
ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА УРОВНИ ТИОЛОВЫХ ГРУПП В ТКАНЯХ И ОРГАНАХ БЕРЕМЕННЫХ КРЫС WISTAR ПРИ ГИПОКСИЧЕСКОМ СТРЕССЕ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Ю.И. Баева, Е.В. Орлова

Российский университет дружбы народов,
Подольское шоссе, 8/5, Москва, Россия, 113093

Изучено влияние биологически активных добавок «намивит» и «суперпротамин» на активность системы антиоксидантной защиты у беременных крыс Wistar при действии острой гипобарической гипоксии. Установлено, что применение «намивита» и «суперпротамина» усиливало антиоксидантную защиту и тем самым уменьшало воздействие оксидативного стресса на организм беременных самок. Показано, что введение крысам изучаемых препаратов в значительной степени снижало содержание общих и белковых SH-групп, а также увеличивало уровень свободных SH-групп глутатиона. При этом антигипоксический эффект намивита был выражен в большей мере, чем суперпротамина.

Ключевые слова: гипоксия, беременность, тиоловые группы, биологически активные препараты.

Проблема влияния загрязнения окружающей среды (ОС) на состояние здоровья людей с каждым годом приобретает все большую актуальность. Особое значение имеет воздействие вредных факторов ОС на репродуктивную систему, так как с ее функционированием связано не только здоровье ныне живущих, но и существование будущих поколений людей. Экологически зависимые нарушения репродуктивной функции проявляются в виде клинических, патофизиологических, иммунологических и биохимических изменений, имеющих сходные результаты при воздействии самых разных факторов окружающей среды [5; 6]. Одним из таких универсальных проявлений является гипоксия.

Характерными особенностями гипоксического синдрома являются избыточное накопление промежуточных продуктов гликолиза, липолиза, протеолиза, развитие метаболического ацидоза, набухание митохондрий и, соответственно, разобщение окислительного фосфорилирования и свободного дыхания, дефицит АТФ, подавление энергозависимых реакций в клетках различной структурной и функциональной организации [1; 7]. Под влиянием избытка ионов H^+ в условиях гипоксии возникает повышение проницаемости лизосомальных мембран и, следовательно, развитие деструктивных процессов в тканях под влиянием лизосомальных гидролаз. Последние инициируют образование эйкозаноидов и простаноидов, в процессе взаимного превращения которых возникают свободные радикалы [3].

Образующиеся высокоактивные свободные радикалы могут служить источниками самых разнообразных изменений, нарушений и повреждений на молекулярном уровне (в том числе модификация белков и повреждение нуклеиновых кислот, перекисное окисление липидов), приводящих к повреждениям, выявляемым на уровне мембран, а затем ткани, органа и целого организма [1].

В физиологических условиях процессы свободнорадикального окисления протекают сбалансированно благодаря многокомпонентной антиоксидантной системе, обеспечивающей модификацию свободных радикалов и перекисей субстратов [10; 11]. Важную роль здесь играют тиоловые соединения, обладающие высокой реакционной способностью и способностью вступать в разнообразные химические превращения, направленные на поддержание клеточного гомеостаза и защиту от окислительного стресса. Основным компонентом редокс-буфера клетки, эффективно поддерживающим характерную для нее восстановленную среду, является глутатион. Его главная роль заключается в восстановлении SH-групп ферментов при их окислении, сохранение нативности и целостности клеточных мембран и осуществлении различных мембранных процессов [8; 12].

Данные последних лет свидетельствуют о важной роли процессов свободно-радикального окисления в организме матери в период беременности, которые в значительной степени определяют риск осложнений и невынашивания беременности, преждевременных родов, патологии плода и новорожденного [2; 5; 6].

Целью данного исследования явилось изучение антигипоксических эффектов биологически активных препаратов намивит и суперпротамин на уровне SH-групп (общие, свободные (глутатиона) и белковые) в различных органах и тканях у беременных крыс Wistar как способа снижения неблагоприятного воздействия загрязнений ОС на организм в период беременности.

