

В.А. Доровских, О.Н. Ли, Н.В. Симонова, М.А. Штарберг

## ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ ПРИ ТЕПЛОМ ВОЗДЕЙСТВИИ И ВВЕДЕНИИ РЕМАКСОЛА

*Амурская государственная медицинская академия,  
675000, ул. Горького, 95, тел. 8-(4162)-31-90-09, г. Благовещенск*

### Резюме

Современные условия окружающей среды резко повысили уровень радикалообразующих процессов в организме. Тепловое воздействие стимулирует генерацию активных форм кислорода, индуцирующих процессы перекисного окисления липидов, вследствие развития гипоксии. В экспериментальных условиях исследована возможность коррекции свободнорадикального окисления липидов мембран введением сукцинатсодержащего препарата ремаксол (НТФФ «Полисан», Санкт-Петербург). Животные были разделены на 4 группы, в каждой по 30 крыс: интактные животные, которые содержались в стандартных условиях вивария; контрольная группа, где крысы подвергались тепловому воздействию в течение 45 минут ежедневно; подопытная группа, где животным перед тепловым воздействием ежедневно вводили ремаксол в дозе 50 мг/кг; подопытная группа, где крысам перед тепловым воздействием ежедневно вводили ремаксол в дозе 100 мг/кг. Установлено, что ежедневное тепловое воздействие в течение 45 минут способствует повышению в ткани печени животных содержания гидроперекисей липидов (на 34-41 %), диеновых конъюгатов (на 45-50 %), малонового диальдегида (на 62-74 %) на фоне снижения активности основных компонентов антиоксидантной системы. Введение крысам ремаксоло в условиях теплового воздействия способствует достоверному снижению в печени гидроперекисей липидов на 22-34 %, диеновых конъюгатов – на 21-33 %, малонового диальдегида – на 33-43 % по сравнению с крысами контрольной группы. При анализе влияния ремаксоло на активность компонентов антиоксидантной системы было установлено, что содержание церулоплазмينا в печени животных было достоверно выше аналогичного показателя у крыс контрольной группы на 35-44 %, витамина Е – на 28-43 %. Таким образом, использование ремаксоло в условиях длительного теплового воздействия на организм экспериментальных животных приводит к стабилизации процессов пероксидации на фоне повышения активности основных компонентов антиоксидантной системы.

*Ключевые слова:* ремаксол, тепловое воздействие, перекисное окисление липидов биологических мембран, продукты пероксидации (гидроперекиси липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид), антиоксидантная система.

V.A. Dorovskikh, O.N. Li, N.V. Simonova, M.A. Shtarberg

## LIPID PEROXIDATION OF THE LIVER DURING HEAT EXPOSURE AND THE INTRODUCTION OF REMAXOL

*Amur state medical academy, Blagoveshchensk*

### Summary

Modern environmental conditions dramatically increased the level of radical processes in the body. Heat exposure stimulates the generation of reactive oxygen species, inducing peroxidation of lipids, resulting in the development of hypoxia. In experimental conditions the possibility to correct free radical lipid oxidation of rats' organism membranes was studied with the introduction of the succinate containing drug called remaxol (Polysan, St. Petersburg). The animals were divided into 4 groups and each of them had 30 rats: intact animals which were held in standard conditions of vivarium; the control group in which rats were exposed to heat during forty-five minutes daily; the experimental group in which before the effects of heat animals had a daily intake of the remaxol in a dose of 50 mg/kg; the experimental group in which before the effects of heat animals had a daily intake of the remaxol in a dose of 100 mg/kg. It was found out that in the liver tissue of experimental animals a daily heat exposure during forty-five minutes contributes to the increase of lipid hydroperoxides level (by 34-41 %), of diene conjugate (by 45-50 %), and of malonic dialdehyde (by 62-74 %) against the decrease of antioxidant system activity in the liver of intact animals. The introduction of the remaxol to rats in the conditions of heat exposure contributes to the reliable decrease in the liver of lipid hydroperoxides by 22-34 %, of diene conjugates – by 21-33 %, and of malonic dialdehyde by 33-43 % in comparison with the rats of the control group. While analyzing the effect of the remaxol on the activity of the components of antioxidant system it was shown that the level of ceruloplasmin in the liver of animals was reliably higher by 35-44 %, of vitamin E by 28-43 % in comparison with the same parameters of the rats of the control group. So, the application of the remaxol in the conditions of long heat exposure of the organism of animals under experiment leads to the stabilization of the processes of peroxidation against the increase of antioxidant system activity.

