

# ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

## АКТИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОНА У ПЛОДОВ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ НИТРИТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ВВЕДЕНИИ АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛА

А. С. Иванова<sup>1</sup>, И. Г. Попова<sup>2</sup>, С. Б. Назаров<sup>1, 2</sup>

Оценивали состояние эритрона и активность свободнорадикальных процессов у плодов крыс при хронической нитритной интоксикации (0,2 % раствор нитрита натрия) и введении альфа-токоферола (внутримышечно 150 мг/кг). При длительном поступлении нитритов у плодов повышается содержание эритроцитов и гемоглобина, увеличивается количество свободных радикалов и снижается антиоксидантный потенциал. При введении альфа-токоферола на фоне нитритной интоксикации изменения выражены меньше, чем при изолированном поступлении нитрита натрия. В сыворотке снижается количество свободных радикалов и повышается активность антиоксидантной системы.

**Ключевые слова:** альфа-токоферол, нитрит натрия, эритрон, плод, свободнорадикальные процессы, хемилюминесценция

### ВВЕДЕНИЕ

Опубликовано большое количество работ, где обсуждается влияние окиси азота на различные функции организма, в том числе на протекание беременности [7, 11, 12]. NO является высокоактивным короткоживущим веществом, образующимся при активации NO-синтаз или в процессе метаболизма кислородсодержащих соединений азота (нитратов, нитритов). При повышении концентрации окиси азота на фоне высокого уровня свободных радикалов образуется высокотоксичное долгоживущее соединение пероксинитрит, который вызывает повреждение клеток и тканей [12]. Окислительный стресс, вызванный свободными радикалами, является важной проблемой акушерства. Эти соединения способствуют возникновению эмбриопатий и смерти плода, угрозы прерывания беременности, эклампсии [4, 8].

На ранних этапах онтогенеза способности антиоксидантной системы весьма ограничены, поэтому развивающийся эмбрион и плод очень чувствительны к высокой концентрации свободных радикалов, особенно в периоды органогенеза [10]. Такое влияние окислительного стресса связано с повреждением клеточных макромолекул, например, ДНК, протеинов, липидов. В этих условиях для защиты клеток могут использоваться экзогенные и эндогенные антиоксиданты — аскорбиновая кислота, альфа-токоферол и другие [1, 2].

В наших предыдущих исследованиях было показано, что альфа-токоферол оказывает защитное влияние на эритроциты взрослых крыс, уменьшая качественные и количественные их изменения при введении на фоне нитритной интоксикации [2].

Альфа-токоферол является ингибитором процессов перекисного окисления липидов, раньше других антиоксидантов расходуется в окислительных реакциях. Его концентрация в крови при нормальной беременности одинакова у матерей и плодов [3]. Следует отметить большую распространенность дефицита этого витамина в популяции.

Цель работы — оценка состояния эритрона и активности свободнорадикальных процессов у плодов крыс при хронической нитритной интоксикации и введении альфа-токоферола.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на 180 20-дневных плодах белых нелинейных крыс-самок.

Плоды были разделены на 4 группы. 1-я группа — плоды на 20-й день беременности, чьи матери получали воду; 2-я группа — плоды на 20-й день беременности, чьи матери получали вместо питьевой воды 0,2 % раствор нитрита натрия [13]; 3-я группа — плоды на 20-й день беременности, чьи матери получали воду и внутримышечные инъекции альфа-токоферола в дозе 150 мг/кг два раза в неделю [9]; 4-я группа — плоды на 20-й день беременности, чьи матери получали вместо питьевой воды 0,2 % раствор нитрита натрия и внутримышечные инъекции альфа-токоферола в дозе 150 мг/кг два раза в неделю.

<sup>1</sup> Кафедра нормальной физиологии (зав. — проф. С. Б. Назаров) ГОУ ВПО “Ивановская государственная медицинская академия Росздрава”, 153012, Иваново, пр. Энгельса, 8.

<sup>2</sup> Биохимическая лаборатория (зав. — проф. С. Б. Назаров) ФГУ “Ивановский НИИ материнства и детства им. В. Н. Гордкова Росздрава”.

