

*Вишневецкий А.А.*

**СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО  
КОРРЕКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И В ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ ГОР**

*A.A. Vishnevskii*

**THE OXIDATIVE HOMEOSTASIS AND POSSIBILITY ITS CORRECTION UNDER  
EXPERIMENT AND NATIVE CONDITION OF MOUNTAINS**

УДК: 612.014.4: 613.12 (23)

*Исследованы эффекты применения винпоцетина в целях коррекции оксидантного стресса и структуры биологических мембран в условиях сочетанного воздействия острой (экспериментальной) ишемии и физических факторов высокогорья и  $\alpha$ -липоевой кислоты как средства повышения функциональных возможностей организма. Показаны особенности корректирующих влияний использованных биорегуляторов. Применение винпоцетина в значительной мере нивелирует последствия оксидантного стресса и ухудшение функциональных характеристик. Курс  $\alpha$ -липоевой кислоты способствует значительному повышению физической работоспособности экспериментальных животных.*

*The effects and mechanism of use of vinpocetine for correction of oxidizing stress and structure of biological membrane under influence of both experimental cerebral ischemia and physical factors of high altitude and also use of  $\alpha$ -lipoic acid like a drug for increasing of functional capacity of organism are discussed. The features of correctional influences of utilized bioregulators are showed. Application of vinpocetine considerably level changes of consequences of oxidizing stress and worsening of functional characteristics. Course of  $\alpha$ -lipoic acid lead to considerable increase of physical capacity for work.*

В связи с огромной ролью свободных радикалов в развитии предпатологических и дезадаптационных состояний в горах, в Институте горной физиологии НАН КР большое внимание уделяется изучению механизма действия и сравнительной эффективности физиологически активных веществ (ФАВ), ингибирующих реакции цепного окисления мембран. При этом, важнейшими аспектами исследований на протяжении последних 5 лет становится, во-первых, изучение окислительного гомеостаза и возможность его коррекции в условиях экспериментальной церебральной ишемии в горах, во-вторых, - при интенсивных физических нагрузках в условиях низкогорья.

Выбор первого направления для научного поиска обусловлен тем фактом, что в Кыргызстане число больных, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения, неуклонно растет. Только за последние три года заболеваемость ишемическим инсультом увеличилась в 1,8 раза и геморрагическим - в 1,5 раза и составила соответственно 3985 и 1570 случаев в год. Смертность от инсульта в Кыргызстане одна из наиболее высоких (261 случай на 100 тысяч населения) в мире (ВОЗ, 2004). Поэтому, поиск средств, способствующих устранению или уменьшению тяжести

нарушений, вызванных ишемией и гипоксией, представляет большой практический интерес. К числу таких средств относится винпоцетин. Данное физиологически активное вещество, уже довольно длительное время, используют в клинической практике, но все же, до сих пор не выявлены физиологические механизмы действия винпоцетина на течение острой церебральной ишемии в условиях влияния комплекса физических факторов высокогорной среды.

Отсюда одной из основных задач данной работы было получение новых данных о механизмах действия винпоцетина. Подобный формат научного поиска позволит расширить спектр показаний для его применения.

В наших исследованиях было продемонстрировано, что при моделировании на крысах острой церебральной ишемии (ОЦИ) мозга путем двусторонней перевязки общих сонных артерий, снижение активности антиоксидантных ферментов может провоцировать накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также лизоформ мембранных фосфолипидов (lyso-PL), обладающих значительным детергентным потенциалом и приводящих к кластеризации бислоя [1]. При этом, очевидно, что наличие эффективных антиоксидантных систем и низкомолекулярных антиоксидантов, способных поддерживать безопасную для жизнедеятельности клеток стационарную концентрацию свободных радикалов, нивелирует отрицательные эффекты оксидантного стресса при ОЦИ. В этой связи, при выполнении данного цикла работ основное внимание уделяется изучению механизма действия и сравнительной эффективности винпоцетина и  $\alpha$ -токоферола, при ингибировании реакций с участием радикалов, и в первую очередь реакций цепного окисления биологических мембран.