*Key words:* remaxol, heat exposure, biological membranes lipid peroxidation, products of peroxidation (lipid hydroperoxides, diene conjugates, malonic dialdehyde), antioxidant system.

Гипертермия стимулирует генерацию активных форм кислорода, индуцирующих процессы перекисного окисления липидов, приводящие к химической модификации и разрушению биомолекул, вследствие развития гипоксии, сопровождающей практически все

повреждения тканей, приводящей к разобщению окислительного фосфорилирования и нарушению синтеза АТФ, что по однотипности реакции организма можно сравнить со стрессорным повреждением [1, 2]. В условиях напряжения и декомпенсации механизмов анти-

оксидантной защиты организма избыточная активация реакций свободнорадикального окисления липидов с накоплением первичных и вторичных продуктов перекисидации способствует развитию окислительного стресса [4, 9, 10]. В связи с этим, важным аспектом в регуляции воздействия температурного фактора на организм является назначение антигипоксантных и антиоксидантных препаратов, в частности лекарственных средств, содержащих янтарную кислоту, являющуюся одним из метаболитов цикла Кребса, экзогенное поступление которой восстанавливает процессы энергообмена [3, 5, 7]. Исследование эффективности сукцинатсодержащих препаратов в условиях воздействия высоких температур представляет несомненный интерес, так как восстановление энергетического потенциала клетки и предупреждение избыточной активации процессов свободнорадикального окисления на фоне повышения антиоксидантной активности расширяет пределы адаптации организма к экстремальным воздействиям окружающей среды.

*Цель исследования* – изучение влияния ремаксола на интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени при тепловом воздействии на организм.

#### Материалы и методы

Исследование одобрено Этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии, соответствует нормативным требованиям проведения доклинических экспериментальных исследований.

Эксперимент проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г в течение 21 дня. Для изучения эффективности ремаксола была использована тепловая модель эксперимента, созданная и внедренная на базе Донецкого медицинского университета (1992): животные подвергались воздействию температуры  $+40\pm 1-2$  °C в термостате воздушном лабораторном ТВЛ-К (Санкт-Петербург) с соблюдением адекватных условий влажности (45 %) и вентиляции. Животные были разделены на 4 группы, в каждой по 30 крыс: 1-я – *интактная группа*, животные находились в стандартных условиях вивария; 2-я – *контрольная группа*, животные подвергались тепловому воздействию по 45 минут ежедневно в течение 21 дня на фоне ежедневного внутрибрюшинного введения животным непосредственно перед перегреванием эквивалентного вводимому ремаксолу количества раствора натрия хлорида 0,9 % (2 мл/100 г массы животного); 3-я и 4-я – *подопытные группы*, животным перед тепловым воздействием (время экспозиции – 45 минут) ежедневно внутрибрюшинно вводили ремаксол, соответственно, в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг по сукцинату. Исследование проводилось одновременно во всех группах в течение 21 дня, забой животных производился путем декапитации на 7-й, 14-й, 21-й дни эксперимента. Интенсивность процессов ПОЛ в печени оценивали, исследуя содержание гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и основных компонентов антиоксидантной системы (АОС) – церулоплазмина, витамина Е по методикам, изложенным в ранее опубликованных нами работах [6, 11]. Статистическую обработку биохимических дан-

ных проводили с помощью параметрического метода с использованием t-критерия Стьюдента.

#### Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено (табл. 1), что воздействие на крыс высоких температур сопровождается активацией процессов ПОЛ и накоплением продуктов перекисидации в ткани печени контрольных животных: увеличением содержания гидроперекисей липидов на 41 % (7-й день), 34 % (14-й день) и 38 % (21-й день эксперимента) в сравнении с аналогичным показателем в группе интактных крыс, диеновых конъюгатов – на 45 %, 50 % и 50 % соответственно, малонового диальдегида – на 62 %, 67 % и 74 %. В свою очередь, введение ремаксола в условиях теплового воздействия сопровождалось достоверным снижением содержания продуктов радикального характера в сравнении с показателями в контрольной группе: на фоне применения ремаксола в дозе 50 мг/кг концентрация гидроперекисей липидов уменьшилась на 23 % (7-й день), 22 % (14-й день) и 27 % (21-й день эксперимента), диеновых конъюгатов – на 21 %, 23 % и 25 %, соответственно, малонового диальдегида – на 33 %, 38 % и 40 %; на фоне введения ремаксола в дозе 100 мг/кг содержание гидроперекисей липидов снизилось на 30 % (7-й день), 30 % (14-й день) и 34 % (21-й день эксперимента), диеновых конъюгатов – на 28 %, 31 % и 33 %, соответственно, малонового диальдегида – на 36 %, 43 % и 43 %, соответственно. Указанные изменения согласуются с результатами исследований, опубликованными нами ранее, которыми было показано стабилизирующее влияние ремаксола на накопление продуктов радикального характера в крови лабораторных животных в условиях гипо- и гипертермии [5, 6].

Таблица 1

Содержание продуктов ПОЛ (нмоль/г) в ткани печени крыс при тепловом воздействии на фоне применения ремаксола в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг

| Показатели            | Сроки эксперимента | Группа 1, интактная (n=30) | Группа 2, тепло (контроль) (n=30) | Группа 3, ремаксол в дозе 50 мг/кг + тепло (n=30) | Группа 4, ремаксол в дозе 100 мг/кг + тепло (n=30) |
|-----------------------|--------------------|----------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Гидроперекиси липидов | 7-й день           | 82,6±5,5                   | 116,2±6,8*                        | 89,4±6,0*                                         | 80,6±6,1*                                          |
|                       | 14-й день          | 85,4±5,8                   | 114,6±6,9*                        | 89,8±6,8, P <sub>2,3</sub> >0,05                  | 80,0±5,2*                                          |
|                       | 21-й день          | 85,5±5,4                   | 118,0±7,0*                        | 86,5±6,5*                                         | 78,2±5,5*                                          |
| Диеновые конъюгаты    | 7-й день           | 138,4±10,2                 | 200,6±12,4*                       | 158,4±9,6, P <sub>2,3</sub> >0,05                 | 144,2±8,5*                                         |
|                       | 14-й день          | 134,5±8,5                  | 202,0±12,0*                       | 155,6±8,9*                                        | 140,1±7,8*                                         |
|                       | 21-й день          | 136,6±8,6                  | 205,5±12,8*                       | 154,0±8,5*                                        | 138,6±7,5*                                         |
| Малоновый диальдегид  | 7-й день           | 8,5±0,8                    | 13,8±1,0*                         | 9,2±1,0*                                          | 8,9±1,4*                                           |
|                       | 14-й день          | 8,9±0,9                    | 14,9±1,1*                         | 9,2±1,6*                                          | 8,5±1,5*                                           |
|                       | 21-й день          | 8,6±1,0                    | 15,0±1,0*                         | 9,0±1,6*                                          | 8,5±1,6*                                           |

*Примечание.* \* и \*\* – различия, достоверные по отношению к интактной \* и контрольной \*\* группам животных.

