

определения уровня метаболитов оксида азота в сыроворотке // Клини. лаб. диагност. — 2005. — №6. — С. 15–18. [Metelskaya V.A., Gumanova N.G. Screening as a method for determining the serum level of nitric oxide metabolites. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2005; 6: 15–18. (In Russ.)]

7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. — 327 с. [Metody biokhimicheskikh issledovaniy. *Lipidnyy i energeticheskiy obmen*. (Methods of biochemical research. Lipid and energy metabolism.) Ed. by M.I. Prokhorova. Leningrad: Izdatelstvo Leningratskogo universiteta. 1982; 327 p. (In Russ.)]

8. Оганов Р.Г. Сердечно-сосудистые заболевания в начале XXI века: медицинские, социальные, демографические аспекты и пути профилактики // Медицина труда, восстановительная и профилактическая медицина. — 2010. — Т. 11. — С. 257–264. [Oganov R.G. *Cardiovascular disease at the beginning of the XXI century: medical, social, demographic aspects and ways of prevention*. *Meditsina truda, vosstanovitel'naya i profilakticheskaya meditsina*. 2010; 11: 257–264. (In Russ.)]

9. Плотский А.Р. Роль гомоцистеина в генезе врождённых пороков развития плода // Репрод. здоровье в Беларуси. — 2009. — №5 (05). — С. 58–65. [Plotskiy A.R. The role of homocysteine in the genesis of congenital malformations of the fetus. *Reproduktivnoe zdorove v belarusi*. 2009; 5: 58–65. (In Russ.)]

10. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В., Фомина Н.В., Терентьев А.А. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях. Патент №2524667 РФ, МПК

11. G01N33/52. Бюлл. №21 от 27.07.2014. [Fomina M.A., Abalenikhina Yu.V., Fomina N.V., Terentev A.A. Method for complex evaluation of proteins oxidative modification in tissues and biological fluids. Patent for invention №2524667 RU. Issued at 27.07.2014. (In Russ.)]

11. Arun K., Lijo J., Shrivadeep M. et al. Converging evidence of mitochondrial dysfunction in a yeast model of homocysteine metabolism imbalance // *J. Biol. Chem.* — 2011. — Vol. 286, N 24. — P. 21 779–21 795.

12. Herrmann W., Obeid R. Homocysteine: a biomarker in neurodegenerative diseases // *Clin. Chem. Lab. Med. (CCLM)*. — 2011. — Vol. 49, iss. 3. — P. 435–441.

13. Martinez-Ruiz A., Cadenas S., Lamas S. Nitric oxide signaling: classical, less classical, and nonclassical mechanisms // *Free Rad. Biol. Med.* — 2011. — Vol. 51, iss. 1. — P. 17–29.

14. McCully K.S. Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: historical perspectives // *Clin. Chem. Lab. Med. (CCLM)*. — 2005. — Vol. 43, iss. 10. — P. 980–986.

15. Pérez-Rosés R., Risco E., Vila R. et al. Antioxidant activity of Tween-20 and Tween-80 evaluated through different in-vitro tests // *J. Pharmac. Pharmacol.* — 2015. — Vol. 67, N 5. — P. 666–672.

16. Stühlinger M.C., Tsao P.S., Jeng-Horng H. et al. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway. Role of asymmetric dimethylarginine // *Circulation.* — 2001. — Vol. 104. — P. 2569–2575.

17. Wink D.A., Miranda K.M., Espey M.G. et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide // *Antioxidants Redox Signaling.* — 2001. — Vol. 3, N 2. — P. 203–213.

18. Zun Y.W., Hakanson R. Role of nitric oxide (NO) in ocular inflammation // *Brit. J. Pharmacol.* — 1995. — Vol. 116. — P. 244–245.

УДК 612.084: 612.67: 612.015.11: 612.397.2: 612.015.38: 616-089.22: 616.419

## ВЛИЯНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Виктор Николаевич Мещанинов\*, Денис Леонидович Щербаков

Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Россия;

Центр специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург, Россия

### Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-843

**Цель.** Выявить возрастные особенности изменений системы «перекисное окисление и антиокислительная активность» в организме крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и в условиях коррекции нейромедиаторами.

