и сыворотке крови крыс экспериментальных групп: 1 - животные с ИРГМ, 2 - крысы с патологией, которым вводили эпифамин в дозе 1,25 мг/кг, 3 - животные с ИРГМ, которым вводили эпифамин в дозе 2,5 мг/кг.

относительно данных в контроле (с $21,0 \pm 0,9$ нг/мл до $13,1 \pm 0,5$ нг/мл), что может быть связано с функционированием мелатонина в качестве скэвенджера свободных радикалов, приводящим к превращению его в другие продукты: 3-гидроксимелатонин, N[1]-ацетил-N[2]-формил-5-метоксикинумарин и другие. В то же время, введение эпифамина в дозах 1,25 мг/кг и 2,5 мг/кг сопровождалось возрастанием анализируемого параметра в 1,3 (до $17,2 \pm 0,7$ нг/мл) и 1,4 раза (до $18,4 \pm 0,7$ нг/мл) по сравнению с патологией,

то есть отмечалось изменение в сторону контроля, что может свидетельствовать о реализации позитивного регулирующего воздействия используемого средства на метаболизм мелатонина.

По всей видимости, полученные результаты свидетельствуют о способности БАД эпифамин участвовать в регуляции клеточного метаболизма при патологии, сопряжённой с развитием окислительного стресса, вследствие проявления антиоксидантных и нейропротекторных свойств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

При действии БАД эпифамин на фоне развития ИРГМ имеет место снижение степени лактат-ацидоза – маркера развития патологии, изменение в сторону контроля активности антиоксидантных (СОД, каталазы, ГП, ГР, ГТ) и NADPH-генерирующих (Г6ФДГ, NADP-ИДГ) ферментов, что может быть сопряжено с реализацией его антиоксидантных свойств, способностью снижать степень метаболических сдвигов и развития окислительного стресса при постишемической реперфузии головного мозга. По-видимому, это связано со стимуляцией синтеза и секреции мелатонина под действием пептидов цитомединов [4, 5], что подтверждается возрастанием уровня мелатонинсульфата в моче животных по сравнению с патологией. Наличие антиоксидантных свойств у эпифамина было подтверждено с помощью оценки параметров биохимилуминесценции и уровня продуктов липопероксидации. Также необходимо

