

УДК 615.32:547.461.4:599.323.4:577.115.4:612.014.43

DOI: 10.34215/1609-1175-2021-1-76-79

Антиоксидантные свойства комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту, при тепловом воздействии на организм

О.Н. Ли, А.В. Тыртышникова, А.В. Кропотов, Т.Н. Седых

Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

Цель: оценка эффективности воздействия комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту, на антиоксидантный статус теплокровного организма в условиях температурного воздействия. **Материал и методы.** Использована тепловая модель эксперимента, проведенного на 120 белых беспородных крысах-самцах массой 180–200 г в течение 21 дня. Животные были разделены на четыре группы: интактную, контрольную и две опытных. Последним внутривенно вводили препарат с янтарной кислотой в концентрации 50 и 100 мг/кг. **Результаты.** Ежедневное тепловое воздействие в течение 45 мин. способствовало повышению в крови животных содержания гидроперекисей липидов (на 32–36 %), диеновых конъюгатов (на 36–38 %) и малонового диальдегида (на 51–59 %) на фоне снижения активности основных компонентов антиоксидантной системы. Введение комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту, способствует достоверному снижению в плазме крови гидроперекисей липидов (на 20–24 %), диеновых конъюгатов (на 20–21 %) и малонового диальдегида (на 28–35 %). Содержание церулоплазмينا в крови животных опытных групп было достоверно выше аналогичного показателя у крыс контрольной группы на 22–35 %, витамина Е – на 16–28 %, каталазы – на 22–35 %. **Заключение.** Использование комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту, в условиях длительного теплового воздействия на организм экспериментальных животных приводит к стабилизации процессов пероксидации на фоне повышения активности основных компонентов антиоксидантной системы.

Ключевые слова: янтарная кислота, тепловое воздействие, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

Поступила в редакцию 25.01.2021 г. Получена после доработки 25.02.2021 г.

Для цитирования: Ли О.Н., Тыртышникова А.В., Кропотов А.В., Седых Т.Н. Антиоксидантные свойства комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту, при тепловом воздействии на организм. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2021;1:76–9. doi: 10.34215/1609-1175-2021-1-76-79

Для корреспонденции: Ли Ольга Николаевна – д-р мед. наук, профессор кафедры общей и клинической фармакологии ТГМУ (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-3587-0140; e-mail: leon1982@mail.ru

Antioxidant properties of a combined medicine containing amberic acid with thermal influence on the organism

O.N. Li, A.V. Tyrtyschnikova, A.V. Kropotov, T.N. Sedych

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Objective: To estimate the efficiency of the influence of a combined medicine containing amberic acid on antioxidant status of the warm-blooded organism in the conditions of temperature effect. **Methods:** Thermal model of the experiment conducted on 120 white outbred male rats weighting from 180 to 200 grams for the period of 21 days was used. Animals were divided into four groups: intact, control and two experimental. The last got intra-abdominal injections containing 50 or 100 mg/kg of amberic acid. **Results:** Everyday thermal impact during 45 minutes fostered an increase in hydroperoxides of lipids (by 32 to 36 %), diene conjugates (by 36 to 38 %) and malonic dialdehyde (by 51 to 59 %) on the background of a decline in activity of the basic components of the antioxidant system. Injection of a combined medicine containing amberic acid contributes to a credible reduction of hydroperoxides of lipids (by 20 to 24 %), diene conjugates (by 20 to 21 %) and malonic dialdehyde (by 28 to 35 %) in blood plasma. Ceruloplasmin content in animal blood of the experimental groups was credibly higher than comparable figure of rats of the control group by 22–35 %, vitamin E – by 16–28 %, catalase – by 22–35 %. **Conclusions:** The usage of a combined medicine containing amberic acid in condition of prolonged temperature effect on the organism of the experimental animals leads to stabilizing processes of peroxidation on the background of increase in the activity of the basic components of the antioxidant system.

Keywords: amberic acid, thermal impact, lipid peroxidation, antioxidant system

Received 25 January 2021; Revised 25 February 2021

For citation: Li ON, Tyrtyschnikova AV, Kropotov AV, Sedych TN. Antioxidant properties of a combined medicine containing amberic acid with thermal influence on the organism. *Pacific Medical Journal*. 2021;1:76–9. doi: 10.34215/1609-1175-2021-1-76-79

Corresponding author: Olga N. Li, MD, PhD, professor, General and Clinical Pharmacology Department, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-3587-0140; e-mail: leon1982@mail.ru

Длительное высокотемпературное воздействие на клетку способствует нарушению структурного и энергетического гомеостаза в условиях усиления генерации активных метаболитов кислорода [1–4].