**Методы.** Работа проведена на 410 крысах-самцах линии Вистар зрелого и старого возраста. Иммобилизацию крыс обеспечивали путём обездвиживания в пластиковых пеналах на 12 ч. Инъекции нейромедиаторов проводили подкожно: растворы ацетилхолина хлорида, эпинефрина (адреналина гидрохлорида), L-триптофана, никотиновой кислоты. После декапитации в органах животных исследовали показатели перекисного окисления липидов, антиокислительной активности, рутинные биохимические и гематологические показатели стандартизированными методами.

**Результаты.** Иммобилизационный стресс вызывал фазные изменения процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в системе крови крыс, которые соответствуют стадиям стресс-реакции; с увеличением возраста у старых крыс отмечалась более ранняя активация перекисного окисления липидов. С возрастом в системе крови крыс происходило ослабление влияния парасимпатической нервной системы и усиливалось действие симпатической, что может приводить к возраст-зависимым изменениям интенсивности перекисного окисления липидов при стресс-воздействии. L-триптофан и никотиновая кислота при стресс-воздействии у зрелых и старых крыс вызывали антиоксидантный, у старых крыс — гиполипидемический геропрофилактический эффект.

**Вывод.** Иммобилизационное стресс-воздействие вызывает негативные гиперлипидемические изменения в периферической крови крыс старого возраста, но в условиях воздействия сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты происходит нормализация липидного и липопротеидного состава крови, что демонстрирует геропрофилактические, гиполипидемические качества неантиоксидантного генеза.

**Ключевые слова:** иммобилизационный стресс, возраст, перекисное окисление липидов, нейромедиаторы.

# INFLUENCE OF NEUROTRANSMITTERS ON LIPID PEROXIDATION DURING IMMOBILIZATION STRESS EXPOSURE IN RATS OF DIFFERENT AGES

*V.N. Meschaninov, D.L. Scherbakov*

*Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia;*

*Center for Specialized Types of Medical Care «Institute of Medical Cell Technologies», Ekaterinburg, Russia*

**Aim.** To identify age-specific changes of «peroxidation and antioxidant activity» system in rats during immobilization stress exposure and after correction with neurotransmitters.

**Methods.** The study was conducted on 410 male Wistar rats of mature and old age. Rats was immobilized in plastic canisters for 12 hours. Neurotransmitters — acetylcholine chloride, epinephrine (adrenaline hydrochloride), L-tryptophan, nicotinic acid solutions — were injected subcutaneously. After decapitation lipid peroxidation, antioxidant activity, routine biochemical and hematological parameters were studied in sacrificed rats using standardized methods.

**Results.** Immobilization stress induced phase changes of lipid peroxidation and antioxidant activity in the blood of rats, which corresponds to the stages of stress reaction. Increasing age leads to earlier activation of lipid peroxidation which was observed in old rats. Weakening of the parasympathetic nervous system influence and enhancement of the sympathetic nervous system action was observed with age in the blood of rats, which can lead to age-related changes in the intensity of lipid peroxidation when exposed to stress. In mature and old rats exposed to stress L-tryptophan and nicotinic acid induced antioxidant, in old rats — hypolipidemic geroprophylactic effect.

**Conclusion.** Immobilization stress exposure causes adverse hyperlipidemic changes in peripheral blood of old age rats. However under the impact of L-tryptophan and nicotinic acid combination normalization of lipid and lipoprotein content of blood occurs showing geroprophylactic hypolipidemic qualities of non-antioxidant genesis.

**Keywords:** immobilization stress, age, lipid peroxidation, neurotransmitters.

Изменение интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной активности (АОА) имеет решающее значение в реализации механизмов старения организма. На процессы ПОЛ влияют многие факторы, один из них — стресс-реакция, вызванная экстремальным воздействием [1, 7].

Стресс-воздействие приводит к развитию в организме общего адаптационного синдрома, ведущую роль в котором играет вегетативная нервная система. Известно, что она влияет на ряд функций организма, но о влиянии на систему ПОЛ и АОА (ПОЛ/АОА) при стрессе данных недостаточно. Нейромедиаторы симпатического отдела вегетативной нервной системы (адреналин, норадреналин) участвуют в изменениях системы ПОЛ/АОА при стрессе. О влиянии нейромедиаторов парасимпатического отдела (ацетилхолин) на изменения интенсивности процессов ПОЛ информации не найдено. К тому же в литературных источниках в основном обсуждают вопрос о влиянии адреналина и ацетилхолина на ПОЛ организмов зрелого возраста, но в возрастном аспекте при сравнении организмов зрелого и старого возраста информации недостаточно. При этом ряд заболеваний, связанных с вынужденной гипокинезией организма (таких, как травмы, постинсультные состояния), сопровождается активацией ПОЛ, особенно у пациентов пожилого возраста [1, 7].