Таблица 1. Показатели массы тела и состояния эритрона у плодов на 20-й день внутриутробного развития

Группа	Масса, г	Эритроциты, Т/л	Гемоглобин, г/л
1, вода	2,67 ± 0,05	1,62 ± 0,03	87,1 ± 1,34
2, нитрит	2,56 ± 0,02*	1,69 ± 0,02*	90,4 ± 0,99*
3, α-токоферол	2,37 ± 0,03*	1,74 ± 0,03*	78,4 ± 0,82*
4, нитрит + α-токоферол	2,7 ± 0,07	1,76 ± 0,04*	79,6 ± 1,38*^

**Примечание.** Здесь и в табл. 2: \* — достоверное отличие от 1-й группы наблюдения; ^ — достоверное отличие нитрит/нитрит + α-токоферол.

У плодов оценивали массу тела, содержание эритроцитов, концентрацию гемоглобина. Концентрацию суммарных нитратов и нитритов (NO<sub>x</sub>) измеряли путем восстановления нитратов в нитриты в присутствии хлорида ванадия по методике К. М. Miranda, 2001.

Для оценки состояния свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты в организме исследовали интенсивность индуцированной хемилюминесценции в сыворотке крови и эритроцитах. Хемилюминесценцию (ХЛ) измеряли на биохемилюминометре БХЛ-06М. Оценивали содержание свободных радикалов по светосумме свечения (S) и максимальной интенсивности сигнала (Im), а также состояние антиоксидантной системы по тангенсу угла наклона кривой (tg2) коэффициенту k (k = Im/S).

Умерщвление взрослых животных осуществляли под наркозом этаминал-натрием (50 мг/кг) путем дислокации шейных позвонков.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационного анализа с использованием t-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У плодов крыс, получавших нитрит натрия, наблюдается значительное повышение концентрации NO<sub>x</sub> в сыворотке крови до 364,0 ± 55,3 ммоль/л при 181,6 ± 10,2 ммоль/л у интактных плодов (p < 0,05). В норме у плодов по сравнению с материнским организ-

мом повышена нитрит-редуктазная активность дезоксигемоглобина [5]. При хронической гипоксии эта разница увеличивается, что проявляется в повышении уровня нитритов. Подобные изменения имеют компенсаторное значение, так как образующаяся в результате реакции окись азота обеспечивает адаптацию сосудистой системы плода и плаценты.

При хронической нитритной интоксикации у плодов наблюдается снижение массы тела (табл. 1). Это может быть связано с длительным окислительным стрессом. Одновременно отмечается увеличение количества эритроцитов и концентрации гемоглобина на фоне активации эритропоэза в связи с гемической гипоксией.

Изменение хемилюминесценции у плодов при нитритной интоксикации также выражено (табл. 2). В сыворотке крови возрастает светосумма ХЛ, снижается антиокислительный потенциал, в эритроцитах наблюдается увеличение светосуммы ХЛ и максимальной интенсивности сигнала без снижения антиоксидантной защиты.

При введении альфа-токоферола интактным беременным крысам у их плодов также отмечается снижение массы тела по сравнению с плодами интактных крыс (см. табл. 1). Это может быть связано с эффектом альфа-токоферола при отсутствии достаточного количества свободных радикалов. В этой ситуации витамин Е может косвенно вызывать повреждения на уровне ДНК [6]. Содержание эритроцитов возрастает, а гемоглобина — снижается. При оценке ХЛ в сыворотке крови значительно снижается активность свободнорадикальных процессов и повышается ее антиоксидантная активность (см. табл. 2). В эритроцитах существенных изменений не отмечается. Альфа-токоферол, взаимодействуя со свободными радикалами, подавляет образование перекисей, присоединяет кислород, тем самым тормозит процессы ПОЛ.

При введении альфа-токоферола на фоне нитритной интоксикации беременных крыс масса тела у плодов не изменяется (см. табл. 1). Содержание эритроцитов повышено, концентрация гемоглобина по сравнению с

Таблица 2. Показатели индуцированной хемилюминесценции у плодов на 20-й день внутриутробного развития

Группа	Показатели			
	S, импульсов/с	Im, импульсов/с	tg2	k (Im/S)
	<i>Сыворотка</i>			
1, вода	10,34 ± 1,47	1,57 ± 0,08	0,46 ± 0,02	0,19 ± 0,02
2, нитрит	15,17 ± 1,10*	1,76 ± 0,05	0,45 ± 0,03	0,13 ± 0,01*
3, α-токоферол	5,87 ± 1,23*	1,39 ± 0,16	0,46 ± 0,02	0,30 ± 0,03*
4, нитрит + α-токоферол	6,78 ± 1,05*^	1,53 ± 0,12	0,54 ± 0,02*	0,26 ± 0,02*^
	<i>Эритроциты</i>			
1, вода	8,28 ± 1,10	0,42 ± 0,04	0,20 ± 0,01	0,06 ± 0,01
2, нитрит	15,03 ± 2,43*	0,70 ± 0,08*	0,18 ± 0,01	0,06 ± 0,01
3, α-токоферол	8,90 ± 1,16	0,37 ± 0,03	0,18 ± 0,01	0,05 ± 0,01
4, нитрит + α-токоферол	8,40 ± 1,22	0,40 ± 0,04	0,19 ± 0,02^	0,05 ± 0,00^

