

УДК 678.943+547.461.3+678.048

Влияние литиевых солей производного лизина и дилитиевых солей глютаминовой кислоты на перекисное окисление липидов в гомогенатах головного мозга и печени в опытах *in vitro*

**О.М. Амирханян, С.А. Казарян, С.С. Овакимян,
К.П. Григорян**

*Научно-технологический центр органической
и фармацевтической химии НАН РА
0014, Ереван, пр. Азатутян, 26*

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, свободнорадикальное окисление, антиокислительная активность

Известно, что препараты лития оказывают терапевтическое действие при маниакально-депрессивных психозах и иных синдромах, сопутствующих психическим заболеваниям, которые характеризуются цикличностью эпизодов мании и депрессии, включая и агрессию у умственно отсталых больных [2,3,6,9-12,21-24]. Препараты лития могут использоваться для снижения агрегации тромбоцитов, вызываемой АДФ[16], нейрональной ишемии [13,15,18,19], при латеральном склерозе [17], болезни Альцгеймера[14].

Среди лекарственных средств наибольшей эффективностью обладает литий оксibuтират, способный корректировать как энергетический и окислительный обмены, так и острое невротическое состояние организма [10-12]. Имеются литературные данные, подтверждающие успешность применения кроме оксibuтирата лития, карбоната, сукцината, бензоата, никотината, лактата лития в качестве профилактических средств, оказывающих положительное действие при депрессивных состояниях организма и его психических расстройствах [9]. Следовательно, действующим началом препарата является не только ион лития, но и анионная часть, придающая ему качественно новые отличительные особенности, что и послужило поводом к изучению влияния литиевых солей производного L-лизина (содержащих один атом лития) и L-глютаминовой кислоты (содержащих два атома лития), впервые синтезированных в Институте тонкой органической химии НАН РА, на процесс свободнорадикального окисления (СРО) липидов в гомогенатах мозга и печени белых крыс в опытах *in*

vitro. Ранее нами было изучено влияние литиевых солей гидрокси- и серосодержащих L-аминокислот, а также производных литиевых солей L-аргинина и L-орнитина на процесс СРО липидов в мозгу и печени белых крыс [1,7,8], где показан эффект анионной части литиевых солей аминокислот на процесс подавления перекисного окисления липидов (ПОЛ). Возникает интерес к изучению антиокислительной активности (АОА) соединений в зависимости от содержания в их молекуле количества атомов лития. С этой целью отобрана литиевая соль N, N¹-бис(2,4-динитрофенил)-L-лизин и дилитиевая соль L-глутаминовой кислоты.

Материал и методы

Исследования проводились на 10 беспородных белых крысах-самцах, массой 180-200г, содержащихся на обычном пищевом рационе. Животных обезглавливали под легким эфирным наркозом, изолированные головной мозг и печень промывали физраствором, очищали от кровеносных сосудов и гомогенизировали в трис-HCl буфере (pH=7.4). Уровень липидных перекисей определяли в неферментативной (аскорбатзависимой) системе перекисления по выходу конечного продукта – малонового диальдегида (МДА), образующего с тиобарбитуровой кислотой комплексное соединение в виде розового хромогена, интенсивность окраски которого регистрировалась спектрофотометрически (при длине волны $\lambda=535$) и соответствовала количеству образовавшейся перекиси [4,5].

Об АОА испытуемых соединений судили по процентным изменениям количества МДА в опытных пробах по сравнению с контрольными из расчета на 1мг предварительно определенного количества белка [20]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия достоверности Фишера-Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В наших опытах исследуемые соединения использовались в концентрациях, равных 0.01М и 0.001М.

Согласно данным, представленным в табл.1, литиевая соль N, N¹-бис (2,4-динитрофенил)-L-лизин в гомогенатах мозга и печени проявляет значительную АОА, подавляя процесс СРО липидов соответственно на 59.5% и 63.0% по отношению к контролю.

Таблица 1

Влияние литиевой соли N, N¹-бис(2,4-динитрофенил)-L-лизина в концентрации 0.01M на содержание МДА (нМ/мг белка) в мозгу и печени белых крыс

Ткань	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)	% разницы от контроля
Мозговая	6,12 ± 0,34	2,48 ± 0,20	-59,5 P<0.001
Печеночная	5.28 ± 0.22	1.95 ± 0.14	-63.0 P<0.001

Аналогичная закономерность была констатирована, но с несколько меньшей степенью подавления процесса СРО при использовании дилитиевой соли L-глутаминовой кислоты (табл. 2).

