

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

ВЛИЯНИЕ АМИНОТИОЛОВЫХ АНТИГИПОКСАНТОВ НА ПРОЦЕССЫ ГИДРАТАЦИИ И ПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

В. Е. Новиков, Н. С. Понамарева¹

В динамике черепно-мозговой травмы (ЧМТ) на крысах изучены процессы гидратации (содержание общей, свободной и связанной воды) и активность ПОЛ в головном мозге. Показано, что аминотиоловые антигипоксанты бемитил и амтизол (25 мг/кг) корректируют изменения, индуцированные ЧМТ: уменьшают содержание общей и свободной воды и повышают уровень связанной, ингибируют активность ПОЛ в мозге. Эффект препаратов более выражен на 4 и 7-е сутки после ЧМТ.

Ключевые слова: антигипоксанты, черепно-мозговая травма, свободная и связанная вода

ВВЕДЕНИЕ

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) относится к категории наиболее распространенных видов травм. По данным ВОЗ ЧМТ как причина смерти занимает третье место после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний.

Как известно, травматическое повреждение головного мозга “запускает” ряд патофизиологических реакций, которые сопровождаются нарушением водно-солевого баланса, метаболизма, гипоксией и другими патологическими изменениями. Частым и опасным осложнением ЧМТ является отек-набухание головного мозга (ОНГМ) [10].

По данным литературы известно, что аминотиоловые соединения, как бемитил и амтизол, обладают выраженными антигипоксантами и антиоксидантными свойствами [3, 4, 6]. Целью исследования явилось изучение влияния бемитила и амтизола на гидратацию биокolloидов ткани головного мозга и активность процессов ПОЛ в динамике ЧМТ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 210 белых крысах обоего пола массой 150 – 180 г. ЧМТ моделировали на животных под эфирным наркозом путем нанесения 20 уколов градуированной инъекционной иглой через трепанационное отверстие в черепе на глубину 3 – 4 мм над проекцией левой теменной доли [5, 10]. За 30 мин до нанесения травмы и в последующие дни опытным группам животных внутрибрюшинно 1 раз в день вводили водные растворы исследуемых препаратов в дозе 25 мг/кг. Контрольным животным вводили равные

объемы растворителя. Через 24 ч, 4 и 7 сут после ЧМТ животных декапитировали под легким эфирным наркозом.

В качестве показателей гидратации мозга определяли содержание общей воды, содержание связанной и свободной воды, рассматривая их как критерии способности поврежденных тканей к поддержанию целостности биомакромолекул. Содержание общей воды определяли по сухому остатку, высушивая образцы ткани мозга в течение суток при температуре 60 °С до постоянной массы. Содержание фракций воды (свободной и связанной) регистрировали с помощью термогравиметрического метода [9]. Данный метод позволяет изучать состояние процессов гидратации в различных биологических субстратах, в том числе в плотных тканях [7].

Оценку показателей свободнорадикального окисления (СРО) в сыворотке крови и супернатанте гомогената ткани головного мозга проводили методом хемилюминесценции [5] на отечественном люминометре (фирма “Диалог”) с помощью программы <CL3603>. Сыворотку крови получали путем центрифугирования цельной крови в течение 10 мин при 3000 об/мин. Супернатант мозговой ткани готовили путем гомогенизации левого полушария в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком в течение 3 – 4 мин в среде гомогенизации в соотношении 5 мл среды на 500 мг ткани. Среда гомогенизации содержала 0,25 М сахарозы, 0,01 М трис HCl и 0,0001 М ЭДТА, pH среды 7,5. Для инициации ПОЛ в исследуемый материал вводили 0,1 мл 3 % раствора перекиси водорода с последующей регистрацией хемилюминесценции в течение 50 циклов [1 цикл (ц) — 0, 1 с], при 37 °С с учетом фоновой хемилюминесценции. В качестве оценочного показателя использовали величину светосуммы, отражающую интенсивность образования свободных радика-

¹ ГОУ ВПО “Смоленская государственная академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию”, Смоленск, 214019, ул. Круппской, 28.

лов и участие в процессе СРО антиоксидантных систем.