Материалы и методы исследования. Исследования выполнены на беременных крысах линии Wistar массой 180—200 г. Животные были разделены на шесть групп: 1) беременные крысы (контроль); 2) беременные самки, получавшие намивит; 3) беременные самки, получавшие суперпротамин; 4) беременные самки, перенесшие гипоксию; 5) беременные самки, перенесшие гипоксию и получавшие намивит; 6) беременные самки, перенесшие гипоксию и получавшие суперпротамин.

Использовали модель острой сублетальной гипобарической гипоксии, создавая ее на 15-й день беременности. Сразу после гипоксического воздействия крыс декапитировали под эфирным наркозом.

В качестве исследуемых препаратов применяли биологически активные иммуномодуляторы широкого спектра действия намивит (регистрационное удостоверение Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 77.99.23.3.У.9412.8.05 от 16.08.2005) и суперпротамин (регистрационное удостоверение МЗ РФ № 001374.P. 643.01.2000 от 17 января 2000 г.), которые вводили с 1-го по 14-й день гистации внутривентрикулярно 1 раз в день в дозе 100 мг/кг массы.

Уровни SH-групп (общие, свободные (глутатиона) и белковые) определяли в мышцах, печени, мозге и плазме крови беременных крыс Wistar по методу J.D. Hayes et al. (1999) [9]. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью пакета статистических программ SPSS. Достоверность результатов оценивалась с использованием непараметрических критериев Манна—Уитни, Краскала—Уоллиса, Дана. Результаты экспериментов представлены в виде среднеарифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$) при критическом значении уровня значимости 5% ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Под действием экспериментальной гипоксии наблюдается достоверное увеличение уровней общих и белковых SH-групп (табл. 1): в плазме крови — в 1,86 и 6,57 раза соответственно; в головном мозге — в 1,1 и 1,13 раза; в печени — в 1,09 и 1,15 раза; в мышцах бедра — в 1,8 и 1,9 раза соответственно (критический уровень значимости $p < 0,05$). Такое увеличение уровня белковых SH-групп, по-видимому, свидетельствует о структурных изменениях белков в тканях и органах при недостатке кислорода.

Таблица 1

Влияние экспериментальной гипоксии на уровень SH-групп в крови и тканях беременных крыс Wistar

Группа	Уровень SH-групп (нмоль/мг белка)		
	SH-группы общие	SH-группы глутатиона	SH-группы белковые
<i>Плазма крови</i>			
Контрольная	36,1 ± 0,3	10,02 ± 0,15	1,04 ± 0,16
Гипоксия	67,2 ± 0,1	0	6,83 ± 0,19
<i>Головной мозг</i>			
Контрольная	163,4 ± 0,7	3,58 ± 0,12	157,6 ± 0,8
Гипоксия	179,2 ± 0,8	0	177,9 ± 0,6
<i>Печень</i>			
Контрольная	105,5 ± 1,3	10 ± 0,6	93,7 ± 0,9
Гипоксия	114,6 ± 1,1	3,3 ± 0,8	107,8 ± 1,2
<i>Мышцы бедра</i>			
Контрольная	40,5 ± 0,6	3,35 ± 0,16	39,7 ± 0,5
Гипоксия	72,9 ± 0,4	1,14 ± 0,12	75,4 ± 0,3

Как видно из приведенной таблицы, гипоксический стресс приводит к резкому снижению, до полного исчезновения свободных SH-групп (глутатиона) в плазме крови и головном мозге подопытных самок. В то же время экспериментальная гипоксия оказывала менее выраженное влияние на уровень SH-групп глутатиона в печени и мышце бедра животных. Так, в печени уровень SH-групп глутатиона достоверно ($p < 0,05$) снизился в 3 раза, а в мышцах — в 2,9 раза. Подобный характер изменений уровней SH-групп в тканях и органах крыс при гипоксии согласуется с данными литературы [1; 4].

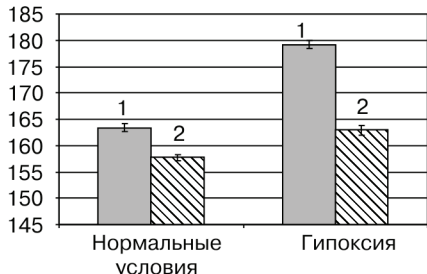
Применение биологически активных препаратов «намовит» и «суперпротамин» вызывало уменьшение содержания общих и белковых SH-групп, а также увеличение свободных SH-групп (глутатиона) (рис. 1—4).



