

Сравнительная оценка защитного эффекта вальпроата натрия, феназепама и ионола при стрессорном повреждении печени у крыс

Стрессорные повреждения печени, характеризующиеся развитием органоспецифической гиперферментемии, депрессией N-деметилазной активности и уменьшением количественных характеристик системы цитохрома P₄₅₀, могут быть существенно ограничены за счет активации центральных и локальных звеньев стресс-лимитирующих систем организма. При этом синтетический антиоксидант ионол обладает более выраженным гепатопротекторным действием, чем активаторы ГАМК-ergicеского звена стресс-лимитирующих систем организма.

Введение

Известно, что при длительном стрессорном воздействии в печени крыс возникают активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), депрессия 7α-монооксигеназы холестерина — фермента, ответственного за окисление холестерина в желчные кислоты [12], и, как следствие, атерогенная стрессорная дислипидемия [5]. Одновременно при этом повреждаются печеночные клетки, что проявляется, в частности, в многократном увеличении в плазме крови ферментативной активности специфического печеночного фермента — фруктозо-1-фосфатальдолазы (Ф-1-ФА) [6].

Поскольку атерогенная стрессорная дислипидемия наблюдается и у людей [7], а при определенных условиях может быть довольно-длительной [13] и играть важную роль в развитии атеросклероза, представлялось важным выяснить возможность фармакологического предупреждения повреждения печени при стрессе.

Цель работы состояла в сравнительной оценке антистрессорного гепатопротективного действия вальпроата натрия, феназепама, — с одной стороны, и ионола, — с другой, как важных звеньев стресс-лимитирующих систем организма [4].

Методика

Эксперименты выполнены на 216 крысах-самцах линии Вистар массой 160—180 г. Активаторы ГАМК-ergicеской системы — вальпроат натрия (150 мг/кг) и феназепам (1 мг/кг) использовали внутрибрюшинно за 1,5 и 1 ч соответственно до стрессорного воздействия. Синтетический антиоксидант ионол (20 мг/кг) применяли разовой в течение 3 сут до стрессорного воздействия. Такие сроки введения препаратов позволили оценить их гепатопротективный эффект при эмоционально-болевом стрессе (ЭБС) и максимальном содержании в крови животных исследуемых препаратов.

Для изучения сравнительного эффекта вальпроата натрия, феназепама и ионола животные были разделены на восемь групп: 1-я — контрольная; 2-я — животные, получавшие ионол; 3-я — животные, получавшие вальпроат натрия; 4-я — животные, получавшие феназепам; 5-я — животные, подвергнутые ЭБС; 6-я — животные, подвергнутые ЭБС на фоне защиты ионолом; 7-я — то же на фоне защиты вальпроатом натрия и 8-я — то же на фоне защиты феназепамом. Для изучения динамики процесса было взято еще восемь групп животных, что позволило оценить изменения, вызванные стрессом через 24 и 48 ч после окончания стрессорного воздействия. Стрессорное повреждение

© А. А. НИКОНОРОВ, В. П. ТВЕРДОХЛЕБ, 1991

печени вызывали, моделике Desiderate [10]. По забирали кровь, а ткань пе В полученной сыворотке методу Шапиро в моди жидким азоте растирали звали для обнаружения (МДА) [11] и дисеновых чества цитохромов Р₄₅₀ и щали в холодный (0 °C) гомогенизаторе с тефлоно Выделение микросомаль Де-Пьера и Даллнера [9] 2 мл 50 ммол/л три-Н Количество цитохромов (N-ДМА) определяли по

Результаты и их обсуждение

Как видно из результатов Ф-1-ФА; б — прирост дисенова гида; г — N-деметилазной Р₄₅₀ и В₅ соответственно ная органоспецифическая ность фермента в крови лась более чем в 3 раза ни с контролем ($P < 0,01$). Ни печени активируется приводит к накоплению липопероксидации. Так, первичных продуктов Г составил 47 %, а конечных ПОЛ — МДА — 96 $< 0,01$). Резко выраженная специфическая гиперферментация отражающая повреждение печени, и активация ПС тельствуют о высокой чувствительности печени к стрессу. Доказано, что ЭБС приводит к снижению количества и активности микросомальных монооксигеназ. Так, уже сразу по окончании стрессорного воздействия снижение ДМА составило 10 %, а цитохромов Р₄₅₀ и В₅ — соответственно по сравнению с контролем у животных из группы ($P < 0,05$). Через 24 ч после окончания ЭБС депрессия

Рис. 1. Повреждающее действие эмоционально-болевого (ЭБС) на печень крыс.