Активация процессов ПОЛ при воздействии на организм высоких температур сопровождается напряжением и истощением АОС, что, по-видимому, связано с воздействием недоокисленных продуктов метаболиз-

ма на эритроцитарные мембраны, прогрессирующим гемолизом, снижением общего числа эритроцитов и гемоглобина, обуславливающих формирование вторичной тканевой гипоксии, накопление лактата и развитие ацидоза в условиях активирующегося гликолиза, повышение проницаемости лизосомальных мембран и активацию лизосомальных ферментов, которая, в свою очередь, способствует усилению деструкции клеточных структур и ферментов, угнетая антиоксидантную систему. Наши суждения согласуются с результатами проведенных исследований: содержание церулоплазмينا в ткани печени контрольных крыс в сравнении с интактными животными снизилось на 43 % (7-й день), 44 % (14-й день) и 47 % (21-й день эксперимента); витамин Е – на 42 %, 45 % и 48 % соответственно (табл. 2). Использование ремаксолола для коррекции теплового воздействия способствовало повышению активности АОС в печени подопытных животных: на фоне введения ремаксолола в дозе 50 мг/кг содержание церулоплазмينا выросло на 35 % (7-й день), 37 % (14-й день), 41 % (21-й день эксперимента) по сравнению с аналогичным показателем в группе контрольных крыс; на фоне введения ремаксолола в дозе 100 мг/кг – на 39 %, 44 % и 39 %, соответственно. Уровень витамина Е при использовании ремаксолола в дозе 50 мг/кг в эксперименте увеличился на 33 % (7-й день), 28 % (14-й день) и 43 % (21-й день), в дозе 100 мг/кг – на 38 %, 36 % и 35 % соответственно относительно контрольных животных.

Таблица 2

Содержание компонентов АОС в ткани печени крыс при тепловом воздействии на фоне применения ремаксолола в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг

| Показатели            | Сроки эксперимента | Группа 1, интактная (n=30) | Группа 2, тепло (контроль) (n=30) | Группа 3, ремаксолол в дозе 50 мг/кг + тепло (n=30) | Группа 4, ремаксолол в дозе 100 мг/кг + тепло (n=30) |
|-----------------------|--------------------|----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Церулоплазмин (мкг/г) | 7-й день           | 27,0±2,2                   | 15,5±1,6*                         | 20,9±1,5, P <sub>2,3</sub> >0,05                    | 21,5±1,8, P <sub>2,4</sub> >0,05                     |
|                       | 14-й день          | 26,8±2,5                   | 14,6±1,5*                         | 20,0±1,2*                                           | 21,0±1,6*                                            |
|                       | 21-й день          | 27,2±2,8                   | 14,5±1,6*                         | 20,4±1,5, P <sub>2,3</sub> >0,05                    | 20,2±1,2*                                            |
| Витамин Е (мкг/г)     | 7-й день           | 52,0±4,5                   | 30,2±2,8*                         | 40,2±2,1*                                           | 41,6±2,8*                                            |
|                       | 14-й день          | 56,0±4,7                   | 30,8±3,0*                         | 39,6±1,4*                                           | 41,8±2,0*                                            |
|                       | 21-й день          | 54,8±4,0                   | 28,5±3,0*                         | 40,8±2,5*                                           | 38,6±1,9*                                            |

Примечание. \* и \*\* – различия, достоверные по отношению к интактной \* и контрольной \*\* группам животных.