интактными плодами снижена. В сыворотке крови снижена активность свободнорадикальных процессов и повышен ее антиоксидантный потенциал (см. табл. 2). Токоферол нормализует активность антиоксидантных ферментов после NO-индуцированного окислительного стресса [14]. В эритроцитах достоверных изменений не отмечается.

## ВЫВОДЫ

1. При хронической нитритной интоксикации у плодов повышается содержание эритроцитов и гемоглобина, увеличивается количество свободных радикалов, снижается антиоксидантный потенциал.

2. При введении альфа-токоферола на фоне нитритной интоксикации изменения выражены меньше, чем при изолированном поступлении нитрита натрия. В сыворотке крови снижается количество свободных радикалов, повышается активность антиоксидантной системы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. И. Л. Бровкина, А. А. Конопля, Б. С. Утешаев, *Экспер. и клин. фармакол.*, **67**(3), 51 – 55 (2004).
2. А. С. Иванова, С. Б. Назаров, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 4, 38 – 40 (2004).

3. R. V. Acuff, R. G. Dunworth, L. W. Webb, *Am. J. Clin. Nutr.*, **67**, 459 – 464 (1998).
4. C. Biondi, B. Pavan, L. Lunghi, et al., *Curr. Pharm. Des.*, **16**(11), 2075 – 2089 (2005).
5. A. B. Blood, M. Tiso, S. T. Verma, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **296**, 237 – 246 (2009).
6. C. S. Chen and P. G. Wells, *Cancerogenesis*, **27**(7), 1358 – 1368 (2006).
7. K. P. Conrad, G. M. Joffe, H. Kruszyna, *FASEB J.*, № 7, 566 – 571 (1998).
8. J. Fujii, Y. Iuchi, F. Okada, *Reprod. Biol. Endocrinol.*, № 3, 43 – 56 (2005).
9. F. S. Kilic and K. Erol, *Methods Find. Ex. Clin. Pharmacol.*, **25**(1), 27 – 31 (2003).
10. M. Kobayashi, H. Nakamura, J. Yodoi, K. Shiota, *Antioxid. Redox Signal.*, **2**, 653 – 663 (2000).
11. A. K. Nath, J. Enciso, M. Kuniyasu, *Development*, № 131, 2485 – 2496 (2004).
12. M. Rosselli, P. J. Keller, R. K. Dubey, *Hum. Reprod. Update.*, № 4, 3 – 24 (1998).
13. A. C. Roth, G. F. Herkert, J. P. Bercz, M. K. Smith, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **9**(4), 668 – 677 (1987).
14. M. B. Yerer and S. Avdogan, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, **30**(3 – 4), 323 – 329 (2004).

Поступила 09.06.10

## EFFECT OF ALPHA-TOCOPHEROL ON ACTIVITY OF FREE-RADICAL PROCESSES AND CONDITION OF ERYTHRON IN FETUS OF RAT WITH CHRONIC NITRITE INTOXICATION

A. S. Ivanova, I. G. Popova, and S. B. Nazarov

Ivanovo State Medical Academy, pr. Engel'sa 8, Ivanovo, 153462, Russia

The condition of erythron and the activity of free-radical processes in fetuses of rats with chronic nitrite intoxication were studied and the effects of alpha-tocopherol injection (150 mg/kg, i.m.) were evaluated. A long-term introduction of nitrites (0.2% solution of sodium nitrite, p.o.) led to an increase in the erythrocyte count, hemoglobin content, and free radical concentration and a decrease in the antioxidant potential. The injection of alpha-tocopherol on the background of nitrite intoxication made these negative changes less expressed than in the case of separate administration of sodium nitrite. The amount of free radicals in the blood serum of fetuses of rats treated with alpha-tocopherol decreased, while the activity of the antioxidant system increased.

**Key words:** Alpha-tocopherol, sodium nitrite, erythron, fetus, pregnancy, free-radical processes, chemoluminescence