Результаты экспериментов обрабатывали статистически с помощью пакетов StatGraphics v5.0 и Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание общей воды в гомогенате мозговой ткани контрольной группы животных (интактные) составило 77,47 %, содержание свободной и связанной фракций воды — 60,94 и 16,53 % соответственно. Через сутки после ЧМТ в гомогенате мозга регистрировали достоверное увеличение содержания общей воды на 1,28 % ($p < 0,05$) и свободной фракции на 1,69 % ($p < 0,05$). Отмечалось незначительное снижение содержания связанной воды на 0,45 % ($p > 0,05$). Спустя 4 сут содержание общей воды в мозге увеличилось на 0,96 % по сравнению с первыми сутками и составило 79,71 % ($p < 0,05$), свободной воды увеличилось до 64,96 % ($p < 0,05$), а содержание связанной воды уменьшилось до 14,75 % ($p < 0,05$). К 7-м суткам намечалась тенденция к уменьшению содержания общей воды и свободной воды по сравнению с 4-ми сутками и составило соответственно 79,19 % ($p < 0,05$) и 63,69 % ($p < 0,05$). На фоне фармакологической коррекции бемитилом и амтизолом были установлены следующие показатели гидратации мозга (таблица).

Данные, представленные в таблице свидетельствуют о том, что бемитил, уменьшая гидратацию мозга через 1, 4 и 7 сут, воздействовал на фракционный состав лишь на 4 и 7-е сутки. На фоне применения амтизола содержание общей воды, а также ее фракций приближалось к уровню контрольной группы, причем наиболее эффективное воздействие препарат оказывал на 4-е сутки ЧМТ.

Как известно, вода взаимодействует с различными биополимерами, которые служат основой тканей организма [8]. В живом организме вода может находиться в виде так называемой “связанной”, т.е. ассоциирован-

ной с биополимерами (в основном с белками), или в виде “свободной” воды. Известно также, что гидратная оболочка биомакромолекул играет защитную роль в тканях организма, и оптимальный уровень “связанной” воды обеспечивает адекватное функционирование биополимеров [7, 8]. Таким образом, степень гидратации тканей организма может служить суммарным показателем патологических изменений при действии неблагоприятных факторов, в том числе и ЧМТ.

Велико значение воды в структуре и функции биологических мембран, где она составляет 25 – 35 % от чистой массы мембранных структур. Бимолекулярный слой липидов в мембранах представлен, главным образом, фракциями фосфолипидов и холестерина. Они составляют жидкий липидный слой, в котором определенным образом ориентированы молекулы белка [1]. А так как количественное содержание и соотношение структурных фракций воды влияет на белково-липидные комплексы мембран, от которых в свою очередь зависит структура и функциональная активность биологических мембран, то можно говорить о тесной связи процессов гидратации с состоянием клеточных мембран различных биологических сред [7].

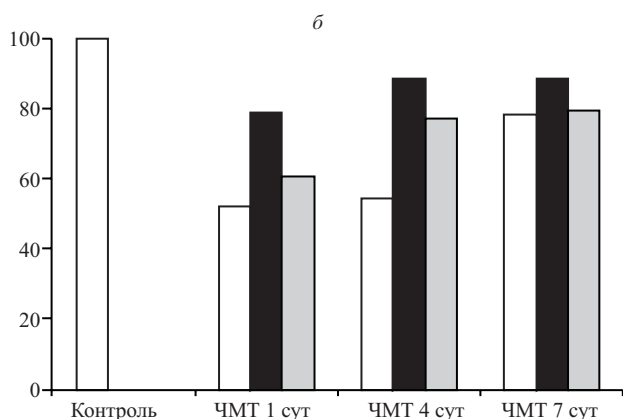
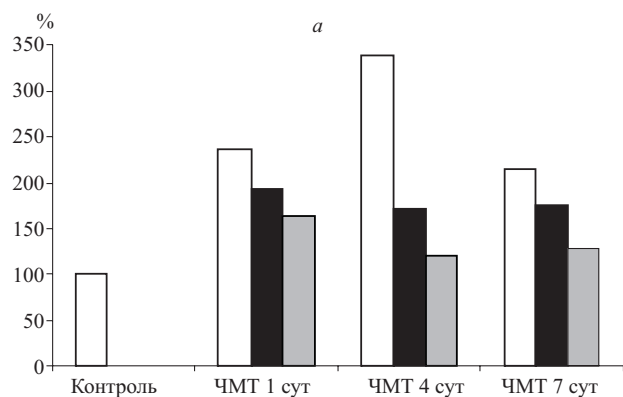
При исследовании активности процессов липопероксидации были получены следующие данные. Через 24 ч после нанесения травматического повреждения наблюдалось достоверное угнетение хемилюминесцентного свечения сыворотки крови, что, по мнению некоторых исследователей, является результатом развития системного окислительного стресса [5]. Через 4 сут после ЧМТ данные изменения в крови сохранялись, однако значительно уменьшались к 7-м суткам. В мозговой ткани наблюдалась интенсификация хемилюминесцентного свечения, свидетельствующая об активации процессов ПОЛ (рисунки).

