

УДК 616-005.1:616.36-092

АНТИОКСИДАНТНАЯ БЕЛКОВАЯ СИСТЕМА В ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ

Д.А. Ксейко

Ульяновский государственный университет

Изучено влияние острой кровопотери на показатели антиоксидантной белковой системы в печени. Показано, что возникшая гипоксия активирует процессы перекисного окисления липидов в гепатоцитах, о чем свидетельствует увеличение уровня малонового диальдегида. Одновременно повышается активность каталазы в печени и антиоксидантный потенциал сыворотки крови, что может свидетельствовать об активации антиоксидантной защитной системы.

Ключевые слова: кровопотеря, гипоксия, печень, синтез белка, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

Введение. Острая кровопотеря и связанная с ней гипоксия вызывают изменения метаболизма в тканях. В частности, печень обладает высокой чувствительностью к недостатку кислорода, что обусловлено высокой интенсивностью процессов, осуществляемых в ней [7].

Одним из ключевых механизмов повреждения клеток при ишемии, стрессе, гипоксии является чрезмерная активация свободнорадикального окисления, обусловленная повышенным уровнем образования активных форм кислорода (АФК) [2; 3; 9]. Однако известно, что повышение уровня АФК не только вызывает повреждение мембранных структур клеток, но и является стимулом для индукции защитных систем организма, в частности антиоксидантной [4; 12].

В настоящее время раскрывается роль АФК как компонента регуляторной системы, действующей при физиологических и патологических состояниях наряду с нервной, гормональной, иммунной. Показано, что, несмотря на отсутствие специфических рецепторов клеточный ответ на действие гипоксии развивается благодаря сигнальной цепи, именуемой редокс-сигнализацией, передающей внешний сигнал к клеточному ядру [12; 19]. Реакция клетки на внешний сигнал различается в зависимости от его интенсивности и от исходного соотношения прооксидантов и антиоксидантов в самой клетке [11; 12].

Можно предположить, что активация свободнорадикального окисления в гепатоцитах при острой кровопотере играет информационную роль для перестройки метаболизма в них.

Цель исследования. Изучение антиоксидантной белковой системы в печени при острой кровопотере.

Материалы и методы. Работа выполнена на белых беспородных крысах массой 240–280 г. Гипоксию вызывали кровопусканием через катетер [18]. Объем кровопотери составил 2 % от массы животного. Животные были разделены на следующие группы: 1-я 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 [8] в печени. Общее содержание белка в сыворотке крови определяли унифицированным методом по биуретовой реакции [8]. Процентное содержание фракций белков сыворотки крови определяли методом электрофореза на геле агарозы на аппарате Paragon фирмы Bectmen (США). Оценку электрофореграмм проводили с помощью денситометра [8]. Статистическая обработка полученных данных производилась по критерию Стьюдента. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$. Экспериментальные исследования проводились с соблюдением биоэтических правил.

Результаты и обсуждение. Из полученных данных, представленных в табл. 1, видно, что содержание МДА в печени достовер-

но увеличивается, активность каталазы также достоверно возрастает.

Таблица 1

Система «перекисное окисление липидов – антиоксиданты» в печени белых крыс в условиях острой кровопотери (M±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: 1. * – достоверность различий по отношению к интактным животным, достоверны при $p < 0,05$.
2. 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 [5; 6]. 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; 9]. Установлено, что при различных видах стресса происходит активация ПОЛ в печени [10; 15; 16]. Острая кровопотеря также сопровождается выраженной стрессорной реакцией, проявляющейся в значительном увеличении в крови концентрации катехоламинов,

активирующих ПОЛ [14].

Как известно, восстановление жидкой части крови после кровопотери в значительной степени зависит от регенерации белков плазмы. Основную роль при этом играет печень. 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.

Белки плазмы крови могут инактивировать активные формы кислорода, а также связывать ионы переменной валентности, инициирующие образование активных форм кислорода [17], что позволило сформулировать представление об «антиоксидантной белковой буферной системе».

Таблица 2

Влияние острой кровопотери на белоксинтезирующий аппарат печени крыс (M±m, n=7)

| 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 $p < 0,05$.

Таким образом, сыворотка обладает мощным АО-потенциалом, который в большей мере проявляют альбумин и β -глобулины, синтезируемые в печени [13]. В связи с этим представляет интерес выявить изменения соотношения фракций белков в сыворотке крови на фоне острой кровопотери.

Так, 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 по сравнению с другими фракциями. 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. Полученные данные, вероятно, могут свидетельствовать о наличии начальной стадии ответа гепатоцитов, в которых изменяется активность уже существующих систем. Эта стадия носит регуляторный характер и способствует адаптации и выживаемости клеток в неблагоприятных условиях.

Выводы

1. В условиях острой кровопотери в ответ на индукцию свободнорадикального окисления в гепатоцитах повышается активность каталазы – компонента антиоксидантной системы, которая защищает клетку от повреждения.