В целом, экспериментально подтверждено наличие антиоксидантного и мембраностабилизирующего эффекта у сукцинатсодержащего препарата ремаксолол в условиях тепловой модели, что связано, на наш взгляд, с комбинацией входящих в состав компонентов, включающих, помимо янтарной кислоты, рибоксин, никотинамид, метионин, а также электролиты (натрия, магния и калия хлорид) и сольстабилизи-

рующий агент N-метилглутамин, обеспечивающие комплексное решение проблемы мембранопротекции: механизм действия ремаксолола опосредуется биологическими эффектами его активных компонентов. Метионин превращается в организме в адеметионин под влиянием метионинаденозилтрансферазы. Адеметионин участвует в трех типах биохимических реакций – трансметилировании, транссульфатировании и трансаминировании. Реакции трансметилирования служат важным этапом синтеза фосфолипидов, в первую очередь, фосфатидилхолина, обеспечивая восстановление структуры и свойств клеточных мембран (текучесть, поляризация). Реакции транссульфатирования, протекающие при участии адеметионина, обеспечивают восстановление уровня эндогенного глутатиона. При гипоксии, развивающейся вследствие длительной гипертермии, для восстановления дыхательной цепи митохондрий необходима активация никотинамиддениндинуклеотид НАД-зависимых ферментов. Введение одного из фрагментов НАД – никотинамида активирует НАД-зависимые ферменты клеток, в том числе антиоксидантные системы убихиноновых оксиредуктаз, защищающие мембраны клеток от разрушения радикальными частицами. Свойством усиления синтеза макроэргических молекул обладает активный компонент ремаксолола – рибоксин, антиоксидантное действие которого реализуется за счёт активации синтеза НАД в митохондриях из никотинамида, где рибоксин выступает в качестве донора рибозы, стимуляции анаэробного гликолиза с образованием лактата и НАД<sup>+</sup>, ингибирования фермента ксантиноксидазы и подавления радикальных процессов. Наши выводы согласуются с результатами исследований, проведенных В.Ф. Павелкиной, Н.П. Амплеевой [8], отражающими антигипоксантную, антиоксидантную и гепатотропную активность ремаксолола при хронических вирусных гепатитах. Таким образом, активные компоненты ремаксолола обладают взаимопотенцирующими эффектами и определяют его антиоксидантную активность в условиях воздействия высоких температур.

### Выводы

1. Воздействие высоких температур на организм способствует формированию окислительного стресса в условиях накопления продуктов радикального характера и снижения активности основных компонентов АОС в ткани печени крыс.

2. Экспериментально подтверждена возможность коррекции параметров перекисного окисления липидов в печени крыс в условиях теплового воздействия введением сукцинатсодержащего препарата ремаксолол.

3. Внутривентральное введение лабораторным животным ремаксолола в условиях длительной гипертермии снижает содержание продуктов перекисной окисления и увеличивает активность основных компонентов АОС в ткани печени. С увеличением дозы препарата (до 100 мг/кг по сукцинату) выраженность антиоксидантного эффекта возрастает.

### Литература

1. Бачериков А.Н., Кузьминов В.Н., Ткаченко Т.В. и др. Современные представления о системе терморегуляции // Вестник психиатрической фармакотерапии. – 2006. – № 1. – С. 178-182.

2. Быстрова Н.А. Иммунометаболические эффекты, вызванные действием умеренно высокой внешней температуры // Тезисы докладов VIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2001. – С. 551.
3. Ганapol'sкий В.П., Шабанов П.Д. Метеoadaptогенные свойства антигипоксантов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – № 6. – С. 36-41.
4. Доровских В.А., Симонова Н.В., Симонова И.В. и др. Адаптогены растительного происхождения в профилактике заболеваний органов дыхания у детей ясельного возраста // Дальневосточный медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 41-44.
5. Доровских В.А., Симонова Н.В., Доровских Ю.В. и др. Коррекция холодового воздействия с помощью препарата, содержащего янтарную кислоту // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – № 49. – С. 82-86.
6. Доровских В.А., Ли О.Н., Симонова Н.В. и др. Влияние сукцинатсодержащих препаратов на интенсивность процессов перекисидации в условиях холодового воздействия // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – Вып. 50. – С. 56-60.
7. Никонов В.В., Павленко А.Ю. Метаболическая терапия гипоксических состояний // Медицина неотложных состояний. – 2009. – № 3. – С. 22-23.
8. Павелкина В.Ф., Амплеева Н.П. Сравнительная эффективность гепатотропной активности ремаксола и эссенциале при хронических вирусных гепатитах // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77, № 12. – С. 17-21.
9. Симонова Н.В., Доровских В.А., Штарберг М.А. Влияние адаптогенов растительного происхождения на интенсивность процессов перекисидного окисления липидов биомембран в условиях ультрафиолетового облучения // Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – № 2. – С. 112-115.
10. Симонова Н.В., Доровских В.А., Симонова Н.П. Ультрафиолетовое облучение и окислительный стресс. Возможности фитокоррекции. – Благовещенск: АГМА, 2014. – 140 с.
11. Симонова Н.В., Доровских В.А., Штарберг М.А. Влияние настоя на основе сбора из листьев крапивы, березы и подорожника на интенсивность процессов перекисидации в условиях ультрафиолетового облучения // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2012. – № 44. – С. 90-94.

