

УДК 616-092

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ЗАЩИТНАЯ РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ПЕЧЕНИ И ЭРИТРОЦИТАХ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ

Ксейко Д.А., Генинг Т.П.

Ульяновский государственный университет, Ульяновск, e-mail: ybrf4@rambler.ru

Механизм взаимодействия печени и системы эритронона остается не до конца изученным. Рассматривается данная проблема в 2-х аспектах: во-первых – оценка роли печени в функциях эритроцитарной системы, во-вторых – раскрытие патогенеза нарушений со стороны красной крови при поражениях печени. В условиях острой кровопотери как печень, так и эритроциты несут большую функциональную нагрузку, в связи с чем представляет интерес изучение их антиоксидантной системы, выполняющей защитную функцию. Изучено влияние острой кровопотери на показатели системы «перекисное окисление липидов – антиоксиданты» в печени и эритроцитах. Работа выполнена на белых беспородных крысах. Исследовали содержание малонового диальдегида и активность каталазы в печени и эритроцитах, а также активность глутатионредуктазы в эритроцитах. Определяли общее содержание белка и процентное содержание фракций белков в сыворотке крови. Показано, что возникшая гипоксия активирует процессы перекисного окисления липидов в гепатоцитах и эритроцитах, о чем свидетельствует увеличение в них уровня малонового диальдегида. Одновременно повышается активность каталазы в печени и эритроцитах и антиоксидантный потенциал сыворотки крови, что может свидетельствовать об активации антиоксидантной защитной системы.

Ключевые слова: кровопотеря, гипоксия, печень, эритроциты, синтез белка, перекисное окисление липидов (ПОЛ), антиоксидантная система

LIPID PEROXIDATION PROCESSES AND PROTECTIVE ROLE OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN LIVER AND IN ERYTHROCYTES IN THE CASE OF ACUTE BLOOD LOSS

Kseyko D.A., Gening T.P.

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

The mechanism of liver and erythron system interaction is not fully understood. This problem is considered in two aspects: firstly, the role of liver function in erythrocyte system; secondly, the disclosure of the pathogenesis of disorders of the red blood cells in liver lesions. In acute blood loss both the liver and erythrocytes have an important functional load. Therefore the study of their antioxidant system that performs a protective function is of great interest. The effect of acute blood loss on the performance of the «lipid peroxidation-antioxidant» system in the liver and erythrocytes was studied. The work was done on white rats. The content of malondialdehyde and catalase activity in the liver and red blood cells and the activity of glutathione reductase in erythrocytes were studied. The total protein content and the percentage of protein fractions in blood serum were determined. It is shown that emerged hypoxia activates the processes of lipid peroxidation in hepatocytes and erythrocytes what is evidenced by an increase in their level of malondialdehyde. Simultaneously the activity of catalase in the liver and erythrocytes and antioxidant potential of blood serum are increasing. It can indicate activation of the antioxidant protective system.

Keywords: blood loss, hypoxia, liver, erythrocytes, protein synthesis, lipids peroxidation, antioxidant system

Важное место, занимаемое печенью в обмене веществ, делает ее причастной к функциям почти всех органов и систем. Особую роль печень играет в работе системы эритронона [10]. Однако механизм их взаимодействия остается не до конца изученным. Рассматривается данная проблема в двух аспектах: во-первых – оценка роли печени в функциях эритроцитарной системы, во-вторых – раскрытие патогенеза нарушений со стороны красной крови при поражениях печени и разработке на этой основе эффективных способов их лечения [2, 5].

Кроме того, известно, что состояние мембран эритроцитов отражает состояние и других клеточных мембран организма. Получены данные о корреляциях электрических и вязкоупругих свойств эритроцитов с функциональным состоянием печени при ее диффузных заболеваниях и изменениями липидного состава их мембран [6].

В условиях острой кровопотери как печень, так и эритроциты несут большую функциональную нагрузку в связи с чем представляет интерес изучение их антиоксидантной системы, выполняющей защитную функцию.

Цель исследования – изучение системы «перекисное окисление липидов (ПОЛ) – антиоксиданты» в печени и эритроцитах в условиях острой кровопотери.

