

УДК 612.35:612.26

## ВЛИЯНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

**Ксейко Д.А., Генинг Т.П., Бурнашев Р.Р., Шарафутдинов А.И.**

*ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», Институт медицины, экологии и физической культуры, Ульяновск, e-mail: ybrf4@rambler.ru*

Цель исследования – изучение влияния направленного транспорта аскорбиновой кислоты на повышение адаптационных возможностей печени в условиях гипоксии. Процесс адаптации к стрессорным факторам, в том числе к гипоксии, реализуется путем активации синтеза нуклеиновых кислот и белков в различных тканях, ответственных за адаптацию. Печень играет центральную роль в осуществлении основных звеньев межклеточного обмена, в обеспечении других органов и тканей пластическими и энергетическими веществами. Для коррекции гипоксии печени была использована аскорбиновая кислота. Получение эритроцитарных контейнеров с аскорбиновой кислотой производилось методом гипотонического лизиса. Показано, что из используемых доз аскорбиновой кислоты максимальный адаптационный эффект вызывает – 100 мг/кг, т.к. при ее использовании увеличивалось общее содержание белка за счет повышения процентного содержания альбуминов и сохранения повышенного уровня β-глобулинов в сыворотке крови.

**Ключевые слова:** печень, кровопотеря, гипоксия, синтез белка, аскорбиновая кислота, альбумин, глобулины, белковый обмен, направленный транспорт, эритроциты

## INFLUENCE OF ASCORBIC ACID ON THE ADAPTATION POSSIBILITIES OF THE LIVER IN THE HYPOXIA CONDITIONS

**Kseyko D.A., Gening T.P., Burnashev R.R., Sharafutdinov A.I.**

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

The aim of the research is to study the influence of directed transport of ascorbic acid for increase of the adaptation possibilities of the liver in the hypoxia conditions. The process of adaptation to the stress factors, including hypoxia, implemented by activating the synthesis of nucleic acids and proteins in various tissues responsible for adaptation. The liver plays a central role in the realization of the main links intermediate metabolism in supply other organs and tissues of plastic and energy substances. In order to correct the hypoxia of the liver it is pathogenetically advisable to use substances that stabilizing metabolism and membrane of hepatocyte. As such a substance selected ascorbic acid – this polyfunctional substance with an exceptionally broad spectrum antihypoxic action. The erythrocytic containers with ascorbic acid were produced according to the method of hypotonic lysis. It has been shown that maximal adaptive effect of the used doses has 100 mg/kg, as when using it total protein content increased by raising the percentage of albumin and preservation of high-level β-globulin in blood serum.

**Keywords:** liver, blood loss, hypoxia, protein synthesis, ascorbic acid, albumin, globulin, protein metabolism, directed transport, erythrocytes

Кровопотеря остается одной из сложных и актуальных проблем. Продолжаются дискуссии как о патогенезе симптомокомплекса кровопотери, так и о методах ее лечения.

Кровопотеря вызывает нарушения гомеостаза, при этом особого внимания требуют процессы, характеризующие адаптивные возможности организма. Процесс адаптации к стрессорным факторам, в том числе к гипоксии, реализуется путем активации синтеза нуклеиновых кислот и белков в различных тканях, ответственных за адаптацию [8]. Известно, что печень играет центральную роль в осуществлении основных звеньев межклеточного обмена, в обеспечении других органов и тканей пластическими и энергетическими веществами [6].

С целью коррекции гипоксии печени патогенетически целесообразно применение средств, стабилизирующих метаболизм и мембрану гепатоцита. В качестве такого вещества нами выбрана аскорбиновая кислота (АК) – это полифункциональное вещество с исключительно широким спектром

антигипоксического действия [3]. Направленный транспорт лекарственных веществ в печень в аутологичных эритроцитарных контейнерах возможен благодаря их тропности к клеткам Купфера [9].

**Цель исследования** – оценить влияние аскорбиновой кислоты на адаптационные возможности печени в условиях гипоксии.

### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на белых беспородных крысах массой 240–280 г. Гипоксию вызывали кровопусканием через катетер [10]. Объем кровопотери составил 2% от массы животного. Животные были разделены на следующие группы: 1-ая группа – интактные животные, 2-я группа – крысы с кровопотерей (материал для исследования брали через 6 и 24 ч после кровопотери), 3-я группа – контрольная (интактные крысы, получавшие АК путем направленного транспорта), 4-я группа – животные с кровопотерей, получавшие АК путем направленного транспорта. Получение эритроцитарных контейнеров (ЭК) с АК производилось методом гипотонического лизиса в модификации Т.П. Генинг [2]. ЭК с АК вводили внутривенно в дозах 25, 50 и 100 мг/кг однократно через 10 мин после кровопотери.

