

# ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРЕПАРАТА ДВУХВАЛЕНТНОГО ЖЕЛЕЗА ПО ДАННЫМ ЭКСПЕРИМЕНТА

УДК 615.03:577.158

Поступила 13.03.2010 г.



**В.Б. Кузин**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей и клинической фармакологии;  
**Л.В. Ловцова**, к.м.н., доцент кафедры общей и клинической фармакологии;  
**Т.И. Соловьева**, к.б.н., доцент, и.о. зав. отделом биохимии ЦНИЛ

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород

**Цель исследования** — изучить динамику показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в крови экспериментальных животных при повторном длительном введении препарата двухвалентного железа сульфата с серином.

**Материалы и методы.** Эксперимент проведен на 120 нелинейных крысах-самцах. Определяли показатели индуцированной биохемилюминесценции, содержание малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы и каталазы, концентрацию церулоплазмина в крови экспериментальных животных при введении препарата двухвалентного железа сульфата с серином (Актиферрин) в эквипарентической дозе 17,14 мг/кг в сутки (в пересчете на  $Fe^{2+}$ ) в течение 30 суток.

**Результаты.** Препарат Актиферрин активирует процесс перекисного окисления липидов через 1 сут после введения, что проявляется в виде увеличения свободно-радикальной активности плазмы крови экспериментальных животных, замедления роста общей антиоксидантной активности и повышения скорости спада процесса свободно-радикального окисления. Отмечается этапность в динамике всех изученных показателей в течение периода наблюдения.

**Заключение.** Современный подход к оценке влияния препаратов железа, в том числе двухвалентного, на показатели перекисного окисления липидов должен предусматривать их динамический контроль в течение всего срока применения ферропрепарата. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости сочетанного назначения антиоксидантов, с учетом этапности изменений указанных показателей.

**Ключевые слова:** железодефицитная анемия, препараты железа, перекисное окисление липидов.

## English

## Dynamics of the lipid peroxidation values at a divalent iron preparation effect according to the experiment data

**V.B. Kuzin**, M.D., professor, head of a general and clinical pharmacology chair;  
**L.V. Lovtsova**, c.m.s., assistant professor of a general and clinical pharmacology chair;  
**T.I. Soloviyova**, c.b.s., assistant professor, acting head of the CSRL biochemistry department

Nizhny Novgorod state medical academy, N. Novgorod

**Aim of investigation** is a study of the lipid peroxidation and antioxidant protection value dynamic in blood of experimental animals at a repeated durative infusion of a sulfate with serine divalent iron preparation.

**Materials and methods.** An experiment is made on 120 nonlinear male-rats. The values of induced biochemiluminescence, a content of a malone dialdehyde, an activity of a superoxidisedismutase and catalase, a concentration of a ceruplasmin in blood of experimental animals at infusion of a sulfate with serine divalent iron preparation (Actiferrin) have been detected in the equitherapeutic dose of 17.14 mg/kg a day (counting a  $Fe^{2+}$ ) during 30 days.

**Results.** The Actiferrin preparation activates a process of the lipid peroxidation in a day after infusion, which is manifested in a form of the experimental animal blood plasma free-radical activity increase, delaying of a general antioxidant activity growth and an increase of a free-radical oxidation process abatement rate. The stages in dynamics of all the studied values during a period of observation are marked.

Для контактов: Ловцова Любовь Валерьевна, тел. раб. (831) 436-54-01; тел. моб. +7 960-196-86-58; e-mail: farmnnov@mail.ru.

**Conclusion.** The modern approach to assessment of the iron preparation influence, including a divalent one, on the lipid peroxidation values must foresee their dynamic control during all the date of a ferropreparation use. The received results testify to a necessity of a combined designation of antioxidants considering the stages of the indicated value alterations.

**Key words:** ferredicient anemia, iron preparations, lipid peroxidation.

Клиническая картина железодефицитной анемии чрезвычайно разнообразна и включает анемический, а также сидеропенический синдромы. Это обусловлено участием железа в различных физиологических и биохимических процессах, в частности в транспорте кислорода, окислительно-восстановительных, иммунологических и адаптационно-защитных реакциях [1, 2].

При данной патологии основной заместительной фармакотерапии являются препараты железа, которые классифицируют в зависимости от способа введения: для приема внутрь (содержат двух- или трехвалентное железо, могут быть монокомпонентными или комбинированными), а также для парентерального введения (содержат трехвалентное железо в виде комплекса с декстраном, сахарозой или глюконатом натрия) [3].

