

УДК 612.273:612.015.32:612.111

ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В СИСТЕМЕ «СЫВОРОТКА КРОВИ - ЭРИТРОЦИТ» ПРИ ОСТРОЙ ЦИРКУЛЯТОРНОЙ ГИПОКСИИ

Генинг Т.П., Ксейко Д.А.

Ульяновский Государственный Университет, Ульяновск

Изучено влияние острой циркуляторной гипоксии на перекисное окисление липидов в системе «сыворотка крови - эритроцит». Показано, что острая кровопотеря сопровождается увеличением уровня малонового диальдегида во всех компонентах системы. Одновременно изменяется активность каталазы, глутатионредуктазы и «антиоксидантной белковой буферной системы», что может свидетельствовать об активации антиоксидантной защитной системы.

Гипоксия - состояние, возникающее как в условиях дефицита кислорода во внешней среде, так и в результате ряда патологических процессов [8]. Особое место занимает циркуляторная гипоксия, обусловленная несостоятельностью системной гемодинамики и возникающая вследствие травм, в акушерско-гинекологической практике, в хирургии. Установлена активация свободнорадикальных процессов при циркуляторной гипоксии, которая вызывает накопление продуктов перекисного окисления липидов [2,12]. Состояние антиоксидантной системы защиты при гипоксии изучено недостаточно. Изучение данных показателей в системе «сыворотка крови - эритроцит» представляет особый интерес, поскольку компоненты этой системы страдают в первую очередь и несут основную функциональную нагрузку при острой циркуляторной гипоксии.

Целью данной работы было изучение состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС) у крыс при острой циркуляторной гипоксии (ОЦГ).

В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**:

1. Получена модель циркуляторной гипоксии на крысах;
2. Изучена активность ПОЛ по содержанию конечного продукта процесса - малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови и эритроцитах крыс через 6 и 24 ч после кровопотери;
3. Оценен уровень активности антиоксидантной системы по активности каталазы плазмы и эритроцитов, по активности глутатионредуктазы в сыворотке крови и эритроцитах крыс, по состоянию «антиоксидантной белковой буферной системы» на тех же сроках после кровопотери.

Объект и методы исследования.

Работа выполнена на белых беспородных крысах массой 240-280г. Циркуляторную гипоксию вызывали кровопусканием через катетер [13]. Животные были разделены на 3 группы, 1-ая группа - интактные животные, 2-ая и 3-я группы - крысы с кровопотерей.

Исследовали содержание МДА [П], активность каталазы [11] и глута-тионредуктазы (ГР) [17] в сыворотке, плазме и эритроцитах крыс. Процентное содержание фракций белков сыворотки крови определяли методом электрофореза на гелях агарозы на аппарате Paragon фирмы Bectmen (США).

Результаты исследования.

Из сравнения экспериментальных данных с контролем видно, что увеличилась концентрация МДА в сыворотке крови и эритроцитах. Так, содержание МДА в эритроцитах увеличивается через 6ч на 15%, через 24ч - на

22%. Вместе с тем, отмечено достоверное увеличение концентрации МДА в сыворотке крови через 6ч на 20%, а через 24ч - на 29%.

Содержание МДА увеличивается на фоне снижения активности ГР: через 6ч ее активность в сыворотке крови достоверно снизилась на 77%, а через 24ч - на 66%. В то же время, в эритроцитах ее активность через 6ч достоверно снизилась на 25%, а через 24ч - на 18%.

Активность каталазы в плазме крови крыс тоже снизилась: через 6ч - на 81%, а через 24ч - на 63%. В эритроцитах увеличение концентрации МДА сопровождается достоверным повышением активности каталазы через 6ч -на 21%, а через 24ч - на 11%, что, вероятно, может свидетельствовать об антиоксидантном резерве эритроцитов.

Полученные данные приведены в таблице.

Таблица № 1. Влияние ОЦГ на показатели ПОЛ - АОС у крыс.