мальных монооксигеназния и составила по N-ДМА и В₅ — 31 и 19 % соответственно. Доказано, что действие ЭБС достоверных отложений в печени крыс не нарушает функции цитохрома Р₄₅₀.

ISSN 0201-8489. Физиол. журн.

фекта
иона
ни у крыс

теризующиеся развитием ор-
депрессией *N*-деметилазной
их характеристики системы ци-
граничены за счет активации
лимитирующих систем орга-
нанта ионол обладает более
чем активаторы ГАМК-
систем организма.

м воздействии в печени крыс
ния липидов (ПОЛ), депрес-
сера, ответственного за
[12], и, как следствие, ате-
Одновременно при этом по-
вляется, в частности, в мно-
ферментативной активности
фруктозо-1-фосфатальдолазы

ислипидемия наблюдается и
виях может быть довольно-
азвитии атеросклероза, пред-
ть фармакологического пре-
се.
кой оценке антистрессорного
натрия, феназепама, — с од-
ных звеньев стресс-лимити-

амцах линии Вистар массой
системы — валльпроат нат-
пользовали внутрибрюшинно-
ного воздействия. Синтети-
именили рег оз в течение
срока введения препаратов
эффект при эмоционально-
одержании в крови живот-

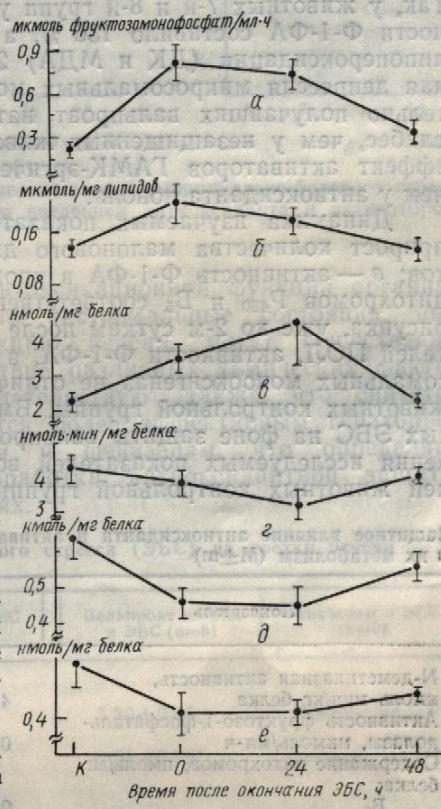
валльпроата натрия, феназ-
на восемь групп: 1-я —
ионол; 3-я — животные, по-
ле, получавшие феназепам;
животные, подвергнутые
же на фоне защиты валль-
защиты феназепамом. Для
де восемь групп животных,
е стрессом через 24 и 48 ч
Стрессорное повреждение

печени вызывали, моделируя у животных «невроз тревоги» по методике Desiderate [10]. По завершении ЭБС животных декапитировали, со-
бирали кровь, а ткань печени быстро замораживали в жидким азоте. В полученной сыворотке крови определяли активность Ф-1-ФА по методу Шапиро в модификации Брагинского [3]. Ткань печени в жидким азоте растирали до тканевого порошка, навеску 0,3 г использо-
вали для обнаружения продуктов ПОЛ — малонового диальдегида (МДА) [11] и дисеновых конъюгатов (ДК) [8]. Для определения коли-
чества цитохромов Р₄₅₀ и В₅ навеску свежей ткани печени (2 г) поме-
щали в холодный (0 °C) 1,15 %-ный раствор KCl, гомогенизировали в гомогенизаторе с тефлоновым пестиком при 500 мин⁻¹ в течение 60 с. Выделение микросомальной фракции осуществляли по методике Де-Пьера и Даллнера [9]. Полученные микросомы ресуспендировали в 2 мл 50 ммоль/л три-НCl буфера (рН 7,4 при температуре 20 °C). Количество цитохромов Р₄₅₀, В₅ и N-деметилазную активность (N-ДМА) определяли по методике Арчакова и Карузиной [2].