Образующиеся свободные радикалы нейтрализуются биоантиоксидантами различной химической природы [3, 4]. В случае, когда емкости компонентов антиоксидантной системы (АОС) оказывается недостаточно,

усиливается перекисное окисление липидов (ПОЛ), служащее основной причиной нарушения структуры клеточных мембран, разобщения окислительного фосфорилирования, снижения энергообеспечения клеток и угнетения синтеза ферментов АОС [5]. Возникает порочный круг, предотвратить формирование которого можно путем применения средств, снижающих радикальную нагрузку на клеточные биоантиоксиданты, нормализующих энергетический обмен, стабилизирующих клеточные мембраны и активизирующих синтез макромолекулярных и надмолекулярных структур [4–7].

Перспективным направлением в коррекции теплового воздействия на организм может считаться использование препаратов на основе янтарной кислоты, поскольку она, будучи антиоксидантом, блокирует активность свободных радикалов [8–12]. Учитывая вышесказанное, экспериментальное обоснование эффективности полиионного инфузионного раствора, в состав которого входят соль янтарной кислоты и ряд микроэлементов для коррекции ПОЛ, индуцированного высокими температурами, относится к актуальным и перспективным направлениям регуляции стрессовых воздействий.

Цель работы: оценка эффективности воздействия комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту, на антиоксидантный статус теплокровного организма в условиях температурного воздействия.

Материал и методы

Эксперимент проводили на 120 белых беспородных крысах-самцах массой 180–200 г в течение 21 дня. Отбор по весовозрастным категориям обусловлен лучшей выживаемостью этих животных в условиях экспериментальных моделей. Пол животных был выбран во избежание влияния эстрального цикла на результаты эксперимента, в частности, для исключения воздействия эстрогенов на показатели ПОЛ и АОС. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме без ограничения доступа к воде и пище. Протокол экспериментальной части исследования соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), приказе МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», приказе МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». При завершении научных исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации с соблюдением требований гуманности согласно приложению № 4 к правилам проведения работ с использованием

экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления животного»).

Для изучения действия янтарной кислоты применена тепловая модель эксперимента, созданная и внедренная на базе Донецкого медицинского университета (1992). В эксперименте участвовало четыре группы животных по 30 крыс в каждой: 1-я – интактная группа: животные находились в стандартных условиях вивария; 2-я – контрольная группа: животные подвергались воздействию температуры $+40 \pm 1 - 2^\circ\text{C}$ в воздушном лабораторном термостате ТВЛ-К (Санкт-Петербург) с соблюдением адекватных условий влажности (45 %) и вентиляции, по 45 минут каждый день на фоне ежедневного внутрибрюшинного введения непосредственно перед перегреванием эквивалентного вводимому экспериментальному препарату 0,9 % натрия хлорида (2 мл на 100 г массы); 3-я – подопытная группа: животным непосредственно перед перегреванием ежедневно внутрибрюшинно вводили комбинированный препарат, содержащий янтарную кислоту в дозе 50 мг/кг; 4-я – подопытная группа: животным непосредственно перед перегреванием ежедневно внутрибрюшинно вводили комбинированный препарат, содержащий янтарную кислоту в дозе 100 мг/кг. Исследование проводилось одновременно во всех группах в течение 21 дня, по 10 животных выводились из эксперимента путем декапитации на 7-й, 14-й и 21-й дни. Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию в крови гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов, малонового диальдегида (МДА) и компонентов антиоксидантной системы – церулоплазмينا, витамина Е, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (гл-6-ФДГ) и каталазы по методикам, изложенным в ранее опубликованной работе [5]. Обработку полученных данных проводили методом вариационной статистики с вычислением средней, ее стандартной ошибки и критерия Стьюдента (t) с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты исследования

Тепловое воздействие способствовало повышению интенсивности ПОЛ в теплокровном организме в условиях накопления продуктов радикального характера: на 7-й, 14-й и 21-й день содержание гидроперекисей липидов увеличивалось на 36, 32 и 33 %, диеновых конъюгатов – на 37, 36 и 38 %, МДА – на 51, 59 и 51 %, соответственно (табл.).