Исследования последних лет показали, что ПОЛ играет важную роль в развитии многих патологических процессов [2]. При травматическом повреждении продукты ПОЛ, являясь высокотоксичными соединения-

Содержание воды в гомогенате мозга в динамике ЧМТ и на фоне ее фармакологической коррекции ($M \pm m$, $n = 7$)

Группа животных	Вода, %		
	общая	свободная	связанная
Контрольная	77,47 ± 0,10	60,94 ± 0,19	16,53 ± 0,15
ЧМТ, 1 сут	78,75 ± 0,13 ^a	62,63 ± 0,22 ^a	16,08 ± 0,26
Бемитил, 25 мг/кг	78,33 ± 0,25 ^a	62,14 ± 0,36 ^a	16,19 ± 0,53
Амтизол, 25 мг/кг	78,15 ± 0,26 ^b	61,82 ± 0,25 ^b	16,34 ± 0,28
ЧМТ, 4 сут	79,71 ± 0,18 ^b	64,96 ± 0,24 ^b	14,75 ± 0,26 ^b
Бемитил, 25 мг/кг	78,41 ± 0,18 ^c	61,98 ± 0,21 ^c	16,43 ± 0,29 ^c
Амтизол, 25 мг/кг	78,06 ± 0,28 ^c	61,78 ± 0,31 ^c	16,17 ± 0,45 ^c
ЧМТ, 7 сут	79,19 ± 0,15 ^c	63,69 ± 0,26 ^c	15,50 ± 0,46 ^c
Бемитил, 25 мг/кг	78,36 ± 0,28 ^d	61,94 ± 0,20 ^d	16,38 ± 0,34
Амтизол, 25 мг/кг	78,51 ± 0,18 ^d	61,95 ± 0,27 ^d	16,56 ± 0,21 ^d

Примечание. Различия достоверны ($p < 0,05$) по отношению к показателям: ^a – контрольной группы; ^b – животных с ЧМТ, 1 сут; ^c – животных с ЧМТ, 4-е сутки; ^d – животных с ЧМТ, 7-е сутки.



Изменения процессов перекисного окисления липидов в ткани головного мозга (а) и в сыворотке крови (б) в динамике черепно-мозговой травмы и на фоне фармакологической коррекции бемитилом и амтизолом в процентном отношении к контролю.

Светлые столбики – контроль, темные – бемитил, серые – амтизол.

ми, нарушают структуру биологических мембран клеток мозга и запускают цепь последующих нарушений обмена веществ в ткани мозга [10]. Поэтому фармакологическая (антиоксидантная) коррекция избыточной активации процессов ПОЛ при ЧМТ может оказаться перспективной в плане торможения патологических изменений в мозге и развития отека мозга.

На фоне фармакологической коррекции ЧМТ наблюдалась достоверная положительная динамика процессов ПОЛ в сыворотке крови и гомогенате мозга. Так, величина светосуммы сыворотки крови на 1, 4 и 7-е сутки под влиянием бемитила увеличивалась по сравнению с группами животных без лечения на 51,87, 62,28 и 12,63 % соответственно. Амтизол в сыворотке продемонстрировал несколько более слабую активность и лишь на 1 и 4-е сутки достоверно увеличивал показатель величины светосуммы на 16,54 и 41,71 % соответственно. В ткани мозга бемитил на 1, 4 и 7-е сутки снижал величину светосуммы соответственно на 18,65, 49,30 и 18,26 % (по сравнению с группами травмированных животных без лечения). При применении амтизола наблюдалось уменьшение данной величины на 31,39 % к 1-м суткам, на 64,75 % к 4-м суткам и на 40,28 % к 7-м суткам.