отметить, что в большинстве случаев изменение анализируемых параметров при действии эпифамина носило дозозависимый характер. В связи с вышесказанным эпифамин может представлять интерес с точки зрения коррекции изменений метаболизма при ишемии мозга, сопровождающейся окислительным стрессом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ortiz G.G., Pacheco Moisés F.P., Mireles-Ramírez M., Flores-Alvarado L.J., González-Usigli H., Sánchez-González V.J., Sánchez-López A.L., Sánchez-Romero L., Díaz-Barba E.I., Santoscoy-Gutiérrez J.F., Rivero-Moragrega P. (2017) Adv. Protein Chem. Struct. Biol., **108**, 1-31.
2. Alexandrova M.L., Bochev P.G. (2007) Oxidative Stress Neurodegenerative Disorders, **1**, 313-368.
3. Radak D., Resanovic I., Isenovic E.R. (2014) Angiology, **65**(8), 667-676.
4. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. (2012) Физиология человека, **38**(1), 119-127.
5. Козина Л.С. (2007) Профил. клин. мед., №1, 140-143.
6. Salva M.A.Q., Hartley S. (2012) J. Central Nervous System Dis., **4**, 15-26.
7. Bavithra S., Selvakumar K., Krishnamoorthy G., Venkataraman P., Arunakaran J. (2013) Environmen. Toxicol. Pharmacol., **36**(1), 152-163.
8. Lekic T., Hartman R., Rojas H., Manaenko A., Chen W., Ayer R., Tang J., Zhang J.H. (2010) J. Neurotrauma, **27**(3), 627-637.
9. Watson N., Diamandis T., Gonzales-Portillo C., Reyes S., Borlongan C.V. (2016) Cell Transplantation, **25** (5), 883-991.
10. De Carvalho M.A.A., Popov S.S., Safonova O.A., Makeeva A.V., Matasova L.V., Popova T.N., Pashkov A.N. (2010) The effects of some substances-protectors on free-radical homeostasis in diseases with oxidative stress, Handbook of Free Radicals: Formation, Types and Effects, Nova Science Publishers, Inc., New York, pp. 291-303.
11. Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. (2012). Успехи физиол. наук, **43**(3), 82-100.
12. Maharaj D.S., Anoopkumar-Dukie S., Glass B.D., Antunes E.M., Lack B., Walker R.B., Daya S. (2002) J. Pineal Res., **32** (4), 257-261.
13. Tan D.X., Manchester L.C., Reiter R.J., Qi W.B., Karbownik M., Calvo J.R. (2000) Neurosignals, **9**(3-4), 137-159.
14. Бульон В.В., Хныченко Л.К., Коваленко А.Л., Алексеева Л.Е., Сапронов Н.С. (2000) Бюлл. exper. биол. мед., **129**(2), 149-151.
15. Сафонова О.А., Попова Т.Н., Панченко Л.Ф. (2011) Бюлл. exper. биол. мед., **151**(5), 488-491.
16. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. (2006) Биохимия, **71**(9), 1183-1198.
17. Девятков А.А., Фёдорова Т.Н., Стволинский С.Л., Белоусова М.А., Медведев О.С., Тутельян В.А. (2017) Бюлл. exper. биол. мед., **163**(2), 156-159.
18. Calabrese E.J. (2010) Hum. Exp. Toxicol., **29**(4), 249-261.
19. Sharma S., Dewald O., Adroque J., Salazar R.L., Razeghi P., Crapo J.D., Bowler R.P., Entman M.L., Taegtmeyer H. (2006) Free Rad. Biol. Med., **40**(12), 2223-2231.
20. Nam H.Y., Choi B.H., Lee J.Y., Lee S.G., Kim Y.H., Lee K.H., Yoon H.K., Song J.S., Kim H.J., Lim Y. (2004) Toxicol. Letts., **148**(1), 95-102.
21. Goss J.R., Taffe K.M., Kochanek P.M., DeKosky S.T. (1997) Exper. Neurol., **146**(1), 291-294.
22. Попова Т.Н., Матасова Л.В., Семенихина А.В., Сафонова О.А. (2009) Регуляция ферментативной активности при оксидативном стрессе, Воронежский государственный университет, Воронеж, 344с.
23. Makeeva A.V., Popova T.N., Сливкин А.И., Крыльский Д.В. (2009) Биомед. химия, **55**, 643-650. DOI: 10.18097/pbmc20095505643
24. Попова Т.Н., Сафонова О.А., Столярова А.О. (2016) Биомед. химия, **62**, 561-565. DOI: 10.18097/pbmc20166205561
25. Попов С.С., Паиков А.Н., Агарков А.А., Шульгин К.К. (2015) Биомед. химия, **61**, 400-406. DOI: 10.18097/pbmc20156103400
26. Попов С.С., Паиков А.Н., Шульгин К.К. (2015) Эксп. клин. фармакол., **78**(12), 6-10.
27. Reiter R.J., Tan D.X., Terron M.P., Flores L.J., Czarnocki Z. (2007) Acta Biochimica Polonica, **54**(1), 1-9.

Поступила: 27. 09. 2017.
Принята к печати: 16. 11. 2017.

THE EFFECT OF THE BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVE EPIPHAMINE ON ANTIOXIDANT AND NADPH-GENERATING ENZYMES ACTIVITY UNDER EXPERIMENTAL CEREBRAL ISCHEMIA/REPERFUSION IN RATS

T.N. Popova, O.A. Safonova, A.O. Stolyarova, A.N. Verevkin

Voronezh State University,
1 Universitetskaya sq., Voronezh, 394018 Russia; e-mail: solya333@mail.ru

The effect of biologically active additive with immunomodulator properties epiphamine on the activity of antioxidant (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione transferase) and NADPH-generating (glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADP-isocitrate dehydrogenase) enzymes has been investigated at experimental cerebral ischemia/reperfusion in rats. The results obtained indicate epiphamine-induced changes of these enzymes activities towards control values. Changes in the content of lactate, a marker of the pathology development, have also been found in experimental animals under ischemia and epiphamine administration caused changes similar to those observed in the case of enzyme activities studied. In most cases, the changes were dose-dependent. Thus, epiphamine can be of considerable interest from the point of view of metabolic changes pharmacological correction at the development of the pathology accompanied by oxidative stress.

Key words: brain ischemia/reperfusion, rats, epiphamine, melatonin, antioxidant enzymes, NADPH-generating enzymes