Показатель	Условия эксперимента		
	Интактные животные	Через 6ч после ОЦГ	Через 24ч после ОЦГ
ЭРИТРОЦИТЫ			
МДА, мкмоль/л	573,25 ± 92(12)	661,17 ± 77 (12) 0,01<P<0,05	696,98 ± 176(12) 0,01<P<0,05
ГР, мкмоль/л	39,68 ± 7,49 (12)	29,89 ± 5,41 (12) P< 0,001	32,41 ± 7,37 (12) 0,001<P<0,01
Каталаза, ммоль/л	53,72 ± 4,79 (12)	64,83 ± 1,04 (12) P<0,001	59,75 ± 7,48 (12) 0,01<P<0,05
СЫВОРОТКА КРОВИ			
МДА, мкмоль/л	9,86 ± 1,32 (12)	11,8710,69(12) P< 0,001	12,71 ± 1,14 (12) P< 0,001
ГР, мкмоль/л	0,26 ± 0,14 (9)	0,05910,014(9) P< 0,001	0,089 ± 0,034 (9) 0,001< P<0,01
ПЛАЗМА			
Каталаза, ммоль/л	0,24 ± 0,092 (12)	0,046 ± 0,024 (12) P< 0,001	0,088 ± 0,011 (12) P< 0,001

Примечание: в скобках - число животных в серии.

Кроме того, белки плазмы крови могут инактивировать активные формы кислорода, а также связывать ионы переменной валентности, инициирующие образование активных форм кислорода [14], что позволило даже сформулировать представление об "антиоксидантной белковой буферной системе", оказывающей в первую очередь защиту на уровне эритроцитов, предотвращая их гемолиз в результате активации ПОЛ [6].

В связи с этим было интересно выяснить, как изменяется процентное содержание каждой отдельной фракции белков.

Как видно из таблицы №2, реализация модели острой циркуляторной гипоксии существенно изменяла содержание фракций белков

сыворотки крови. Так, содержание альбуминов через 6ч после острой кровопотери достоверно увеличилось в среднем в 1,18 раза, через 24ч - в 1,17 раза по сравнению с контрольной группой. Содержание α -глобулина достоверно возросло в 1,14 раза только через 6ч после острой кровопотери, а через 24ч их процентное содержание не отличалось от показателей животных контрольной группы. Также достоверно возросло процентное содержание β -глобулина в 4 раза по сравнению с показателями интактных животных. Процентное содержание γ -глобулина также достоверно увеличилось в 2,5 раза и 2,61 раза соответственно срокам исследований по сравнению с контрольной группой.

Таблица №2. Процентное содержание фракций белков в сыворотке крови при ОЦГ (M±m, n = 5-6)

Показатель	Интактные животные	Время ОЦГ, ч	
		6	24
Альбумины	46,6 ± 4,3	55,0± 6,2 0,01<P<0,05	54,3±3,3 0,001<P<0,01
α -глобулин	13,1±1,15	14,9±4,5 P>0.1	13,2±1,2 P>0,1
β -глобулин	6,3± 0,8	25,49± 4,1 P<0,001	25,2±4,1 P<0,001
γ -глобулин	3,45±2,3	8,63±3,0 P<0,001	9,0±1,3 P<0,001

Таким образом, острая циркуляторная гипоксия инициирует увеличение МДА как в сыворотке крови, так и эритроцитах. На усиление ПОЛ указывает также изменение активности антиоксидантной системы. Это может быть вызвано несколькими причинами.

При острой кровопотере происходит нарушение кислороднотранспортной функции крови [7,10]. Значительно уменьшается доставка кислорода к органам, что приводит к их гипоксии и ишемии. Последнее является одним из главных факторов, активизирующих ПОЛ [3],

которое приводит к повышению проницаемости мембран клеток [5].

Кроме того, установлено, что различные виды стресса инициируют ПОЛ [9]. Острая кровопотеря также сопровождается выраженной стрессорной реакцией, которая проявляется в значительном увеличении в крови концентрации катехоламинов[4], оказывающих повреждающее действие на органы и ткани организма [18].

