

## АКТИВАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ – ЭФФЕРЕНТНОЕ ЗВЕНО ДЕЗИНТЕГРАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Бизенкова М.Н., Чеснокова Н.П., Романцов М.Г., Невважай Т.А., Бизенков К.А.

*ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ» Росздрава*

В опытах на беспородных белых мышах с экспериментальной острой гипоксической гипоксией обнаружено резкое увеличение содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации – диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) на фоне подавления активности ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови. Показатели содержания в крови МДА, ДК, SH – групп, молекул средней массы (МСМ), а также активности супероксиддисмутазы (СОД) могут быть использованы в качестве объективных чувствительных критериев оценки тяжести метаболических расстройств при острой гипоксической гипоксии, а также эффективности использования в комплексной терапии гипоксических состояний антигипоксантов, антиоксидантов, мембранопротекторов.

Как известно, гипоксия – типовой патологический процесс, осложняющий течение различных заболеваний инфекционной и неинфекционной природы, определяющий в значительной мере тяжесть течения патологии и ее исход [4,6,10].

Острая гипоксия может носить экзогенный и эндогенный характер, возникать в процессе развития обструктивных и рестриктивных форм дыхательной недостаточности, как следствие нарушения нервной и гуморальной регуляции дыхания, системных или локальных нарушений гемодинамики, микроциркуляции, утилизации кислорода в тканях и т.д.

В последние годы в связи с возникновением экстремальных, экологических и социально-политических ситуаций, все большее значение приобретает целесообразность исследования патогенеза метаболических расстройств при экзогенной гипоксической гипоксии, а также выявление принципиальных возможностей их медикаментозной коррекции с использованием антигипоксантов, антиоксидантов, мембранопротекторов [7].

Результаты проведенных нами ранее исследований [1] убедительно свидетельствуют о том, что в условиях экспериментальной острой экзогенной гипоксической гипоксии у белых мышей возникало резкое увеличение содержания гидроперекиси липидов (ГПЛ) и МДА в тканях коры головного мозга при одновременном снижении активности каталазы.

**Целью** настоящего исследования явилась дальнейшая оценка характера и механизмов развития метаболических расстройств у экспериментальных животных при острой гипоксической гипоксии по ряду интегративных показателей содержания в крови продуктов липопероксидации, а также активности антиоксидантной системы крови.

### Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 240 беспородных белых мышах массой 20 – 22г, включающих 2 группы наблюдения: контрольную и с острой гипоксической гипоксией. Каждая группа была разделена на 8 подгрупп, включающих по 15 мышей в каждой, для определения соответствующих метаболических параметров. Острую гипоксию моделировали, помещая животного в герметически закрытый сосуд, объемом 250 мл.

Изучены следующие показатели:

- об активности процессов липопероксидации судили по уровню содержания в крови ГПЛ и МДА, определяемых общепринятыми спектрофотометрическими методами исследования [3,9];
- о состоянии ферментного звена антиоксидантной системы крови судили по активности СОД и каталазы, определяемых соответственно спектрофотометрическими методами исследования в модификации Fried R. et al., 1975; Conen S. et al., 1970.
- одновременно определяли содержание в крови витамина Е [2], уровень общих сульфгидрильных групп (- SH-) групп [11], перекисную резистентность эритроцитов [8].

Интегративным показателем состояния аутоинтоксикации явилось определение молекул средней массы (МСМ) в крови [5].

Результаты исследований были подвергнуты статистическому анализу с помощью программ Statistica 99 (Версия 5.5 А, «Statsoft, Inc», г. Москва, 1999); «Microsoft Excel, 97 SR-1» (Microsoft, 1997). Проведен расчет коэффициентов линейной корреляции.

### Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования позволили выявить ряд закономерных вторичных неспецифических расстройств, развивающихся уже спустя 30 мин с момента развития острой гипоксической гипоксии: так, чувствительным критерием гипоксического синдрома явилось резкое увеличение содержания в крови ДК и МДА (табл.1).