Общее содержание белка в сыворотке крови определяли унифицированным методом по биуретовой реакции [4]. Процентное содержание альбуминов и β-глобулинов в сыворотке крови определяли методом электрофореза на геле

агарозы на аппарате Paragon фирмы Bectmen (США). Оценку электрофоретических картинок проводили с помощью денситометра. 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

Из данных нашего исследования, представленных в табл. 1, 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.

Снижение белоксинтезирующей способности печени может быть вызвано несколькими причинами. В результате перераспределения органного кровотока кровоснабжение, в частности, печени по ее микроваскулярному руслу ограничивается, в том числе за счет артериоло-веноулярного шунтирования. В результате чего в органе развивается вторичная тканевая гипоксия, уменьшаются энергетические ресурсы

клетки, что приводит к разнообразным расстройствам функций печени [5].

Одним из ведущих патогенетических механизмов развития поражений печени при кровопотере является активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Образовавшиеся в процессе развития ПОЛ диеновые конъюгаты и малоновый диальдегид в больших концентрациях обладают выраженной цитотоксичностью, тем самым подавляют процессы гликолиза и окислительного фосфорилирования, ингибируют синтез белка, подавляют активность цитозольных и мембраносвязанных ферментов [1].

В содержании альбуминов в сыворотке крови прослеживается лишь тенденция к увеличению на обоих сроках исследования по сравнению с их содержанием в сыворотке крови интактных крыс.

В то же время содержание  $\beta$ -глобулинов достоверно увеличивается через 6 ч после кровопотери в 4,03 раза, через 24 ч – в 3,98 раза.

Таблица 1

Содержание общего белка, альбуминов и  $\beta$ -глобулинов в сыворотке крови белых крыс в условиях кровопотери ( $M \pm m, n = 12$ )

Показатель	Условия эксперимента		
	Интактные животные	6 ч после кровопотери	24 ч после кровопотери
Общий белок, г/л	70,8 ± 4,56	61,52 ± 4,41*	66,44 ± 4,41
Альбумины, %	47,53 ± 4,50	52,24 ± 6,71	49,96 ± 6,82
$\beta$ -глобулины, %	6,33 ± 0,51	25,49 ± 3,41*	25,20 ± 2,94*

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

В табл. 2 показано, что однократное введение АК в дозе 25 мг/кг через 6 ч после кровопотери привело к достоверному повышению общего белка в сыворотке крови как по сравнению с интактными живот-

ными, так и по сравнению с животными с кровопотерей соответственно на 7,97% и на 24,25%. Через 24 ч содержание белка в сыворотке крови не отличалось от их содержания у интактных животных.

Таблица 2

Влияние адресной доставки аскорбиновой кислоты в печень в дозировках 25, 50, 100 мг/кг на содержание общего белка (г/л) в сыворотке крови белых крыс ( $M \pm m, n = 12$ )

№ п/п	Условия эксперимента	Дозы аскорбиновой кислоты		
		25 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг
1.	Контроль	69,50 ± 2,60	71,99 ± 4,52	75,90 ± 4,33*
2.	Направленный транспорт (6 ч)	76,44 ± 2,22* ^	78,00 ± 4,47* ^	79,89 ± 4,88* ^
3.	Направленный транспорт (24 ч)	72,89 ± 1,83 ^	76,82 ± 4,05* ^	79,82 ± 2,97* ^

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

При введении АК в дозе 50 мг/кг животным с кровопотерей в сыворотке крови крыс наблюдалось достоверное повыше-

ние содержания общего белка как по сравнению с интактными животными, так и по сравнению с животными с кровопотерей.

Так, через 6 ч его содержание повысилось на 10,17%, а через 24 ч – на 8,5% по сравнению с интактными животными. По сравнению с животными с кровопотерей его содержание достоверно повысилось через 6 ч на 29,79%, а через 24 ч – на 15,62%.

Как видно из данных табл. 2, однократное введение АК в дозе 100 мг/кг через 6 ч и через 24 ч после кровопотери способствует повышению уровня общего белка в сыворотке крови экспериментальных животных как по сравнению с интактными животными, так и по сравнению с животными с кровопотерей. Так, по отношению к содержанию общего белка у животных с кровопотерей их содержание в условиях коррекции через 6 ч достоверно повысилось на 29,86%, а через 24 ч – на 20,14%.

