



Биолог. журн. Армении, 1 (69), 2017

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ МИКОТОКСИКОЗЕ, ВЫЗВАННОМ ВВЕДЕНИЕМ ОХРАТОКСИНА И ПРИ ЛЕЧЕНИИ

Л.М. ОВСЕПЯН, А.А. АРАКЕЛЯН, М.Г. МАЛАКЯН,
Г.С. КАЗАРЯН, А.В. ЗАНГИНЯН

Институт молекулярной биологии НАН
lhovsep@mail.ru

Целью исследования было изучение процесса перекисного окисления липидов при микотоксикозе в печени и плазме крови производными оснований Шиффа аминокислот (пиколинил-L-фенилаланина, пиколинил-L-триптофана и никотинил-L-триптофана) в дозе 5 и 10 мг/кг. Микотоксикоз вызывали пероральным введением охратоксина в течение 21 дня в дозе 25 мг/кг. Как показали результаты исследования, введение охратоксина сопровождается увеличением содержания малонового диальдегида – одного из продуктов перекисного окисления липидов.

Введение исследованных препаратов в дозе 5 и 10 мг/кг веса приводит к уменьшению образования малонового диальдегида, что, по всей видимости, связано с антиоксидантными свойствами препаратов.

*Охратоксин – малоновый диальдегид – пиколинил-L-фенилаланин –
пиколинил-L-триптофан – никотинил-L-триптофан*

Հետազոտության նպատակն էր կենդանիների մոտ ուսումնասիրել օխրատոքսինով առաջացվող միկոտոքսիկոզի և ամինաթթուների շիֆային հիմքերի ածանցյալների (պիկոլինիլ-L-ֆենիլալանին, պիկոլինիլ-L-տրիպտոֆան և նիկոտինիլ-L-տրիպտոֆան) 5 և 10 մգ/կգ չափաբաժնով բուժման ժամանակ ազատ ռադիկալային գործընթացները:

Միկոտոքսիկոզ առաջացվել է օխրատոքսինի պերորալ ներմուծմամբ կենդանիներին 25 մգ/կգ չափաբաժնով 21 օրվա ընթացքում: Ինչպես ցույց տվեցին ուսումնասիրության արդյունքները, օխրատոքսինի ներմուծումը բերում է կենդանիների յարդի հյուսվածքում և արյան պլազմայում լիպիդների գերօքսիդացման արդյունքում առաջացող արգասիքից մեկի՝ մալոնային դիալդեհիդի քանակի ավելացմանը: Հետազոտվող նյութերի ամինաթթուների շիֆային ածանցյալների ներմուծումը 5 և 10 մգ/կգ չափաբաժնով բերում է մալոնային դիալդեհիդի քանակի նվազմանը, որը պայմանավորված է նշված նյութերի հակաօքսիդանտային հատկությամբ:

*Օխրատոքսին – մալոնային դիալդեհիդ – պիկոլինիլ-L-ֆենիլալանին,
պիկոլինիլ-L-տրիպտոֆան – նիկոտինիլ-L-տրիպտոֆան*

The aim of the study was to investigate the process of lipid peroxidation during mycotoxicosis in liver and blood plasma and the treatment bases amino acid Schiff (picolinyl-L-phenylalanine, picoline-L-tryptophan, and nicotine-L-tryptophan) at a dose of 5 and 10 mg / kg. Mycotoxicosis caused by oral administration of ochratoxin during 21 day at a dose of 25 mg / kg. The results of the study showed that the introduction of ochratoxin led the increase in the content of malondialdehyde – one of the products of lipid peroxidation. Introduction of drugs leads to the normalization process of lipid peroxidation

*Ochratoxin – malondialdehyde – picolinyle-L-phenylalanine – picoline-L-tryptophan –
nicotine-L-tryptophan*

Микотоксины представляют большую потенциальную опасность для населения. Среди значительного разнообразия микотоксинов наиболее часто встречающимися контаминантами корма являются охратоксины. Они отличаются высокой токсичностью, а многие из них мутагенными и канцерогенными свойствами [5, 8].

Одним из механизмов патогенного действия микотоксинов может являться индукция процесса образования свободных радикалов и инициация реакции перекисного окисления липидов. Во многих случаях продукция свободных радикалов может служить дополнительным механизмом токсичности, более существенным, чем прямое повреждение. Согласно современным представлениям, повышение свободнорадикальных реакций сопровождается расстройствами структурно-функциональной организации и метаболической активности мембранных образований, приводящих к нарушению почти всех клеточных функций [11, 13].

Понимание процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) базируется на исследованиях, которые были выполнены при изучении метаболизма жирных кислот. В настоящее время доказано, что липиды неферментативно могут окисляться в перекисные соединения в результате аутоокисления, а также принимать участие в реакциях ферментативного окисления.