Касаясь механизмов избыточного накопления продуктов липопероксидации в крови в условиях гипоксической гипоксии, необходимо отметить возможность развития блокады конечного звена дыхательной цепи в связи с дефицитом кислорода и соответственно разгрузки дыхательной цепи от постоянно пополняющих ее электронов за счет «утечки» электронов по пути следования к цитохромоксидазе. При этом возможно одноэлектронное восстановление кислорода на убихиноне с образованием супероксидного анион – радикала и перекиси водорода [4,7].

Образование супероксид – анион радикала в условиях гипоксии может быть связано и с усилением распада адениловых нуклеотидов, избыточным накоплением ксантина и гипоксантина, усилением трансформации ксантидегидрогеназы в ксантиоксидазу с последующим образованием активных форм кислорода (АФК) в процессе метаболизма гипоксантина. В свою очередь, под влиянием АФК происходит отрыв атомов водорода от молекул полиненасыщенных жирных кислот, прежде всего, находящихся в  $\alpha$  – положении по отношению в двойной связи, что приводит к перемещению этой двойной связи с образованием диенового конъюгата. При дальнейшей окислительной дегенерации клеточных структур возникает образование высокотоксичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – альдегидов, кетонов, спиртов [10].

В последующем представлялось целесообразным выяснить состояние ферментного и неферментного звеньев антирадикальной защиты клеток в условиях острой гипоксии, для чего исследованы активность СОД, каталазы, уровень витамина Е и общих SH – групп крови, а также перекисная резистентность эритроцитов (ПРЭ).

Как оказалось, активность СОД цельной крови при острой гипоксической гипоксии резко снижалась, в то время как активность каталазы возрастала (табл. 1).

Известно, что уровень активности внутриклеточных ферментативных антиоксидантных систем, в частности, СОД и каталазы, генетически детерминирован. Причем, избыточное накопление в клетках супероксидного анион – радикала или перекиси водорода сопровождается депрессией участков генома, ответственных за активность ферментов антирадикальной защиты клеток. В связи с этим очевидно, что обнаруженное нами возрастание активности каталазы носит адаптивно – компенсаторный характер в ответ на образование АФК [4,6,10].

Активированная в условиях острой гипоксии каталаза разлагает перекись водорода, в то же время окисленная в этой реакции каталаза функционирует как пероксидаза, субстратами действия которой могут быть этанол, метанол, формальдегид и другие доноры водорода.

Как известно, СОД существенно ускоряет дисмутацию супероксидного анион – радикала, в процессе которой образуется перекись водорода. Последняя восстанавливается до воды в основном при участии каталазы и глутатионпероксидазы [10].

Выявленный нами факт подавления активности СОД свидетельствует о быстром срыве генетически детерминированных механизмов адаптации и избыточном накоплении в условиях острой гипоксической гипоксии супероксидного анион – радикала. Последний относится к наиболее стабильным соединениям, обладает способностью диффундировать с места генерации через клеточные и внутриклеточные мембраны либо путем пассивной диффузии, либо по анионным каналам, вызывая цитотоксический эффект.

Как показали результаты проведенных нами исследований, характерным метаболическим признаком острой гипоксии является снижение содержания общих SH – групп в крови (табл. 1). Как известно, SH – соединениям, к числу которых относится глутатион, цистеин, цистин, метионин, отводится ведущая роль в защите клеток от гидроксильного радикала [11].

Снижение содержания в крови SH – групп убедительно свидетельствует о быстроразвивающейся в условиях гипоксии абсолютной недостаточности антирадикальной защиты клеток.

Подтверждением этого положения является резкое снижение содержания витамина E в сыворотке крови при гипоксической гипоксии. Витамин E, как известно, имеет важное биологическое значение и определенные особенности метаболизма. Этот витамин жирорастворим, его основная локализация - гидрофобный слой биологических мембран, где он инактивирует, главным образом, радикалы жирных кислот [2].

Выявленный нами дефицит ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови является одним из ведущих механизмов цитолиза клеток, в частности, эритроцитов в условиях острой гипоксии. Об этом свидетельствует выраженное снижение осмотической резистентности эритроцитов и соответственно возрастание процента гемолизированных эритроцитов при острой гипоксии (табл. 1).

Закономерным признаком аутоинтоксикации при острой гипоксии является увеличение содержания в крови молекул средней массы (500 – 5000Д), что свидетельствует об активации катаболических реакций, избыточном образовании продуктов распада клеток.