Нами показано, что антиоксидантный эффект винпоцетина *in vivo* сравним с эффектом  $\alpha$ -токоферола как в условиях низкогорья (760 м), так и в горах (3200 м). Установленный факт подтвердил имеющиеся в литературе сведения об антиоксидантном потенциале винпоцетина, в отличие от других ноотропов. Помимо этого, нами был выявлен новый, не встречающийся в обозримом литературном пространстве, эффект винпоцетина. Мы имеем ввиду особенности корректирующих влияний использованных биорегуляторов: введение винпоцетина, в отличие от  $\alpha$ -токоферола достоверно уменьшало индуцирован-

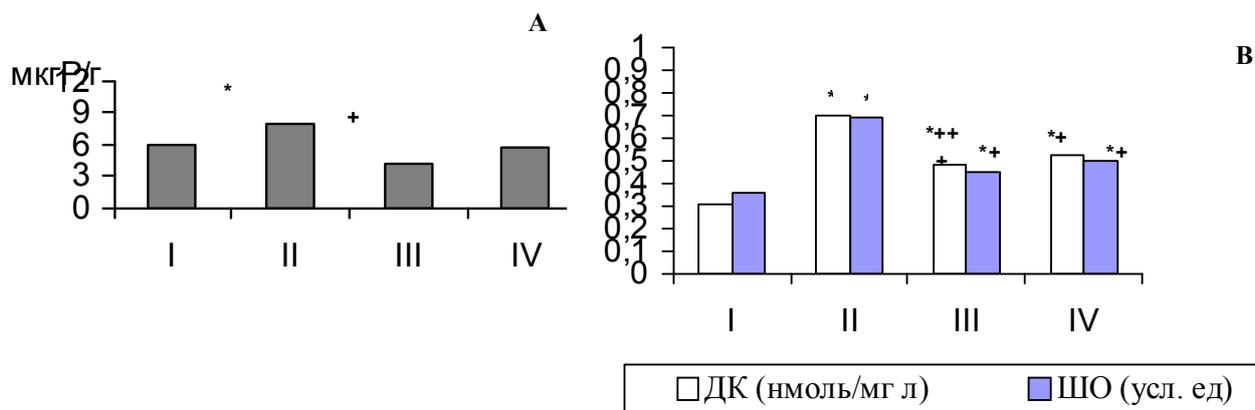
ное окислительным стрессом накопление lyso-PL, помимо ингибирующего влияния на содержание продуктов ПОЛ. Полученные результаты отражают снижение активности фосфолипазы A<sub>2</sub>, которая, по-видимому, оказалось одной из мишеней винпоцетина. В то же время, α-токоферол, ингибируя повышение содержания продуктов ПОЛ, не вызвал снижения уровня lyso-PL в мозге и мембранах эритроцитов при ОЦИ (рис.1.).

Lyso-PL – токсичные продукты активности фосфолипазы A<sub>2</sub>. Они могут трансформировать липидный бислой, разрушая его структуры. Детергентные свойства lyso-PL проявляются в том, что их присутствие делает мембраны утолщенными, гидратированными, поэтому проницаемость мембран для различных веществ резко возрастает [1]. Накопление лизоформ фосфолипидов, обладающих значительным детергентным потенциалом, способно изменить молекулярно-структурный статус биомембран – вызвать кластеризацию бислоя и рекомпозицию мембранных фосфолипидов [2, 3, 4]. Указанные молекулярные перестройки бислоя и накопление lyso-PL, которые являются цитотоксическими интермедиаторами ПОЛ, вполне могут опосредовать церебровреждающие эффекты ишемии. Справедливость данного утверждения иллюстрируется отрицательной корреляцией между уровнем lyso-PL в мозге крыс с церебральной ишемией и показателями локомоции ( $r=-0,60$ ;  $p<0,05$ ), ориентировочной реакции ( $r=-0,68$ ;  $p<0,05$ ) и исследовательского поведения ( $r=-0,74$ ;  $p<0,02$ ) во время тестирования в “открытом поле”.