Таблица 2

Влияние дилитиевой соли L-глутаминовой кислоты в концентрации 0,01M на содержание МДА (нМ/мг белка) в мозгу и печени белых крыс

Ткань	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)	% разницы от контроля
Мозговая	6,56 ± 0,38	4,08 ± 0,28	-37,8 P<0,01
Печеночная	5,41 ± 0,32	2,66 ± 0,20	-50,8 P<0,001

Известно, что степень стимулирующего действия лития на отдельные стороны функциональной активности организма (развитие, эндокринные функции, активность фермента в различных системах и т.д.) находится в прямой зависимости от его конкретной концентрации, что и послужило основанием к изучению колебаний в интенсивности течения процессов ПОЛ при использовании малых доз (0,001M) литиевых солей испытуемых природных аминокислот.

Согласно данным, отраженным в табл. 3, воздействие на мозговой гомогенат десятикратно сниженной концентрацией литевой соли N, N¹-бис(2,4-динитрофенил)-L-лизина также характеризуется подавлением ПОЛ, только соотносительно в меньшей степени.

Таблица 3

Влияние литиевой соли N, N¹-бис(2,4-динитрофенил)-L-лизина в концентрации 0.001M на содержание МДА (нМ/мг белка) в мозгу и печени белых крыс

Ткань	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)	% разницы от контроля
Мозговая	6,12 ± 0,34	4,22 ± 0,20	-31,0 P<0,01
Печеночная	5,28 ± 0,22	3,06 ± 0,18	-42,0 P<0,001

Примечательно, что наибольшая степень АОА при этом проявляется в печеночной ткани.

Результаты, полученные под действием 0,001M раствора дилитиевой соли L-глутаминовой кислоты, показывают, что процесс ПОЛ в гомогенатах мозга и печени замедляется незначительно – 14.3% и 20.9% соответственно, тогда как под влиянием литиевой соли N, N¹-бис (2,4-динитрофенил)-L-лизина процесс СРО липидов в исследуемых тканях подавляется на 31.0% и 42.0% соответственно.

Таблица 4

Влияние дилитиевой соли L-глутаминовой кислоты в концентрации 0,001M на содержание МДА (нМ/мг белка) в мозгу и печени белых крыс

Ткань	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)	% разницы от контроля
Мозговая	6.56 ± 0.38	5.62 ± 0.32	-14.3 P<0.1
Печеночная	5.41 ± 0.32	4.28 ± 0.24	-20.9 P=0,02

Основываясь на результатах собственных исследований, можно сделать заключение об АОА литиевой соли производного L-лизина и дилитиевой соли L-глутаминовой кислоты в гомогенатах мозга и печени и при более активном проявлении в печеночной ткани в концентрациях 0.01M. Десятикратно сниженные концентрации (0.001M) проявляют свою АОА главным образом в печеночной ткани. Среди испытуемых соединений большей АОА обладает литиевая соль N, N¹-бис(2,4-динитрофенил)-L-лизин, в молекуле которого содержится только один атом лития. Из этого можно заключить, что подавление процесса СРО липидов зависит не только от концентрации ионов лития, но и важное значение при этом имеет анион в виде производного аминокислоты или аминокислотного остатка.

Поступила 15.07.14

**Լիզինի ածանցյալի լիթիումական և գլյուտամինաթթվի
դիլիթիումական աղերի ազդեցությունը գլխուղեղի և լյարդի
հոմոգենատներում լիպիդների գերօքսիդացման վրա *in vitro*
փորձերում**

**Հ.Մ. Ամիրխանյան, Ս.Հ. Ղազարյան, Ս.Ս. Հովակիմյան,
Կ.Պ. Գրիգորյան**

Ուսումնասիրվել է լիզինի ածանցյալի լիթիումական և գլյուտամինաթթվի երկլիթիումական աղերի դերը սպիտակ առնետների ուղեղի և լյարդի հոմոգենատներում ընթացող լիպիդների ազատ-ռադիկալային օեակցիաների ընթացքի վրա: Պարզվել է, որ վերոհիշյալ միացությունների 0.01Մ խտության ազդեցության պայմաններում լիպիդների գերօքսիդների առաջացման գործընթացները զգալիորեն ճնշվում են: Տասնապատիկ նոսրացված (0,001Մ) լուծույթներն իրենց հակաօքսիդանտային ակտիվությունը ցուցաբերում են հատկապես լյարդային հյուսվածքում:

Բացահայտվել է նաև, որ լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացը ճնշելու գործում, բացի լիթիումի իոնների խտությունից, զգալի դեր ունեն նաև անիոնները՝ լիզինի ածանցյալի և գլյուտամինաթթվային մնացորդները:

**Effect of derivative of lysine lithium and glutamic acid dilithium salts
on the process of lipid peroxidation in brain and liver homogenates
in vitro experiments**

H.M. Amirkhanyan, S.H. Ghazaryan, S.S. Hovakimyan, K.P. Grigoryan

The role of derivative of L-lysine lithium and L-glutamic acid dilithium salts on the process of free radical oxidation of lipids in brain and liver homogenates was studied. It was shown that 0,01M concentration of the compound demonstrates a pronounced depression on the process of lipid peroxidation. This effect was demonstrated in tenfold decreased concentration (0,001M) of substances especially in liver tissue. It was also shown that the suppression of lipid peroxidation processes depends not only on the concentration of lithium ions, but also the anions – the derivative of lysine and of glutamic acid residues.