Рост уровня продуктов перекисидации при воздействии высоких температур сопровождается напряжением и истощением АОС организма, для которого на 7-й, 14-й и 21-й день эксперимента были характерны уменьшение содержания в крови церулоплазмينا – на 29, 33 и 25 %, витамина Е – на 26, 30 и 29 %, гл-6-ФДГ – на 19, 20 и 16 %, каталазы – на 21, 29 и 25 %, соответственно. Это свидетельствует о формировании окислительного стресса при гипертермии и согласуется с ранее опубликованными данными [5].

Таблица

Интенсивность ПОЛ у крыс при тепловом воздействии на фоне применения препарата с янтарной кислотой

Группа	День	Содержание продуктов ПОЛ ^а в крови, нмоль/л		
		ДК	ГПЛ	МДА
1-я	7-й	33,5±3,3	24,7±2,3	4,1±0,5
	14-й	34,8±2,9	25,6±2,8	3,9±0,3
	21-й	32,7±3,1	25,7±2,4	4,3±0,4
2-я	7-й	46,0±2,3 ^б	33,6±0,8 ^б	6,2±0,2 ^б
	14-й	47,5±2,0 ^б	33,8±0,9 ^б	6,2±0,3 ^б
	21-й	45,2±2,6 ^б	34,1±0,7 ^б	6,5±0,3 ^б
3-я	7-й	36,8±1,1 ^в	29,8±0,6 ^в	4,9±0,2 ^в
	14-й	39,5±1,4 ^в	30,3±0,7 ^в	4,4±0,3 ^в
	21-й	39,2±1,1	28,3±1,3 ^в	4,4±0,3 ^в
4-я	7-й	36,8±1,0 ^в	26,9±1,1 ^в	5,1±0,3 ^в
	14-й	36,9±0,9 ^в	26,7±0,8 ^в	4,5±0,2 ^в
	21-й	35,6±1,5 ^в	26,0±1,1 ^в	4,2±0,2 ^в

^а ДК – диеновые конъюгаты, ГПЛ – гидроперекиси липидов, МДА – малоновый диальдегид.

^б Различия с интактной (1-й) группой на соответствующий день эксперимента статистически значимы ($p < 0,05$).

^в Различия с контрольной (2-й) группой на соответствующий день эксперимента статистически значимы ($p < 0,05$).

При трехнедельном воздействии высоких температур введение комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту в дозе 100 мг/кг, стабилизировало уровень первичных и вторичных продуктов перекисаации: в крови животных 4-й группы на 7-й, 14-й и 21-й день было отмечено достоверное по сравнению с контролем снижение уровня диеновых конъюгатов на 20, 22 и 21 %, гидроперекисей липидов – на 20, 21 и 24 %, МДА – на 4, 28 и 35 %, соответственно (табл.). Применение комбинированного препарата в указанной дозе в те же сроки способствовало увеличению уровня церулоплазмина на 9, 19 и 33 %, витамина Е – на 17, 24 и 29 %, каталазы – на 22, 35 и 33 %, гл-6-ФДГ – на 15, 2 и 14 %, соответственно.

Обсуждение полученных данных

Полученные экспериментальные данные согласуются с результатами исследований Н.А. Быстровой [13], констатировавшей снижение активности компонентов АОС (в частности, уменьшение содержания церулоплазмина) при экстремальной внешней гипертермии. По-видимому, в условиях высоких температур недоокисленные продукты метаболизма воздействуют на эритроцитарные мембраны, вызывая прогрессирующий гемолиз, снижение общего числа эритроцитов и гемоглобина, что обуславливает вторичную тканевую гипоксию, накопление лактата и развитие ацидоза в условиях активирующегося гликолиза. Повышение проницаемости лизосомальных мембран и активация лизосомальных ферментов в свою очередь способствуют деструкции клеточных структур и снижению

активности ферментов, угнетая АОС [1, 4]. Таким образом, высокотемпературное воздействие может считаться для теплокровного организма стресс-фактором, вызывающим изменения на органном, тканевом и клеточном уровнях.

В процессе нашей экспериментальной работы, касающейся поиска эффективных антиоксидантов, стабилизирующих процессы ПОЛ в теплокровном организме на модели теплового стресса, родилась рабочая гипотеза, суть которой заключается в возможности использования антиоксидантов, содержащих сукцинат, для снижения интенсивности перекисаации, поскольку первичным звеном в ответе организма на гипертермию служит гипоксия, приводящая к комплексной модификации функций клеточных мембран и в конечном итоге – к усилению перекисного окисления липидов и белков [1, 3]. Так, применение комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту в дозе 50 мг/кг, характеризовалось менее значительным снижением по сравнению с дозой 100 мг/кг уровней гидроперекисей липидов и диеновых конъюгатов в крови животных.