**Выводы:**

1. Развитие острой экзогенной экспериментальной гипоксической гипоксии сопровождается аутоинтоксикацией, интенсификацией процессов липопероксидации, избыточным накоплением в крови МСМ, цитотоксических метаболитов (МДА и ДК), уже через 30 мин с момента развития патологии.

2. Активация процессов липопероксидации, дестабилизации биологических мембран при острой гипоксической гипоксии связана с развитием недостаточности ферментного и неферментного звеньев антирадикальной системы крови, на что указывают дефицит витамина E, снижение активности СОД, уровня SH – групп крови, снижение перекисной резистентности эритроцитов.

3. Высокочувствительными информативными критериями развития метаболических расстройств при острой гипоксической гипоксии и оценки эффективности терапии являются показатели содержания в крови МДА, ДК, SH – групп, витамина E и активности СОД.

**Таблица 1.** Показатели состояния процессов липопероксидации и активности антиоксидантной системы крови при острой экспериментальной гипоксической гипоксии

Группы наблюдения  Изучаемые показатели	Контроль	Острая гипоксическая гипоксия	
	М±m	М±m	p
Малоновый диальдегид (МДА), мкмоль/мл	3,42±0,062	6,785±0,3747	p<0,001
Гидроперекиси липидов (ГПЛ), ед/мл цельной крови	3,46±0,074	5,53±0,164	p<0,001
МСМ, ед. экс. сыворотка крови	0,23±0,004	0,264±0,0016	p<0,001
SH-группы, ммоль/л, крови	2,27±0,073	0,95±0,057	p<0,001
Каталаза, мкЕ/л, цельная кровь	2,91±0,083	4,58±0,253	p<0,001
Супероксиддисмутаза (СОД), ед/мл, цельная кровь	415,9±10,06	351,5±18,85	p<0,001
ПРЭ, у.е.	1,64±0,092	2,23±0,129	p<0,005

<b>Витамин Е, у.е., сыворотка крови</b>	24,71±1,102	17,87±1,054	p<0,001
---	-------------	-------------	---------

Примечание: n - во всех группах наблюдения – 16; p – рассчитано по отношению к контролю.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бизенкова М.Н., Романцов М.Г., Чеснокова Н.П. Метаболические эффекты антиоксидантов в условиях острой гипоксической гипоксии / Фундаментальные исследования. – 2006. – №1. – С. 17-22.
2. Габриэлян Н.И. Методы определения витамина Е в сыворотке крови / Н.И. Габриэлян, Э.Г. Левицкий, О.И. Щербакова // Тер. архив. – 1983. - №6. – С. 76 – 78.
3. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мешкорудная // Лаб. дело. – 1983. - №3. – С. 33-35.
4. Зайцев В.Г., Закревский В.И. Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // Вестник Волгоградской медицинской академии (ВМА; Тр., т. 54, вып. 4) – Волгоград, 1998. – С. 49-53.
5. Ковалевский А.Н. Замечания по скрининговому методу определения молекул средних масс / А.Н. Ковалевский, О.Е. Нифантьев // Лаб. дело. – 1989. – №10. – С. 35-39.
6. Патологическая физиология и биохимия: Учебное пособие для ВУЗов / - М.: Издательство «Экзамен». 2005. – 480с. – с.140-151.
7. Петрович Ю. А., Гуткин Д. В. Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. -1986. -N 5. -С. 85-92.
8. Покровский А.А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов / А.А. Покровский, А.А. Абраров // Вопр. питания. – 1964. - №6. – С. 44-49.
9. Суплонов С.Н. Суточные и сезонные ритмы перекисей липидов и активности супероксиддисмутазы в эритроцитах у жителей средних широт и Крайнего Севера / С.Н. Суплонов, Э.Н. Баркова // Лаб. дело. – 1986. - №8. – С. 459 – 463.
10. Типовые патологические процессы / Н.П. Чеснокова: Монография // Издательство Саратовского медицинского университета. 2004. – 400 с. - С. 132-136.
11. Фоломеев В.Ф. Фотоколориметрические ультрамикрометод количественного определения сульфгидрильных групп белка и небелковых соединений крови / В.Ф. Фоломеев. // Лаб.дело. – 1981. - №1. – С. 33-35.