Материалы и методы исследования

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

Исследовали содержание малонового диальдегида (МДА) [1] и активность каталазы [7] в печени

и эритроцитах, а также активность глутатионредуктазы (ГР) в эритроцитах [7]. Общее содержание белка в сыворотке крови определяли унифицированным методом по биуретовой реакции [7]. Процентное содержание фракций белков сыворотки крови определяли методом электрофореза на геле агарозы на аппарате Paragon фирмы Bectmen (США). Оценку электрофореграмм проводили с помощью денситометра [7]. Статистическая обработка полученных данных производилась по критерию Стьюдента. Статистическая значимыми считали

различия с $p < 0,05$. Экспериментальные исследования проводились с соблюдением биоэтических правил.

Результаты исследования и их обсуждение

Из полученных данных, представленных в табл. 1, видно, что содержание МДА в печени достоверно увеличивается, активность каталазы также достоверно возрастает.

Таблица 1

Содержание МДА и активность каталазы в печени белых крыс в условиях острой кровопотери ($M \pm m, n = 12$)

Показатель	Условия эксперимента		
	Интактные животные	6 ч после кровопотери	24 ч после кровопотери
МДА, мкмоль/г ткани	93,33 ± 17,96	212,73 ± 22,65* 227,93 %	167,37 ± 15,48* 179,33 %
Каталаза, ммоль/с/г ткани	3,2 ± 1,07	5,1 ± 0,66* 159,38 %	6,0 ± 0,45* 187,5 %

Примечания: * – достоверность различий по отношению к интактным животным, достоверны при $p < 0,05$; в % указаны изменения показателей относительно соответствующих значений интактных животных.

Усиление перекисного окисления липидов в печени, о чем свидетельствует повышение уровня МДА после острой кровопотери, может быть вызвано несколькими причинами. При острой кровопотере происходит нарушение кислородтранспортной функции крови [4]. Значительно уменьшается доставка кислорода к органам желудочно-кишечного тракта, в том числе печени, что приводит к гипоксии и ишемии печени. Гипоксия и ишемия органов являются одним из главных факторов, активирующих ПОЛ [3]. Установлено, что при различных видах стресса происходит активация ПОЛ в печени [9, 13]. Острая кровопотеря также сопровождается выраженной стрессорной реакцией, проявляющейся в значительном увеличении в крови концентрации катехоламинов, активирующих ПОЛ [12].

Как известно, восстановление жидкой части крови после кровопотери в значительной степени зависит от регенерации

белков плазмы. Основную роль при этом играет печень.

Белки плазмы крови могут инактивировать активные формы кислорода, а также связывать ионы переменной валентности, инициирующие образование активных форм кислорода [14], что позволило сформулировать представление об «антиоксидантной белковой буферной системе».

Таким образом, сыворотка обладает мощным антиоксидантным потенциалом, который в большей мере проявляют альбумин и β-глобулины, синтезируемые в печени [11]. В связи с этим представляет интерес выявить изменения соотношения фракций белков в сыворотке крови на фоне острой кровопотери.

Из данных нашего исследования, представленных в табл. 2, видно, что содержание общего белка в сыворотке крови крыс через 6 ч после кровопотери достоверно снижается на 13,11 %, а через 24 ч уже имеет тенденцию к нормализации.

Таблица 2

Влияние острой кровопотери на содержание общего белка и белковых фракций в сыворотке крови ($M \pm m, n = 9$)

Показатель	Интактные животные	Время после кровопотери, ч	
		6	24
Альбумины, %	47,53 ± 4,50	52,24 ± 6,71	49,96 ± 6,82
α-глобулины, %	12,56 ± 0,82	13,66 ± 3,49	15,34 ± 4,56
β-глобулины, %	6,33 ± 0,51	25,49 ± 3,41*	25,20 ± 2,94*
γ-глобулины, %	33,61 ± 2,36	8,63 ± 2,35*	9,30 ± 1,77*
Общий белок, г/л	70,8 ± 4,56	61,52 ± 4,41*	66,44 ± 4,41

Примечание. * – достоверность различий по отношению к интактным животным, достоверны при $p < 0,05$.

В содержании альбуминов и α -глобулинов в сыворотке крови прослеживается тенденция к увеличению на обоих сроках исследования по сравнению с их содержанием в сыворотке крови интактных крыс. В то же время, содержание β -глобулинов достоверно значительно увеличивается как через 6 ч после кровопотери в 4,03 раза, так и через 24 ч – в 3,98 раза.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что содержание β -глобулинов и γ -глобулинов в сыворотке крови крыс после кровопотери изменяется наиболее существенно, чем содержание других фракций. Содержание β -глобулинов значительно увеличивается, а γ -глобулинов – снижается после кровопотери на обоих изученных сроках. Таким образом, на фоне кровопотери происходит перераспределение синтеза отдельных белковых фракций.