На основании полученных результатов можно констатировать, что в динамике ЧМТ изменяются процессы гидратации мозга (повышается содержание общей и свободной воды, снижается количество связанной воды) и активизируются процессы ПОЛ. При активации ПОЛ повреждается липидный бислой мембран, все уровни структуры белка, гликопротеиды и другие структурные компоненты. Нарушение структуры белковых молекул, входящих в состав клеточных мембран, может привести к количественным изменениям структурных фракций воды (“связанной” с макромолекулами белков и “свободной”) [7].

Исследованные препараты положительно влияют на гидратацию тканей головного мозга, увеличивая количество “связанной” воды и уменьшая количество “свободной”. Кроме того, бемитил и амтизол угнетают процессы перекисидации, индуцированные ЧМТ. Данные количественные изменения фракций воды, а также изменение активности процессов ПОЛ предположительно связаны с влиянием препаратов на физико-химические и структурно-функциональные свойства мембран, их липидно-белковые взаимосвязи.

Степень активации процессов ПОЛ, а также уровень гидратации какой-либо биологической среды могут служить показателями тяжести повреждения, глубины нарушений в организме, а также степени его адаптации при действии неблагоприятных факторов, например ЧМТ. Количественное содержание фракций воды и их соотношение может быть использовано при изучении фармакологической активности препаратов, повышающих общую неспецифическую сопротивляемость организма. Параметры гидратации также являются объективным критерием эффективности проводимого лечения.

Антигипоксанта бемитил и амтизол, положительно влияя на процессы гидратации биокolloидов ткани мозга в динамике ЧМТ, и, обладая антиоксидантными свойствами, могут значительно повысить эффективность комплексной фармакотерапии ЧМТ.

ВЫВОДЫ

1. Черепно-мозговая травма (ЧМТ) вызывает нарушение процессов гидратации биокolloидов мозга (повышается содержание общей и “свободной” воды, снижается уровень “связанной” воды) и липоперекисидации (активируется ПОЛ).

2. Аминотиоловые антигипоксанта бемитил и амтизол в дозе 25 мг/кг уменьшают гипергидратацию мозга и активность ПОЛ (перекисное окисление липидов) в динамике посттравматического периода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. А. Владимиров, *Вестн. РАМН*, № 7, 43 – 51 (1998).
2. К. М. Дюмаев, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов, *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологии ЦНС*, Изд-во биомед. химии РАМН, Москва (1995).

3. И. В. Зарубина, Ф. Н. Нурманбетова, П. Д. Шабанов, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 3, 46 – 49 (2005).
4. И. В. Зарубина, П. Д. Шабанов, *Молекулярная фармакология антиоксидантов*, ООО “Издательство Н-Л”, Санкт-Петербург (2004).
5. К. Н. Кулагин, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Смоленск (2005).
6. В. Д. Лукьянчук, Л. В. Савченкова, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 4, 72 – 79 (1998).
7. Г. М. Цыганкова, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Смоленск (2003).
8. Н. Ф. Фаращук, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Смоленск (1994).
9. Н. Ф. Фаращук, Патент России 2195651 (2002).
10. В. В. Яснецов, В. Е. Новиков, *Фармакотерапия отека головного мозга*, ВИНТИ, Москва (1994).

Поступила 10.12.06

EFFECT OF AMINOTHIOL ANTIHYPOXANTS ON HYDRATION AND PEROXIDATION PROCESSES IN TRAUMATIC BRAIN INJURY

V. E. Novikov and N. S. Ponomareva

Smolensk State Medical Academy, ul. Krupskoi 28, Smolensk, 214019, Russia

The hydration (content of total, bound, and free water) and the activity of lipid peroxidation (LPO) processes in the brain have been studied in rats on the background of traumatic brain injury (TBI) dynamics. It is established that aminothioliol-based antihypoxants such as bemithyl and amthizol in a dose of 25 mg/kg alleviate changes induced by TBI. In particular, the drugs decrease the content of total and free water, increase the level of bound water, and inhibit the LPO intensity in the brain. The effect of drugs is more pronounced on the 4th and 7th day after TBI model induction.