Результаты и их обсуждение

Как видно из результатов, представленных на рис. 1 (а — активность Ф-1-ФА; б — прирост дисеновых конъюгатов; в — малонового диальдегида; г — N-деметилазной активности; д, е — количество цитохромов Р₄₅₀ и В₅ соответственно), под влиянием ЭБС развивается выраженная органоспецифическая гиперферментемия Ф-1-ФА. При этом активность фермента в крови увеличилась более чем в 3 раза по сравнению с контролем ($P < 0,01$). В тка-
ни печени активируется ПОЛ, что приводит к накоплению продуктов липопероксидации. Так, прирост первичных продуктов ПОЛ — ДК составил 47 %, а конечных продуктов ПОЛ — МДА — 96 % ($P < 0,01$). Резко выраженная органоспецифическая гиперферментемия, отражающая повреждение клеток печени, и активация ПОЛ свиде-
тельствуют о высокой чувствительности печени к стрессу. Далее показано, что ЭБС приводит к изменению количества и активности мик-
росомальных монооксигеназ печени. Так, уже сразу по окончании стрес-
сального воздействия снижение N-
ДМА составило 10 %, а количества цитохромов Р₄₅₀ и В₅ — 30 и 18 % соответственно по сравнению с таковыми у животных контрольной группы ($P < 0,05$). Через 24 ч после окончания ЭБС депрессия микросо-

Рис. 1. Повреждающее действие шестичасово-
го эмоционально-болевого стресса
(ЭБС) на печень крыс.



мальных монооксигеназ печени достигла своего максимального значе-
ния и составила по N-ДМА — 25 %, а по количеству цитохромов Р₄₅₀
и В₅ — 31 и 19 % соответственно ($P < 0,01$). Через 48 ч после окончания
ЭБС достоверных отличий этих показателей от таковых у животных
контрольной группы не наблюдалось.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о повреждающем влиянии ЭБС на систему цитохрома P_{450} печени крыс, которое проявляется, в основном, в первые 24 ч после окончания стрессорного воздействия и может быть причиной нарушения детоксикационной функции печени при различных экстремальных состояниях. Учитывая ведущую роль ПОЛ в повреждении биологических мембран [1], можно сделать вывод о возможности влияния продуктов липопероксидации на систему цитохрома P_{450} при стрессе, а также о предупреждении этих повреждений посредством активации стресс-лимитирующих систем самого организма и (или) разнообразных экзогенных антиоксидантов.

В таблице представлены результаты влияния ионола, вальпроата натрия и феназепама на ферментемию Ф-1-ФА, ПОЛ и систему цитохрома P_{450} в печени при стрессе. Введение ионола животным практически не влияло на систему цитохрома P_{450} . В то же время вальпроат натрия и феназепам оказывали индуцирующее влияние на систему микросомальных монооксигеназ. Так, у животных 3-й и 4-й групп повышенеие Н-ДМА составило 39 %, а прирост количества цитохромов P_{450} и B_5 — 16 и 10 % соответственно. ЭБС на фоне защиты ионолом (см. таблицу) не вызывал столь выраженной активации ПОЛ и гиперферментемии, как у животных 5-й группы. Предварительное введение антиоксиданта также полностью отменяло стрессорную депрессию микросомальных монооксигеназ. Вальпроат натрия и феназепам оказывали менее выраженное антистрессорное действие (см. таблицу). Так, у животных 7-й и 8-й групп увеличение в сыворотке крови активности Ф-1-ФА составило 136 %, а прирост в ткани печени продуктов липопероксидации (ДК и МДА) 25 и 50 % соответственно. Стressорная депрессия микросомальных монооксигеназ у животных, предварительно получавших вальпроат натрия и феназепам, была выражена слабее, чем у незащищенных животных, однако этот антистрессорный эффект активаторов ГАМК-эргической системы был менее выражен, чем у антиоксиданта ионола.

Динамика изучаемых показателей представлена на рис. 2 (а — прирост количества малонового диальдегида, б — диеновых конъюгатов, в — активность Ф-1-ФА в крови, г — Н-ДМА, д, е — количество цитохромов P_{450} и B_5 соответственно в печени). Как видно из этого рисунка, уже ко 2-м суткам после окончания стресса значения показателей ПОЛ, активности Ф-1-ФА, а также количества и Н-ДМА микросомальных монооксигеназ не отличались от значений, определяемых у животных контрольной группы. Вместе с тем, у животных, подвергнутых ЭБС на фоне защиты вальпроатом натрия или феназепамом, значения исследуемых показателей возвращались к значениям показателей животных контрольной группы уже через 24 ч после окончания

Защитное влияние антиоксиданта и активаторов ГАМК-эргической системы на повреждение печени крыс и их метаболизм ($M \pm m$)

