

УДК 612.014.462:612.015.32:612.116.3

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ВВЕДЕНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ КРОВОПОТЕРИ

Ксейко Д.А., Генинг Т.П., Бурнашев Р.Р., Шарафутдинов А.И., Садретдинова Л.Н.
ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, e-mail: ybrf4@rambler.ru

Цель исследования – изучение влияния различных способов введения аскорбиновой кислоты на процессы перекисного окисления липидов в печени крыс после кровопотери. При кровопотере возникают заметные циркуляторные расстройства печени. Особенно резко нарушается портальное кровообращение, что влечет за собой развитие выраженных микроциркуляторных изменений и активацию артериоло-веноулярного шунтирования, что вызывает нарушение различных функций печени. Все эти патологические реакции сопровождаются активацией процессов перекисного окисления липидов в печени. Показана возможность направленного транспорта лекарственных препаратов к органам-мишеням путем их инкапсулирования в тени эритроцитов. В печени высвобождение лекарственных препаратов из эритроцитов возможно после их фагоцитоза в ретикуло-эндотелиальной системе. Получение эритроцитарных контейнеров (ЭК) с аскорбиновой кислотой (АК) производилось методом гипотонического лизиса. ЭК с АК вводили внутривенно в дозах 25 и 50 мг/кг однократно через 10 мин после кровопотери. Внутривенно раствор АК также вводили через 10 мин в тех же дозах. Показано, что АК обладает антиоксидантным действием в дозе 25 мг/кг при введении ее в организм путем направленного транспорта. В остальных дозах, а также при внутривенном введении АК проявляет себя как прооксидант.

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

INFLUENCE OF DIFFERENT WAYS OF ADMINISTRATION OF ASCORBIC ACID ON LIPID PEROXIDATION IN RAT LIVER AFTER BLOOD LOSS

Kseyko D.A., Gening T.P., Burnashev R.R., Sharafutdinov A.I., Sadretdinova L.N.
Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, e-mail: ybrf4@rambler.ru

The aim of the research is to study the influence of different ways of administration of ascorbic acid on lipid peroxidation in rat liver after blood loss. Blood loss cause notable circulatory disorders of the liver. Markedly disturbed portal circulation, which entails the development of expressed microcirculatory changes and activation arteriolo-venular shunt that causes violation of various functions of the liver. All these pathological reactions are accompanied by activation of lipid peroxidation in the liver. It has been shown the possibility of directed transport of drugs to target organs by their encapsulation in erythrocyte ghosts. In the liver release of the drug from erythrocytes is possible after their phagocytosis in the reticuloendothelial system. 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 and 50 mg/kg once after 10 minutes after blood loss. Intravenous solution of ascorbic acid was also injected in 10 minutes at the same doses. It has been shown that ascorbic acid has antioxidant activity in a dose 25mg/kg when administered into the organism by directed transport. The other doses, as well as when injecting ascorbic acid manifests itself as prooxidant.

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

Кровопотеря представляет собой комплекс компенсаторных и патологических реакций, возникающих в ответ на кровотечение [5]. Патологические эффекты кровопотери связаны с активацией симпатической и эндокринной систем, нарушением микроциркуляции, ишемией и развитием гипоксии органов и тканей [2, 7]. Гипоксии придают большое значение в развитии любого патологического процесса, сопровождающегося повреждением мембранных образований клеток. Исследования показывают, что среди различных причин мембранодеструкции активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) является одним из ведущих механизмов нарушения структурной и функциональной организации клеток [6].

При кровопотере возникают заметные циркуляторные расстройства печени. Осо-

бенно резко нарушается портальное кровообращение, что влечет за собой развитие выраженных микроциркуляторных изменений и активацию артериоло-веноулярного шунтирования, что вызывает нарушение различных функций печени. Можно предположить, что в нарушении функции гепатоцитов при кровопотере важную роль играет активация ПОЛ [12].

В статье рассмотрены возможности коррекции аскорбиновой кислотой (АК) процессов ПОЛ в печени после кровопотери. Вид лекарственной формы и пути введения в значительной степени влияют на фармакокинетику АК в организме животных и человека [4]. Показана возможность направленного транспорта лекарственных препаратов к органам-мишеням путем их инкапсулирования в тени эритроцитов. В печени высвобождение лекарственных препаратов из

эритроцитов возможно после их фагоцитоза в ретикуло-эндотелиальной системе [9, 13].