Особенности фармакокинетики препаратов двухвалентного железа заключаются в том, что в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта содержащееся в них железо подвергается окислению с образованием свободных радикалов и активных форм кислорода, инициирующих реакции свободно-радикального окисления [4], что имеет существенное значение в развитии побочных эффектов при применении указанных препаратов [5, 6]. Вместе с тем данные литературы о влиянии таких препаратов на процесс свободно-радикального окисления неоднозначны. Рядом авторов показано, что соли двухвалентного железа активируют перекисное окисление липидов (ПОЛ) [4, 7]. Другие исследования свидетельствуют о том, что не все препараты, содержащие двухвалентное железо, обладают указанной способностью [8, 9].

Таким образом, вопрос о влиянии препаратов двухвалентного железа на процесс свободно-радикального окисления, в частности на показатели ПОЛ, а также на процесс антиоксидантной защиты, особенно при повторном длительном введении этих препаратов, требует более детального изучения.

**Цель исследования** — изучить динамику показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в крови экспериментальных животных при повторном длительном введении препарата двухвалентного железа сульфата с серином.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на кафедре общей и клинической фармакологии с использованием экспериментально-лабораторной базы ЦНИЛ НижГМА.

Эксперименты проведены на 120 белых нелинейных крысах-самцах с исходной массой 70—75 г, у которых первоначально определялись гематологические показатели (уровень гемоглобина, количество эритроцитов, содержание сывороточного железа) и создавалась модель алиментарной железодефицитной анемии [10].

В последующем животным опытной группы (n=60) перорально через зонд вводили препарат двухвалентного железа сульфата с серином (Актиферрин) в эквивалентной дозе 17,14 мг/кг в сутки (в пересчете на  $Fe^{2+}$ ) в течение 30 сут; животным контрольной группы (n=60) — перорально 0,5 мл воды дистиллированной.

Забой животных осуществляли через 1, 3, 5, 10, 20 и 30 сут введения препарата железа. Объектом исследования являлись кровь и свежеприготовленная плазма. При этом исследовали вышеуказанные гематологические показатели, а также показатели ПОЛ и антиоксидантной защиты.

Определение уровня гемоглобина, количества эритроцитов и сывороточного железа проводилось с помощью фотометрического метода.

Интенсивность процесса ПОЛ и общую антиоксидантную активность (АОА) плазмы крови исследовали методом индуцированной биохимиллюминесценции. При этом определяли показатели: максимальную интенсивность хемиллюминесцентного (ХЛ) свечения ( $I_{max}$ ), которая характеризует потенциальную способность биологического объекта к ПОЛ или его свободно-радикальную активность, светосумму ХЛ (S), обратно пропорциональную общей АОА, а также тангенс угла наклона кинетической кривой ХЛ ( $tg\alpha_2$ ), характеризующий скорость спада кинетической кривой ХЛ на биохемиллюминиметре БХЛ-06 [11].

Анализ содержания малонового диальдегида (МДА) проводился по реакции с тиобарбитуровой кислотой по методу J.B. Smith [12]. Исследование активности супероксиддисмутазы (СОД) выполнялось по методу M. Nischikimi [13], каталазы — по методу Y. Aebi [14].

Изучение концентрации церулоплазмина осуществлялось с помощью иммунотурбидиметрического метода на биохимическом автоматическом анализаторе Olympus AU640.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием лицензионного статистического пакета STADIA 7.0/prof (номер копии 1434) и оценкой уровня значимости различий между двумя выборками с помощью параметрических и непараметрических критериев [15]. Результаты представлялись в виде  $M \pm m$ , где M — среднее арифметическое, m — стандартная ошибка средней величины.

**Результаты и обсуждение.** Анализ полученных данных показал, что препарат железа сульфата с серином (Актиферрин) уже через 1 сут его введения на фоне смоделированной железодефицитной анемии вызывает статистически значимое по сравнению с исходным уровнем увеличение показателя  $I_{max}$  на 18,89% ( $p < 0,01$ ), в отличие от снижения данного показателя в группе контроля ( $p < 0,01$ ). Через 3, 5 и 10 сут после введения

препарата повышение  $I_{\max}$  относительно исходного значения также регистрируется, причем через 10 сут — статистически значимое (на 28,73%;  $p < 0,01$ ), но оно является менее выраженным, чем у животных контрольной группы ( $p < 0,01$  через 3 сут после введения). Через 20 и 30 сут, напротив, отмечается снижение указанного показателя по сравнению с исходным значением на 15,08 и 5,08% соответственно ( $p < 0,05$  на обоих этапах), однако это снижение не отличается от группы контроля (табл. 1). Таким образом, препарат Актиферрин увеличивает свободно-радикальную активность плазмы крови экспериментальных животных через 1 сут после введения, вызывая «ранний» оксидативный стресс.