Рис. 1. Влияние намовита на уровни общих и белковых SH-групп (нмоль/мг белка) в плазме крови беременных крыс Wistar (уровень значимости $p < 0,05$):

1 — без препарата; 2 — намовит

SH-группы общие,
нмоль/мг белка



SH-группы белковые,
нмоль/мг белка

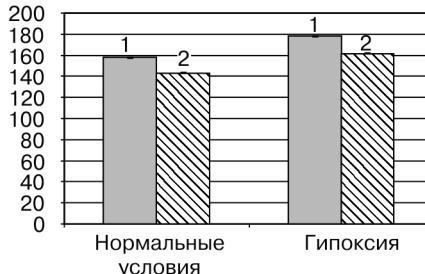
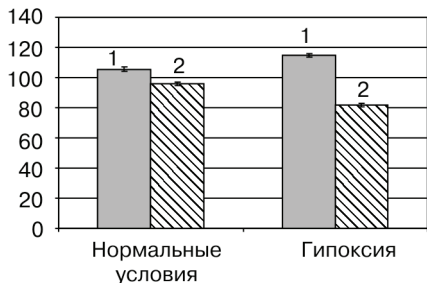


Рис. 2. Влияние наливита на уровни общих и белковых SH-групп (нмоль/мг белка) в головном мозге беременных крыс Wistar (уровень значимости $p < 0,05$):

1 — без препарата; 2 — наливит

SH-группы общие,
нмоль/мг белка



SH-группы белковые,
нмоль/мг белка

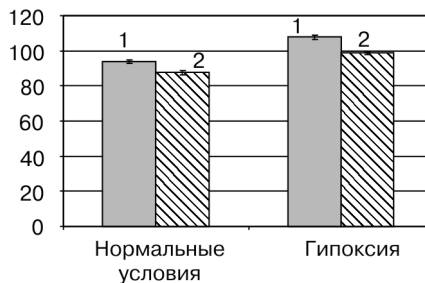
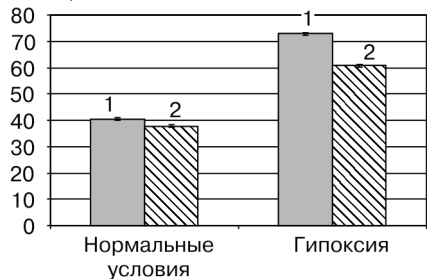


Рис. 3. Влияние наливита на уровни общих и белковых SH-групп (нмоль/мг белка) в печени беременных крыс Wistar (уровень значимости $p < 0,05$):

1 — без препарата; 2 — наливит

SH-группы общие,
нмоль/мг белка



SH-группы белковые,
нмоль/мг белка

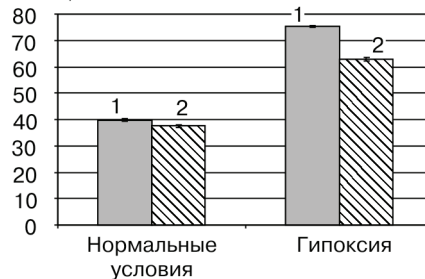


Рис. 4. Влияние наливита на уровни общих и белковых SH-групп (нмоль/мг белка) в мышцах бедра беременных крыс Wistar (уровень значимости $p < 0,05$):

1 — без препарата; 2 — наливит

Так, под действием наливита наблюдалось снижение уровней общих и белковых SH-групп в плазме крови в 1,48 и 1,72 раза (рис. 1); в головном мозге — в 1,1 и 1,1 раза (рис. 2); в печени — в 1,4 и 1,1 раза (рис. 3); в мышцах бедра — в 1,2 и 1,09 раза по сравнению с группой, подвергнутой экспериментальной гипоксии (рис. 4).

Содержание SH-групп глутатиона, наоборот, достоверно увеличилось в плазме крови — до 5,36 нмоль/мг белка, в головном мозге — до 2,39 нмоль/мг белка, в печени — в 1,85 раза и в мышцах бедра — в 2,62 раза по сравнению с группой, подвергнутой экспериментальной гипоксии (табл. 2).

