

УДК 577.161.3:615.33

ВЛИЯНИЕ α -ТОКОФЕРОЛА ПРИ СОЧЕТАННОМ ВВЕДЕНИИ С ДАПСОНОМ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ

¹Лужнова С.А., ^{1,2}Самотруева М.А., ²Ясенявская А.Л., ¹Дуйко В.В.

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава России, Астрахань;

²ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Астрахань, e-mail: yasen_9@mail.ru

В эксперименте на белых нелинейных крысах самцах исследовано воздействие дапсона и его комбинированного введения с α -токоферолом ацетатом на интенсивность ряда окислительно-восстановительных реакций, характеризующих степень активности антиоксидантной системы организма. В условиях введения дапсона наблюдалось истощение антиоксидантной системы, что выразилось в интенсификации процессов перекисидации в печени, сыворотке крови, мембранах эритроцитов. Выявлена способность α -токоферолу существенно уменьшать дапсон-индуцированные нарушения, что делает актуальным дальнейшее изучение его активности в качестве корректора на клиническом уровне.

Ключевые слова: α -токоферол, дапсон, перекисное окисление липидов, каталаза, резистентность эритроцитов

INFLUENCE OF α -TOCOPHEROL AND THE COADMINISTRATION OF DAPSONE ON THE INTENSITY OF THE REDOX REACTIONS

¹Luzhnova S.A., ^{1,2}Samotrueva M.A., ²Yasenyavskaya A.L., ¹Duyko V.V.

¹Leprosy Research Institute, Astrakhan;

²Astrakhan state medical academy, Astrakhan, e-mail: yasen_9@mail.ru

Effects of dapsone and its combined administration with α -tocopherol acetate on the intensity of redox reactions that characterize the degree of activity of the antioxidant system were studied in the experiments on the nonlinear white male rats. Under the conditions of the introduction of dapsone was observed depletion of the antioxidant system, which was reflected in the intensification of peroxidation processes in the liver, serum, erythrocyte membranes. The ability of α -tocopherol to correct the disorders that have been inducing by the use of dapsone is shown in the work. This fact makes it relevant to the further study of drug activity at the clinical level.

Keywords: α -tocopherol, dapsone, lipid peroxidation, catalase, resistance of erythrocyte

В последние десятилетия большое значение в регуляции гомеостатических процессов уделяется антиоксидантной системе организма и перекисному окислению липидов (ПОЛ), при обязательном участии которых происходят все метаболические процессы. Скорость окисления в биомембранах клеток невысокая, однако, воздействие различных факторов приводит к изменению активности антиоксидантной защиты и увеличению продукции свободных радикалов, которые запускают процессы перекисной модификации липидов клеточных мембран, приводя к накоплению продуктов ПОЛ. Последнее служит сигналом для мобилизации системы нейрогуморальной регуляции и, как следствие, активации антиоксидантной защиты организма [6]. Нередко этих антиоксидантных механизмов оказывается недостаточно, что обуславливает резкое усиление ПОЛ с образованием промежуточных продуктов радикальной природы, вторично индуцирующих свободно-радикальные реакции. Высокая интенсивность ПОЛ вызывает морфологические изменения в различных клеточных элементах тканей организма, которые характеризуются

увеличением проницаемости и разрушением цитоплазматических, внутриклеточных мембран, митохондрий и микросом [1]. Все вышесказанное объясняет тот факт, что мощность антиоксидантных систем организма является важнейшим фактором резистентности организма к воздействию различных факторов, в частности в условиях применения различных лекарственных средств [8].

До настоящего времени дапсон (4,4'-сульфонилбис[бензоламин]) остаётся основным препаратом при терапии лепры. Кроме этого, он успешно применяется при лечении и других заболеваний, таких как герпетиформный дерматит Дюринга, туберкулез, малярия, пневмоцистная пневмония, токсоплазмоз, кожный лейшманиоз, мицетомы, провоцируемая актиномицетамии; ревматоидный артрит, субкорнеальный дерматоз, отдельные поражения кожного покрова (на фоне системной красной волчанки), кольцевидная гранулема, гангренозная пиодермия и др. Препарат имеет высокую фармакологическую активность, но обладает рядом существенных нежелательных эффектов, связанных с формиро-

ванием при его метаболизме гидроксил-амин-производных, характеризующихся, по многочисленным данным, окислительными свойствами [10,11]. Несмотря на это, некоторые исследователи вопрос об анти- и про-окислительных свойствах дапсона оставляют открытым, ссылаясь на собственные экспериментальные данные [9].