Исследуемый препарат через 1 сут после введения повышает общую АОА по сравнению с исходным уровнем, о чем свидетельствует снижение показателя S на 7,80% ( $p < 0,05$ ). Вместе с тем уровень АОА в опытной группе несколько ниже, чем в группе контроля. Через 3, 20 и 30 сут после введения Актиферрина АОА повышается существенно по сравнению с исходным значением (снижение показателя S на 10,92 ( $p < 0,05$ ), 23,03 ( $p < 0,001$ ) и 14,26% ( $p < 0,01$ ) соответственно), однако указанные изменения практически не отличаются от таковых в группе контроля.

Исследования показали также, что препарат увеличивает показатель  $tg\alpha_2$  относительно исходного уровня на всех изученных этапах — на 53,72; 41,49; 38,83; 65,43; 39,36 и 30,32% соответственно ( $p < 0,01$  — через 30 сут после введения и  $p < 0,001$  — на всех остальных этапах). Причем через 1 сут увеличение  $tg\alpha_2$  является более существенным, чем у животных группы контроля ( $p < 0,001$ ) (см. табл. 1).

Через 1 сут после введения Актиферрин обуславливает повышение концентрации МДА на 8,64% по сравнению с исходным уровнем ( $p < 0,05$ ), которое, однако, меньше такового в группе контроля ( $p < 0,05$ ). Через 5 и 30 сут препарат вызывает снижение содержания МДА по сравнению с исходным уровнем на 38,27 ( $p < 0,001$ ) и 40,74% ( $p < 0,001$ ) соответственно, которое на обоих этапах является более существенным, чем в группе контроля ( $p < 0,05$  в обоих случаях). Через 10 сут Актиферрин приводит также к снижению концентрации МДА, но оно не только несущественно по сравнению с исходным значением, но и менее выражено, чем в группе контроля ( $p < 0,01$ ) (см. рисунок).

Полученные результаты свидетельствуют о ступенчатом изменении содержания МДА на фоне введения препарата железа сульфата с серином в течение периода наблюдения, что согласуется с данными литературы [8, 9].

Активность СОД под влиянием Актиферрина через 1 сут после введения повышается по сравнению с исходным уровнем на 23,85% ( $p < 0,001$ ), что при этом практически не отличается от группы контроля. Через 10 сут также отмечается увеличение этого показателя, однако уже меньше, чем в группе контроля ( $p < 0,05$ ). Через 3 и 20 сут активность СОД снижается по сравнению с исходным значением на 35,31 ( $p < 0,001$ ) и 32,53% ( $p < 0,01$ ) соответственно, причем уменьшение через 3 сут практически не отличается, а через 20 сут являет-

Таблица 1

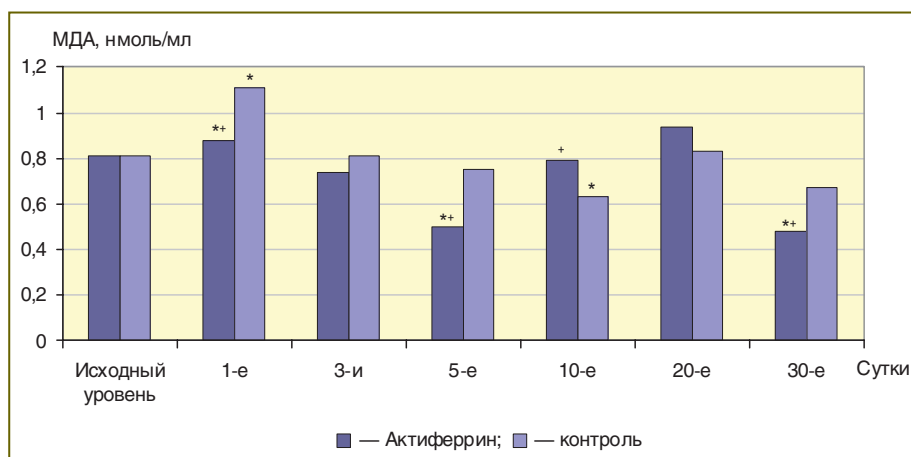
Динамика значений индуцированной биохемилюминесценции плазмы при введении препарата железа сульфата с серином ( $M \pm m$ )

