

Е.В. Коболев

ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНАЯ СИСТЕМА КРОВИ КРЫС В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ КОРАЗОВОГО КИНДЛИНГА И ЭФФЕКТЫ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА

Одесский государственный медицинский университет

Ключевые слова: коразоловый киндлинг, перекисное окисление липидов, тиол-дисульфидная система крови, пентоксифиллин.**Ключевые слова:** коразоловый киндлинг, перекисное окисление липидов, тиол-дисульфидная система крови, пентоксифиллин.**Key words:** corazol kindling, lipid peroxidation, thiol- disulfide system of blood, pentoxyphillin.

В острых дослідах на щурах-самцях лінії Вістар встановлено, що на момент завершення розвитку коразол провокованого (25,0 мг/кг, в/очер) кіндлінгу і через три тижні по перерві у введеннях епілептогену тестуюче введення епілептогену супроводжувалось зниженням вмісту тиолових груп, а також зростанням дисульфідних груп в крові тварин. Вказані порушення були більш виразними у віддаленому періоді коразолового кіндлінгу у небілковій фракції тиол-дисульфідних груп і блокувались системним застосуванням пентоксифіліну (100,0 мг/кг, в/чер).

В острых опытах на крысах- самцах линии Вистар установлено, что на момент завершения развития коразол провоцированного (25,0 мг/кг, в/бр) киндлинга и через три недели перерыва во введениях эпилептогена тестирующее введение эпилептогена сопровождается снижением содержания тиоловых групп, а также возрастанием дисульфидных групп в крови животных. Указанные нарушения были более выражены в отдаленном периоде коразолового киндлинга в небелковой фракции тиол-дисульфидных групп и блокировались системным применением пентоксифиллина (100,0 мг/кг, в/бр).

In acute experiments on male Wistar rats it was shown that at the moment of achievement of fully developed corazol- induced (25,0 mg/kg, i.p.) kindling as long as in three weeks period free from epileptogen administrations the testing dosage of corazol lead to the reduction of thiol groups and elevation of disulfide groups in the blood. Mentioned deteriorations were most pronounced in the postponed period of kindling in not- protein fraction of rat's blood and were abolished by pentoxyphillin (100,0 mg/kg, i.p.) administration.

Известно, что в патогенезе эпилептического синдрома существенное значение имеют механизмы активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3, 6]. Причем, повышение функции антиоксидантной системы, в том числе активирование продукции тиоловых соединений в ткани мозга обеспечивают нормализацию возбудимости нейрональных образований и подавление эпилептической активности [6, 7]. Одним из механизмов активирования ПОЛ может быть повышенный тонус провоспалительных цитокинов, который может представлять собой механизм патогенеза эпилептического синдрома [7, 8]. Однако, до последнего времени не исследовано состояние тиол-дисульфидной системы у животных с высокой судорожной готовностью, резистентной к действию антиэпилептических препаратов.

Поэтому **ЦЕЛЬЮ** данного **ИССЛЕДОВАНИЯ** явилось изучение показателей функционального состояния тиол-дисульфидной системы крови крыс с моделируемым состоянием резистентности к действию антиэпилептических препаратов, а именно, - в отдаленном периоде коразолового киндлинга [4, 7]. Кроме того, дополнительной задачей исследования явилось определение уровня тиоловых и дисульфидных групп крови у киндлинговых животных в условиях применения пентоксифиллина (ПТФ), обладающего способностью снижать уровень провоспалительных цитокинов [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на крысах- самцах линии Вистар массой 180-230 г, которых находились в обычных условиях содержания и кормления.

Модель киндлинга воспроизводили путем ежедневных введений коразола (25,0 мг/кг, в/бр) крысам на протяжении трех недель. В работе наблюдали животных, у которых последние три инъекции эпилептогена сопровождались развитием генерализованных клонико-

тонических судорожных приступов. У этих крыс (25 животных) по окончании воспроизведения киндлинга (24 ч с момента последней, 21-й инъекции коразола) и через три недели перерыва во введениях эпилептогена с последующим контрольным введением коразола (25,0 мг/кг, в/бр) (через 24 ч с момента тестирующего применения коразола) осуществляли забор крови из хвостовой вены. Животным контрольной группы (10 крыс) осуществляли в/бр инъекции физиологического раствора NaCl в аналогичных условиях на протяжении воспроизведения киндлинга, а за 24 ч до забора крови также вводили коразол (25,0 мг/кг, в/бр).