Гидроперекиси и перекиси липидов образуются в результате ферментативных или неферментативных реакций с участием химически активированных продуктов, таких как активные формы кислорода, которые оказывают токсическое влияние на организм, вызывая различные повреждения тканей.

Продукты перекисного окисления липидов, образующиеся в результате свободнорадикального окисления (гидроперекиси, малоновый диальдегид), взаимодействуя с белками и нуклеиновыми кислотами, вызывают образование межмолекулярных сшивок, что приводит к изменению структуры рецепторов, ионных каналов, цитоскелета клетки, ферментов, торможению синтеза внутриклеточных посредников и вызывают деструкцию ДНК и РНК. Процессы повреждения белков и нуклеиновых кислот под действием активных форм кислорода происходят параллельно с окислительным повреждением липидов [4].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования явилось проведение специальных наблюдений в направлении изучения особенностей течения перекисобразовательного процесса в плазме крови и печени белых крыс, у которых вызывали микотоксикоз введением охратоксина, а также при лечении новыми синтезированными препаратами, являющимися производными аминокислотных оснований Шиффа – пиколинил-L-фенилаланина (PLP), пиколинил-L-триптофана (PLT) и никотинил-L-триптофана (NLT).

Материал и методика. Опыты проведены на половозрелых беспородных белых крысах массой тела 180-200 г, содержащихся в условиях вивария. Содержание, кормление и манипуляции над ними проводили в соответствии с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в эксперименте (Страсбург, 1986), и правилами лабораторной практики в Российской Федерации (ГОСТ Р 53434-2009).

Крысы были разделены на следующие группы: 1- интактные; 2- крысы, которые в течение 21 дня получали перорально охратоксин в дозе 25 мкг /кг; 3- крысы, которым в течение 10 дней вводили исследуемые препараты в дозе 5 и 10 мг/кг.

Об активности перекисного окисления липидов в плазме крови и печени судили по количеству образования малонового диальдегида (MDA), который при взаимодействии с тиобарбитуровой кислотой дает цветное окрашивание, определяемое при длине волны 532 нм. Коэффициент молярной экстинкции $1,56 \cdot 10^{-5}$ [1].

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследования, (табл.1) изучение закономерностей динамики перекисного окисления липидов в плазме крови и в общем гомогенате печеночной ткани подтверждает существование в интактном организме определенного стационарного уровня свободнорадикальных реакций, характеризующихся следующими показателями: в плазме крови и в общем гомогенате печени содержание малонового диальдегида составляло $2,18 \pm 0,2$; $4,54 \pm 0,3$ соответственно. Регистрируемая в норме стационарная концентрация перекисей липидов обусловлена с одной стороны, скоростью течения процессов радикалообразования, а с другой – активностью реакций их разрушения, катализируемых антиоксидантами.

Таблица 1. Содержание перекисей липидов в плазме крови и печени (МДА мкг/г) при введении охратоксина и при лечении (n=12)

	Плазма крови	Гомогенат печени
Контроль	$2,18 \pm 0,2$	$4,54 \pm 0,3$
Микотоксикоз (введение охратоксина) - 1	$4,88 \pm 0,15^*$	$6,58 \pm 0,4^*$
Лечение синтезированными препаратами -2		
пикотинил-Л-доза 5мг/кг-фенилаланина	$1,77 \pm 0,28^*$	$3,67 \pm 0,5^*$
пикотинил-Л-фенилаланина доза 10мг/кг	$3,76 \pm 0,25^*$	$6,8 \pm 0,2$
пикотинил-Л-триптофан доза 5мг/кг	$2,08 \pm 0,3^*$	$3,58 \pm 0,35^*$
пикотинил-Л-триптофан доза 10мг/кг	$4,14 \pm 0,12^{**}$	$5,24 \pm 0,15^{**}$
никотинил-Л-триптофан доза 5мг/кг	$2,08 \pm 0,26^*$	$4,28 \pm 0,28^*$
никотинил-Л-триптофан 10 мг/кг	$3,58 \pm 0,3^*$	$6,44 \pm 0,16^{**}$

* - $p < 0,001$; $p < 0,01$

Примечание: - 1 - достоверность отличий по сравнению с контролем

2 – достоверность отличий от данных, полученных при исследовании животных с микотоксикозом, не получавших препарат;