Исследование показало (табл. 3), что процентное содержание альбуминов через 6 ч и 24 ч после кровопотери при введении АК в дозе 25 мг/кг после включения в эритроцитарные контейнеры не достоверно отличалось от их содержания у интактных животных, но при этом имело тенденцию к повышению. По сравнению с данными животных с кровопотерей содержание альбуминов через 6 ч имело тенденцию к снижению, а через 24 ч осталось на том же уровне.

Введение АК в дозе 50 мг/кг ни через 6 ч, ни через 24 ч не вызывает достоверного изменения содержания альбуминов как по сравнению с интактными животными, так и по сравнению с данными животных с кровопотерей.

При введении АК в дозе 100 мг/кг животным после кровопотери содержание

альбуминов через 6 ч достоверно повысилось на 14,53%, а через 24 ч – на 13,71% по сравнению с животными с кровопотерей. По сравнению с интактными животными содержание альбуминов тоже достоверно повысилось на 25,88%, а через 24 ч на 19,52%.

Результаты исследования, представленные в табл. 4 показывают, что введение АК в дозе 25 мг/кг вызывает достоверное увеличение содержания β-глобулинов до  $10,41 \pm 1,36\%$ , что в 1,64 раза выше показателей интактных животных. Направленный транспорт в печень АК сохраняет повышенный уровень процентного содержания β-глобулинов в сыворотке крови крыс.

Введение АК в дозе 50 мг/кг в эритроцитарных носителях способствовало увеличению содержания β-глобулинов в 3,81 раза по сравнению с их содержанием у интактных животных.

Изучение влияния АК в дозе 50 мг/кг показало существенное ( $p < 0,05$ ) изменение в содержании β-глобулинов на всех изучаемых сроках по сравнению с интактными животными. Так, через 6 ч процентное содержание β-глобулинов составило  $27,17 \pm 1,59\%$  ( $p < 0,05$ ), а через 24 ч –  $28,94 \pm 1,66\%$  ( $p < 0,05$ ), что соответственно в 4,29 и 4,57 раз выше показателей интактных животных. По сравнению с показателями животных с кровопотерей содержание β-глобулинов через 6ч имело тенденцию к повышению, а через 24 ч достоверно повысилось на 14,84% с  $25,20 \pm 2,94$  до  $28,94 \pm 1,60\%$ .

**Таблица 3**

Влияние адресной доставки АК в печень в дозировках 25, 50, 100 мг/кг на процентное содержание альбуминов (%) в сыворотке крови белых крыс ( $M \pm m, n = 12$ )

№ п/п	Условия эксперимента	Доза аскорбиновой кислоты		
		25 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг
1.	Контроль	$49,29 \pm 2,02$	$47,79 \pm 5,84$	$56,24 \pm 1,95^*$
2.	Направленный транспорт (6 ч)	$49,30 \pm 1,51$	$46,53 \pm 3,24$	$59,83 \pm 3,43^{*\wedge}$
3.	Направленный транспорт (24 ч)	$49,34 \pm 3,57$	$46,93 \pm 1,04$	$56,81 \pm 2,56^{*\wedge}$

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

При однократном введении АК в эритроцитарных контейнерах в дозе 100 мг/кг экспериментальным животным после кровопотери наблюдается тенденция к повышению содержания β-глобулинов через 6 ч после кровопотери, а через 24 ч – наоборот, тенденция к снижению их содержания по сравнению с животными с кровопотерей. По сравнению с интактными животными через 6 ч содержание

β-глобулинов повысилось в 4,45 раза, а через 24 ч – в 3,81 раза по сравнению с интактными животными.

Можно полагать, что эффективность АК в дозе 100 мг/кг связана с оказываемым ею мембраностабилизирующим и антиоксидантным действием в гепатоцитах. АК как донор электронов может отдавать их свободным радикалам и снижать их реактивность. Кроме того, аскорбиновая

кислота в гетерогенных системах, содержащих липидную и водную фазу, выводит радикалы из легкоокисляющейся липидной фазы в водную [7].