Цель исследования – сравнить эффективность влияния различных способов введения АК на процессы перекисного окисления липидов в печени крыс после кровопотери.

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, 5-я группа – животные с кровопотерей, получавшие АК внутривенно (в/вн). 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 и 50 мг/кг однократно через 10 мин после кровопотери. Внутривенное введение раствора АК также вводили через 10 мин в тех же дозах.

Исследовали содержание малонового диальдегида (МДА) [1] в печени крыс – как общепринятого показателя активности ПОЛ. 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

При однократном внутривенном введении АК животным после кровопотери, согласно полученным данным (табл. 1), уровень содержания МДА в печени через 6 ч имеет тенденцию к повышению, а через 24 ч достоверно повышается на 47,88 % по сравнению с животными с кровопотерей. По сравнению с уровнем содержания МДА у интактных животных его уровень у экспериментальных животных оставался выше в 2,04 раза через 6 ч и в 2,65 раза через 24 ч после кровопотери.

Введение АК в эритроцитарных носителях в дозе 25 мг/кг животным после кровопотери сопровождается достоверным снижением концентрации МДА в печени через 6 ч на 46,55 %, а через 24 ч на 30,66 % по сравнению с животными с кровопотерей. По сравнению с содержанием МДА у интактных животных, у экспериментальных животных концентрация МДА оставалась повышенной на 21,82 % ($p < 0,05$) и на 24,34 % ($p < 0,05$) соответственно через 6 и 24 ч после кровопотери.

Можно полагать, что эффективность использования АК в эритроцитарных кон-

тейнерах в дозе 25 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 [11]. Аскорбиновая кислота может повышать пул эндогенной антиоксидантной защиты. В экспериментальных исследованиях было показано, что аскорбиновая кислота может восстанавливать α -токоферильный радикал, тем самым возвращая α -токоферолу антиоксидантные свойства [14].

Проведенные исследования показали, что введение АК интактным животным в дозе 50 мг/кг парентерально вызывает достоверное увеличение концентрации МДА в печени на 86,07 % ($c \pm 93,33 \pm 17,96$ мкмоль/г ткани до $173,66 \pm 55,54$ мкмоль/г ткани). Введение АК интактным животным после предварительного включения ее в эритроцитарные носители не вызывает достоверного изменения концентрации МДА в печени, но имеет тенденцию к повышению по сравнению с его уровнем в печени интактных животных. Однако при введении АК в эритроцитарных контейнерах концентрация конечного продукта ПОЛ была существенно ниже его концентрации в печени крыс при использовании внутривенного введения АК.

По нашим данным, однократное внутривенное введение АК в эритроцитарных носителях в дозе 50 мг/кг животным после кровопотери приводит к следующим изменениям концентрации МДА: через 6 ч после кровопотери она имеет тенденцию к снижению ($p > 0,05$), а через 24 ч достоверно повышается на 16,25 % ($c \pm 163,37 \pm 15,48$ мкмоль/г ткани до $194,57 \pm 26,93$ мкмоль/г ткани) по сравнению с животными с кровопотерей. По сравнению с данными интактных животных концентрация МДА через 6 ч осталась повышенной: через 6 ч она превышала показатели нормы в 2,91 раза ($p < 0,05$), а через 24 ч – в 2,08 раза ($p < 0,05$).

Однократное внутривенное введение АК способствовало сохранению повышенного уровня МДА в печени по сравнению с интактными животными. Так, через 6 ч концентрация МДА составила $249,44 \pm 58,42$ мкмоль/л, а через 24 ч $191,49 \pm 48,11$ мкмоль/г ткани, что соответственно в 2,67 раза и в 2,05 раза выше показателей интактных животных. По сравнению с животными с кровопотерей уровень МДА имел тенденцию к повышению на всех изученных сроках.