Показатель	Контроль (n=12)	Ионол (n=8)	Вальпроат натрия (n=8)
Н-деметилазная активность, нмоль·мин/ мг белка	$4,23 \pm 0,19$	$4,78 \pm 0,31$	$5,48 \pm 0,65$
Активность фруктозо-1-фосфатальдолазы, мкмоль/мл·ч	$0,22 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,02^*$	$0,18 \pm 0,03$
Содержание цитохромов, нмоль/ мг белка:			
B_5	$0,50 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,024$	$0,55 \pm 0,02$
P_{450}	$0,63 \pm 0,026$	$0,65 \pm 0,043$	$0,75 \pm 0,035^*$
Содержание диеновых конъюгатов, мкмоль/ мг липидов	$0,13 \pm 0,005$	$0,10 \pm 0,006^*$	$0,13 \pm 0,005$
Содержание малонового диальдегида, нмоль/ мг белка	$2,27 \pm 0,12$	$1,97 \pm 0,045$	$2,22 \pm 0,12$

Примечания: п — число животных; * достоверность различий по сравнению с контролем ($P < 0,05$).

стрессорного воздействия тически полностью отме наблюдения значения ис ветных не отличались от

Таким образом, нам тельным изменениям кле

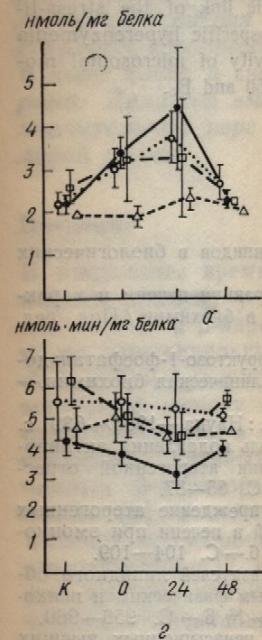


Рис. 2. Защита повреждающего действия ЭБС на печень крыс предварительно получавших активаторы ГАМК-эргической системы.

хрома P_{450} — основного з ма. Это положение озывающие стресс, нарушают потенцировать повреждения. Полученные результаты показывают, что антиоксидант ионол более целесообразность дальнейшего исследования организма при стрессорном

щее действие шестичасового эмоционального стресса.

Феназepam (n=8)	ЭБС (n=12)
$6,25 \pm 0,42^*$	$3,20 \pm 0,21^*$
$0,24 \pm 0,03$	$0,88 \pm 0,07$
$0,55 \pm 0,027$	$0,41 \pm 0,016^*$
$0,75 \pm 0,05^*$	$0,44 \pm 0,026$
$0,14 \pm 0,014$	$0,19 \pm 0,014^*$
$2,59 \pm 0,19$	$4,44 \pm 0,69^*$

результаты свидетельствуют о повышении цитохрома P_{450} печени крыс,ные 24 ч после окончания стрессорической нарушения детоксикационных экстремальных состояниях.

Повреждение биологических возможностей влияния продуктов P_{450} при стрессе, а также о воздействии активации стресс-лигазы (или) разнообразных экзоген-

ых влияния ионола, валпроата натрия, ПОЛ и систему цитохрома P_{450} . В то же время валпроат натрия и феназепам оказывают влияние на систему животных 3-й и 4-й групп по возрасту количества цитохромов BC на фоне защиты ионолом от активации ПОЛ и гиперплазии. Предварительное введение ионола стрессорную депрессию валпроата натрия и феназепам оказывает действие (см. таблицу). Уровень в сыворотке крови активности в ткани печени продуктов ПОЛ и гиперплазии соответственно. Стressор-геназа у животных, предварительно получивших феназепам, была выражена однако этот антистрессорный генеза системы был менее выражен,

представлена на рис. 2 (а — ацид, б — дневных коньюгатов N -ДМА, в — в — количество N -ДМА микрограммов значений, определяемых у тем, у животных, подвергнутых валпроату или феназепамом, сравнились к значениям показателей через 24 ч после окончания