Сказанное выше актуализирует поставленную нами цель работы, направленную на проведение исследований по оценке интенсивности антиоксидантной защиты организма на фоне применения дапсона с последующим изучением возможности его сочетанного применения с известными антиоксидантами α -токоферолом ацетатом.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на белых нелинейных крысах-самцах 6-8 мес. возраста (весом 210–280 г.). Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении. Все крысы были синхронизированы по питанию при свободном доступе к воде. Эксперименты проводили в весенне-летний период.

Животные были разделены на группы по 10 особей в каждой: 1-ю группу составляли контрольные крысы, получавшие в качестве плацебо эквивалент дистиллированной воды; 2-ю группу – особи, получавшие внутривенно дапсон (фирма «Novartis») в дозе 25 мг/кг в течение 14 дней; 3-ю группу – животные, получавшие внутривенно дапсон в дозе

25 мг/кг и пер os α -токоферол ацетат в дозе 5 мг/кг в течение 14 дней.

Уровень антиоксидантной защиты организма оценивали на основании определения активности каталазы [3], содержанию МДА в реакции с ТБК [2] в сыворотке крови, определения перекисной резистентности эритроцитов [4,5] и интенсивности ПОЛ в печени (определяли исходное содержание МДА, скорость спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ) [7].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США), BIOSTAT 2008 Professional 5.1.3.1. с использованием t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Различия между параметрами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Данные, полученные в ходе эксперимента показали, что введение дапсона способствует статистически значимому увеличению содержания в сыворотке крови животных ТБК-активных продуктов: в среднем на 30% ($p < 0,05$) (табл. 1).

При сочетанном введении дапсона и α -токоферола данный показатель в сравнении с контрольными животными практически не изменяется и остаётся в среднем на 20% ($p < 0,05$) ниже относительно содержания ТБК у крыс, получавших только дапсон (табл. 1).

Таблица 1

Влияние дапсона и его сочетанного применения с α -токоферолом на уровень ТБК-активных продуктов и активность каталазы в сыворотке крови крыс

Показатели	Экспериментальные группы (n=10)		
	Контроль	Дапсон (25мг/кг)	Дапсон (25 мг/кг) + α -ТФ (5 мг/кг)
Уровень ТБК-активных продуктов (M \pm m, мкмоль/л)	3,0 \pm 0,1	3,9 \pm 0,3 *	3,1 \pm 0,2 #
Активность каталазы (M \pm m, %)	27,4 \pm 1,7	37,2 \pm 1,6**	27,8 \pm 1,4 ##

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно контроля; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – относительно животных, получавших дапсон (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений); α -ТФ – α -токоферол.

Оценка уровня активности каталазы в сыворотке крови в группе крыс, получавших дапсон, показала повышение данного показателя в среднем на 35% ($p < 0,01$). На наш взгляд, это может быть объяснено либо гемолитическими свойствами дапсона: повышение уровня каталазы на фоне увеличения в крови ТБК-активных продуктов произошло за счёт выхода фермента в плазму из разрушенных эритроцитов, где уровень каталазы очень высок, либо это свидетельствует об адаптивном резервном «выбросе» каталазы, что при более длительной нагрузке дапсоном может привести к истощению

антиоксидантной системы. Не исключено, а может быть и более адекватно, сочетание обоих факторов.

При комбинированном введении α -токоферола и дапсона уровень активности фермента был сопоставим с контрольным показателями (табл. 1).

При исследовании влияния дапсона на процессы пероксидации в печени было выявлено повышение уровня ПОЛ: исходного – более чем на 40% ($p < 0,01$), спонтанного и аскорбатзависимого – в среднем на 30% ($p < 0,05$) и 40% ($p < 0,01$) соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Влияние дапсона и его сочетанного применения с α -токоферолом на показатели ПОЛ в гомогенате печени крыс

Показатели	Исходный уровень МДА, М \pm м, нмоль/0,5г ткани	Скорость спонтанного ПОЛ, М \pm м, нмоль/ч	Скорость аскорбатзависимого ПОЛ, М \pm м, нмоль/ч
Экспериментальные группы (n=10)			
Контроль	2,24 \pm 0,18	13,11 \pm 0,63	11,32 \pm 0,74
Дапсон (25 мг/кг)	3,58 \pm 0,24**	16,85 \pm 1,11*	15,91 \pm 0,96**
Дапсон (25 мг/кг) + α -ТФ (5 мг/кг)	2,31 \pm 0,17###	13,36 \pm 0,97 #	11,93 \pm 1,03 #

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно контроля; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – относительно животных, получавших дапсон (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений); α -ТФ – α -токоферол

Введение α -токоферола в сочетании с дапсоном корригировало уровень перекисных процессов. В гомогенате печени наблюдали значительное снижение уровня

ПОЛ: исходного – на 60% ($p < 0,01$), спонтанного – на 30% ($p < 0,05$), аскорбатзависимого на 40% – ($p < 0,01$) относительно животных в условиях введения дапсона (табл. 2).