В литературе есть данные о синтетических препаратах, адресно-ориентированных на устранение в организме нозологий [5], вызванных иммобилизационным стресс-воздействием и активацией ПОЛ, но слабо

разработан вопрос о воздействиях на стресс-реакцию, как их единую этиопатфизиологическую основу [2].

Ряд авторов выносят на обсуждение вопрос об адаптогенных и антиоксидантных свойствах нейрометаболита мелатонина при экстремальных воздействиях, в частности при вынужденной иммобилизации организма. Мелатонин — производное аминокислоты L-триптофана, образование которой может усиливаться под воздействием никотиновой кислоты. Никотиновая кислота по принципу отрицательной обратной связи блокирует ключевой фермент метаболизма L-триптофана — триптофан-2,3-диоксигеназу (КФ1.13.11.11). В результате метаболизм L-триптофана может переключаться на серотониновый путь с увеличением в организме его продуктов, таких как серотонин и мелатонин, с проявлением адаптогенного и антиоксидантного эффектов [1, 3, 4]. В литературе информация о совместном влиянии L-триптофана и никотиновой кислоты на изменения в системе ПОЛ/АОА и липидном составе крови, вызванные стресс-воздействием, особенно в возрастном аспекте, практически отсутствует.

Цель работы — выявить возрастные особенности изменений системы ПОЛ/АОА в организме крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и в условиях коррекции нейромедиаторами.

Работа проведена на 410 крысах-самцах линии Вистар зрелого (8–10 мес, масса тела 200–250 г) и старого (19–22 мес, масса тела 350–500 г) возраста. Все исследования выполнены в соответствии с общепринятыми этическими нормами и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета от

22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Иммобилизацию крыс осуществляли по методике, описанной у ряда авторов, путём полного обездвиживания в пластиковых пеналах на протяжении 12 ч. В исследовании использовали периферическую кровь и костный мозг. Костный мозг извлекали из бедренных костей, после взвешивания и суспендирования в изотоническом растворе натрия хлорида его центрифугировали для получения фракции миелокариоцитов. Контрольные группы составляли интактные животные соответствующего возраста.

Инъекции нейромедиаторов выполняли подкожно в утреннее время в следующих дозах: ацетилхолина хлорид 1,25% раствор 8 мг/кг; эпинефрин (адреналина гидрохлорид) 1% раствор 0,1 мг/кг. Дозы эпинефрина (адреналина гидрохлорида) и ацетилхолина выбраны в соответствии с рекомендациями других авторов.

Дополнительно проведены эксперименты *in vitro* по инкубации миелокариоцитов ( $4 \times 10^7$  клеток/мл) крыс разного возраста с эпинефрином (адреналина гидрохлоридом,  $1,6 \times 10^8$  молекул/мл) и ацетилхолином ( $8 \times 10^7$  молекул/мл). Миелокариоциты инкубировали в ячейке хемилуминометра ХЛ 1420.1.

Инъекцию L-триптофана с никотиновой кислотой выполняли подкожно в утреннее время контрольным и опытным крысам: 1,3% раствор L-триптофана в дозе 60 мг/кг; 1% раствор никотиновой кислоты в дозе 10 мг/кг. Количество L-триптофана и никотиновой кислоты для инъекций было выбрано в соответствии с максимальной общепринятой суточной дозой этих веществ для человека. При расчёте дозы для крыс использовали коэффициент пересчёта равноэффективных доз.

В работе использованы четыре лабораторно-диагностических панели.

Первая лабораторно-диагностическая панель — биохимическое исследование показателей ПОЛ в периферической крови и костном мозге крыс. Хемилуминесцентный метод с индуцированием 3% водорода пероксидом (перекисью водорода). Измерения проводили с помощью хемилуминометра ХЛ 1420.1 (ООО «Конструктор», Россия) и люминометра-фотометра Lucy 3 («Anthos Labtec Instruments», Австрия) с двойным диспенсером и встроенным компьютером. Определение диеновой конъюгации высших ненасыщенных жирных кислот и

гидроперекисей липидов проводили спектрофотометрическим методом. Малоновый диальдегид также определяли спектрофотометрическим методом при обязательной инкубации исследуемого биоматериала в стандартных условиях для индукции ПОЛ.

