

## РАЗЛИЧИЯ ПРООКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ НЕЙРОЛЕПТИКОВ ГАЛОПЕРИДОЛА И АМИНАЗИНА

Н. П. Подосиновичева, В. В. Петров, А. Б. Космачев<sup>1</sup>, Л. Г. Кубарская, С. Г. Дагаев, В. Б. Долго-Сабуров<sup>1</sup>

В экспериментах с использованием гидробионта *Daphnia magna Straus* проведена сравнительная оценка прооксидантного действия галоперидола и аминазина. Показано, что галоперидол обладает выраженной прооксидантной активностью, сопоставимой с таковой перекиси водорода. Аминазин аналогичным свойством не обладает. Экзогенный восстановленный глутатион защищает дафний от прооксидантного действия галоперидола. *Daphnia magna Straus* могут быть использованы для исследования *in vivo* прооксидантного и антиоксидантного действия токсикантов и лекарственных средств.

**Ключевые слова:** оксидативный стресс, антиоксиданты, галоперидол, аминазин, дафнии

### ВВЕДЕНИЕ

Галоперидол широко применяют в клинической практике в качестве антипсихотического средства, а также для купирования психомоторного возбуждения разного генеза. Длительное применение галоперидола, как и его передозировка, сопровождаются поражением нервной системы по типу экстрапирамидных расстройств с нарушением двигательной активности. В экспериментальных исследованиях на крысах галоперидол используется для формирования модели экстрапирамидных нарушений типа паркинсоноподобного синдрома. В опытах *in vitro* на культуре клеток гиппокампа мышей и нейронов коры большого мозга крыс показана способность галоперидола индуцировать шестикратное повышение уровня свободных радикалов и вызывать гибель клеток, которая предотвращалась экзогенными антиоксидантами [3]. В настоящем исследовании проведена сравнительная оценка прооксидантной активности галоперидола и аминазина в условиях целостного организма *in vivo* с использованием в качестве биообъекта гидробионта *Daphnia magna Straus*.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили с использованием в качестве тест-объекта *Daphnia magna Straus*. Разведение дафний осуществляли в лабораторных условиях в соответствии с требованиями международного стандарта по биотестированию воды [1]. Расчет среднетоксической концентрации ( $LC_{50}$ ) химических веществ как показателя чувствительности дафний к ксенобиотикам определяли методом пробит-анализа с использовани-

ем таблиц, предложенных В. Б. Прозоровским [2]. В эксперимент брали дафний в возрасте 1–2 суток. Дафний помещали в лабораторные стаканчики с раствором исследуемых веществ в 5–10 возрастающих по логарифмической шкале концентрациях, по 4 особи в каждую пробу объемом 10 мл. В ходе опытов дафний кормили. Через 24, 72 и 120 ч отмечали количество погибших дафний в каждой пробе, по результатам четырех последовательных проб находили в таблице соответствующее значение  $LC_{50}$ . Каждый эксперимент повторяли трижды. Оксидативный стресс создавали внесением в среду препарата сравнения — перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) или тестируемого ксенобиотика. Прооксидантное действие препаратов оценивали по антагонизму с антиоксидантом. В качестве стандартного антиоксиданта использовали восстановленный глутатион (Г-SH). Критерием оценки прооксидантного действия химических веществ служило отношение величин их  $LC_{50}$  в присутствии и в отсутствие восстановленного глутатиона (индекс защиты, ИЗ).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование включало две серии опытов: исследование возможности использования *Daphnia magna Straus* как биообъекта для оценки прооксидантного действия химических веществ и определение чувствительности гидробионтов к стандартному антиоксиданту восстановленному глутатиону; сопоставление прооксидантной активности антипсихотических средств галоперидола и аминазина.

В первой серии опытов исследовали чувствительность дафний к перекиси водорода в отсутствие и в присутствии восстановленного глутатиона в возрастающих концентрациях при экспозиции в течение одних, трех и пяти суток.

Как следует из табл. 1, в течение первых суток наблюдения не выявлено различий в чувствительности

<sup>1</sup> Лаборатория биохимии (зав. — проф. В. Б. Долго-Сабуров), лаборатория лекарственной токсикологии (зав. — Т. П. Саватеева-Любимова) Института токсикологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, 193019, ул. Бехтерева, 1.

Таблица 1. Чувствительность дафний к раствору перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) и влияние на нее различных концентраций (1/15, 1/10, 1/5 и 1/3  $LC_{50}$ ) восстановленного глутатиона (Г-SH) в течение 1, 3 и 5 сут

Препараты	1 сут		3 сут		5 сут	
	$LC_{50}$ , мг/л	ИЗ	$LC_{50}$ , мг/л	ИЗ	$LC_{50}$ , мг/л	ИЗ
$H_2O_2$	$8,7 \pm 1,7$		$3,0 \pm 0,7$		$1,2 \pm 0,5$	
$H_2O_2 + 1/15 LC_{50}$ Г-SH	$6,7 \pm 1,5$	0,8	$6,7 \pm 1,5^*$	2,2	$0,6 \pm 0,2$	0,5
$H_2O_2 + 1/10 LC_{50}$ Г-SH	$7,4 \pm 1,3$	0,9	$6,7 \pm 1,5^*$	2,2	$2,0 \pm 1,2$	1,7
$H_2O_2 + 1/5 LC_{50}$ Г-SH	$13,1 \pm 4,5$	1,5	$13,1 \pm 4,5^*$	4,4	$11,2 \pm 3,7^*$	9,3
$H_2O_2 + 1/3 LC_{50}$ Г-SH	$7,8 \pm 1,4$	0,9	$7,1 \pm 1,6^*$	2,4	$4,6 \pm 1,6^*$	3,8

**Примечание.**  $LC_{50}$ , восстановленного глутатиона —  $150 \pm 12$  мг/л. ИЗ — индекс защиты. \* — значения имеют достоверное ( $p < 0,05$ ) отличие от чувствительности дафний к раствору перекиси водорода.

