

УДК 612.014.462:612.015.32:612.116.2

**ОЦЕНКА ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ
В ЭРИТРОЦИТАХ КАК КРИТЕРИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НАПРАВЛЕННОГО ТРАНСПОРТА
АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЕЧЕНЬ С ЦЕЛЬЮ КОРРЕКЦИИ
ПОСТГЕМОРРАГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ**

Ксейко Д.А., Генинг Т.П., Бочкова Е.Г., Котельников С.В., Валиев Р.Р.

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, e-mail: ybrf4@rambler.ru

Многочисленными исследованиями установлено, что кровопотеря сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени. Ряд авторов рассматривает эритроциты как универсальную модель для изучения изменений мембран и метаболизма клеток организма, в том числе гепатоцитов. С другой стороны, сдвиги в физико-химических параметрах мембран эритроцитов усугубляют поражения гепатоцитов, приводя к нарушениям микроциркуляции и тканевой гипоксии. В качестве вещества, корректирующего функциональное состояние печени в условиях кровопотери, нами была выбрана аскорбиновая кислота. Работа выполнена на белых беспородных крысах. Исследовали содержание малонового диальдегида в эритроцитах. Получение эритроцитарных контейнеров (ЭК) с аскорбиновой кислотой (АК) производилось методом гипотонического лизиса. ЭК с АК вводили внутривенно в дозах 25, 50 и 100 мг/кг однократно через 10 мин после кровопотери. Показано, что возникшая на фоне кровопотери гипоксия активирует процессы перекисного окисления липидов в эритроцитах, о чем свидетельствует увеличение в них уровня малонового диальдегида. Кроме того, АК обладает антиоксидантным действием в дозах 25 и 50 мг/кг, в дозе 100 мг/кг АК проявляет себя как прооксидант.

Ключевые слова: печень, кровопотеря, гипоксия, перекисное окисление липидов, аскорбиновая кислота, направленный транспорт, эритроциты

**ESTIMATION OF PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION IN ERYTHROCYTES
AS A CRITERION FOR EFFECTIVENESS OF THE USE OF DIRECTED TRANSPORT
OF ASCORBIC ACID IN THE LIVER IN ORDER TO CORRECTION
OF THE POSTHEMORRHAGIC IMPAIRMENTS**

Kseyko D.A., Gening T.P., Bochkova E.G., Kotelnikov S.V., Valiev R.R.

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, e-mail: ybrf4@rambler.ru

Numerous studies found that blood loss is accompanied by activation of lipid peroxidation (LPO) in the liver. Some authors consider the red blood cells as a universal model for the study of changes in membrane and metabolism of body cells, including hepatocytes. On the other hand, changes in the physico-chemical parameters of erythrocyte membranes aggravate lesions of hepatocytes, leading to microcirculatory disorders and tissue hypoxia. As the substance correcting liver function in the hemorrhage conditions, we selected ascorbic acid. The work carried out on white not purebred rats. Investigated the malondialdehyde in erythrocytes. The erythrocytic containers with ascorbic acid were produced according to the method of hypotonic lysis. Erythrocyte containers with ascorbic acid were administered intravenously in doses of 25, 50 and 100 mg/kg once after 10 minutes after blood loss. It has been shown that hypoxia, which arose on the background of blood loss, activates lipid peroxidation in erythrocytes, as evidenced by an increase in their level of malondialdehyde. Besides, ascorbic acid has antioxidant activity in a dose 25 and 50 mg/kg, in a dose 100 mg/kg ascorbic acid manifests itself as prooxidant.

Keywords: liver, blood loss, hypoxia, lipid peroxidation, ascorbic acid, directed transport, erythrocytes

Кровопотеря и связанная с ней гипоксия вызывают глубокие и часто необратимые нарушения метаболизма в тканях, поскольку в целостном организме метаболические процессы находятся в тесной функциональной связи с уровнем кровоснабжения тканей, состоянием микроциркуляции [8, 12]. Многочисленными исследованиями установлено, что кровопотеря сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени. В результате чего могут происходить изменения липидного состава мембран и, как следствие, сдвиг функционального состояния органа [5, 9]. Ряд авторов рассматривает эритроци-

ты как универсальную модель для изучения изменений мембран и метаболизма клеток организма, в том числе гепатоцитов. С другой стороны, сдвиги в физико-химических параметрах мембран эритроцитов усугубляют поражения гепатоцитов, приводя к нарушениям микроциркуляции и тканевой гипоксии [6, 7, 14].