АМК-эргической системы на повреждение

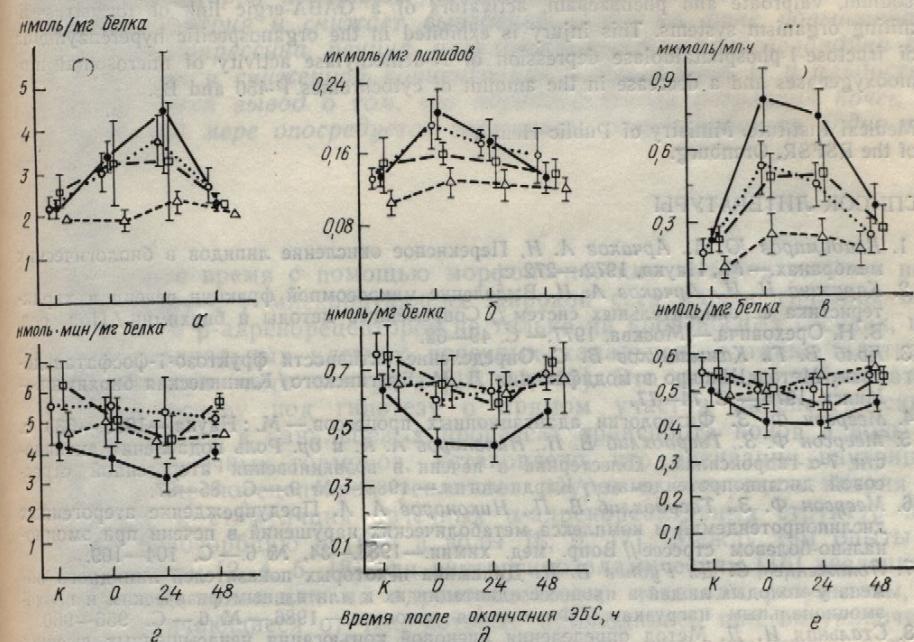


Рис. 2. Защита повреждающего действия шестичасового эмоционально-болевого стресса (ЭБС) на печень крыс предварительным введением антиоксиданта и активаторов АМК-эргической системы.

цитохрома P_{450} — основного звена дезинтоксикационной функции организма. Это положение означает, что экстремальные состояния, вызывающие стресс, нарушая функцию печени, могут существенно потенцировать повреждающее действие различных химических факторов. Полученные результаты свидетельствуют также, что синтетический антиоксидант ионол является более эффективным гепатопротектором, чем валпроат натрия и феназепам, что определяет целесообразность дальнейшей разработки антиоксидантной защиты организма при стрессорных ситуациях.

шестичасового эмоционально-болевого стресса (ЭБС) на клетки печени крыс предварительным введением антиоксиданта и активаторов АМК-эргической системы на повреждение

Ионол (n=8)	Валпроат натрия (n=8)	Феназепам (n=8)	ЭБС (n=12)	Ионол и ЭБС (n=8)	Валпроат натрия и ЭБС (n=8)	Феназепам и ЭБС (n=8)
4,78±0,31	5,48±0,65	6,25±0,42*	3,20±0,21*	4,54±0,27	5,36±0,55	4,40±0,39
0,13±0,02*	0,18±0,03	0,24±0,03	0,88±0,07	0,28±0,04	0,55±0,06*	0,5±0,04*
0,48±0,024	0,55±0,02	0,55±0,027	0,41±0,016*	0,53±0,026	0,50±0,02	0,45±0,03
0,65±0,043	0,75±0,035*	0,75±0,05*	0,44±0,026	0,63±0,034	0,62±0,026	0,58±0,04
0,10±0,006*	0,13±0,005	0,14±0,014	0,19±0,014*	0,12±0,008	0,18±0,012*	0,15±0,004*
1,97±0,045	2,22±0,12	2,59±0,19	4,44±0,69*	2,36±0,1	3,72±0,28*	3,28±0,68

ность различий по сравнению с контролем ($P < 0,05$).

**COMPARATIVE ESTIMATION OF THE PROTECTIVE EFFECT
OF SODIUM VALPROATE, PHENAZEPAM AND IONOL ANTIOXIDANT
UNDER STRESSOR LIVER INJURY**

Ionol, a synthetic antioxidant, limits the stressor liver injury to a greater extent than sodium, valproate and phenazepam, activators of a GABA-ergic link of the stress-limiting organism systems. This injury is exhibited in the organospecific hyperenzymemia of fructose-1-phosphatase depression of N-demethylase activity of microsomal monooxygenases and a decrease in the amount of cytochromes P-450 and B₅.