Таблица 1

Содержание малонового диальдегида в печени белых крыс после кровопотери и после введения АК в дозе 25 мг/кг ($M \pm m$, $n = 12$)

№ п/п	Условия эксперимента	МДА, мкмоль/г ткани	p	p ₁	p ₂
1.	Интактные крысы	93,33 ± 17,96			
2.	Кровопотеря (6 ч)	212,73 ± 22,65	< 0,05		
3.	Кровопотеря (24 ч)	163,37 ± 15,48	< 0,05		
4.	Гипоксия + в/вн АК (6 ч)	190,82 ± 19,10	< 0,05	> 0,05	
5.	Гипоксия + в/вн АК (24 ч)	247,50 ± 16,95	< 0,05	< 0,05	
6.	Гипоксия + направленный транспорт АК (6 ч)	113,70 ± 14,07	< 0,05	< 0,05	< 0,05
7.	Гипоксия + направленный транспорт АК (24 ч)	116,04 ± 10,39	< 0,05	< 0,05	< 0,05

Примечания:

p – достоверность различий с интактными животными;

p₁ – достоверность различий с животными с кровопотерей;

p₂ – достоверность различий при различных способах введения АК.

Таблица 2

Содержание малонового диальдегида в печени белых крыс после кровопотери и после введения АК в дозе 50 мг/кг ($M \pm m$, $n = 12$)

№ п/п	Условия эксперимента	МДА, мкмоль/г ткани	p	p ₁	p ₂
1.	Интактные крысы	93,33 ± 17,69			
2.	Кровопотеря (6 ч)	212,73 ± 22,65	< 0,05		
3.	Кровопотеря (24 ч)	163,37 ± 19,48	< 0,05		
4.	Гипоксия + в/вн АК (6 ч)	249,44 ± 58,42	< 0,05	> 0,05	
5.	Гипоксия + в/вн АК (24 ч)	191,49 ± 48,11	< 0,05	> 0,05	
6.	Гипоксия + направленный транспорт АК (6 ч)	204,75 ± 36,72	< 0,05	> 0,05	> 0,05
7.	Гипоксия + направленный транспорт АК (24 ч)	194,57 ± 26,93	< 0,05	< 0,05	> 0,05

Примечания:

p – достоверность различий с интактными животными;

p₁ – достоверность различий с животными с кровопотерей;

p₂ – достоверность различий при различных способах введения АК.

Таким образом, уровень содержания МДА и через 6 ч, и через 24 ч после кровопотери при введении АК оставался достоверно выше контрольного как при использовании внутривенного способа введения, так и при использовании эритроцитарных носителей. Однако при введении АК в эритроцитарных контейнерах концентрация МДА на всех изученных сроках не достоверно отличается от его концентрации при введении АК внутривенно.

Очевидно, что в дозе 50 мг/кг АК при обоих способах ее введения проявляет себя как прооксидант. Известно, что проявление аскорбиновой кислотой антиили прооксидантных свойств зависит от концентрации субстрата и условий протекания окислительных реакций. Так, в присутствии ионов железа и меди АК становится мощным прооксидантом. Вероятно, использованная доза АК индуцирует высвобождение каталитически активных

ионов Fe²⁺ из ферритина печени [8, 10], в присутствии которых она становится прооксидантом.

Выводы

1. Концентрация МДА через 6 и через 24 ч после кровопотери при введении АК в дозе 25 мг/кг оставалась достоверно выше его уровня у интактных животных как при использовании внутривенного способа, так и при использовании эритроцитарных носителей. Однако при введении АК в эритроцитарных носителях концентрация вторичного продукта ПОЛ – МДА на обоих сроках исследования после кровопотери была существенно ниже, чем при внутривенном введении АК.

2. Однократное введение АК в дозе 50 мг/кг после кровопотери на всех изученных сроках при всех изученных методах введения сохраняет повышенный уровень концентрации МДА в печени.