Исследование влияния острой кровопотери на содержание в эритроцитах крыс продукта ПОЛ – МДА показало, что через 6 ч после кровопотери его концентрация достоверно возросла на 15,34%, через 24 ч мы наблюдали более существенное увеличение данного показателя: содержание МДА до-

стоверно возросло на 21,58% относительно исходных значений.

Изменение содержания МДА в эритроцитах приводит к изменению активности антиоксидантной защиты. Результаты исследования, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что через 6 ч острая кровопотеря привела к достоверному снижению на 24,67% активности ГР в эритроцитах белых крыс, по сравнению с исходными значениями.

Через 24 ч активность ГР повысилась относительно показателей животных через 6 ч после кровопотери на 8,43%, но осталась пониженной на 18,32% относительно показателей интактных животных.

Кроме того, наши исследования показывают изменение активности каталазы. Как свидетельствуют данные табл. 3, через 6 ч после кровопотери активность каталазы повысилась на 20,58%, а через 24 ч ее активность достоверно снизилась на 7,84% относительно показателей животных через 6 ч после кровопотери, но осталась выше показателей интактных животных на 11,22%. Увеличение активности каталазы, вероятно, может свидетельствовать об антиоксидантном резерве эритроцитов.

Таблица 3

Влияние острой кровопотери на систему «ПОЛ–антиоксиданты» в эритроцитах крыс ($M \pm m, n = 12$)

Показатель	Условия эксперимента		
	Интактные животные	6 ч после кровопотери	24 ч после кровопотери
МДА, мкмоль/л	573,25 ± 92	661,17 ± 77* 115,37%	696,98 ± 176* 112,58%
ГР, мкмоль/л	39,68 ± 7,49	29,89 ± 5,41* 75,32%	32,41 ± 7,37* 81,67%
Каталаза, ммоль/л	53,72 ± 4,79	64,83 ± 1,04* 20,68%	59,75 ± 7,48* 11,22%

Примечания: * – достоверность различий по отношению к интактным животным, достоверны при $p < 0,05$; в % указаны изменения показателей относительно соответствующих значений интактных животных.

Суммируя вышесказанное, можно отметить, что острая кровопотеря инициирует увеличение ПОЛ и изменение активности ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах крыс. Причинами усиления ПОЛ в эритроцитах могут быть: низкая функциональная активность глутатионредуктазной системы; стресс, сопровождающий кровопотерю [8]. 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. Известно, что при кровотечении происходит активация различных ферментных систем, а это приводит к накоплению

в крови биогенных аминов и других физиологически активных веществ, обладающих прооксидантным действием. Однако, в то же время, благодаря изменениям функциональной активности печени увеличивается антиоксидантный потенциал плазмы крови, оказывающий в первую очередь защиту на уровне эритроцитов. Антиоксидантная активность внутриклеточной среды эритроцитов повышается за счет каталазы. В свою очередь, защита эритроцитов благоприятно повлияет на функциональное состояние печени, т.к. будет сохранена кислород-транспортная функция крови, уменьшится степень микроциркуляторных нарушений и уровень тканевой гипоксии печени. Вероятно, подобные позитивные изменения ком-

понентов антиоксидантной защиты способны адаптации и выживаемости клеток в неблагоприятных условиях.

Выводы

1. На фоне острой кровопотери на обоих изученных сроках (6 и 24 ч) установлено достоверное увеличение уровня МДА в печени и эритроцитах и статистически значимое повышение каталазы в них, что свидетельствует о переходе системы «ПОЛ–антиоксиданты» на более функциональный функциональный уровень.

2. Возникшая на фоне острой кровопотери гипоксия сопровождается увеличением белкового антиоксидантного потенциала сыворотки крови.