Таблица 3

Влияние дапсона и его сочетанного применения с α -токоферолом на показатели перекисной резистентности эритроцитов крыс

Показатель	Экспериментальные группы (n=10)		
	Контроль	Дапсон (25 мг/кг)	Дапсон (25 мг/кг) + α -ТФ (5 мг/кг)
Содержание гемолизированных эритроцитов (%)	3,9 \pm 0,5	6,7 \pm 0,6**	4,1 \pm 0,3###

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно контроля; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – относительно животных, получавших дапсон (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений); α -ТФ – α -токоферол.

При изучении гемолитической стойкости эритроцитов было выявлено, что введение дапсона приводит к усилению процессов ПОЛ и в мембранах эритроцитов в среднем в 2 раза ($p < 0,01$) (табл. 3).

Проведение комбинированной терапии способствовало уменьшению деструктивного влияния дапсона на мембраны эритроцитов: уровень резистентности эритроцитов значительно отличался от показателей у крыс, получавших только дапсон – в среднем на 40% ($p < 0,01$), с показателями контрольных крыс имел ряд несущественные отличий (табл. 3).

Закключение

Таким образом, в условиях введения дапсона наблюдается истощение антиоксидантной системы организма крыс, выражающееся в усилении процессов перекисидации и реактивном увеличении уровня каталазы в сыворотки крови, а также катализации перекисного окисления липидов печени и снижении резистентности эритроцитарных мембран, что свидетельствует о прооксидантном действии его метаболитов.

Введение α -токоферола ацетата в указанной дозировке обеспечивает существенный защитный эффект от нежелательного дапсон-индуцированного деструктивного влияния. Результаты проведенного нами эксперименталь-

ного исследования позволяют сделать вывод о перспективности применения α -токоферола в качестве корректора, что делает актуальным дальнейшее изучение его активности в данном направлении на клиническом уровне.

Список литературы

1. Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голожин. – М.: Наука, 2004. – 148 с.
2. Гончаренко М.С. Метод оценки перекисного окисления липидов / М.С. Гончаренко // Лабораторное дело. – 1985. – № 1. – С. 60-61.
3. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарева // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-17.
4. Лазыко А.Е. Состояние мембран эритроцитов при воздействии серосодержащего газа / А.Е. Лазыко, Р.И. Асфандияров, А.А. Рязав // Актуальные вопросы медицинской морфологии. – Ижевск, 1993. – С. 41-47.
5. Покровский А.А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов / А.А. Покровский, А.А. Абрамов // Вопр. питания. – 1964. – № 6. – С. 44-49.
6. Сейфулла Р.Д. Антиоксиданты / Р.Д. Сейфулла, Е.А. Рожкова, Е.К. Ким // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72, № 3. – С. 60-64.
7. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Г.Т. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
8. Суханова Т.А. Патохимия клетки / Т.А. Суханова // Успехи соврем. биологии. – 2004. – Т. 40. – С. 82-104.
9. Antioxidant, anticonvulsant and neuroprotective effects of dapsone and phenobarbital against kainic acid-induced damage in rats / A. Diaz-Ruiz, M. Mendez-Armenta, S. Galván-Arzate, J. Manjarez, C. Nava-Ruiz, I. Santander, G. Balderas, C. Rios. // Neurochem Res. – 2013. – Vol.38, №9. – P. 1819-1827.
10. Ghu, G.I. Dapsone and sulfones in dermatology overview and update / G.I. Ghu, M.G. Stiller // Journal of the American Academy of dermatology. – 2001. – Vol. 45, № 3. – P. 420-434.
11. Dapsone induces oxidative stress and impairs antioxidant defenses in rat liver/ L.M. Veggi, L. Pretto, E.J. Ochoa, V.A. Catania, M.G. Luquita, D.R. Taborda, E.J. Sánchez Pozzi, S. Ikushiro, M.D. Coleman, M.G. Roma, A.D. Mottino. // Life Sci. – 2008. – Vol.83, №5-6. – P. 155-163.