ПТФ применяли в дозе 100,0 мг/кг, в/бр однократно за 1,0 ч до тестирующего применения коразола. Исследования состояния тиол-дисульфидной системы крови осуществляли путем определения показателей содержания общих, белковых, небелковых сульфгидрильных (SH) и дисульфидных (SS) групп, а также коэффициента SH/SS. Животным группы контроля (киндинговые крысы) в аналогичных условиях применяли в/бр физиологический раствор NaCl. Исследования проводились методом амперометрического титрования по [2].

Результаты исследований обрабатывали статистически с применением общепринятых критериев оценки различий между группами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

Перед забором крови тестирующее применение коразола приводило к развитию генерализованных клонико-тонических судорожных приступов, которые носили вторичный характер. В группе контроля (крысы с введениями физиологического раствора NaCl) применение коразола (25,0 мг/кг, в/бр) не вызвало формирования судорожных реакций.

В крови крыс контрольной группы содержание небелковых SH-групп составило $1347,0 \pm 38,3$ мкмоль/л, SS-

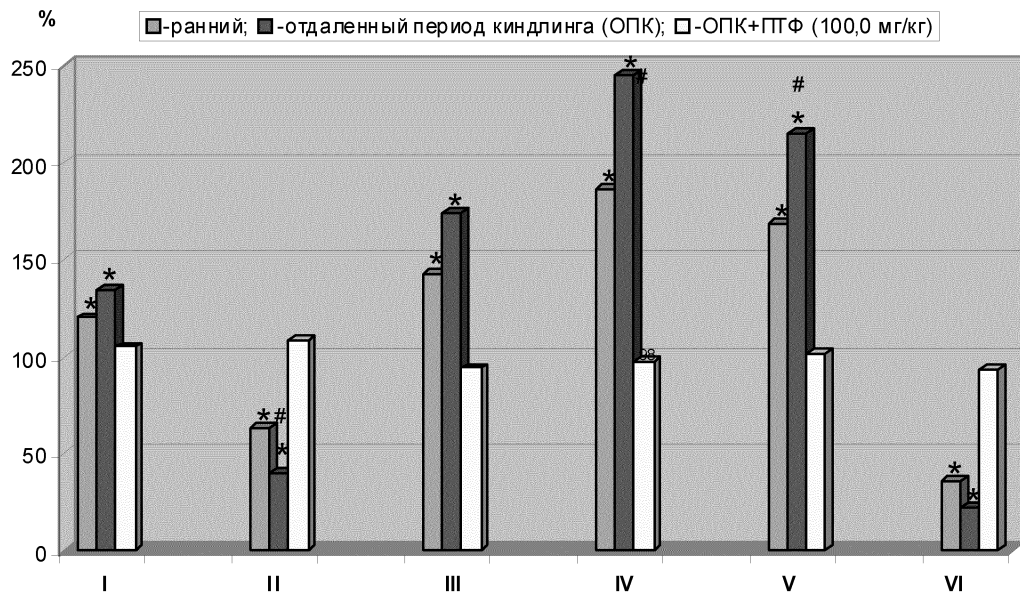


Рис. 1. Содержание SH- и SS- групп в небелковой и белковой фракциях плазмы цельной крови крыс в различные периоды формирования коразол- индуцированного киндлинга и эффекты ПТФ.

групп- $375,0 \pm 20,2$ мкмоль/Л, а коэффициент SH/SS составил величину $3,55 \pm 0,19$. Исследование аналогичных показателей через 2,0 ч с момента применения ПТФ в дозе 100,0 мг/кг, в/бр показало отсутствие различий с таковыми в группе контроля ($P > 0,05$).