На фоне комбинированного препарата с содержанием янтарной кислоты 50 мг/кг на 7-й, а в ряде случаев и на 14-й день, содержание гидроперекисей липидов в крови оставалось на довольно высоком уровне. Это, вероятно, связано с особенностями действия соединений, которые, в первую очередь, влияют на энергетический потенциал за счет активации гипотиз-адреналовой системы, а во вторую очередь – на интенсивность ПОЛ, способствуя синтезу эндогенных антиоксидантов и вызывая сдвиги в фосфолипидном слое клеточных мембран [9, 12]. Введение крысам янтарной кислоты в дозах 50 и 100 мг/кг оказывало практически одинаковое воздействие на уровень МДА, хотя более выраженный эффект и был зафиксирован к концу третьей недели эксперимента.

Исследование ферментов антиоксидантной защиты позволило констатировать, что применение комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту в дозе 100 мг/кг, предотвращало снижение активности каталазы и способствовало более быстрому и стойкому восстановлению активности гл-6-ФДГ, чем доза 50 мг/кг. Аналогичная закономерность отмечена и для церулоплазмина (повышение уровня на 22–35 %) что, по-видимому, связано с восстановлением янтарной кислоты в дыхательной цепи митохондрий, возрастанием антиоксидантной активности глутатиона и синтеза церулоплазмина из-за экзогенного поступления сукцинатсодержащего препарата [2, 4, 5]. Тот же вывод можно сделать и в отношении восстановления уровня витамина Е. Следовательно, нормализация стационарного уровня продуктов перекисаации на фоне повышения активности основных компонентов АОС свидетельствует об эффективности комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту в дозе 100 мг/кг, в условиях воздействия высоких температур.

Выводы

1. Впервые экспериментально подтверждена возможность коррекции теплового воздействия на организм введением комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту.
2. Внутривенное введение комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту лабораторным животным (крысам) в дозе 50 и 100 мг/кг, снижает интенсивность процессов ПОЛ биомембран, индуцированных длительным высокотемпературным воздействием, восстанавливая стационарный уровень продуктов перекисидации на фоне достоверного увеличения активности основных компонентов АОС.
3. Установлены статистически значимые различия изменений показателей продуктов ПОЛ и компонентов АОС в зависимости от дозы комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту, и длительности его применения (прямая дозозависимость): комбинированный препарат с янтарной кислотой в дозе 100 мг/кг демонстрирует более выраженный антиоксидантный эффект.
4. Результаты исследования дают основание рекомендовать комбинированный препарат, содержащий янтарную кислоту в качестве антиоксиданта, а также регулятора адаптационных реакций организма при воздействии высоких температур.

Конфликт интересов: автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: автор заявляет о финансировании работы из собственных средств.