Этап исследования, сутки	Группы экспериментальных животных	
	Актиферрин	Контрольная
Максимальная интенсивность ХЛ ( $I_{\max}$ ), мВ		
Исходный уровень	6,30±0,22	6,30±0,22
1-е	7,49±0,25 <sup>+</sup>	6,24±0,18
3-и	6,80±0,23 <sup>+</sup>	7,20±0,43
5-е	6,98±0,34	7,12±0,20
10-е	8,11±0,42 <sup>·</sup>	8,71±0,47
20-е	5,35±0,33 <sup>·</sup>	4,98±0,42
30-е	5,98±0,47 <sup>·</sup>	6,18±0,27
Светосумма ХЛ (S), мВ		
Исходный уровень	47,33±1,40	47,33±1,40
1-е	43,64±0,96 <sup>·</sup>	38,57±1,09
3-и	42,16±1,68 <sup>·</sup>	44,33±2,00
5-е	43,35±2,30	41,64±0,92
10-е	49,64±1,84	48,88±2,08
20-е	36,43±1,09 <sup>·</sup>	37,02±1,25
30-е	40,58±1,79 <sup>·</sup>	39,07±1,79
Тангенс угла наклона кинетической кривой ХЛ ( $tg\alpha_2$ )		
Исходный уровень	1,88±0,06	1,88±0,06
1-е	2,89±0,13 <sup>+</sup>	2,24±0,06
3-и	2,66±0,08 <sup>·</sup>	2,65±0,12
5-е	2,61±0,13 <sup>·</sup>	2,79±0,09
10-е	3,11±0,16 <sup>·</sup>	3,29±0,22
20-е	2,62±0,09 <sup>·</sup>	2,49±0,12
30-е	2,45±0,16 <sup>·</sup>	2,49±0,04

\* — статистическая значимость различий по сравнению с исходным значением показателя; + — по сравнению с группой контроля.

ся менее выраженным, чем в группе контроля ( $p < 0,05$ ). Обращает на себя внимание, что через 30 сут Актиферрин обуславливает хотя и несущественное по сравнению с исходным уровнем, но отличающееся от снижения в группе контроля ( $p < 0,05$ ) повышение активности СОД (табл. 2).

Активность каталазы при введении Актиферрина хотя и снижается по сравнению с исходной величиной на всех исследованных этапах, причем через 3, 10, 20 и 30 сут — статистически значимо, соответственно на 30,91 ( $p < 0,05$ ); 60,81 ( $p < 0,001$ ); 64,91 ( $p < 0,001$ ) и 55,88% ( $p < 0,01$ ), но это снижение существенно не отличается от такового в группе контроля (см. табл. 2).



Динамика концентрации МДА при введении препарата железа сульфата с серином; \* — статистическая значимость различий по сравнению с исходным значением показателя; + — по сравнению с группой контроля

Таблица 2

**Динамика активности эндогенных антиоксидантов при введении препарата железа сульфата с серином (M±m)**

Этап исследования, сутки	Группы экспериментальных животных	
	Актиферрин	Контрольная
Активность супероксиддисмутазы (СОД), ед. акт./г Нв мин		
Исходный уровень	57,98±2,53	57,98±2,53
1-е	71,81±8,70*	74,53±5,23
3-и	37,51±2,44*	38,94±5,97
5-е	58,24±6,16	72,43±9,55
10-е	59,18±8,49*	66,85±4,61
20-е	39,12±4,80**	26,31±2,21
30-е	62,60±5,20*	48,45±3,64
Активность каталазы, ед. акт./г Нв с		
Исходный уровень	104,40±12,06	104,40±12,06
1-е	79,59±11,12	58,65±12,70
3-и	72,13±6,57 *	70,77±10,23
5-е	74,68±11,82	66,09±13,19
10-е	40,91±3,64 *	38,90±4,02
20-е	36,63±2,48 *	24,73±3,30
30-е	46,06±9,05 *	32,08±5,99
Концентрация церулоплазмينا, мг/л		
Исходный уровень	19,20±1,46	19,20±1,46
1-е	9,26±0,93*	8,16±1,10
3-и	8,85±0,77*	7,95±0,95
5-е	8,87±1,27*	9,97±1,37
10-е	10,28±1,47*	6,05±0,91
20-е	8,10±1,57*	9,28±1,58
30-е	10,70±1,44*	9,83±1,36

\* — статистическая значимость различий по сравнению с исходным значением показателя; + — по сравнению с группой контроля.

Аналогичные изменения выявлены и по содержанию церулоплазмينا, снижение которого по сравнению с исходным уровнем зарегистрировано на всех этапах исследования — на 51,77; 53,91; 53,80; 46,46; 57,81 и

44,27% соответственно (p<0,001 на всех этапах). Вместе с тем эти изменения не отличаются статистически значимо от изменений в группе контроля. Это, по-видимому, обусловлено тем, что при введении Актиферрина в эквивалентных дозах концентрация ионов железа в крови не превышает физиологических значений, и содержание церулоплазмينا, обладающего феррооксидазной активностью и катализирующего реакцию окисления Fe<sup>2+</sup> в Fe<sup>3+</sup>, под влиянием указанного препарата изменяется практически так же, как в группе контроля.