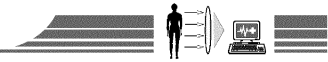
В крови киндлинговых крыс по завершении воспроизведения киндлинга уровень SH- небелковых групп снижался в сравнении с контролем на 34,9% (Рис. 1, I). В то же время, после перерыва во введениях коразола и через 24 ч с момента тестирующего применения эпилептогена уровень тиоловых небелковых групп снижался в сравнении с контролем на 53,5% ($P < 0,05$), что было также достоверно меньше в сравнении с соответствующим показателем у крыс на момент завершения воспроизведения киндлинга ($P < 0,05$) (Рис. 1, I). Введение тестирующей дозы коразола (25,0 мг/кг, в/бр), осуществленное через три недели перерыва во введениях эпилептогена на фоне предварительного применения ПТФ сопровождалось незначительным (на 6,5%) в сравнении с контролем уменьшением содержания тиоловых групп ($P > 0,05$, Рис. 1, I). Содержание небелковых дисульфидных групп определенное через 24 ч с момента завершения формирования киндлинга было увеличенным в 3,7 раза в сравнении с контролем ($P < 0,05$) (Рис. 1, II). В то же время, в отдаленном периоде (тестирующее введение эпилептогена через 3 недели с момента завершения формирования киндлинга) сопровождалось более значительным увеличением этого показателя - в 5,5 раза в сравнении с контролем ($P < 0,05$) (Рис. 1, II). На фоне применения ПТФ (100,0 мг/кг, в/бр) содержание небелковых дисульфидных групп превышало соответствующий показатель у в контроле на 17,3% ($P < 0,05$) и при этом было достоверно меньше, чем у крыс на стадии завершения киндлинга и в его отдаленном периоде развития ($P < 0,05$) (Рис. 1, II).

Коэффициент SH/SS для небелковых тиоловых групп на

момент завершения киндлинга (24 ч после 21-й инъекции эпилептогена) был меньше, чем в контроле в более, чем 5 раз ($P < 0,05$), а в отдаленном периоде более, чем в 10 раз превосходил аналогичный показатель в группе контроля (Рис. 1, III). Тестирующее применение коразола в отдаленном периоде киндлинга на фоне предварительной в/бр инъекции ПТФ (100,0 мг/кг, в/бр) сопровождалось снижением данного показателя, который в этих условиях был меньше такового в группе контроля на 12,6% ($P > 0,05$) (Рис. 1, III).

Содержание тиоловых белковых групп в плазме цельной крови крыс контрольной группы составило $9055,3 \pm 119,2$ мкмоль/Л, а дисульфидных - $2933,1 \pm 87,3$ мкмоль/Л. При этом коэффициент SH/SS составил величину $2,6 \pm 0,1$.

Через 24 ч с момента завершения формирования киндлинга (21-я инъекция коразола в дозе 25,0 мг/кг, в/бр) уровень тиоловых белковых групп был меньше соответствующего показателя в группе контроля на 15,5% ($P < 0,05$) (Рис. 1, IV). В отдаленном периоде киндлинга (24-ч после тестирующего применения коразола, проведенного через три недели перерыва во введениях эпилептогена) вызывало более выраженное снижение данного показателя, который уменьшался в сравнении с контролем на 33,7% ($P < 0,05$) (Рис. 1, IV). Уровень дисульфидных белковых групп возрастал на момент завершения развития киндлинга на 32,1% и в отдаленном периоде - на 61,5% соответственно ($P < 0,05$) (Рис. 1, V). При этом уровень дисульфидных групп у крыс в отдаленном периоде киндлинга был выше, чем в период завершения его формирования ($P < 0,05$). Введение тестирующей дозы коразола на фоне применения ПТФ (100,0 мг/кг, в/бр) сопровождалось незначительным (на 4,7%, $P > 0,05$) снижением содержания белковых дисульфидных групп в сравнении с соответствующим показателем в группе контроля. Коэффициент SH/SS белковых групп в период за-



вершения формирования киндлинга был меньшим, чем в группе контроля на 31,9% ($P < 0,05$), а в отдаленном периоде - на 35,9% ($P < 0,05$) (Рис. I, VI). На фоне применения ПТФ в дозе 100,0 мг/кг данный коэффициент был меньшим, чем в контроле на 9,1% ($P > 0,05$) (Рис. I, VI).

Таким образом, представленные результаты показали, что применение в процессе формирования коразолового киндлинга происходит снижение уровня тиоловых небелковых и белковых групп плазмы цельной крови крыс при одновременном увеличении содержания дисульфидных групп. Указанные эффекты лучше выражены в отношении показателей небелковых тиол-дисульфидных групп, что может свидетельствовать о том, что формирования хронической эпилептизации мозга происходит в связи со снижением содержания глутатиона в крови- одного из основных источников небелковых тиоловых групп [1].