В целом, установленные факты свидетельствуют о том, что lyso-PL обладают большей цитотоксичностью и детергентным потенциалом по сравнению с продуктами ПОЛ. Это заключение сделано на основании снижения чувстви-

тельности мозга к lyso-PL-опосредованному церебровреждающему действию ишемии и гипоксии при введении винпоцетина. Вторым вывод, вытекающий из первого, состоит в том, что lyso-PL-ограничивающие эффекты винпоцетина на структуру мембран проявляются в нормализации липидно-белковой организации бислоя. При введении ингибитора ПОЛ - α-токоферола не удалось выявить изменения структуры бислоя мембран мозга. О функциональных последствиях указанных событий можно судить по улучшению показателей поведения крыс и физической работоспособности, которое в случае с винпоцетином оказалось более значительным по сравнению с α-токоферолом. Этот эффект, по-видимому, связан с тем, что при нарушении мозгового кровообращения в меньшей степени нарушается ауторегуляция и реактивность церебральных сосудов, что делает их чувствительными к винпоцетину, который способен в условиях гипоксии значительно увеличивать кровоток и перфузию мозга в зоне ишемии [4].

Для патофизиологической модели, использованной в настоящей работе, при дополнительном воздействии физических факторов высокогорья характерна активация ПОЛ и повышение уровня lyso-PL, что приводит к изменению структурных параметров клеточных мембран. Эти молекулярные сдвиги отражаются на функциональных характеристиках в виде изменения показателей поведения и снижения физической работоспособности. Следовательно, определение уровня окислительного стресса и lyso-PL как универсального индикатора интенсивности структурных изменений биологических мембран позволит судить о степени риска дезадаптационных и предпатологических состояний.



**Рис. 1.** Содержание лизоформ фосфолипидов (lyso-PL), диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ШО) в ткани мозга крыс при острой церебральной ишемии при лечении винпоцетином и α-токоферолом (низкогорье).

Часть А – содержание lyso-PL; по оси ординат – микрограмм фосфолипидного фосфора на грамм ткани мозга крыс (мкгР/г ткани); часть Б – содержание ДК, ШО по оси ординат; по оси абсцисс (А и Б части) – группы животных:

I – здоровые интактные крысы (контроль); II – крысы с двусторонней окклюзией ОСА; III – крысы с двусторонней окклюзией ОСА + винпоцетин; IV – крысы с двусторонней окклюзией ОСА + α-токоферол;

\* - изменения, достоверны по сравнению со здоровыми низкогорными животными; □ - изменения, достоверны по сравнению со II группой; (P < 0,05)

Можно предположить, что обнаруженная нами способность винпоцетина нивелировать повышение уровня lypo-PL, в существенной мере определяет механизм защитного эффекта этого биорегулятора, так как детергентный потенциал лизоформ фосфолипидов, наряду с активацией свободнорадикальных реакций, может служить причиной нарушения молекулярной структуры мембран и даже гибели клеток при повреждающих воздействиях. Поэтому, винпоцетин является достаточно эффективным и функциональным мембранопротектором, обладающим способностью нормализовать структурный статус бислоя.

Стабилизация ментальных способностей и повышение физической работоспособности после введения винпоцетина, являются одними из критериев успешной адаптации организма в горах [5], следовательно, применение данного ФАВ способствует значительному повышению приспособительного потенциала организма, а значит и течению патологических состояний, в данном случае при острой церебральной ишемии.