В качестве вещества, корректирующего функциональное состояние печени в условиях кровопотери, нами была выбрана аскорбиновая кислота. Поскольку в условиях гипоксии важным фактором является необходимость поддерживать ионы металлов (Fe^{2+} , Cu^{2+} и др.), встроенные с помо-

пью хелатных связей в структуру оксигеназ и гидроксилаз в восстановленном состоянии, обеспечивающем нормальную функцию ферментов. Единственным веществом, способным восстанавливать ионы металлов в подобного рода структурах, является аскорбиновая кислота (АК) [2, 11].

В работе [4] сообщается о применении антигипоксантов в эритроцитарных контейнерах при комплексной терапии гепатorenального синдрома. При этом отмечено купирование проявлений гепато- и нефропатий по целому ряду клинических и лабораторных признаков в 1,5–2 раза быстрее по сравнению с традиционной терапией.

Цель исследования – изучить процессы ПОЛ в эритроцитах крыс после кровопотери и оценить возможность коррекции обнаруженных биохимических нарушений с помощью направленного транспорта АК в печень.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на белых беспородных крысах массой 240–280 г. Гипоксию вызывали кровопусканием через катетер [15]. Объем кровопотери составил 2% от массы животного. Животные были разделены на следующие группы: 1-я группа – интактные животные, 2-я группа – крысы с кровопотерей (материал для исследования брали через 6 и 24 ч после кровопотери), 3-я группа – интактные животные, получавшие

эритроцитарные контейнеры с аскорбиновой кислотой (контрольная группа), 4-я группа – животные с кровопотерей, получавшие АК путем направленного транспорта. В каждой группе по 12 животных. Получение эритроцитарных контейнеров (ЭК) с АК производилось методом гипотонического лизиса в модификации Т.П. Генинг [3]. ЭК с АК вводили внутривенно в дозах 25, 50 и 100 мг/кг однократно через 10 мин после кровопотери. Исследовали содержание малонового диальдегида (МДА) [1] в эритроцитах белых крыс.

Статистическая обработка полученных данных производилась по t-критерию Стьюдента. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$. Экспериментальные исследования проводились с соблюдением биоэтических правил.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование влияния кровопотери на содержание в эритроцитах крыс продукта ПОЛ – МДА показало, что через 6 ч после кровопотери его концентрация достоверно возросла на 15,34% (с $573,25 \pm 42,92$ до $661,17 \pm 39,77$ мкмоль/л) ($p < 0,05$). Через 24 ч после кровопотери мы наблюдали более существенное увеличение данного показателя: содержание МДА достоверно возросло на 21,58% относительно исходных значений ($p < 0,05$).

Влияние адресной доставки АК в печень в дозировках 25, 50 и 100 мг/кг на содержание МДА(мкмоль/л) в эритроцитах белых крыс ($M \pm m, n = 12$)

№ п/п	Условия эксперимента	Содержание МДА в эритроцитах белых крыс (мкмоль/л)		
		25 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг
1.	Интактные животные	$573,25 \pm 42,92$		
2.	6 ч после кровопотери	$661,17 \pm 39,77^*$		
3.	24 ч после кровопотери	$696,98 \pm 57,76^*$		
Использованные дозы аскорбиновой кислоты для коррекции кровопотери		25 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг
4.	Контроль	$571,67 \pm 34,37$	$486,30 \pm 42,41^*$	$601,33 \pm 35,26$
5.	Направленный транспорт (6 ч)	$562,56 \pm 53,28^\wedge$	$464,43 \pm 44,22^{*\wedge}$	$732,78 \pm 54,64^{*\wedge}$
6.	Направленный транспорт (24 ч)	$590,78 \pm 51,36^\wedge$	$511,24 \pm 42,83^\wedge$	$721,33 \pm 34,15^*$

Примечания: * – достоверность различий по отношению к интактным животным; достоверны при $p < 0,05$; ^ – достоверность различий по отношению к животным с кровопотерей; достоверны при $p < 0,05$.

В ускорении процессов ПОЛ в эритроцитах при кровопотере, наряду с внутриклеточными механизмами, важная роль принадлежит дополнительным негативным воздействиям на эритроциты гуморальных факторов, содержащихся в плазме. Их природа и механизм действия остаются неясными. Известно, что при кровотечении происходит активация различных ферментных систем, а это приводит к накоплению в кро-

ви биогенных аминов и других физиологически активных веществ, обладающих прооксидантным действием [10, 13].

При введении АК в эритроцитарных контейнерах в дозе 25 мг/кг животным после кровопотери уровень содержания МДА в эритроцитах через 6ч после кровопотери имел тенденцию к снижению, а через 24 ч – наоборот, к повышению по сравнению с его уровнем у интактных животных.

По сравнению с крысами с кровопотерей содержание продукта ПОЛ – МДА достоверно снизилось на 14,91% (с $661,17 \pm 39,77$ до $562,56 \pm 53,28$ мкмоль/л), а через 24 ч – лишь имело тенденцию к снижению.