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. Горбачева С.М., Козиев М.П. Биохимические механизмы адаптации при геморрагическом шоке // Сибирский медицинский журнал. – 2006. – № 7. – С. 5–7.
3. Генинг Т.П. Эритроциты млекопитающих в направленном транспорте биологически активных веществ. – Ульяновск: УЛГУ; 1996.
4. Дроздов В.Н. Рациональное возмещение дефицита витаминов и микроэлементов // Лечебное дело. – 2009. – № 3. – С. 34–41.
5. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография. – Чита: Экспресс-изд-во, 2010. – 832 с.
6. Кузьменко В.В., Кочетов М.В. Антиоксиданты мексидол и гипоксен в хирургическом лечении доброкачественной гиперплазии предстательной железы // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2008. – № 34. – С. 115–122.
7. Мороз В.В., Остапченко Д.А., Мещеряков Г.Н. Острая кровопотеря. Взгляд на проблему // Анестезиология и реаниматология. – 2002. – № 6. – С. 4–9.
8. Орлов Ю.П., Долгих В.Т. Метаболизм железа в биологических системах (биохимические, патофизиологические и клинические аспекты) // Биомедицинская химия. – 2007. – Т. 53, № 1. – С. 25–38.
9. Провоторов В.М., Иванова Г.А. Роль эритроцитов в системе направленного транспорта различных фармакологических средств // Клиническая медицина. – 2009. – № 9. – С. 4–8.
10. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 3. – С. 2–17.
11. Токаев Э.С., Блохина Н.П., Некрасов Е.А. Биологически активные вещества, улучшающие функциональное состояние печени // Вопросы питания. – 2007. – № 4. – С. 4–8.
12. Трубин Е.В., Гребенкин Б.Е., Черемискин В.П., Садькова Г.К. Нарушения гемодинамики печени при гестозе как прогностический критерий объема послеродовых и послеоперационных кровопотерь // Медицинский альманах. – 2009. – № 4 – С. 69–70.
13. Чарышкин А.Л., Мидленко О.В., Мидленко В.И. Направленный транспорт лекарственных веществ в комплексном лечении больных с осложненным билиарным панкреатитом // Медицинский альманах. – 2009. – № 3(8). – С. 60–62.
14. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н., Афанасьева Г.А. Возможности использования антиоксидантов и антигипоксантов в экспериментальной и клинической медицине. Успехи современного естествознания. – 2006. – № 8. – Р. 18–25.
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. – Р. 135–147.

References

1. Andreeva L.I., Kozhemyakin L.A., Kishkun A.A. *Laboratornoe delo-Laboratory case*, 1988, no.11, pp. 41–43.
2. Gorbacheva S.M., Koziev M.P. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal – Siberian Medical Journal*, 2006, no.7, pp. 5–7.
3. Gening T.P. *Eritrotsity mlekopitayushchikh v napravlennom transporte biologicheskii aktivnykh veshchestv* [Mammalian erythrocytes in directed transport of biologically active substances]. Ul'yanovsk, UIGU, 1996. 224 p.
4. Drozdov V.N. *Lechebnoe delo – Medical business*. 2009, no. 3, pp. 34–41.
5. Kuznik B.I. *Kletochnye i molekulyarnye mekhanizmy regulatsii sistemy gemostaza v norme i patologii* [Cellular and molecular mechanisms of regulation of the hemostatic system in norm and pathology]; monografiya. Chita: Ekspress-izd-vo, 2010. 832 p.
6. Kuz'menko V.V., Kochetov M.V. *Nauchno-meditsinskiy vestnik Tsentral'nogo Chernozem'ya – Scientific and medical bulletin of the central chernozem region*. 2008, no. 34, pp. 115–122.
7. Moroz V.V., Ostapchenko D.A., Meshcheryakov G.N. *Anesteziologiya i reanimatologiya – Anesthesiology and reanimatology*. 2002, no.6, pp. 4–9.
8. Orlov Yu.P., Dolgikh V.T. *Biomeditsinskaya khimiya – Biomedical chemistry*. 2007, no. 1, pp. 25–38.
9. Provotorov V.M., Ivanova G.A. *Klinicheskaya meditsina – Clinical medicine*. 2009, no. 9, pp. 4–8.
10. Sazontova T.G., Arkhipenko Yu.V. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya – Pathological physiology and experimental therapy*. 2007, no.3, pp. 2–17.
11. Tokaev E.S., Blokhina N.P., Nekrasov E.A. *Voprosy pitaniya – Nutrition*, 2007, no. 4, pp. 4–8.
12. Trubin E.V., Grebenkin B.E., Cheremiskin V.P., Sadykova G.K. *Meditsinskiy al'manakh – Medical almanac*, 200, no.4, pp. 69–70.
13. Charyshkin A.L., Midlenko O.V., Midlenko V.I. *Meditsinskiy al'manakh – Medical almanac*, 2009, no. 3(8), pp. 60–62.
14. Chesnokova N.P., Ponukalina E.V., Bizenkova M.N., Afanas'eva G.A. *Uspexi sovremennogo estestvoznaniya – The successes of modern natural science*, 2006, no. 8, pp. 18–25.
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:

Каталимов 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 21.03.2014.