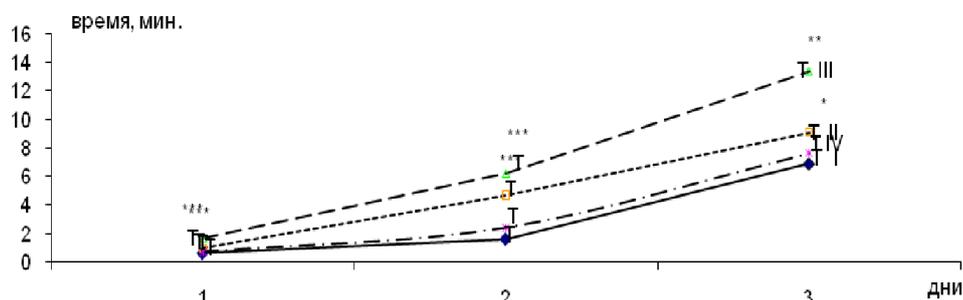
Второе направление исследований лаборатории связано с поиском новых функциональных проявлений и разработкой методик применения  $\alpha$ -липовой кислоты. В ряде последних исследований получены данные, касающиеся реализации физиологического и фармакологического действия  $\alpha$ -липовой кислоты. Значение этих работ велико, поскольку в них продемонстрирована целая гамма регуляторных эффектов данного ФАВ [6, 7]. В то же время, не все данные, полученные этими авторами, поддаются убедительной физиологической интерпретации, а клиническое значение ряда указанных изменений пока исследовано недостаточно. Кроме того, многие молекулярные аспекты и механизмы действия препарата не вполне ясны либо позволяют высказывать лишь предположения [8]. В этой связи, разработка параметров применения препаратов  $\alpha$ -липовой кислоты нам представляется весьма важной.

Известно, что в условиях напряженной мышечной деятельности происходит активация свободнорадикального окисления, приводящая к нарушениям процессов тканевого дыхания [7]. Эти процессы являются причиной быстрого утомления и снижения переносимости гипоксических состояний, перманентно возникающих в процессе интенсивных физических нагрузок [8]. Применение препаратов, обладающих антио-

кислительным и антигипоксическим действием, ведет к разрушению перекисных продуктов, стабилизирует работу дыхательных ферментов, локализованных в митохондриальных мембранах, и снижает скорость развития утомления в процессе работы [2]. Такого рода действием обладает  $\alpha$ -липовая кислота (Berlition; "Berlin-Chemie"). Антиоксидантная значимость данного физиологически активного вещества связана с особенностями его молекулярной структуры и функциональными свойствами [8].

В условиях низкогорья были поставлены эксперименты, цель которых состояла в оценке степени влияния  $\alpha$ -липовой кислоты на состояние окислительного гомеостаза, уровень мембранных лизоформ фосфолипидов, показатели поведения, физическую работоспособность и выносливость испытуемых животных, что в конечном счете способствовало выяснению механизмов участия  $\alpha$ -липовой кислоты и вклада этого соединения в повышение функциональных возможностей организма. Подобный формат исследований может быть полезным, как в теоретическом аспекте, так и при решении задач практической медицины и горной физиологии, поскольку позволит проводить целенаправленную модификацию окислительных, мембранных, гематологических и функциональных показателей при помощи антиоксидантов и антигипоксантов.

В ходе выполнения исследований данной серии экспериментов получены новые данные о значительном и достоверном повышении показателя выносливости испытуемых животных при интенсивной физической нагрузке в условиях низкогорья (760 м), обусловленное предварительным введением  $\alpha$ -липовой кислоты (рис.2.). В частности, при однократном введении препарата отмечено повышение (по времени) способности животных держаться на воде с грузом практически в два раза: с  $57,2 \pm 0,8$  сек в группе плацебо до  $113,0 \pm 11,1$  сек в опытной группе ( $p < 0,01$ ), а при трехкратном применении  $\alpha$ -липовой кислоты время плавания с грузом составляло уже с  $382,8 \pm 56,3$  сек в группе плацебо до  $815,4 \pm 81,3$  сек в опытной группе ( $p < 0,01$ ). При этом, функциональные эффекты второго препарата – милдроната, традиционного антиоксиданта, взятого для сравнения, уступали  $\alpha$ -липовой кислоте по показателю выносливости (длительность плавания с грузом) практически в 2 раза ( $p < 0,01$ ).