Вторая лабораторно-диагностическая панель — биохимическое исследование показателей АОА в периферической крови и костном мозге крыс. Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) определяли фотокolorиметрическим методом с окислением молибдата аммония. Активность пероксидазы (КФ 1.11.1.7) оценивали фотокolorиметрическим методом с использованием индигокармина. Активность супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1) определяли спектрофотометрическим методом, основанным на реакции автоокисления кверцетина. Активность глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) регистрировали спектрофотометрически по скорости образования окисленного глутатиона. Определение общей неферментативной АОА проводили по измерению торможения реакций ПОЛ в модельной системе с легкоокисляемыми липидами. Церулоплазмин анализировали методом, основанным на реакции с о-фенилдиамином (спектрофотометр UNICO-2802, «Unico Sys», США). Перекисную резистентность эритроцитов определяли по степени гемолиза в присутствии 3% перекиси водорода.

Учитывая трудность однозначной трактовки состояния ПОЛ и АОА по отдельным показателям, был использован математический подход по обобщению полученных результатов, основанный на применении коэффициента антиокислительной защиты. В результате произведённой модификации коэффициента антиокислительной защиты были выведены формулы коэффициента ПОЛ (КПОЛ) и коэффициента АОА (КАОА).

Третья лабораторно-диагностическая панель — определение количества липидов, липопротеидов периферической крови и костного мозга. Триглицериды оценивали по реакции с ацетилацетоном после экстракции смесью гептана и изопропилового спирта. Холестерин определяли унифицированным методом Златкис-Зака по реакции с хлорным железом. Фосфолипиды регистрировали по количеству фосфата, освободившегося при гидролизе фосфолипидов. Липопротеиды низкой, высокой и очень низкой плотности определяли иммуноферментным методом.

Четвёртая лабораторно-диагностическая

панель — морфологическое изучение периферической крови. Подсчитывали количество ретикулоцитов в мазках периферической крови, окрашенных бриллиант-крезиловой синью.

Полученные результаты статистически обрабатывали в программе MS Excel 2007 с использованием параметрического критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна-Уитни. Критерием статистической значимости различий сравниваемых средних величин считали  $p \leq 0,05$  [2, 6, 7].

У интактных крыс значимых возрастных различий в изменении величины КПОЛ системы крови обнаружено не было. Иммобилизационное стресс-воздействие вызывало изменения величины КПОЛ в системе крови крыс, которые соответствовали стадиям стресс-реакции (тревога, шок, противошок, резистентность) [1, 7].

В системе крови старых крыс изменения ПОЛ при иммобилизационном стресс-воздействии происходили несколько раньше (на 3–6 ч) и были менее значимы по величине, чем у зрелых крыс. Величина КПОЛ у старых крыс в системе крови на протяжении всего эксперимента была меньше на 10% ( $p < 0,05$ ) по сравнению со зрелыми крысами.

С увеличением возраста в ряде органов и систем организма возникали морфологические изменения, сопровождающиеся увеличением доли соединительной ткани. В костном мозге старых крыс увеличивалось количество фиброзной стромы и адипоцитов, а также уменьшалась эффективность неферментативной антиокислительной системы. Всё это в совокупности могло быть причиной более ранней активации ПОЛ в системе крови старых крыс при стресс-воздействии.

Миелокарициты крыс активнее по сравнению с периферической кровью реагировали на иммобилизационное стресс-воздействие. В течение 6 ч иммобилизационного стресс-воздействия величина КПОЛ в миелокарицитах у зрелых крыс оказалась больше на 90% ( $p < 0,05$ ), у старых крыс — на 70% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с КПОЛ периферической крови. Это, возможно, связано с наличием в костном мозге жировых клеток, количество которых при стресс-воздействии в результате апоптоза становилось меньше. Продукты распада адипоцитов на фоне увеличения объёма сосудистой ткани становились субстратом для свободнорадикальных реакций, что в итоге могло приводить к активации ПОЛ в костном мозге и системе крови.