В механизме гипоксии наряду с другими факторами имеют значение структурно-функциональные нарушения организации эритроцитов, которые могут быть вызваны активацией процессов ПОЛ [2]. Причин усиления ПОЛ в эритроцитах может быть несколько. Ряд авторов считает, что детоксикацию перекисных радикалов в эритроцитах обеспечивают, главным образом, липидная антиоксидантная система токоферола и нелипидная - глутатиона [15]. При активации ПОЛ происходит расходование токоферола [5]. Низкая функциональная активность глутатионредуктазной системы является метаболическим фактором риска, вызывающим структурно-функциональные изменения эритроцитов [16]. Усиление ПОЛ приводит к повышенной проницаемости мембран клеток [5].

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 на эритроциты остаются неясными. 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 [2].

Вывод

Таким образом, острая циркуляторная гипоксия инициирует увеличение ПОЛ и изменение активности ферментов антиоксидантной защиты в системе "сыворотка крови - эритроцит". А именно активность этих ферментов в сыворотке крови уменьшается при одновременном усилении "антиоксидантной белковой буферной системы".

Список литературы

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Киликун А.А. // Лабораторное дело.- 1988.- №11.- С.41-43;

2. Бех Н.Д., Басистюк И.И., Корда М.М., Мартынюк А.Е. // Врачебное дело.- 1989.- №10.- С.25-28;

3. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов.- М.: Медицина, 1989.- 368с.;

4. Вагнер Е.А., Заугольников В.С., Ортенберг Я.А., Тавровский В.М. Инфузионно-трансфузионная терапия острой кровопотери - М.: Медицина, 1986.- 160с.;

5. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972.- 250с.;

6. Говорова Н.Ю., Шаронов Б.П., Лызлова С.Н. Окислительное повреждение эритроцитов миелопероксидазой. Защитное действие сывороточных белков // Бюллетень экспериментальной биологии.-1989.- №4.- С.428-430;

7. Климанский В.А., Рудаев Я.И. Трансфузионная терапия при хирургических заболеваниях. - М.: Медицина, 1984.- 256с.;

8. Лукьянова Л.Д. // Вестник РАМН.- 2000.- №9. - С.3-12;

9. Малышев В.Д., Потапов А.Ф., Трепилец В.Е., Шило В.Ю. // Анестезиология и реаниматология.- 1994.- №6.- С. 53-58;

10. Матвеев С.Б., Марченко В.В., Давыдов Б.В. // Хирургия.- 1984.-№9.- С.72-74;

11. Медицинские лабораторные технологии: Справочник / Под ред. А.И.Карпищенко. - СПб, 1999.-С.27-28;

12. Пахомова Г.В., Утешев Н.С., Лебедев А.Г. и др. Энтеральная коррекция показателей кислородного гомеостаза и ПОЛ у больных гастродуоденальными кровотечениями // Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция: Материалы Всероссийской конференции.- М., 1997. - С.93;

13. Abel F.L., Merphy Q.R. Mesenteric, renal, and iliac vascular resistance in dog after hemorrhage. Am J. Physiol., 1962, 202,978;

14. Descamps - Latscha B., Khoa Th.N., Witko-Sarsat V.et al. 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. Galli C., Socini A. - Acta vitaminol. enzymol., 1982, vol.4, P.245;

16. Grimes A.J. Human red cell metabolism. Blackwell. Scientific publications. Oxford. London. Edinburg. Melbourne, 1980;

17. Horn H., Bruns F. Biochem Z. - 1958 - Bd 64 - S.315;

18. Rona G. // I bid.-1985.-Vol. 17, № 2. - P. 291-306.

Indices of lipid peroxidation and antioxidant protection in the system "blood serum - erythrocyte" in the case of acute circulatory hypoxia

Gening T.P., Kseiko D.A.

The effect of acute circulatory hypoxia on the lipid peroxidation was studied in the system "blood serum - erythrocyte". The acute blood loss proved to be accompanied by increasing of the level of TBA-active product in all components of the system. Simultaneously the activity of catalase, glutathionereductase and "antioxidant protein buffer system" is changing. It can be the evidence of activation of the antioxidant protective system.