2. Наряду с повышением антиоксидантной активности внутриклеточной среды гепатоциты увеличивают антиоксидантный потенциал плазмы крови, оказывающий в первую очередь защиту на уровне эритроцитов.

1. *Андреева, Л.И.* Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарби-

туровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лабораторное дело. – 1988. – №11. – С. 41–43.

2. *Андреева, Н.Н.* Экспериментальные и клинические аспекты применения мексидола при гипоксии / Н.Н. Андреева // Медицинский альманах. – 2009. – №4. – С. 193–197.

3. *Биленко, М.В.* Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения) / М.В. Биленко. – М.: Медицина, 1989. – 368 с.

4. Влияние повторных стрессорных воздействий с повышенной чувствительностью к гипоксии на окисление белков и липопероксидацию у крыс / В.Э. Цейликман и др. // Российский физиологический журн. им. И.М. Сеченова. – 2008. – Т. 94, №12. – С. 1407–1413.

5. *Дубинина, Е.Е.* Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса / Е.Е. Дубинина // Вопр. медицинской химии. – 2001. – Т. 47, №6. – С. 561–581.

6. *Зинчук, В.В.* Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние при реперфузии печени / В.В. Зинчук, М.Н. Ходосовский, И.К. Дремза // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2002. – №4. – С. 8–11.

7. *Зинчук, В.В.* Участие кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени / В.В. Зинчук, М.Н. Ходосовский // Успехи физиологических наук. – 2006. – Т. 37, №4. – С. 45–57.

8. *Коваленко, Н.Я.* Органоспецифические особенности кровоснабжения печени, почек и мозга при острой кровопотере у крыс с различной устойчивостью к циркуляторной гипоксии / Н.Я. Коваленко, Д.Д. Мацевский, Ю.В. Архипенко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2001. – №2. – С. 20–22.

9. Медицинские лабораторные технологии и диагностика : справ. : в 2-х т. Т. 2 / под ред. А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – 656 с.

10. *Нестеров, Ю.В.* Влияние стресс-индуцированных воздействий разной модальности и антиоксиданта на свободно-радикальные процессы в легких и печени белых крыс / Ю.В. Нестеров, А.С. Чумакова, Н.В. Турченко // Естественные науки. – 2010. – №3. – С. 122–126.

11. Роль активных форм кислорода и редокс-сигнализации при адаптации к изменению содержания кислорода / Т.Г. Сазонтова и др. // Физиол. журн. – 2008. – Т. 54, №2. – С. 18–32.

12. *Сазонтова, Т.Г.* Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма / Т.Г. Сазонтова, Ю.В. Архипенко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – №3. – С. 2–18.

13. *Тимербулатов, М.В.* Ишемические повреждения при острой абдоминальной патологии

/ М.В. Тимербулатов, Ш.В. Тимербулатов, А.У. Султанбаев // Креативная хирургия и онкология. – 2010. – №3. – С. 74–79.

14. Тугушева, Ф.А. Оксидативный стресс и хроническая болезнь почек / Ф.А. Тугушева, И.М. Зубина, О.В. Митрофанова // Нефрология. – 2007. – Т. 11, №3. – С. 29–47.

15. Хидирова, Л.Д. Изменение баланса между активностью перекисного окисления липидов, антиоксидантной защитой и содержанием железа у крыс при экспериментальном инфаркте миокарда / Л.Д. Хидирова // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2010. – Т. 2, №25. – С. 216–219.

16. Чумакова, А.С. Изменение свободнорадикальных процессов в различных органах крыс разного возраста при остром стрессе / А.С. Чума-

кова, Д.Л. Теплый, Ю.В. Нестерова // Биологические исследования. – 2009. – №4. – С. 34–37.

17. Increase in resistance of membrane structures in adaptation to changing oxygen level / T.G. Sazonova et al. // Adaptation Biol. Med. ; eds. L.D. Lukyanova et al. – New Delhi : Narosa Publ. House. – 2008. – V. 5 (Health Potentials). – P. 307–317.

18. Oxidative stress and cardiovascular disease in end-stage renal failure / B. Descamps-Latscha et al. // 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.

19. Sapirstein, R.A. Effect of hemorrhage on the cardiac output and its distribution in the rat / R.A. Sapirstein, E.H. Sapirstein, A. Bredemeyer // Circ. Res. – 1960. – Vol. 8. – P. 135–147.

ANTIOXIDANT PROTEIN SYSTEM IN LIVER IN THE CASE OF ACUTE BLOOD LOSS

D.A. Kseyko

The effect of acute blood loss was studied on the indices of antioxidant protein system in liver. It is shown that emerged hypoxia activates the processes of lipid peroxidation what is evidenced by increase of the level of TBA-active product. Simultaneously the activity of catalase in liver and antioxidant potential of blood serum is increasing. It can be the evidence of activation of the antioxidant protective system.

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