По мнению ряда авторов, межклеточ-

ная среда костного мозга способна влиять на биохимические и физиологические изменения в системе крови, происходящие при иммобилизационном и других видах стресс-воздействия [6]. Симпатический отдел вегетативной нервной системы организма в ответ на стресс-воздействие увеличивал количество катехоламинов в межклеточной среде костного мозга. Основной мишенью действия катехоламинов при активации процессов ПОЛ могли служить адипоциты костного мозга. С возрастом наблюдалось увеличение количества жировой ткани в костном мозге, что могло быть причиной более ранней активации ПОЛ у старых крыс при стресс-воздействии.

При изучении КАОА в системе крови крыс было выяснено, что иммобилизационное стресс-воздействие вызывало фазные изменения КАОА, соответствующие стадиям стресс-реакции (тревога, шок/противошок, резистентность). Возрастных различий изменения величины КАОА в системе крови интактных крыс и при иммобилизационном стресс-воздействии обнаружено не было.

Для более подробного изучения АОА в системе крови крыс был проведён анализ ферментативной и неферментативной АОА. На ранних этапах стресса, в стадии тревоги в большей степени была задействована неферментативная АОА, а в дальнейшем, начиная со стадии резистентности, на первый план выходила ферментативная АОА. Это происходило, начиная с 12-го часа после окончания иммобилизационного стресс-воздействия. В этот период происходила активация долговременных механизмов адаптации, связанных с началом синтеза защитных белков (каталаза, супероксиддисмутаза).

При изучении количества ретикулоцитов в крови интактных зрелых и старых крыс статистически значимых различий обнаружено не было.

При сравнении количества ретикулоцитов периферической крови между зрелыми и старыми крысами в условиях иммобилизационного стресс-воздействия было установлено, что на протяжении всего эксперимента количество ретикулоцитов у старых крыс было меньше на 30% ( $p < 0,05$ ), и это уменьшение оставалось постоянным. Данный факт мог свидетельствовать о происходящем с возрастом уменьшении пролиферативной активности или количества стволовых клеток костного мозга.

При сопоставлении количества ретикулоцитов периферической крови с величиной



КПОЛ миелокариоцитов была обнаружена прямая корреляция средней силы ( $r=0,73$ ,  $p < 0,05$ ). Изменения количества ретикулоцитов при стресс-воздействии происходили не только благодаря увеличению доли сосудистой ткани и уменьшению количества жировой ткани в костном мозге крыс, но и вследствие активации процессов ПОЛ, которые, по мнению ряда авторов, могут влиять на пролиферацию [6, 7].

При иммобилизационном стресс-воздействии эпинефрин (адреналина гидрохлорид) ускорял изменения процессов ПОЛ в системе крови крыс, ацетилхолин — замедлял. Инъекция эпинефрина (адреналина гидрохлорида) вызывала смещение графика динамики КПОЛ системы крови крыс влево по оси абсцисс, увеличение интенсивности процессов ПОЛ наступало на 6 ч раньше. Активация процессов ПОЛ в костном мозге при иммобилизационном стресс-воздействии и ускорение этой активации адреналином могли происходить в результате апоптоза адипоцитов или катаболического распада триглицеридов, вызванного действием стресса или адреналина.

Введение ацетилхолина вызывало замедление изменений динамики КПОЛ в системе крови крыс. Кривая изменения КПОЛ при стрессе под воздействием ацетилхолина растягивалась и смещалась вправо по оси абсцисс. Одной из причин такого действия ацетилхолина могла быть его способность депонироваться в эритроцитах и клетках костного мозга и постепенно под действием экстремального фактора освобождаться из них. У старых крыс происходило снижение эффективности действия эпинефрина (адреналина гидрохлорида) и ацетилхолина.

Чтобы определить, действуют ли адреналин и ацетилхолин непосредственно на миелокариоциты или влияние опосредовано через другие фракции костного мозга, был проведен эксперимент *in vitro* с инкубацией миелокариоцитов зрелых и старых крыс нейромедиаторами.

Эпинефрин (адреналина гидрохлорид) вызывал активацию процессов ПОЛ в миелокариоцитах как зрелых, так и старых крыс. У старых крыс реакция миелокариоцитов на действие адреналина была более выражена, значение КПОЛ в этих условиях увеличилось на 48% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с миелокариоцитами зрелых крыс. Таким образом, в миелокариоцитах старых крыс происходило усиление влияния симпатической нервной системы (или адреналина) на

активацию процессов ПОЛ.