Таблица 2

Влияние намовита на уровень свободных SH-групп в тканях и органах беременных крыс Wistar

Группа	Уровень SH-групп глутатиона (нмоль/мг белка)			
	плазма крови	головной мозг	печень	мышцы бедра
Контрольная	10,02 ± 0,15	3,58 ± 0,12	10 ± 0,6	3,35 ± 0,16
Намовит	13,11 ± 0,17	4,97 ± 0,11	11,2 ± 0,5	3,58 ± 0,17
Гипоксия	0	0	3,3 ± 0,8	1,14 ± 0,12
Гипоксия + намовит	5,36 ± 0,18	2,39 ± 0,09	6,1 ± 0,5	2,99 ± 0,18

Аналогичные изменения уровня SH-групп в органах и тканях беременных самок выявлены после 14-дневного курса второго биологически активного препарата, однако антиоксидантный эффект суперпротамина выражен слабее. В таблице 3 приведены значения уровней общих, свободных и белковых SH-групп в различных органах и тканях животных в нормальных условиях и в условиях экспериментальной гипобарической гипоксии.

Таблица 3

Влияние суперпротамина на уровень SH-групп в тканях и органах беременных крыс Wistar

Группа	Уровень SH-групп (нмоль/мг белка)		
	SH-группы общие	SH-группы глутатиона	SH-группы белковые
<i>Плазма крови</i>			
Контрольная	36,1 ± 0,3	10,02 ± 0,15	1,04 ± 0,16
Суперпротамин	33,5 ± 0,4	11,05 ± 0,16	0,91 ± 0,15
Гипоксия	67,2 ± 0,1	0	6,83 ± 0,19
Гипоксия + суперпротамин	59,9 ± 0,2	1,78 ± 0,19	5,87 ± 0,18
<i>Головной мозг</i>			
Контрольная	163,4 ± 0,7	3,58 ± 0,12	157,6 ± 0,8
Суперпротамин	161,5 ± 0,7	4,01 ± 0,13	153,1 ± 0,9
Гипоксия	179,2 ± 0,8	0	177,9 ± 0,6
Гипоксия + суперпротамин	173,3 ± 0,8	0,76 ± 0,11	172,8 ± 0,9
<i>Печень</i>			
Контрольная	105,5 ± 1,3	10 ± 0,6	93,7 ± 0,9
Суперпротамин	102,3 ± 1,4	9,5 ± 0,7	91,8 ± 0,8
Гипоксия	114,6 ± 1,1	3,3 ± 0,8	107,8 ± 1,2
Гипоксия + суперпротамин	104,3 ± 1,3	4,2 ± 0,7	104,5 ± 0,8
<i>Мышцы бедра</i>			
Контрольная	40,5 ± 0,6	3,35 ± 0,16	39,7 ± 0,5
Суперпротамин	39,6 ± 0,7	3,43 ± 0,13	38,9 ± 0,5
Гипоксия	72,9 ± 0,4	1,14 ± 0,12	75,4 ± 0,3
Гипоксия + суперпротамин	68,8 ± 0,3	1,77 ± 0,15	71,2 ± 0,3

Как видно из табл. 3, под действием суперпротамина наблюдалось снижение уровней общих и белковых SH-групп в плазме крови в 1,1 и 1,12 раза; в головном мозге — в 1,03 и 1,03 раза; в печени — в 1,1 и 1,03 раза; в мышцах бедра — в 1,06 и 1,05 раза по сравнению с группой, подвергнутой экспериментальной гипоксии. Для свободных SH-групп глутатиона характерно следующее достоверное увеличение: в плазме крови — до 1,78 нмоль/мг белка, в головном мозге — до 0,76 нмоль/мг белка, в печени — в 1,27 раза и в мышцах бедра — в 1,55 раза по сравнению с группой, подвергнутой экспериментальной гипоксии ($p < 0,05$).

Таким образом, по результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

Недостаток кислорода вызывает выраженный окислительный стресс в крови и тканях беременных крыс. Наблюдается достоверное увеличение уровней общих и белковых SH-групп и резкое снижение, вплоть до полного исчезновения, свободных SH-групп глутатиона.