Развитие токсикоза, полученного введением охратоксина в дозе 25 мг/кг в течение 21 дня приводит к увеличению содержания МДА в плазме крови и в общем гомогенате печени – содержание составило уже $4,88 \pm 0,15$ и $6,58 \pm 0,4$. Установленное нами возрастание уровня липидных перекисей мы склонны объяснить нарушением динамического равновесия между эндогенными системами про- и антиоксидантного действия в пользу первых, что связано с уменьшением количества антиоксидантов при микотоксикозе. Повышение образования перекисей липидов связано с изменением процессов проницаемости в клеточных мембранах, что приводит к снижению стабильности и изменению физико-химических свойств мембран: микровязкости, текучести, мембранного потенциала, полярности внутренних областей мембраны и др. Особенно страдает от увеличения количества перекисей липидов митохондриальная фракция, так как она содержит большое количество легкоокисляемых субстратов, таких как полиненасыщенные жирные кислоты, а также наличие негеминового железа цитохрома, являющегося активатором ПОЛ. В этих условиях митохондриальная цепь переноса электронов становится мощным источником образования активных форм кислорода – нестабильных и крайне реакционноспособных метаболитов [7, 12].

При нарушении проницаемости, вследствие окисления липидов и нарушения синтеза АТФ, происходит массивный вход кальция, который активирует внутриклеточные кальцийзависимые протеазы и липазы, что вызывает лизис и гибель клетки по типу апоптоза или некроза. Воздействуя на ДНК ядер, свободные радикалы могут обусловить изменения в генетическом коде и гибель клетки по типу апоптоза [2, 11].

В условиях повышенного образования перекисей липидов, когда антиоксидантная система не способна осуществлять полноценную защиту свободнорадикальной атаки, становится очевидной целесообразность усиления антиоксидантной защиты, которая может быть опосредована введением исследуемых препаратов.

Как показали результаты исследования, введение указанных препаратов уменьшало содержание малонового диальдегида в плазме крови и в печени подопытных крыс (табл.1). По всей видимости, уменьшение содержания малонового диальдегида связано с антиоксидантными свойствами аминокислот триптофана и никотиновой кислоты, входящих в структуру синтезированных препаратов [6, 9].

В наших исследованиях доза 5 и 10 мг/кг оказывает неодинаковое действие. Согласно полученным данным, наиболее эффективным была доза 5 мг/кг веса. Доза 10 мг/кг также оказывала протекторное действие, но в меньшей степени.

Анализ результатов проведенных исследований свидетельствует о терапевтической эффективности применяемых нами препаратов. Указанные аминокислоты (триптофан, фенилаланин, никотиновая кислота) и их производные применяются в качестве ингредиентов многих лекарственных средств, регулирующих метаболические процессы.

Нам представляется, что использованный препарат обладает антиоксидантным действием, уменьшает образование перекисей липидов и может быть эффективен при различных патологических состояниях, характеризующихся нарушением окислительных процессов и в связи с этим представляет определенный научно-практический интерес.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма. СПб. ИКФФолиант, 2000.
2. Бра М., Квинан Б., Сузин С.А. Митохондрии в программированной гибели клетки: различные механизмы гибели. Биохимия. 70, 2, 284-293, 2005.
3. Григорьева Р.З. Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания. Учебное пособие, Кемерово, с. 21-26, 2004.
4. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток: Физиологические и клинико-биохимические процессы., СПб, Мед. Пресса, 2006.
5. Иванов А.В., Фисинин В.И., Трemasов М.Я., Папуниди К.Х. Микотоксикозы (биологические и ветеринарные аспекты) М., Колос, 392, 2010.
6. Полимова Н.А. Продукты окисления ароматических аминокислот - антиоксиданты. Биофизика. 56, 4), 581-586, 2011.
7. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Роль свободнорадикальных процессов. Российский физиологический журнал. 6, 636-655, 2005.
8. Смирнов У.С., Зайченко Ф.М., Рубежняя И.Г. Микотоксины: Фундаментальные и прикладные аспекты. Современные проблемы токсикологии. 1, 2-12, 2000.
9. Щербаков Д.Л., Емельянов В.В., Мещанинов В.Н. Антиоксидантное действие триптофана и никотиновой кислоты в головном мозгу крыс разного возраста при иммобилизационном стресс-воздействии. Успехи геронтологии 4, 730-736, 2014.
10. Турпаев К.Т. Активные формы кислорода и экспрессия генов. Биохимия., 67, 3, 339-352, 2002.
11. Bergamini C.M., Gamdetti S., Dondi A. et al. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. Curr.Pharm.Des. 10, 1611-1626, 2004.
12. Daiber A. Redox signaling (cross-talk) from and to mitochondria involves mitochondrial pores and reactive oxygen species Biochim BiophysActa. 1797 (6-7), 897-906, 2010.
13. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev. 82, 47-54, 2001.

Поступила 22.11.2016