

2. Толстой, А. Д. Острый панкреатит: протоколы диагностики и лечения / А. Д. Толстой, С. Ф. Багненко, В. Б. Красногоров // Хирургия. — 2005. — № 7. — С. 19–23.
3. Чазов, Е. И. Направленный транспорт лекарств: проблемы и перспективы / Е. И. Чазов, В. Н. Смирнов, В. П. Торчилин // Журнал Всесоюзного химического общества им. Менделеева. — 1987. — № 5. — С. 485–487.
4. Cuthbertson, C. M. Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis / C. M. Cuthbertson [et al.] // Br J Surg. — 2006. — № 93(5). — P. 518–530.
5. Gardner, T. B. Hemoconcentration and pancreatic necrosis: further defining the relationship / T. B. Gardner, C. A. Olenec, J. D. Chertoff // Pancreas. — 2006. — № 33(2). — P. 169–173.

УДК 577.115: 577.121.7]+[546.215+539.1.03/.06]

## ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МЕМБРАНАХ ТИМОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО ДЕЙСТВИЕМ ПЕРОКСИНИТРИТА И ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

Никитина И. А.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

### *Введение*

Многие патологические состояния организма обуславливаются нарушениями в функционировании компонентов биологических мембран. Такие нарушения могут быть обусловлены как действием внешних физических и химических факторов, так и различными внутренними функциональными расстройствами. Одно из центральных мест в развитии нарушений биологических мембран занимает процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ). Наиболее типичные проявления ПОЛ — это ограничение молекулярной подвижности фосфолипидов, образование и рост доменов, содержащих, преимущественно, липиды с насыщенными жирными кислотами, приводящие к возрастанию вязкости мембраны и нарушение липид-белковых взаимодействий. Кроме того, нарушается характерная для нативных мембран трансбислойная асимметрия липидов, уменьшается толщина гидрофобной зоны мембран и усиливается трансмембранная миграция интегральных белков, а также появляются каналы проницаемости для ионов, снижается каталитическая активность и термостабильность мембранных белков, снижается электрическая прочность мембран, происходит их деинтеграция и фрагментация. В процессе ПОЛ выступают активные формы кислорода (АФК) и азота (АФА). Наибольший вклад в их образование вносит дыхательная цепь митохондрий, а также система цитохрома P<sub>450</sub>. При нормальном протекании метаболических процессов свободные радикалы, как правило, не накапливаются вследствие их обезвреживания антиоксидантной системой клеток, включающей как антиокислительные ферментные системы, так и различные низкомолекулярные антиоксиданты.

В исследованиях Ю. А. Владимирова и А. И. Арчакова [1972] было установлено, что ионы Fe<sup>2+</sup> оказывают каталитическое действие на образование перекисей; при этом Fe<sup>2+</sup> окисляется до Fe<sup>3+</sup>. В водной фазе ионы железа могут взаимодействовать с диоксидом и перекисью водорода [2], приводя к образованию гидроксильных радикалов, которые, в свою очередь, могут инициировать реакции ПОЛ. Компоненты, взаимодействующие с ионами железа (АТФ, АДФ, Ф<sub>н</sub>, цитрат, аскорбиновая кислота, цистеин, глутатион, и др.) сильно влияют на скорость реакций ПОЛ [3].

Таким образом, анализ состояния процессов ПОЛ в биомембранах клеток позволяет оценить степень развития в них деструктивных процессов, что может способствовать ранней профилактике заболеваний, разработке новых методов лечения и созданию необходимых лекарственных средств.

**Целью** настоящей работы явился анализ влияния окислительного стресса на динамику перекисного окисления липидов в тимocyтaх животных различных возрастных групп.

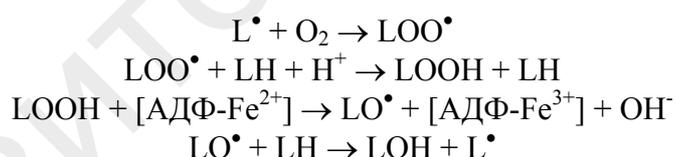
### **Материалы и методы**

Исследования проводились на белых беспородных крысах, которых содержали на стандартном рационе. Рандомизированным отбором было сформировано три группы: одна из 3-месячных животных, одна из 8-месячных и одна из 8-месячных животных с инкорпорацией  $^{137}\text{Cs}$ , в таких количествах, что доза внутреннего облучения составила 1,2 мЗв. Трехмесячный возраст соответствует половому созреванию крыс — периоду, с которого только начинается возрастная инволюция тимуса, тогда как для 8-месячных животных характерна развитая инволюция данного органа. Животных умерщвляли путем декапитации. Извлекали тимус, отмывали его от крови физиологическим раствором и переносили в раствор Хэнкса. Извлеченный орган сначала разрезали на крупные части, а затем пинцетом выщипывались более мелкие фрагменты. Полученная взвесь ресуспензировалась, отмывалась в фосфатном буфере (рН 7,4). Окислительный стресс вызывался обработкой суспензии клеток пероксинитритом в концентрации 30 и 110 мкМ/л с последующей отмывкой. Потом клетки переносились в среду инкубации, содержащую 175 мМ КСl и 10 мМ Tris-HCl (рН 7,4). Определение количества клеток производилось стандартным методом путем подсчета в камере Герриха. Перекисное окисление липидов оценивали по потреблению кислорода полярографическим методом при помощи установки Record 4 в ячейке объемом 1 мл с закрытым платиновым электродом Кларка при температуре 30°C. Для инициации ПОЛ в ячейку вносили 1,5 мМ АТФ и 1,8 мМ FeSO<sub>4</sub>. Образовавшийся комплекс [АТФ-Fe<sup>3+</sup>-O<sub>2</sub><sup>•-</sup>] является инициатором ПОЛ [4]. Комплекс захватывает из среды кислород, который в результате одноэлектронного восстановления железом приобретает повышенную реакционную способность. Эти события запускают каскад реакций ПОЛ, вовлекающий максимально-возможное количество ненасыщенных жирных кислот в среде. Протекающий в ячейке процесс может быть представлен в виде схемы:

**инициация:**



**перекисное окисление:**



где LH — ненасыщенная жирная кислота (НЖК), LOOH — гидроперекись НЖК, L<sup>•</sup> — липидный радикал, LO<sup>•</sup> — липидный радикал спиртовой группы, LOO<sup>•</sup> — пероксирадикал.

В связи с трудностями точного определения времени инициации, обычно используется метод подсчета Δt-50 — время потребления 50 % O<sub>2</sub> в результате ПОЛ.

### **Результаты и их обсуждение**

В наиболее распространенных методах оценки перекисного окисления липидов используется определение уровня конечного продукта ПОЛ — тиобарбитурат-положительных продуктов либо степени развития собственной или усиленной люминофорами люминесценции, сопровождаемой реакцией ПОЛ. Накопление МДА отражает лишь конечный результат ПОЛ и не позволяет судить непосредственно о кинетике этого процесса. Определение концентрации промежуточных продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов (ДК), позволяет регистрировать кинетику ПОЛ. Но определение ДК сопряжено с выполнением длительных препаративных процедур. В проведенных нами исследованиях использовались условия, позволяющие сохранять в процессе инкубации клеток относительно стационарную концентрацию [АТФ-Fe<sup>2+</sup>]-комплекса — инициатора ПОЛ

[5]. В этих условиях можно пренебречь изменениями концентрации  $Fe^{2+}$ , имеющими место в ходе инициации и цепной реакции ПОЛ. Благодаря этому появилась возможность проследить кинетику ПОЛ в мембранах живых клеток по регистрации потребления кислорода полярографическим методом. Кроме того, данный метод позволяет наглядно по степени ингибирования потребления кислорода в результате ПОЛ оценить антиоксидантные свойства различных субстанций (как гидрофильных, так и липофильных).

Скорость процессов ПОЛ, рассчитанного по времени 50 % потребления кислорода, в тимocyтах животных 3-месячной возрастной группы составила  $42 \pm 5$  с, а у 8-месячной  $73 \pm 20$  с соответственно ( $p < 0,05$ ). Ускорение процессов ПОЛ в клетках тимуса 3-месячных животных возможно обусловлено особенностями метаболизма тимocyтов и составом мембранных липидов. Так известно, что перекисному окислению, в первую очередь, подвергаются ненасыщенные жирные кислоты с 6, 4 и 2 двойными связями, причем тем быстрее, чем выше степень их ненасыщенности [3] (рисунок 1).

Окислительный стресс, вызванный действием пероксинитрита в концентрации 30 мкМ, ускорил процессы индуцированного ПОЛ в мембранах тимocyтов животных 8-месячной группы более чем в два раза. У животных 3-месячной группы скорость процессов ПОЛ увеличивается незначительно и достоверно не отличается от контроля.

Инкорпорирование  $^{137}Cs$  у животных старшей возрастной группы приводит к увеличению скорости процессов ПОЛ, которая становится сопоставима со временем ПОЛ при действии пероксинитрита в концентрации 30–110 мкМ. Дальнейшее усиление окислительного стресса с помощью пероксинитрита в концентрации 30 и 110 мкМ в тканях у животных 8-месячной группы с инкорпорацией  $^{137}Cs$  не приводит к значимым изменениям скорости процессов ПОЛ. Интересно, что при сочетании воздействий этих факторов процессы ПОЛ замедляются в сравнении с воздействием только одного пероксинитрита.

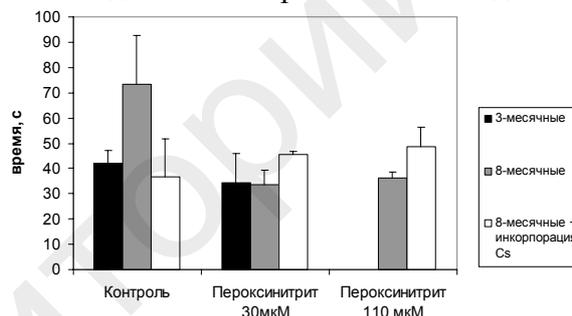


Рисунок 1 — Время 50 % потребления кислорода на процессы ПОЛ в мембранах тимocyтов разных возрастных групп в условиях окислительного стресса, индуцированного пероксинитритом и инкорпорацией  $^{137}Cs$

### Заключение

1. Выявлены возрастные различия в динамике  $[AT\Phi-Fe^{3+}-O_2^{\cdot-}]$ -индуцированного перекисного окисления липидов в мембранах тимocyтов крыс.