Введение ацетилхолина в инкубационную среду с миелокариоцитами также вызывало активацию липопероксидации. Максимальная активация хемилюминесценции миелокариоцитов зрелых и старых крыс происходила через 25 с после введения ацетилхолина, что на 10 с позже по сравнению с эпинефрином (адреналина гидрохлоридом). У старых крыс реакция миелокариоцитов на ацетилхолин была менее выраженная, величина КПОЛ — меньше на 43% ( $p < 0,05$ ), чем в миелокариоцитах зрелых. Таким образом, с возрастом в миелокариоцитах старых крыс происходило уменьшение влияния ацетилхолина, или парасимпатического отдела вегетативной нервной системы, на активацию процессов ПОЛ.

В качестве протективного средства, защищающего от действия процессов ПОЛ, активированных иммобилизационным стресс-воздействием, было использовано сочетание L-триптофана и никотиновой кислоты. Никотиновая кислота, участвуя в метаболизме L-триптофана, индуцирует его метаболизм по серотониновому пути, что может усиливать антиоксидантные свойства L-триптофана.

Иммобилизационное стресс-воздействие вызывало уменьшение величины КАОА в системе крови крыс, у зрелых КАОА при этом уменьшился на 16% ( $p > 0,05$ ), у старых — на 19% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактными крысам. В системе крови зрелых крыс после введения L-триптофана и никотиновой кислоты величина КАОА возрастала на 13%, у старых — на 14,5% ( $p < 0,05$ ). Введение крысам L-триптофана и никотиновой кислоты на фоне иммобилизационного стресс-воздействия приводило к увеличению в системе крови величины КАОА, у зрелых крыс КАОА увеличился на 67% ( $p < 0,05$ ), у старых — на 44% ( $p < 0,05$ ). Величина КАОА в системе крови старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и в условиях действия L-триптофана и никотиновой кислоты была меньше на 17% ( $p < 0,05$ ), чем у зрелых крыс.

При изучении изменения величины КПОЛ в системе крови крыс были получены данные, подтверждающие антиоксидантное действие сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты. Иммобилизационное стресс-воздействие увеличивало величину КПОЛ в системе крови крыс. Инъекция L-триптофана и никотиновой кислоты на фоне иммобилизационного

стресс-воздействия приводила к снижению величины КПОЛ до уровня интактных крыс. В системе крови зрелых крыс величина КПОЛ после введения комплекса уменьшилась на 27% ( $p < 0,05$ ), у старых крыс — на 11% ( $p > 0,05$ ).

При изучении липопротеидов периферической крови крыс было установлено, что, помимо антиокислительного действия, L-триптофан в сочетании с никотиновой кислотой обладал гиполипидемическим свойством. В качестве интегрального показателя липидной составляющей периферической крови крыс был выбран липопротеидный коэффициент. Иммуобилизационное стресс-воздействие вызывало увеличение липопротеидного коэффициента, при этом у зрелых крыс произошло увеличение на 16% ( $p > 0,05$ ), у старых крыс — на 57% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактными крысами.

Введение L-триптофана и никотиновой кислоты на фоне иммуобилизационного стресс-воздействия вызывало уменьшение величины липопротеидного коэффициента в периферической крови старых крыс на 34% ( $p < 0,05$ ), возвращая его к нормальным показателям; у зрелых крыс аналогичных изменений не обнаружено. В данном случае введение L-триптофана в сочетании с никотиновой кислотой, помимо антиоксидантного действия, продемонстрировало гиполипидемические геропрофилактические качества неантиоксидантного генеза.

## ВЫВОДЫ

1. При иммуобилизационном стресс-воздействии процессы перекисного окисления липидов и антиокислительная активность в системе крови крыс изменяются в зависимости от стадий стресс-реакции. При этом у старых крыс изменения активности процессов перекисного окисления липидов происходят на 3–6 ч раньше, чем у зрелых, что, возможно, связано с зависимым от возраста уменьшением эффективности неферментативной антиокислительной системы.

2. При стрессе нейромедиаторы вегетативной нервной системы оказывают влияние на изменение интенсивности процессов перекисного окисления липидов. Адреналин при иммуобилизационном стресс-воздействии в системе крови крыс способствует быстрому и более значимому увеличению интенсивности процессов перекисного окисления липидов, а ацетилхолин — более продолжительному, но менее

значимому изменению перекисного окисления липидов.