Важным фактом, полученным в настоящем исследовании, является значительная выраженность указанных изменений у крыс в отдаленном периоде коразол-провоцированного киндлинга, который представляет собой модель резистентной к фармакотерапии формы эпилептического синдрома [4, 7]. Данный факт позволяет полагать, что истощение механизмов тиол-обусловленных механизмов антиоксидантной защиты может представлять собой патогенетический механизм формирования устойчивости эпилептиформных проявлений к действию антиэпилептических препаратов.

Одной из причин снижения эффективности антиоксидантной тиол-дисульфидной системы крови может быть повышение активности системы провоспалительных цитокинов мозга, которые могут оказывать эффект стимуляции свободнорадикального окисления и играют важную роль в развитии киндлинговой эпилептической активности [3, 7, 8]. Результаты проведенных исследований также свидетельствуют о возможной роли фактора некроза опухолей-альфа и интерлейкина-1-бета в сдвиге функционального состояния тиол-дисульфидной системы крови, поскольку под влиянием ПТФ, обладающего способностью снижать уровень указанных цитокинов [5], вызываемые тестирующим применением коразола нарушения были существенно менее выраженными.

Таким образом, полученные результаты показывают целесообразность применения ПТФ с целью подавления резистентной к фармакотерапии эпилептической активности.

ВЫВОДЫ

1. Формирование коразолового киндлинга вызывает снижение функциональной активности тиол-дисульфидной системы крови, проявляющееся в уменьшении числа тиоловых групп, прежде всего, небелкового происхождения, а также увеличении уровня дисульфидных соединений.

2. Эффекты снижения функциональной активности тиол-дисульфидной системы крови, провоцируемые тестирующей дозой коразола у киндлинговых крыс, более выражены в отдаленном периоде киндлинга, моделирующем фармакорезистентную форму эпилептического синдрома и устраняются под влиянием блокатора системы провоспалительных цитокинов пентоксифиллина.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Меерсон Ф.З.* Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца/ Ф.З.Меерсон.- М.: Медицина, 1984.-272 с.

2. *Соколовский В.В.* Тиолдисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма/ В.В.Соколовский//Учебное пособие. С.- Петербург, 1996, 33 с.

3. *Флеров М.А.* Процессы свободнорадикального окисления липидов в нейронах и нейроглии коры больших полушарий при судорогах/ М.А.Флеров, Т.И.Толстухина, И.А.Герасимова // Бюл.экспер.биол.мед.- 2004.- №10.- С.385-387.

4. *Loscher W.* Animal models of drug resistant epilepsy/ W. Loscher // In: Ling V, ed. Mechanisms of drug resistance in epilepsy: lessons from

oncology. Chichester: Wiley, 2002.- P.149-158.

5. Pentoxifylline and propentophylline are inhibitors of TNF-alpha release in monocytes activated by advanced glycation endproducts/ I.Meiners, S.Hauschildt, K.Nieber, G. Munch // J. Neural. Transm. - 2004.- Vol.111, N3.- P.441-447.

6. Pentylenetetrazol- induced seizures and kindling: changes in free fatty acids, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activity/ V.Erakovic, G.Zupan, J.Varljen, A.Simonic/ Neurochem. Internat.- 2003.- Vol.42.- P. 173-178.

7. *Shandra A.A.* Pentylenetetrazol-induced kindling as a model of absence and convulsive forms of epilepsy/ A.A.Shandra, L.S.Godlevsky. In M.E. Corcoran and S.L. Moshe (Eds.), Kindling 6. New York: Springer, 2005, pp. 49-59.

8. *Vezzani A.* Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence/ A.Vezzani, T.Granata // Epilepsia.- 2005.- Vol.46.- P.1—20.

Сведения об авторе: Коболев Евгений Владимирович, канд. мед. наук, ассистент кафедры гигиены и медицинской экологии Одесского государственного медицинского университета.

Адрес для переписки: ОГМУ, 2 Валуевский пер.,2, Одесса-65082, тел.: +048-7178916