2. Окислительный стресс, вызванный действием пероксинитрита, ускоряет процессы  $[AT\Phi-Fe^{3+}-O_2^{\cdot-}]$ -индуцированного перекисного окисления липидов в мембранах тимocyтов крыс.

3. Инкорпорация  $^{137}Cs$  вызывает двукратное увеличение скорости  $[AT\Phi-Fe^{3+}-O_2^{\cdot-}]$ -индуцированного перекисного окисления липидов в мембранах тимocyтов крыс. Последующая обработка клеток пероксинитритом практически не изменяет достигнутой скорости процессов ПОЛ.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Артюхов, М. А. Биологические мембраны: структурная организация, функции, модиф. физ.-хим. агентами / М. А. Артюхов, В. Г. Наквасина. — Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 2000. — 296 с.
2. Владимиров, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. — М.: Наука, 1972. — 231 с.

3. Tany, L. X. Effects of additional iron-chelators on Fe<sup>2+</sup> – initiated lipid peroxidation: evidence to support the Fe<sup>2+</sup>·Fe<sup>3+</sup> complex as the initiator / L. X. Tany, F. L. Yang // J. of Inorganic Biochemistry. — 1997. — Vol. 68, № 4. — P. 265–272.

4. Sassa, H. Structural basis of potent antiperoxidation activity of the triterpene celastrol in mitochondria: effect of negative membrane surface charge on lipid peroxidation / H. Sassa [et al.] // Free Radic Biol Med. — 1994. — Vol. 17, № 3. — P. 201–208.

5. Gutteridge J. M. Effect of ferritin-containing fractions with different iron loading on lipid peroxidation / J. M. Gutteridge [et al.] // J. Biochem. — 1983. — Vol. 209, № 2. — P. 557–560.

УДК 616.72-08:616.15

## СЫВОРОТКА КРОВИ, КАК БАЗОВЫЙ «АНТИАРТРОЗНЫЙ» ПРЕПАРАТ ДЛЯ ИНТРААРТИКУЛЯРНОЙ ТЕРАПИИ

<sup>1</sup>Николаев В. И., <sup>2</sup>Белецкий А. В., <sup>3</sup>Ермаков С. Ф.

<sup>1</sup>Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Государственное учреждение

Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии

<sup>3</sup>Учреждение образования

«Институт механики металлополимерных систем им. В. А. Белого

Национальной академии наук Беларуси»

г. Минск, Республика Беларусь

### **Введение**

Остеоартроз, как правило, локальное заболевание, поражающее, преимущественно, суставы нижних конечностей, несущие максимальную опорную нагрузку. В настоящее время признано, что дегенерация суставного хряща возникает вследствие двух основных причин: чрезмерной нагрузки на хрящ и снижения его резистентности к обычным физиологическим нагрузкам. Однако, независимо от этиопатогенетических особенностей основные гистопатологические, биохимические и метаболические изменения при остеоартрозе сходны и, в конечном итоге, ведут к повреждению клеточных структур хряща — хондроцитов [1]. Как следствие, нарушается динамическое равновесие между синтезом и разрушением ткани хряща. Поэтому в условиях дефицита нормального синтеза и избытка патологически измененного хондроциты оказываются неспособными компенсировать недостаток его матрикса в сульфатированных мукополисахаридах (хондроитинсульфат и хитин). При развитии остеоартроза в суставе резко усиливаются процессы расщепления и деполимеризации гиалуроновой кислоты (ГУК), а, поскольку ГУК является природным полимером, ответственным за вязкоупругие свойства, то такие свойства синовиальной жидкости соответственно заметно снижаются. В результате увеличивается механическая нагрузка на суставные хрящи, что приводит к процессам их разрушения и, следовательно, к возникновению боли и ограничению подвижности в суставе.

Таким образом, исторически сложилось, что для приостановления развития и лечения остеоартроза одним из необходимых условий является восполнение дефицита извне, с одной стороны, сульфатированных мукополисахаридов, а с другой — ГУК [1, 3]. Очевидно, что наиболее эффективным является внутрисуставное введение таких препаратов, терапевтический эффект которых связан как с участием их ингредиентов в построении основного вещества хрящевой ткани, так и улучшением вязкоэластичных свойств синовиальной жидкости и восстановлением ее ударопоглощающей функции. Снижение механической нагрузки на пораженный сустав за счет восстановления в нем синовиального гомеостаза, как правило, влечет за собой уменьшение боли и улучшение подвижности, которые могут сохраняться и длиться несколько месяцев после окончания курса лечения.

Жидкокристаллическое состояние присуще живой материи во всех ее проявлениях и представляется идеальной средой для протекания многих биохимических реакций и обес-