Medical Institute, Ministry of Public Health
of the RSFSR, Orenburg.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.—М.: Наука, 1972.—272 с.
2. Карузина И. И., Арчаков А. И. Выделение микросомной фракции печени и характеристика ее окислительных систем // Современные методы в биохимии / Под. ред. В. Н. Ореховича.—Москва, 1977.—С. 49—62.
3. Колб В. Г., Камышников В. С. Определение активности фруктозо-1-фосфатальдегидазы. Метод Шапиро в модификации Д. М. Брагинского / Клиническая биохимия.—Минск, 1976.—С. 74—77.
4. Meerzon Ф. З. Физиология адаптационных процессов.—М.: Наука, 1986.—639 с.
5. Meerzon Ф. З., Твердохлеб В. П., Никоноров А. А. и др. Роль подавления активности 7-α-гидроксилазы холестерина в печени в возникновении атерогенной стрессовой дислипопротеидемии // Кардиология.—1988.—№ 9.—С. 85—87.
6. Meerzon Ф. З., Твердохлеб В. П., Никоноров А. А. Предупреждение атерогенных дислипопротеидемий и комплекса метаболических нарушений в печени при эмоционально-болевом стрессе // Вопр. мед. химии.—1988.—34, № 6.—С. 104—109.
7. Положенцев С. Д., Рубнев В. И. Динамика некоторых показателей липидного обмена у молодых людей в процессе адаптации их к длительным физическим и психоэмоциональным нагрузкам // Физиология человека.—1986.—№ 6.—С. 956—960.
8. Стальная И. Д. Метод определения дисеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии / Под. ред. В. Н. Ореховича.—Москва, 1977.—С. 63—64.
9. Де-Пьер Ж., Даллнер Г. Биохимические исследования мембран / Пер. с англ.—Мир, 1977.—250 с.
10. Desiderato O., MacKinnon J. R., Hisson H. J. Development of gastric ulcers in rats following stress termination // J. Comp. Physiol. Psychol.—1974.—87, N 2.—P. 208—214.
11. Ohkawa H., Ohishi N., Vagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Analyt. Biochem.—1979.—95.—P. 351—358.
12. Schwartz C. C., Vlahcevic Z. R., Swell L. Pathways of cholesterol removal via bile acid synthesis and biliary cholesterol excretion in man // Bile Acids and Lipids. Proc. 6 th Bile Acid Meet., Freiburg im Breisgau, Oct. 9—11, 1980.—Lancaster, 1981.—P. 79—91.
13. Wolf S. G. History of the study of stress and heart disease // Stress and heart disease / Eds. by R. E. Beamish, N. S. Dhalla, P. K. Singal.—Boston: Martinus Nijhoff Publish, 1984.—P. 1—32.

Оренбург. мед. инт.
М-ва здравоохранения РСФСР

Материал поступил
в редакцию 26.03.89

УДК 612.46—02:612.819.916

Н. В. Кришталь

**Адренергические влияния
на функцию почек и их механизмы**

В опытах на крысах показано, что активация α-адренорецепторов норадреналином снижает клубочковую фильтрацию и повышает диурез и экскрецию натрия на фоне уменьшения содержания в крови

© Н. В. КРИШТАЛЬ, 1991

вазопрессина, ангиотензина, а также уменьшения B₂. Блокада α-адренорецепторов празозином и β-адренорецепторов фильтрацию, снижает содержание β-адренорецепторов из-за экскрецию натрия и секреции вазопрессина, в коре почек и снижение рона. Делается вывод о значительной мере опосредованной роли обмена.

Введение

В настоящее время способствует наличие у млекопитающих локон и α- и β-адренорецепторов на эпителиальных и юкстагломеруллярных афферентных мицеллах почек в канальцах почечных гормонов β-адренорецепторов калия [2], а стимуляция выывает реабсорбцию в внутривенным [2, 4, 5], препаратах, влияющих чем-то отличающиеся оном воздействии этиими что это противоречие может быть объяснено тем, что экстраренальные α-адренорецепторы действуют на водно-солевые каналы. В то же время несомненно, что вегетативной нервной системы, прямо или через нарушение гормонов, регулирующих функции почек в сопоставлении с водно-солевым обменом и

В связи с этим предполагают, что стимуляции и блокады функций почек в сопоставлении с водно-солевым обменом и

Методика

Опыты проведены на крысах на низконатриевом питании осуществляли однократную инъекцию α-адренорецепторов (2 мг/кг), а избирательно в зоне почки в той же дозе (2 мг/кг) и блокировали почки всех препаратами лудочного введения в виде 37 °C. Обычно сбор мочи введенной из задрена в мочевой пузырь задержка диуреза у крыс мочу собирали в течение 30 минут, измеряя диурез, экскрецию натрия и концентрацию натрия в моче.

ISSN 0201-8489. Физиол.