Введение АК путем направленного транспорта в печень АК в эритроцитарных контейнерах интактным животным (контрольная группа) в дозе 50 мг/кг вызывает достоверное снижение содержания МДА на 15,18% (с $573,25 \pm 42,92$ до $486,30 \pm 42,41$ мкмоль/л).

Однократное внутривенное введение АК в эритроцитарных контейнерах животным после кровопотери через 6 ч способствовало снижению содержания МДА в эритроцитах крыс с $573,35 \pm 91,35$ до $464,43 \pm 44,22$ мкмоль/л, что составило 81% по сравнению с интактными животными, а через 24 ч его содержание лишь имело тенденцию к снижению по сравнению с таковыми. Относительно данных животных с гипоксией содержание МДА снизилось через 6 ч на 29,76% (с $661,17 \pm 39,77$ до $464,43 \pm 44,22$ мкмоль/л), а через 24 ч – на 26,56% (с $696,98 \pm 57,76$ до $511,24 \pm 42,83$ мкмоль/л).

При введении АК в эритроцитарных контейнерах в дозе 100 мг/кг животным после кровопотери через 6 ч содержание МДА достоверно повысилось на 27,81%, а через 24 ч – на 25,81% по сравнению с интактными животными. По сравнению с животными с кровопотерей содержание МДА через 6 ч достоверно повысилось на 10,83% (с $661,17 \pm 39,77$ мкмоль/л до $732,78 \pm 54,64$ мкмоль/л), а через 24 ч лишь имело тенденцию к повышению.

Выводы

1. Возникшая на фоне кровопотери гипоксия активизирует процессы перекисного окисления липидов в эритроцитах, о чем свидетельствует увеличение в них уровня малонового диальдегида.

2. Направленный транспорт в печень АК в эритроцитарных контейнерах в дозе 25 мг/кг приводит к нормализации уровня содержания МДА у экспериментальных животных, который на всех изученных сроках (6 и 24 ч после кровопотери) не достоверно отличается от уровня интактных животных.

3. В дозе 50 мг/кг АК имела более выраженный антиоксидантный эффект и через 6 ч после кровопотери приводила к достоверному снижению концентрации МДА даже по сравнению с интактными животными.

4. Однократное введение АК в дозе 100 мг/кг после кровопотери на всех изученных сроках повышает уровень концентрации МДА в эритроцитах.

Список литературы

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Басинский С.Н., Басинский А.С., Рогачев И.Н. Оценка антиоксидантных свойств лекарственных препаратов в эксперименте // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. – 2008. – № 2. – С. 65–68.
3. Генинг Т.П. Эритроциты млекопитающих в направленном транспорте биологически активных веществ. – Ульяновск: УлГУ, 1996. – 224 с.
4. Ивонин, А.Г. Пименов Е.В., Оборин В.А., Девришов Д.А., Копылов С.Н. Направленный транспорт лекарственных препаратов: современное состояние вопроса и перспективы // Известия Коми научного центра УрО РАН. – 2012. – № 9. – С. 46–55.
5. Коржевская А.К., Никольский В.О., Бояринова Л.В. Влияние натрия оксидиурата на микроциркуляцию в брыжее тонкой кишки и метаболизм печени при геморрагическом шоке (Экспериментальное исследование) // Общая реаниматология. – 2010. – Т. VI, № 1. – С. 28–32.
6. Кручинина М.В., Генералов В.М., Курилович С.А., Громов А.А. Дизэлектрофорез эритроцитов в диагностике диффузных заболеваний печени различной этиологии // Архив внутренней медицины. – 2011. – № 2. – С. 58–63.
7. Кручинина М.В., Курилович С.А., Громов А.А., Генералов В.М., Немцова Е.Г. Бакиров Т.С., Рихтер В.А. Семенов Д.В., Морозов С.В. Алкогольное поражение печени: взаимосвязь электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов и структуры их мембран // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2008. – Т. VI, № 2. – С. 96–102.
8. Кухарева Е.А., Шпагина Л.А., Паначева Л.А., Пятакова Е.Ф. Состояние системного гемостаза и микроциркуляции в печени при артериальной гипертензии // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2012. – Т. 10, № 1. – С. 69–75.
9. Моргунов С.С., Матвеев А.В. Коррекция гипоксии и процессов свободнорадикального окисления при гастродуоденальных кровотечениях // Общая реаниматология. – 2007. – Т. III, № 1. – С. 22–27.
10. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степанова Е.А. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма; контуры проблемы // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – № 2. – С. 62–70.
11. Трегубова И.А., Косолапов В.А., Спасов А.А. Антиоксиданты: современное состояние и перспективы // Успехи физиологических наук. – 2012. – Т. 43, № 1. – С. 75–94.
12. Трубин Е.В., Гребенкин Б.Е., Черемискин В.П., Садыкова Г.К. Нарушения гемодинамики печени при гестозе как прогностический критерий объема послеродовых и послеоперационных кровопотерь // Медицинский альманах. – 2009. – № 4 – С. 69–70.
13. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 7. – С. 29–36.
14. Хильчук М.А., Есауленко Е.Е., Ладутько А.А., Быков И.М., Данилова Н.Р. Модификация липидного спектра мембран эритроцитов при экспериментальном токсическом поражении печени и возможности его коррекции растительными маслами // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – № 1. – С. 177–181.
15. Sapirstein R.A., Sapirstein E.H., Bredemeyer A. Effect of hemorrhage on the cardiac output and its distribution in the rat // Circ. Res. – 1960. Vol. 8. – P. 135–147.

