



И.Ф. Беленичев, Е.П. Соколик

## СОДЕРЖАНИЕ МАРКЕРОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ И НИТРОЗИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЦЕРЕБРОКУРИНА, КОРТЕКСИНА И ЦЕРЕБРОЛИЗИНА НА ФОНЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Запорожский государственный медицинский университет

**Ключові слова:** окислювальна модифікація білка, алкоголізація, цереброкурин, нейропротекція.

**Ключевые слова:** окислительная модификация белка, алкоголизация, цереброкурин, нейропротекция.

**Key words:** oxidative modification of proteins, alcoholisation, cerebrocurin, neuroprotection.

Описано моделювання хронічного алкоголізму на щурах і процеси окислювальної модифікації білка, що виникають на цьому фоні. Для запобігання ушкодженню білкових молекул і боротьби з наслідками окислювальної модифікації білка запропоновано нейропептидні церебропротектори: церебролізин, кортексин, цереброкурин у схемі комплексної нейропротективної терапії. За даними біохімічного дослідження гомогенату головного мозку щурів найбільш ефективним виявився препарат цереброкурин.

Описано моделирование хронического алкоголизма на крысах и процессы окислительной модификации белка, возникающие на фоне этого. Для предупреждения повреждения белковых молекул и борьбы с последствиями окислительной модификации белка предложены нейропептидные церебропротекторы: церебролизин, кортексин, цереброкурин в схеме комплексной нейропротективной терапии. По данным биохимического исследования гомогената головного мозга крыс наиболее эффективным оказался препарат цереброкурин.

In the article experimental chronic alcoholism in rats and processes of oxidative modification of proteins are described. For prevention of proteins molecules damage and fight against the consequences of oxidative modification of proteins neuropeptide cerebroprotectors: cerebrolysin, cortexin, cerebrocurin are offered in the complex neuroprotective therapy. Prescription of cerebrocurin was most effective according to the results of biochemical research of homogenate of rats cerebrum.

Согласно современным данным, при алкоголизме формируется состояние окислительного стресса [1–3]. В условиях окислительного стресса происходит окислительная модификация белков. Свободные радикалы атакуют белки по всей длине полипептидной цепи, нарушая не только первичную, но и вторичную, третичную структуру белков, что приводит к агрегации или фрагментации белковой молекулы [4–5]. Нейроны – наиболее уязвимые клетки для продуктов окислительного стресса. Они являются самыми высокоспециализированными клетками в нашем организме и выполняют сложнейшие функции, обеспечивающие сознание, движение, чувствительность и адаптацию к постоянно меняющимся условиям внешней и внутренней среды. На сегодня есть все основания считать окислительный стресс одним из наиболее значимых механизмов повреждения нервной ткани, борьба с которым представляет собой актуальнейшую проблему неврологии [6–7].

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Установить особенности и степень выраженности действия цереброкурина, кортексина и церебролизина на процессы окислительной модификации белка в нейронах головного мозга крыс при экспериментальной алкогольной интоксикации.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В опытах использовали 50 белых беспородных крыс-самцов с массой тела 180–220 г и возрастом 4,5 месяцев, которые содержались в виварии при свободном доступе к пище (стандартный гранулированный корм) и воды, при естественной смене дня и ночи; животные получены из питомника ГУ «Институт фармакологии и токсикологии АМН

Украины». Все экспериментальные процедуры осуществляли в соответствии с «Положением об использовании животных в биомедицинских исследованиях» [8–9].

Хроническую алкогольную интоксикацию вызывали ежедневным внутрижелудочным введением первые 10 дней 15% раствора этанола в дозе 4 г/кг, следующие 10 дней – 15% раствора этанола в дозе 6 г/кг и последующие 10 дней крысам вводили 25% раствор этанола в дозе 4 г/кг. С 30 суток прекращали алкоголизацию и проводили экспериментальную терапию изучаемыми препаратами, продолжали наблюдение в течение 14 дней. Все крысы разделены на 5 групп:

1 группа получала в течение 30 дней этанол и с 31 по 44 сутки цереброкурин в дозе 0,01 мл/кг;

2 группа получала в течение 30 дней этанол и с 31 по 44 сутки церебролизин в дозе 1 мл/кг;

3 группа получала в течение 30 дней этанол и с 31 по 44 сутки кортексин в дозе 0,01 мл/кг;

4 группа получала в течение 30 дней этанол (контроль);

5 группа-интакт (вместо этанола получала физиологический раствор).