#### *Literature*

1. Bacherikov A.N., Kuzminov V.N., Tkachenko T.V., et al. Modern ideas about the system of thermoregulation // Bulletin of the psychiatrist. Pharmacotherapy. – 2006. – № 1. – P. 178-182.
2. Bystrova N.A. Immunometabolic effects of moderately high ambient temperature // Proc. dokl. VIII congruence «Man and medicine». – M., 2001. – P. 551.
3. Ganapol'sky V.P., Shabanov P.D. Meteoadaptogenic properties of antihypoxants // Experimental and clinical pharmacology. – 2009. – № 6. – P. 36-41.
4. Dorovskikh V.A., Simonova N.V., Simonova I.V., et al. Adaptogens of vegetable origin in prophylaxis of respiratory diseases in babyhood children // Far Eastern Medical Journal. – 2011. – Vol. 1. – P. 41-44.
5. Dorovskikh V.A., Simonova N.V., Dorovskikh Yu.V., et al. Correction of cold effect by means of the drug with succinic acid // Bulletin physiology and pathology of respiration. – 2013. – Vol. 49. – P. 82-86.
6. Dorovskikh V.A., Li O.N., Simonova N.V., et al. Effect of succinate containing drugs on the intensity of peroxidation in the conditions of cold exposure // Bulletin physiology and pathology of respiration. – 2013. – Vol. 50. – P. 56-60.
7. Nikonov V.V., Pavlenko A.Yu. Metabolic therapy of hypoxic conditions // Medicine of urgent conditions. – 2009. – № 3. – P. 22-23.
8. Pavelkina V.F., Ampleeva N.P. Comparative efficiency of remaxol and essentielle hepatotropic activity in chronic viral hepatitis // Experimental and Clinical Pharmacology. – 2014. – Vol. 77. – № 12. – P. 17-21.
9. 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 // Far Eastern Medical Journal. – 2010. – № 2. – P. 112-115.
10. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Simonova N.P. Ultraviolet radiation and oxidative stress. The possibility of phitocorrection. – Blagoveshchensk: AGMA, 2014. – 140 p.
11. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Shtarberg M.A., et al. The effect of infusion based on the collection of the leaves of nettle, birch and plantain on the intensity of peroxidation in ultraviolet radiation // Bulletin physiology and pathology of respiration. – 2012. – Vol. 44. – P. 90-94.

**Координаты для связи с авторами:** Доровских Владимир Анатольевич – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии АГМА, заслуженный деятель науки РФ, тел. 8-(4162)-31-90-11; Ли Ольга Николаевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры физиологии и патофизиологии АГМА, тел. 8-(4162)-31-90-15; Симонова Наталья Владимировна – д-р биол. наук, доцент кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии АГМА, тел. 8-(4162)-31-90-15, e-mail: simonova.agma@yandex.ru; Штарберг Михаил Анатольевич – канд. мед. наук, старший научный сотрудник ЦНИЛ АГМА.