Таблица 4

Влияние адресной доставки АК в печень в дозировках 25, 50, 100 мг/кг на процентное содержание  $\beta$ -глобулинов (%) в сыворотке крови белых крыс ( $M \pm m, n = 12$ )

№ п/п	Условия эксперимента	25 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг
1.	Контроль	10,41 $\pm$ 1,36*	24,13 $\pm$ 1,69*	25,79 $\pm$ 1,27*
2.	Направленный транспорт (6 ч)	24,31 $\pm$ 0,79*	27,17 $\pm$ 1,59*	28,14 $\pm$ 4,65*
3.	Направленный транспорт (24 ч)	24,71 $\pm$ 2,93*	28,94 $\pm$ 1,60*^	24,13 $\pm$ 2,63*

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

### Выводы

1. Кровопотеря приводит к изменению показателей белкового обмена в крови крыс: снижается уровень общего белка, прослеживается тенденция к увеличению уровня альбуминовой фракции и увеличивается уровень  $\beta$ -глобулинов.

2. Применение направленного транспорта АК в печень во всех изучаемых дозах позволило увеличить адаптационные возможности органа к условиям гипоксии на обоих сроках исследования.

3. Использование эритроцитарных контейнеров с АК в дозе 100 мг/кг позволило максимально оптимизировать адаптационные возможности печени, а именно повысить уровень общего белка, увеличить долю наиболее лабильной фракции – альбуминов, сохранить повышенный уровень содержания  $\beta$ -глобулинов на обоих изученных сроках.

### Список литературы

1. Буеров А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2002. – № 4. – С. 21–25.
2. Генинг Т.П. Эритроциты млекопитающих в направленном транспорте биологически активных веществ. – Ульяновск: УЛГУ, 1996. – 224 с.
3. Евсеева М.А., Евсеев А.В., Правдивцев В.А. Механизмы развития острой гипоксии и пути ее фармакологической коррекции // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2008. – Т. 6. № 1. – С. 3–25.
4. Медицинские лабораторные технологии: справочник / под ред. А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – Т.2. – 656 с. с ил.
5. Коваленко Н.Я., Мацневский Д.Д., Архипенко Ю.В. Органоспецифические особенности кровоснабжения печени, почек и мозга при острой кровопотере у крыс с различной устойчивостью к циркуляторной гипоксии // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2001. – № 2. – С. 20–22.
6. Козиев М.П., Горбачева С.М. Изменение основных биохимических показателей и механизмов адаптации при острой кровопотере // Сибирский медицинский журнал (г. Иркутск). – 2009. – Т. 90. – № 7. – С. 76–78.
7. Токаев Э.С., Блохина Н.П., Некрасов Е.А. Биологически активные вещества, улучшающие функциональное состояние печени // Вопросы питания. – 2007. – № 4. – С. 4–8.
8. Хныченко Л.К., Сапронов Н.С. Стресс и его роль в развитии патологических процессов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2003. – Т. 2. – № 3. – С. 2–15.

9. Чарышкин А.Л., Мидленко О.В., Мидленко В.И. Направленный транспорт лекарственных веществ в комплексном лечении больных с осложненным биллиарным панкреатитом // Медицинский альманах. – 2009. – № 3(8). – С. 60–62.

10. 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. Buerov A.O. Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii – Russian journal of gastroenterology, hepatology and coloproctology, 2002, no. 4, pp. 21–25.
2. Gening T.P. Eritrotsity mlekopitayushchikh v napravlennom transporte biologicheskii aktivnykh veshchestv [Mammalian erythrocytes in directed transport of biologically active substances]. Ul'yanovsk, UIGU, 1996. 224p.
3. Evseeva M.A., Evseev A.V., Pravdivtsev V.A. Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii – Reviews of clinical pharmacology and drug therapy, 2008, vol. 6, no. 1, pp. 3–25.
4. Karpischenko A.I. Meditsinskie laboratornye tekhnologii: (spravochnik) [Medical laboratory technologies: reference book]. St. Petersburg, Intermedika Publ., 1999. 656 p.
5. Kovalenko N.Ya., Matsievskiy D.D., Arkhipenko Yu.V. Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya – Pathological physiology and experimental therapy, 2001, no. 2, pp. 20–22.
6. Koziev M.P., Gorbacheva S.M. // Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (g. Irkutsk) – Siberian medical journal, 2009, vol. 90, no. 7, pp. 76–78.
7. Tokaev E.S., Blokhina N.P., Nekrasov E.A. Voprosy pitaniya – Nutrition, 2007, no. 4, pp. 4–8.
8. Khnychenko L.K., Sapronov N.S. Stress i ego rol' v razvitiy patologicheskikh protsessov // Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii – Reviews of clinical pharmacology and drug therapy, 2003, vol. 2, no. 3, pp. 2–15.
9. Charyshkin A.L., Midlenko O.V., Midlenko V.I. Meditsinskiy al'manakh – Medical almanac, 2009, no. 3(8), pp. 60–62.
10. 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 31.01.2014.