3. С увеличением возраста у крыс происходит ослабление влияния парасимпатического отдела (ацетилхолин) и усиление действия симпатического отдела (адреналин) вегетативной нервной системы на изменения интенсивности перекисного окисления липидов, что способствует более ранней активации последнего при иммуобилизационном стресс-воздействии в системе крови старых крыс и снижению пролиферативного потенциала костного мозга при старении.

4. Воздействие сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты в условиях иммуобилизационного стресс-воздействия вызывает ингибирование перекисного окисления липидов в системе крови и органах крыс, проявляя антиоксидантные свойства. При этом с увеличением возраста у старых крыс уменьшается антиокислительная эффективность сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты.

5. Иммуобилизационное стресс-воздействие вызывает негативные гиперлипидемические изменения в периферической крови старых крыс, но при воздействии сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты нормализуется липидный и липопротеидный состав крови, что демонстрирует геропрофилактические и гиполипидемические качества неантиоксидантного генеза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. — СПб.: Наука, 2008. — Т. 1. — 481 с.; Т. 2. — 434 с. [Anisimov V.N. *Molekulyarnye i fiziologicheskie mekhanizmy stareniya*. (Molecular and physiological mechanisms of aging.) Saint Petersburg: Nauka. 2008; 2 Vols: 434 p. (In Russ.)]
2. Щербаков Д.Л., Емельянов В.В., Мещанинов В.Н. Особенности влияния адреналина на перекисное окисление липидов в миеокариocyтах зрелых и старых крыс *in vitro* // Вестн. Урал. мед. академ. науки. — 2013. — №4. — С. 102–105. [Shcherbakov D.L., Emel'yanov V.V., Meshchaninov V.N. The influence of adrenaline on lipid peroxidation in myelocaryocytes of adult and old rats *in vitro*. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2013; 4: 102–105. (In Russ.)]
3. Щербаков Д.Л., Емельянов В.В., Мещанинов В.Н. Антиоксидантное действие триптофана и никотиновой кислоты в головном мозгу крыс разного возраста при иммуобилизационном стресс-воздействии // Успехи геронтол. — 2014. — Т. 27, №4. — С. 730–736. [Shcherbakov D.L., Emel'yanov V.V., Meshchaninov V.N. Tryptofan and nicotinic acid as antioxidants in different age rats brain at the immobilization stress. *Uspekhi gerontologii*. 2014; 27 (4): 730–736. (In Russ.)]
4. Щербаков Д.Л., Мещанинов В.Н. Влияние сочетания триптофана и никотиновой кислоты на перекисное окисление липидов в системе крови у крыс разного возраста в норме и при ускоренном старе-

нии // Вестн. Урал. мед. академ. науки. — 2007. — №4. — С. 82–86. [Shcherbakov D.L., Meshchaninov V.N. Effect of combination of tryptophan and nicotinic acid on lipid peroxidation in the blood of rats of different age in normal and accelerated aging. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2007; 4: 82–86. (In Russ.)]

5. Щербаков Д.Л., Мещанинов В.Н., Жарков С.В. Влияние олигопептида на изменения интенсивности перекисного окисления липидов и антиокислительной активности при иммобилизационном стресс-воздействии в периферической крови крыс разного возраста // Вестн. Урал. мед. академ. науки. — 2014. — №5. — С. 110–115. [Shcherbakov D.L., Meshchaninov V.N., Zharkov S.V. Effect of oligopeptide to lipid peroxidation and antioxidant activity in peripheral blood of rats of different age under

immobilization stress. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2014; 5: 110–115. (In Russ.)]

6. Юшков Б.Г., Климин В.Г., Кузьмин А.И. Сосуды костного мозга и регуляция кроветворения. — Екатеринбург: УрО РАН, 2004. — 148 с. [Yushkov B.G., Klimin V.G., Kuzmin A.I. *Sosudy kostnogo mozga i regulyatsiya krovetvoreniya*. (The vessels and the regulation of bone marrow hematopoiesis.) Ekaterinburg: UrO RAN. 2004; 148 p. (In Russ.)]

7. Ястребов А.П., Мещанинов В.Н. Старение, перекисное окисление липидов и биовозраст. — Екатеринбург: Уральский следопыт, 2005. — 220 с. [Yastrebov A.P., Meshchaninov V.N. *Starenie, perekisnoe okislenie lipidov i biovozrast*. (Aging, lipid peroxidation and biological age.) Ekaterinburg: Uralskiy sledopyt. 2005; 220 p. (In Russ.)]