Ежедневно каждой крысе проводили оценку неврологического статуса согласно шкалы stroke-index по McGrow (до 3 баллов – легкая степень, от 3 до 7 баллов – средняя степень и 7 баллов и выше – тяжелая степень).

Нарушение ориентировочно-поисковой деятельности животных изучали в тесте «открытое поле». Когнитивные функции животных оценивали по способности к запоминанию аверсивного стимула в тесте условной реакции пассивного избегания (УРПИ) на 44 сутки.

Маркеры оксидативного стресса в головном мозге в условиях моделирования хронической алкоголизации

| Группа животных (n=10) | Продукты ОМБ, у.е./г белка |               | Нитротирозин плазмы крови, нмоль/г белка | Нитротирозин головного мозга, нмоль/г белка |
|------------------------|----------------------------|---------------|--|---|
|                        | АФГ, мкмоль/л              | КФГ, мкмоль/л |  |   |
| Интакт                 | 0,46±0,02                  | 0,35±0,04     | 6,91±1,52                                | 17,23±3,05                                  |
| Контроль               | 0,71±0,06                  | 0,6±0,05      | 21,61±3,33                               | 144,27±28,56                                |
| Церебролизин           | 0,65±0,04*                 | 0,56±0,03*    | 12,97±2,28*                              | 110,55±19,90*                               |
| Кортексин              | 0,59±0,03*                 | 0,51±0,03*    | 9,88±1,77*                               | 87,71±23,46*                                |
| Цереброкурин           | 0,48±0,03*                 | 0,38±0,04*    | 7,03±1,81*                               | 25,26±2,63*                                 |

Примечание: \* –  $p < 0,05$  относительно контроля.

Окислительную модификацию и степень фрагментации белка плазмы определяли по степени спонтанной и металл-катализируемой модификации белка. Метод основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) с образованием 2,4-динитрофенилгидрозонов.

Количественное определение нитрозиловых протеинов проводили с помощью ELISA-набора NITROTYROSINE, который представляет собой твердофазный энзим-связывающий иммуносорбентный набор, работающий по принципу «сендвича».

Статистическую обработку результатов проводили методами математической статистики с применением пакетов программ «Биостатистика для Windows, версия 4.03» и «Microsoft Excel 2002».

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На фоне хронической алкогольной интоксикации у крыс развился оксидативный и нитрозирующий стресс, о чем свидетельствовали повышение показателей альдегидфенилгидрозонов (АФГ) и кетонфенилгидрозонов (КФГ), а также продуктов нитрозилирования белков – нитротирозина в головном мозге и плазме крови. Так, в группе контроля показатели АФГ и КФГ повысились на 54,35% и 71,43% соответственно, по сравнению с группой интакта; показатели нитротирозина в плазме крови и головном мозге крыс повысились на 212,74% и 737,32% соответственно, по сравнению с группой интакта.

Оксидативный стресс приводит к повреждению наиболее важных полимеров – нуклеиновых кислот, белков и липидов, АФК вызывают повреждения ДНК (окисление оснований, их модификации, разрывы цепей, повреждения хромосом). В результате снижается или исчезает их многообразная функциональная активность (ферментативная, регуляторная, участие в матричных синтезах, транспорт ионов и липидов). Как результат этого возникают изменения нормального функционирования нейронального аппарата головного мозга, нарушения памяти и когнитивно-мнестических функций [10].

В группе крыс, получавших лечение церебролизином, отмечено снижение показателей АФГ и КФГ на 8,45 и 6,66%

соответственно по отношению к контролю, а также снижение показателей нитротирозина в плазме крови на 39,98% и в головном мозге на 23,37% по отношению к контролю (табл. 1).