Литература

1. Амирханян О.М., Казарян С.А., Овакимян С.С., Карагезян К.Г. Влияние производных литиевых солей орнитина на процесс липидной перекисидации мозга и печени в опытах *in vitro*. Доклады НАН РА, 2012. т. 112, 4, с.411-416.
2. Ботвинникова М.И. Невропатол. и психиатр., 1959, 10, с.1222-1223.
3. Вартанян М.Е. В кн.: Вопросы психиатрии. М., 1960, вып. 4, с.215-219.
4. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И., Козлов А.В. Свободные радикалы в живых системах. Институт науки и техники ВИНТИ, 1991, т. 29, с. 126-130.
5. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972, с. 252.
6. Закусов В.В., Любимов Б.И., Яворский А.Н. и др. Бюл. exper. биол., 1978, 1, с. 33-36.
7. Карагезян К.Г., Амирханян О.М., Казарян С.А. и др. Влияние литиевых солей гидрокси- и серосодержащих аминокислот на процесс свободнорадикального окисления липидов в мозгу и печени белых крыс в опытах *in vitro*. Биол. журн. Армении, т. LXIII, 2011, 4, с.110-114.
8. Карагезян К.Г., Амирханян О.М., Казарян С.А. и др. Влияние литиевых солей различных производных аргинина на перекисное окисление липидов в гомогенатах головного мозга и печени в опытах *in vitro*. Мед. наука Армении НАН РА, 2011, т. LI, 4, с.40-45.
9. Любимов Б.И., Яворский А.Н. Фармакол. и токсикол., 1978, 2, с.138-142.
10. Пентюк А.А. О механизме действия солей лития на энергетический обмен. Автореф. канд. дис. М., 1980.
11. Шолохов В.М. В кн.: Тезисы Всесоюзн. симпозиума "Коррекция острых невротических состояний с помощью оксипутирата лития". М., 1983, с.64-66.
12. Шолохов В.М. Влияние препаратов лития на окислительный обмен. Автореф. канд. дис. М., 1975.
13. Cappuccio I., Calderone A., Busceti C. et al. Induction of Dickkopf-1, a negative modulator of the Wnt pathway is required for the development of ischemic neuronal death. The Journal of Neuroscience, 2005, 9, 25(10):2647-2657.
14. Caricasole A., Copani A., Canaci F. et al. Induction of Dickkopf-1, a negative modulator of the Wnt pathway, is associated with neuronal degeneration in Alzheimers brain. J. Neurosci., 2004, 24:6021-6027.
15. Chuang D-M., Chen R-W, Chalecka – Franaszek E. et al. Neuroprotective effects of Lithium in cultured cells and animal models of diseases. Bipolar disorder., 2002:4:129-136.
16. El-Mallakh R.S., Jefferson J.W. Prethymoleptic use of Lithium. American Journal of Psychiatry, 1999, 156:129.
17. Fornal F., Longone P., Cafaro L. et al. ONAS, 2008, 105, 6:2052-2057.
18. Hashimoto R., Fujimaki K., Jeong M.R. et al. Lithium- induced inhibition of SRC tyrosine kinase in rat cerebral cortical neurons: a role in neuroprotection agents N-methyl-D-aspartate receptor – mediate excitotoxicity. FEBS Lett., 2003, 538:145-148.
19. Hashimoto R., Hough C., Nakazawa T. et al. Lithium protection against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons: involvement of NMDA receptor inhibition possibly by decreasing NR2B tyrosine phosphorylation. J. Neurochem., 2002, 80:589-597.
20. Lowry D.H., Razenbough N.J., Farr A.L., Rohdall R.J. J. Biol. Chem., 1980, 193, p.265-269.
21. Pastor C.P., Gonzaliz M. An. Real Acad. Farm., 1980, v. 46, p. 203-208.
22. Prien R.F., Caffey E.M., Kleft C.J. Dis. Nerv. Syst., 1971, v.32, p.521-531.
23. Reinwein D. Therapiewoche, 1980, Bd. 30, S.4990, 4992-4994, 4996-4998.
24. Stokes P., Stoll P.M., Shamoian C.A. et al. Lancet, 1971, v. 1, p. 1319-1325.