УДК 612.015.11: 612.084: 616.5-001.17: 615.273.2: 615.357

## ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОПОЭТИНА НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ЛИМФОЦИТАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Михаил Владимирович Осиков, Елена Владимировна Симонян, Оксана Тагировна Саедгалина\*

Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск, Россия

### Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-849

**Цель.** Исследовать влияние различных концентраций эритропоэтина на содержание продуктов перекисного окисления липидов в лимфоцитах, выделенных из крови крыс с термической травмой.

**Методы.** Исследование выполнено на 22 белых нелинейных крысах-самцах. Термическую травму IIIA степени площадью 4% моделировали путём погружения в воду с температурой 98–99 °С. Через 24 ч из крови крыс выделяли лимфоциты и спектрофотометрически определяли содержание в них первичных (диеновых конъюгатов), вторичных (кетодиенов и сопряжённых триенов) и конечных продуктов (оснований Шиффа) перекисного окисления липидов. Эритропоэтин добавляли к лимфоцитам в концентрациях 0,01; 0,1 и 1 МЕ/мл.

**Результаты.** Установлено, что через 24 ч после термической травмы происходит накопление первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов в изопропанольной фракции липидного экстракта лимфоцитов периферической крови. Добавление к лимфоцитам, выделенным из периферической крови крыс с термической травмой, эритропоэтина приводило к неоднозначным изменениям содержания продуктов перекисного окисления липидов: увеличению в гептановой фракции, снижению — в изопропанольной фракции липидного экстракта лимфоцитов. В гептановой фракции эритропоэтин увеличивал содержание первичных (в концентрациях 0,01; 0,1 и 1 МЕ/мл), конечных (при использовании концентрации 0,1 МЕ/мл) и вторичных (в концентрации 1 МЕ/мл) продуктов перекисного окисления липидов. В изопропанольной фракции эритропоэтин снижал содержание первичных (в концентрациях 0,01; 0,1 и 1 МЕ/мл), конечных (в концентрациях 0,01 и 0,1 МЕ/мл) и вторичных (в концентрациях 0,01 и 1 МЕ/мл) продуктов перекисного окисления липидов.

**Вывод.** Установлено, что при термической травме происходит накопление продуктов перекисного окисления липидов в изопропанольной фракции липидного экстракта лимфоцитов, выделенных из периферической крови крыс с термической травмой; применение эритропоэтина в концентрациях 0,01; 0,1 и 1 МЕ/мл приводит к увеличению содержания продуктов перекисного окисления липидов в гептановой фракции, снижению — в изопропанольной фракции липидного экстракта лимфоцитов.

**Ключевые слова:** термическая травма, эритропоэтин, продукты перекисного окисления липидов.

## EFFECT OF ERYTHROPOIETIN ON THE CONTENT OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS IN LYMPHOCYTES IN EXPERIMENTAL THERMAL INJURY

M.V. Osikov, E.V. Simonyan, O.T. Saedgalina

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

**Aim.** To investigate the effect of different concentrations of erythropoietin on the content of lipid peroxidation products in lymphocytes isolated from the blood of rats with thermal injury.

**Methods.** The study was performed on 22 white male rats. Thermal injury of IIIA degree on 4% of body surface area was simulated by immersion in water at a temperature of 98–99 °C. After 24 hours, blood lymphocytes were isolated and the content of the primary (diene conjugates), secondary (ketodienes and conjugated trienes) and final products (Schiff bases) of lipid peroxidation were determined spectrophotometrically. Erythropoietin was added to lymphocytes at concentrations of 0.01; 0.1 and 1 IU/ml.

**Results.** It was found that 24 hours after thermal injury there were the accumulation of primary, secondary and final products of lipid peroxidation in isopropanol fraction of lipid extracts of peripheral blood lymphocytes. Addition of erythropoietin to the rat lymphocytes resulted in a controversial change in the content of lipid peroxidation products: an increase in the heptane fraction, decrease — in the isopropanol fraction of lipid extract of lymphocytes. In the heptane fraction erythropoietin (at concentrations of 0.01, 0.1, and 1 IU/ml) increased the content of primary, end (at a concentration of