References

1. Andreeva L.I., Kozhemyakin L.A., Kishkun A.A. *Laboratornoe delo-Laboratory case*, 1988, no.11, pp. 41–43.
2. Basinskiy S.N., Basinskiy A.S., Rogachev I.N. *Uchenye zapiski Orlovskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennye, tekhnicheskie i meditsinskie nauki – Scientists note Orlov State University. Series: Natural, technical and medical sciences*, 2008, no. 2, pp. 65–68.
3. Gening T.P. *Eritrotsity mlekopitayushchikh v napravlenom transporte biologicheski aktivnykh veshchestv [Mammalian erythrocytes in directed transport of biologically active substances]. Ul'yanovsk, UIGU, 1996. 224 p.*
4. Ivonin, A.G. Pimenov E.V., Oborin V.A., Devri-shov D.A., Kopylov S.N. *Izvestiya Komi nauchnogo tsentra UrORAN – Proceedings of the Komi Science Center UrORAN*, 2012, no.9, pp. 46–55.
5. Korzhovskaya A.K., Nikol'skiy V.O., Boyarinova L.V. *Obshchaya reanimatologiya – General Intensive Care*, 2010, no.1, pp. 28–32.
6. Kruchinina M.V., Generalov V.M., Kurilovich S.A., Gromov A.A. *Arkhiv» vnutrenney meditsiny – Archives of Internal Medicine*, 2011, no.2, pp. 58–63.
7. Kruchinina M.V., Kurilovich S.A., Gromov A.A., Generalov V.M., Nemtsova E.G. Bakirov T.S., Rikhter V.A. Cemenov D.V., Morozov S.V. *Vestnik NGU. Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina – Bulletin of the NGU. Series: Biology, Clinical Medicine*, 2008, no.2, pp. 96–102.
8. Kukhareva E.A., Shpagina L.A., Panacheva L.A., Pyatakova E.F. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina – Bulletin of the Novosibirsk State University. Series: Biology, Clinical Medicine*, 2012, no.1, pp. 69–75.
9. Morgunov S.S., Matveev A.V. *Obshchaya reanimatologiya – General Intensive Care*, 2007, no. 1, pp. 22–27.
10. Novitskiy V.V., Ryazantseva N.V., Stepanova E. A. *Byulleten' sibirskoy meditsiny – Bulletin of Siberian Medicine*, 2006, no. 2, pp. 62–70.
11. Tregubova I.A., Kosolapov V.A., Spasov A.A. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk – Advances of physiological sciences*, no. 1, pp. 75–94.
12. Trubin E.V., Grebenkin B.E., Cheremiskin V.P., Sadykova G.K. *Meditsinskiy al'manakh – Medical almanac*, 2009, no. 4, pp. 69–70.
13. Chesnokova N.P., Ponukalina E.V., Bizenkova M.N. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya – Achievements of modern natural science*, 2006, no. 7, pp. 29–36.
14. Khil'chuk M.A., Esaulenko E.E., Ladut'ko A.A., Bykov I.M., Danilova N.R. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik – Kuban scientific medical bulletin*, 2012, no.1, pp. 177–181.
15. Sapirstein R.A., Sapirstein E.H., Bredemeyer A. *Effect of hemorrhage on the cardiac output and its distribution in the rat // Circ. Res. 1960. Vol.8. pp. 135–147.*

Рецензенты:

Каталымов Л.Л., д.б.н., профессор кафедры анатомии, физиологии и гигиены человека и животных, ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова», г. Ульяновск;

Любин Н.А., д.б.н., профессор, зав. кафедрой морфологии, физиологии и патологии животных, ФГБОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия имени П.А. Столыпина», г. Ульяновск.

Работа поступила в редакцию 06.11.2014.