Таблица 2. Влияние восстановленного глутатиона (Г-SH) (в концентрации 1/5  $LC_{50}$ ) на чувствительность *Daphnia magna Straus* к среднетоксическим концентрациям ( $LC_{50}$ ) перекиси водорода, галоперидола и аминазина

Препарат	$LC_{50}$ , мг/л	$LC_{50}$ , мг/л, в присутствии Г-SH в концентрации 1/5 $LC_{50}$	Индекс защиты
$H_2O_2$	$3,0 \pm 0,7$	$13,1 \pm 4,5^*$	4,4
Галоперидол	$0,6 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,5^*$	3,0
Аминазин	$0,3 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$	1,0

**Примечание.** \* — отличие в чувствительности дафний к тестируемому препарату без Г-SH достоверно при  $p < 0,05$ .

дафний к  $H_2O_2$  в присутствии и в отсутствие Г-SH. Очевидно, в этот период оксидативный стресс еще не успевает вызвать нарушения антиоксидантной защиты организма, истощение пула эндогенных антиоксидантов, накопление продуктов свободнорадикального окисления. К третьим суткам регистрируется значительное (в 2,9 раза по сравнению с первыми сутками) повышение чувствительности гидробионтов к перекиси водорода и достоверное защитное действие Г-SH во всем диапазоне его концентраций с максимальным эффектом при концентрации 1/5  $LC_{50}$  глутатиона. На 5-е сутки эксперимента чувствительность гидробионтов к раствору перекиси водорода повышается в 7,3 раза по сравнению с первыми сутками. К этому сроку наблюдается увеличение нестабильности и вариабельности результатов, связанные, очевидно, с лавинообразным образованием свободных радикалов и накоплением продуктов перекисного окисления в концентрациях, не всегда линейно зависящих от количества внесенной в пробы перекиси водорода. Таким образом, продемонстрирована способность дафний как биообъекта для экспериментальных исследований *in vivo* реагировать на оксидативный стресс, вызванный перекисью водорода, о чем свидетельствует выраженное положительное фармакологическое действие восстановленного глутатиона в различных концентрациях при экспозиции в течение одних, трех и пяти суток.

С целью стандартизации получаемых данных в качестве оптимальных условий для дальнейших исследований были выбраны экспозиция в течение трех суток и концентрация восстановленного глутатиона, равная 1/5 его  $LC_{50}$ .

Во второй серии опытов сопоставляли выраженность прооксидантной активности двух антипсихотических препаратов — галоперидола и аминазина в сравнении с тест-препаратом —  $H_2O_2$  при экспозиции “трое суток”.

Из результатов исследования, представленных в табл. 2, следует, что галоперидол обладает выраженной прооксидантной активностью, сопоставимой с таковой перекиси водорода. Так, в присутствии антиоксиданта чувствительность дафний к действию галоперидола снижается в три раза (ИЗ — 3,0), при защите гидробионтов Г-SH от действия перекиси водорода ИЗ равен 4,4.

Аминазин прооксидантной активностью не обладает (ИЗ = 1,0). Восстановленный глутатион является эффективным антиоксидантом для защиты дафний от токсического действия свободных радикалов. Внесение экзогенного восстановленного глутатиона способно защищать дафний от прооксидантного действия галоперидола и перекиси водорода.

Представляется перспективным использование гидробионтов *Daphnia magna Straus* в качестве экспериментального биообъекта при исследовании прооксидантного действия препаратов *in vivo*, что может облегчить поиск лекарственных средств, обладающих антиоксидантными свойствами.

## ВЫВОДЫ

1. Галоперидол в опытах на дафниях обладает выраженной прооксидантной активностью. Аминазин в этих условиях не проявляет прооксидантного действия.

2. Гидробионты *Daphnia magna Straus* могут быть использованы для исследования *in vivo* прооксидантного и антиоксидантного действия токсикантов и лекарственных средств.

## ЛИТЕРАТУРА

3. J. Sagara, *J. Neurochem.*, **71**, 1002 – 1012 (1998).

1. *Международный стандарт. Качество воды*, ИСО 6341, (1987).
2. В. Б. Прозоровский., М. П. Прозоровская, В. М. Демченко, *Фармакол. и токсикол.*, № 4. 497 – 502, (1978).

Поступила 15.10.02.

## THE DIFFERENCES IN THE PROOXYDANT ACTION OF NEUROLEPTICS GALOPERIDOL AND AMINAZINE

N. P. Podosinovicova, V. V. Petrov, **A. B. Kosmachev**, L. G. Kubarskaya, S. G. Dagaev, and V. B. Dolgo-Saburov

The department of Biochemistry and the department of Toxicology; Institute of Toxicology Ministry of Health of Russia, 193019, St.-Petersburg, Bekhterev str. 1.

In the *in vitro* experiments with hydrobiont *Daphnia magna* Straus as the test-object the comparative evaluation of the prooxydant activity of two neuroleptics galoperidol and aminazine, was performed. It was shown that galoperidol possesses the pronounced prooxydant activity compared with hydrogen peroxide. Aminazine didn't display such an action. The exogenios reduced glutathione is capable to protect *Daphnia* from the prooxydant action of galoperidol may be used for the investigation of anti- and prooxydant effects of toxicants and medicines *in vivo*.