Литература / References

1. Барчуков В.В. Фармакологическая регуляция физиологической реакции организма на воздействие высокой температуры и влажности окружающей среды. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018;81(5):23. [Barchukov VV. Farmakologicheskaya regulatsiya fiziologicheskij reakcij organizma na vozdejstvie vysokoj temperatury i vlazhnosti okruzhayushchej sredy. *Éksperimentalnaya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2018;81(5):23 (In Russ).]
2. Пузаков К.К., Дурнова Н.А., Рыженкова И.Г. Современные представления о влиянии экзогенных антиоксидантов на рост злокачественных опухолей. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2019;17(2):29–33. [Puzakov KK, Durnova NA, Ryzhenkova IG. Modern ideas about the effect of exogenous antioxidants on the growth of malignant tumors. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(2):29–33 (In Russ).]
3. Салтыкова М.М., Бобровницкий И.П., Яковлев М.Ю., Банченко А.Д., Нагорнев С.Н. Новый подход к анализу влияния погодных условий на организм человека. *Гигиена и санитария*. 2018;97(11):1038–42. [Saltykova MM, Bobrovnickii IP, Yakovlev MYu, Banchenko AD, Nagornev SN. A new approach to the analysis of the influence of weather conditions on the human organism. *Hygiene and Sanitation*. 2018;97(11):1038–42 (In Russ).]
4. Фурман Ю.В., Артюшкова Е.Б., Аниканов А.В. Окислительный стресс и антиоксиданты. *Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания*. 2019;1:1–3. [Furman YuV, Artyushkova EB, Anikanov AV. Okislitelnyj stress i antioksidanty. *Aktualnye Problemy Socialno-gumanitarnogo i Nauchno-tehnicheskogo Znaniya*. 2019;1:1–3 (In Russ).]
5. Доровских В.А., Ли О.Н., Симонова Н.В., Штарберг М.А., Доровских В.Ю. Антиоксидантные свойства препаратов на основе янтарной кислоты при тепловом воздействии на организм. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2014;2:53–5. [Dorovskikh VA, Lee ON, Simonova NV, Shtarberg MA, Dorovskikh VYu. The antioxidant properties of the preparations based on succinic acid during thermal effect on a body. *Pacific Medical Journal*. 2014;2:53–5. (In Russ).]
6. Le Gal K, Ibrahim MX, Wiel C, Sayin VI, Akula MK, Karlsson C, et al. Antioxidants can increase melanoma metastasis in mice. *Sci Transl Med*. 2015;7(308):308re8. doi: 10.1126/scitranslmed.aad3740
7. Wang H, Liu X, Long M, Huang Y, Zhang L, Zhang R, et al. NRF2 activation by antioxidant antidiabetic agents accelerates tumor metastasis. *Sci Transl Med*. 2016;8(334):334ra51. doi: 10.1126/scitranslmed.aad6095
8. Власов А.П., Аль-Кубайси Ш-А.С., Шейранов Н.С., Маркин О.В., Зайцев П.П., Власова Т.И., Васильев В.В. Фармакологические эффекты ремаксола при механической желтухе неопухового происхождения. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019;2:159–64. [Vlasov AP, Al-Kubaisi Sh-AS, Sheyranov NS, Markin OV, Zaitsev PP, Vlasova TI, Vasiliev VV. Clinical examples to the algorithm on management of primary patients with symptoms of dyspepsia. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;2:159–64 (In Russ).]
9. Волчегорский И.А., Синицкий А.И., Мирошниченко И.Ю., Рассохина Л.М. Влияние производных 3-оксипиридина и янтарной кислоты на активность моноаминоксидаз в коре головного мозга крыс с аллоксановым диабетом. *Нейрохимия*. 2019;36(3):226–38. [Volchegorskii IA, Sinickii AI, Miroshnichenko IYu, Rassokhina LM. The effect of 3-hydroxypyridine and succinic acid derivatives on the activity of monoamine oxidases in the brain cortex of rats with alloxan-induced diabetes. *Nejrohimiya*. 2019;36(3):226–38 (In Russ).]
10. Питулина Ю.Г., Филь Г.В., Корниенко С.В., Плохотнюк Н.В. Применение гепатопротектора «Ремаксол» в терапии больных туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией и хроническим гепатитом С. *Антибиотики и химиотерапия*. 2019;64(3–4):25–30. [Pritulina YuG, Fil GV, Kornienko SV, Plohotnyuk NV. Application of hepatoprotector Remaxol in the treatment of patients co-infected with tuberculosis, HIV, and chronic hepatitis C. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2019;64(3–4):25–30 (In Russ).]
11. Филиппова Н.В., Барыльник Ю.Б., Шульдяков А.А. Применение ремаксола в качестве гепатопротектора при длительной психофармакотерапии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(4):43–46. [Filippova NV, Barylnik YuB, Shuldyakov AA. The efficacy of Remaxol as a hepatoprotective agent in long-term psychopharmacotherapy. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2019;119(4):43–46 (In Russ).]
12. Якупова Л.Р., Насибуллина Р.А., Гимадиева А.Р., Сафиуллин Р.Л. Влияние янтарной кислоты на антирадикальные свойства 5-гидрокси-6-метилурацила. *Кинетика и катализ*. 2019;60(6):763–9. [Yakupova LR, Nasibullina RA, Gimadiev AR, Safiullin RL. Effect of succinic acid on the antiradical properties of 5-hydroxy-6-methyluracil. *Kinetics and Catalysis*. 2019;60(6):763–9 (In Russ).]
13. Быстрова Н.А. Иммунометаболические эффекты, вызванные действием умеренно высокой внешней температуры. *Тез. докл. VIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство»*. М., 2001:551. [Bystrova NA. Immunometabolic effects due to the action of moderately high external temperature. *Abstracts of the VIII Russian National Congress "Man and Medicine"*. Moscow; 2001:551 (In Russ).]