Использование биологически активных препаратов наливита и суперпротамина усиливало антиоксидантную защиту и тем самым уменьшало воздействие оксидативного стресса на организм беременных самок линии Wistar: в группах, получавших курс препаратов, уменьшалось содержание общих и белковых SH-групп, а также увеличивался уровень свободных SH-групп глутатиона.

Намивит и суперпротамин с разной силой воздействуют на содержание тиолов в органах и тканях беременных крыс. При этом антигипоксический эффект наливита выражен в большей мере, чем суперпротамина.

Новые данные об антигипоксических эффектах наливита и суперпротамина, связанные с их воздействием на активность системы антиоксидантной защиты, открывают возможности использования этих биологически активных препаратов во время беременности с целью повышения неспецифической резистентности организма к вредному влиянию загрязнения ОС.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Бизенкова М.Н.* Общие закономерности метаболических расстройств при гипоксии различного генеза и патогенетическое обоснование принципов их медикаментозной коррекции: Дисс. ... канд. мед. наук. — Саратов, 2008.
- [2] *Евсюкова И.И.* Патогенез перинатальной патологии у новорожденных детей, развивавшихся в условиях хронической гипоксии при плацентарной недостаточности // Журнал акушерства и женских болезней. — 2004. — Т. LIII. — Вып. 2. — С. 26—29.
- [3] *Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П.* Основы общей патологии. Часть 2. — Основы патохимии. — СПб.: ЭЛБИ, 2000.
- [4] *Зарубина И.В., Шабанов П.Д.* Молекулярная фармакология антигипоксантов. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2004.
- [5] *Никитин А.И.* Вредные факторы среды и репродуктивная система человека (ответственность перед будущими поколениями). — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008.
- [6] *Ревич Б.А., Авалиани С.Л., Тихонова Г.И.* Экологическая эпидемиология: Учебник для вузов / Под ред. Б.А. Ревича. — М.: Академия, 2004.
- [7] *Balaban P.M., Guliaeva N.V.* Commonality of molecular mechanisms of neuroplasticity and neuropathology: integrative approach // *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova*. — 2006. — Feb; 92(2). — С. 145—151.
- [8] *Dahm L.J., Samiec P.S., Eley J.W. et al.* Free Radicals: From Basic Science to Medicine (Ed. G. Poli, E. Albano, M.U. Dianzani.) — Basel: Birkhauser Verlag, 1999.
- [9] *Hayes J.D., McLellan L.I.* Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defense against oxidative stress // *Free Radic Res*. — 1999. — Vol. 31. — P. 273—300.
- [10] *Lewin G., Popov I.* The antioxidant system of the organism. Theoretical basis and practical consequences // *Med. Hypotheses*. — 1994. — Vol. 42. — N 4. — P. 269—279.

- [11] *Matsuda S., Umeda M., Uchida H., Kato H., Araki T.* Alterations of oxidative stress markers and apoptosis markers in the striatum after transient focal cerebral ischemia in rats // *J. Neural Transm.* — 2009. — Vol. 116. — N 4. — P. 395—404.
- [12] *Tak Y.A., Chang M.D., Wu C.M., Chang H.T.* Molecular and cellular responses to oxidative stress and changes in oxidation-reduction balance // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2002. — Vol. 99. — P. 308—315.

**BIOLOGICALLY ACTIVE PREPARATIONS INFLUENCE
ON LEVELS OF THIOL GROUPS IN TISSUES AND ORGANS
OF PREGNANT RATS WISTAR AT HYPOXIA STRESS
IN THE POLLUTION CONDITIONS**

J.I. Baeva, E.V. Orlova

Peoples Friendship University of Russia
Podolskoye shosse, 8/5, Moscow, Russia, 113093

It is studied the influence of biologically active additives namivit and a superprotamine on activity of antioxidatic protection system at pregnant rats Wistar at action of an acute hypobaric hypoxia. It is established that the namivit and superprotamine application strengthened antioxidatic protection and reduced influence of oxidative stress by an pregnant females organism. It is shown that introduction to rats investigated preparations substantially reduced the maintenance of the general and albuminous SH-groups, and also enlarged level of free glutathione SH-groups. Thus the namivit's antyhypoxia effect has been expressed in a larger measure, than a superprotamine.

Key words: hypoxia, pregnancy, thiol groups, biologically active preparations.