Терапия кортексином приводила к снижению уровня АФГ и КФГ на 16,9 и 15% соответственно по отношению к контролю, а также к снижению нитротирозина плазмы крови на 54,28% и в головном мозге на 39,2% по отношению к контролю.

Самый эффективный препарат – цереброкурин – показал снижение АФГ и КФГ на 32,39 и 36,66% достоверно по отношению к контролю, а также снижение нитротирозина плазмы крови на 67,47% и головного мозга на 82,49% достоверно по отношению к контролю. Защитные эффекты цереброкурина на ткань мозга включают его оптимизирующее воздействие на энергетический метаболизм и гомеостаз кальция, стимуляцию внутриклеточного синтеза белка, угнетение процессов глутамат-кальциевого каскада и перекисного окисления липидов. Вместе с тем, препарат имеет значительные нейротрофические эффекты [6].

### ВЫВОДЫ

В результате проведенного опыта установлено, что на фоне хронической алкоголизации в нейронах головного мозга инициируются процессы оксидативного и нитрозирующего стресса, приводящие к деструкции белковых молекул и нуклеиновых кислот, отразившиеся в повышении показателей АФГ, КФГ и нитротирозина в головном мозге крыс.

Курсовое назначение нейропептидных церебропротекторов (церебролизин, кортексин, цереброкурин) приводило к нормализации показателей АФГ, КФГ и снижению нитротирозина в нейронах головного мозга.

Цереброкурин продемонстрировал самое значительное снижение показателей АФГ и КФГ на 32,39 и 36,66% достоверно по отношению к контролю, а также нитротирозина на 82,49% в головном мозге крыс за счет ограничения митохондриальной дисфункции и антиоксидантных свойств.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимия клетки / Суханова Г.А., Серебров В.Ю. – Томск:



- Чародей, 2000. – 180 с.
2. *Болдырев А.А.* Карнозин. Биологическое значение и возможности применения в медицине / *А. А. Болдырев.* – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 320 с.
  3. *Бохан Н.А.* Молекулярные механизмы влияния этанола и его метаболитов на эритроциты in vitro и in vivo / *Н.А. Бохан, В.Д. Прокопьева.* – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004. – 150 с.
  4. Лабораторные методы оценки липопероксидации / *В.Н. Ушкалова, Н.В. Иоанидис и др.* // Лабораторное дело. – 2003. – №6. – С. 446–460.
  5. Окислительная модификация белков крови человека. Метод выделения / *Е.Е. Дубинина, С. О. Бурмистрова и др.* // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41. – С. 24–26.
  6. *Беленичев И.Ф.* Рациональная нейропротекция / *Беленичев И.Ф., Черний В.И., Колесник Ю.М., Павлов С.В. и др.* – Донецк: Изд. Дом Заславский, 2009. – 261 с.
  7. *Беленичев И.Ф.* Антиоксиданты: сучасне уявлення, перспективи створення / *Беленичев И.Ф., Коваленко С.І., Дунаев В.В.* // Ліки. – 2002. – №1. – С. 25–29.
  8. *Кожем'якін Ю.М.* Науково-практичні рекомендації по утриманню лабораторних тварин і роботі с ними / *Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдинова Г.А.* – К., 2002.
  9. *Хабрієв Р.У.* Рекомендації по експериментальному (доклінічному) вивченню нових фармакологічних речовин / *Хабрієв Р.У.* – М., 2005.
  10. *Davies K.J.A.* Protein damage and degradation by oxygen radicals. IV. Degradation of denatured protein / *Davies K.J.A., Delsignore M.E.* // J.Biol.Chem. – 1987. – №262. – P. 9908–9913.

**Сведения об авторах:**

Беленичев И.Ф., д. биол. н., профессор, зав. каф. фармакологии и медицинской рецептуры ЗГМУ.

Соколик Е.П., аспирант каф. фармакологии и медицинской рецептуры ЗГМУ.

**Адрес для переписки:**

Соколик Елена Петровна. 69035, г. Запорожье, пр-т Маяковского, 26, ЗГМУ, каф. фармакологии и медицинской рецептуры.

E-mail: sokoliker@gmail.com

Тел.: (097) 059 43 81.