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. Байбеков И.М., Ибадов Р.А., Гизатулина Н.Р. Морфология эритроцитов периферической крови как критерий эффективности интенсивной терапии у больных циррозом печени // Лазерная медицина. – 2010. – Т.14, №3. – С. 11–15.
3. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). – М.: Медицина, 1989. – 368 с.
4. Зинчук В.В., Ходосовский М.Н. Участие кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени // Успехи физиологических наук. – 2006. – Т. 37, №4. – С. 45–57.
5. Иванова С.В. Оценка структурного состояния липидной фазы мембран эритроцитов при заболеваниях печени флуоресцентным методом // Вестник ВГМУ. – 2008. – Т.7, №3 – С. 1–9.
6. Курилович С.А., Кручинина М.В., Громов А.А. Обоснование применения эссенциальных фосфолипидов при хронических заболеваниях печени: динамика электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2010. – №11. – С. 46–52.
7. Медицинские лабораторные технологии: справочник / под ред. А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – Т. 2. – 656 с.
8. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Физиология и патофизиология эритроцитов. – Томск, 2004. – 202 с.
9. Нестеров Ю.В., Чумакова А.С., Турченко Н.В. Влияние стресс-индуцированных воздействий разной модальности и антиоксиданта на свободнорадикальные процессы в легких и печени белых крыс // Естественные науки. – 2010. – № 3. – С. 122–126.
10. Сысуева А.В. Изменение морфометрических показателей эритроцитов крови при патологиях печени у собак и кошек // Ветеринарная медицина. – 2008. – №4. – С. 30–34.
11. Тугушева Ф.А., Зубина И.М., Митрофанова О.В. Оксидативный стресс и хроническая болезнь почек // Нефрология. – 2007. – Т. 11, №3. – С. 29–47.
12. Хидирова Л.Д. Изменение баланса между активностью перекисного окисления липидов, антиоксидантной защитой и содержанием железа у крыс при экспериментальном инфаркте миокарда // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2010. – Т. 2, № 25. – С. 216–219.
13. Чумакова А.С., Теплый Д.Л., Нестерова Ю.В. Изменение свободнорадикальных процессов в различных ор-

ганах крыс разного возраста при остром стрессе // Биологические исследования. – 2009. – №4. – С. 34–37.

14. Descamps – Latscha B, Khoa Th.N., Witko-Sarsat V. Oxidative stress and cardiovascular disease in end – stage renal failure // Cardiovascular disease in end – stage failure renal failure / Ed. By. Loscaizo J. and London G.M. – New York: Oxford University Press, 2000. – P. 245–271;

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. Baybekov I.M., Ibadov R.A., Gizatulina N.R., Khashimov Sh.Kh., Strizhkov N.A. *Lazernaya meditsina-Laser medicine*, 2010, no.3, pp. 11–15.
3. Bilenko M.V. *Ishemicheskie I reperfuzionnye povrezhdeniya organov* [Ischemic and reperfusion injury of organs]. Moscow, Medicine Publ., 1989. 368 p.
4. Zinchuk V.V., Khodosovskiy M.N. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk-Successes of physiological sciences*, 2006, no.4, pp. 45–57.
5. Ivanova S.V. *Vestnik VGMU-Messenger VSMU*, 2008, no.3, pp. 1–9.
6. Kurilovich S.A., Kruchina M.V., Gromov A.A., Generalov V.M., Bakirov T.S., Rikhter V.A., Semenov D.V. *Jeksperimentalnaya I klinicheskaya gastrojenterologiya-Experimental and clinical gastroenterology*, 2010, no. 11, pp. 46–52.
7. Karpischenko A.I. *Meditsinskie laboratornye tekhnologii: (spravochnik)* [Medical laboratory technologies: reference book]. St. Petersburg, Intermedika Publ., 1999. 656 p.
8. Novitskiy V.V., Ryazantseva N.V., Stepovaya E.A. *Fiziologiya I patofiziologiya eritrotsytov* [Physiology and pathophysiology of erythrocytes]. Tomsk, 2004. 202 p.
9. Nesterov Yu.V., Chumakova A.S., Turchenko N.V. *Estestvennye nauki-Natural sciences*, 2010, no. 3, pp. 122–126.
10. Sysueva A.V. *Veterinarnaya meditsina-Veterinary medicine*, 2008, no. 4, pp. 30–34.
11. Tugusheva F.A., Zubina I.M., Mitrofanova O.V. *Nefrologiya-Nephrology*, 2007, no.3, pp. 29–47.
12. Khidirova L.D. *Ratsionalnaya farmakoterapiya v kardiologii-Rational pharmacotherapy in cardiology*, 2010, no. 25, pp. 216–219.
13. Chumakova A.S., Teplyy D.L., Nesterova Yu.V. *Biologicheskie issledovaniya-Biological research*, 2009, no.4, pp. 34–37.
14. Descamps – Latscha B, Khoa Th.N., Witko-Sarsat V. Oxidative stress and cardiovascular disease in end – stage renal failure // Cardiovascular disease in end – stage failure renal failure / Ed. By. Loscaizo J. and London G.M. New York: Oxford University Press, 2000. pp. 245–271.
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 ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова», г. Ульяновск;

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

Работа поступила в редакцию 10.07.2012.