**Рис. 2.** Изменение показателей физической работоспособности при интенсивной физической нагрузке «плавание в воде» после 6-дневного введения биорегуляторов. По оси ординат - время плавания в воде ( $t=+24-26^{\circ}\text{C}$ ) в минутах; по оси абсцисс – дни экспериментов; I-«плацебо»; II- милдронат; III -  $\alpha$ -липовая кислота; IV – винпоцетин;  $n=10$ ; \*- $p<0,05$ ; \*\*- $p<0,02$ ; \*\*\*- $p<0,01$ .

Данное значительное улучшение функциональных возможностей организма при введении антиоксидантов сопровождается стабилизацией окислительного гомеостаза и уровня мембранных лизоформ фосфолипидов ( $p<0,02$ ), также более выраженное при использовании  $\alpha$ -липовой кислоты по сравнению с милдронатом.

Вышеизложенное позволяет заключить, что введение  $\alpha$ -липовой кислоты испытуемых животных при интенсивной физической нагрузке в условиях низкогорья (760 м), снижает уровень продуктов свободнорадикального окисления и достоверно нивелируют накопление индикатора структурных нарушений бислюа - luso-PL. Стабилизация окислительного статуса и структуры клеточных мембран обуславливает значительное повышение показателя выносливости. Очевидно, что в условиях напряженной мышечной активности  $\alpha$ -липовая кислота может быть эффективно использована для повышения функциональных возможностей организма, а фактологический материал, полученный в ходе данного цикла исследований, может быть использован при выборе антиоксидантов и мембранопротекторных средств, с целью отыскания максимально эффективного соотношения «доза-ответ», в зависимости от индивидуальных особенностей физиологической реактивности организма и продолжительности последствия ФАВ.

### Литература:

1. Кармалита Е.Г., Серебров В.Ю., Новицкий С.В. Активность фосфолипазы  $A_2$  различной локализации в липосомах и др. //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.– 2002.–Т.134, №9.– С.291-294.
2. Колосова Н.Г. Механизмы участия токоферола в адаптивных преобразованиях на холоде/ Н.Г. Колосова: Автореф. дис.докт. биол. наук. – Новосибирск, 2000. – 47 с.
3. Вишневский А.А. Модификация биомембран и ответ мессенджерных систем при воздействии факторов высокогорья и физиологически активных веществ/ А.А. Вишневский: Автореф. дис. докт. биол. наук. – Новосибирск, 2007. – 31 с.
4. Мищенко И.В. Постишемическая реперфузия головного мозга и ее влияние на реакции перекисного окисления липидов//Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2003. – №2. – С. 162-164.
5. Агаджанян Н.А. Физиология человека. Учебное пособие – М: РУДН, 2002. – 472 с.
6. Недосугова Л.В., Ланкин В.З., Балаболкин М.И. Взаимосвязь между компенсацией углеводного обмена и выраженностью проявлений окислительного стресса при диабете // Бюллетень экспер. биол. и мед. – 2003. – Т. 39, N 8. – С. 152-155.
7. Алтухов Н.Д., Волков Н.И., Хоронюк С.Л. Изменения биоэнергетических функций и работоспособности спортсменов при использовании антигипоксантов полифенольного ряда // Физиол. человека. – 2004.- Т. 30, N 2. – С. 101- 109.
8. Яценко А.Г., Лысенко Е.Н., Жовтяк В.Н., Майданюк Е.В. Влияние  $\alpha$ -липовой кислоты на функциональное состояние кардиореспираторной системы // Неврология и психиатрия.– 2005.- N 4.– С.34-40.

Рецензент: к.биол.н., доцент Ахматова А.Т.