Таким образом, препарат двухвалентного железа сульфата с серином (Актиферрин) уже через 1 сут после его введения увеличивает свободно-радикальную активность плазмы. При этом общая АОА несколько ниже, чем в группе контроля. Повышение свободно-радикальной активности сопровождается некоторым увеличением концентрации МДА на этом этапе исследования. Однако увеличение скорости спада процесса свободно-радикального окисления в этот же период, по-видимому, приводит к тому, что содержание МДА уже через 5 сут снижается, что свидетельствует об уменьшении интенсивности процесса ПОЛ. Активность фермента первого этапа антиоксидантной защиты (СОД) при этом несколько увеличивается.

Через 20 сут введения Актиферрина АОА хотя и повышается по сравнению с исходным уровнем, но это увеличение существенно не отличается от такового в группе контроля. Вместе с тем через 20 сут введения, так же как и на раннем этапе (через 1 сут), Актиферрин несколько повышает концентрацию МДА, которая через 30 сут статистически значимо снижается, а активность СОД при этом увеличивается.

На активность фермента второго этапа антиоксидантной защиты, водной фазы — каталазы, а также на концентрацию фермента липидной фазы — церулоплазмينا Актиферрин на протяжении исследованного срока существенно не влияет.

**Заключение.** Препарат Актиферрин активизирует процесс перекисного окисления липидов через 1 сут после введения, что проявляется в виде увеличения свободно-радикальной активности плазмы крови экспериментальных животных, замедления роста общей

антиоксидантной активности и повышения скорости спада процесса свободно-радикального окисления. При этом отмечается этапность в динамике всех изученных показателей в течение периода наблюдения. Следовательно, современный подход к оценке влияния препаратов железа, в том числе двухвалентного, на показатели перекисного окисления липидов должен предусматривать их динамический контроль в течение всего срока применения ферропрепарата. Полученные результаты свидетельствуют также о необходимости коррекции выявленных изменений показателей перекисного окисления липидов с помощью лекарственных средств, обладающих антиоксидантной активностью, с учетом этапности этих изменений.

### Литература

1. Воробьев П.А. Анемический синдром в клинической практике. М: Ньюдиамед; 2001; 168 с.
2. Боровков Н.Н., Волкова С.А., Евдокимова Н.М., Лебедева А.И. Болезни системы крови: механизмы развития, диагностические критерии и принципы терапии. Н. Новгород; 2002; 138 с.
3. Клиническая фармакология. Национальное руководство. Под ред. Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукеса, В.К. Лепехина, В.И. Петрова. М: ГЭОТАР-Медиа; 2009; 976 с.
4. Блошанский Ю.М., Geisser P., Хасабов Н.Н. Анемия беременных. Гинекология 2006; 8(2): 47—50.
5. Dimitrov J.D., Vassilev T.L., Andre S. et al. Functional variability of antibodies upon oxidative processes. Autoimmun Rev 2008; 7(7): 574—578.
6. Mozuraityte R., Rustad T., Storro I. The role of iron in peroxidation of polynn saturated fatty acids in liposomes. J Agric Food Chem 2008; 56(2): 537—543.
7. Weinberg E.D. Iron out of balance: arisk factor for acute and chronic diseases. Hemoglobin 2008; 32(1—2): 117—122.
8. Заспа Е.А. Свободно-радикальные процессы у больных железodefицитной анемией на фоне лечения препаратами железа. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М; 2006.
9. Литвицкий П.Ф., Дворецкий А.И., Заспа Е.А., Бoleвич С.Б. Свободнорадикальные процессы у больных железodefицитной анемией. Клиническая патофизиология 2006; 1: 10—14.
10. МУК 2.3.2.721-98. Пищевые продукты и пищевые добавки. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище. М; 1998; 30 с.
11. Кузьмина Е.Н., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной ХЛ для оценок свободнорадикальных реакций в биологических субстратах. В кн.: Биохимия и биофизика микробиологов. Горький; 1983; с. 41—48.
12. Smith J.B., Jngerman C.M., Silver M.I. Malondialdehyde formathionas an indicathion of prostoglandin production byhyman pleteles. I Lab Clin Med 1976; 88(4): 167—172.
13. Nischikimi M., Roo A., Xagi K. The occurence of superoxide anion in the reactions of redused phenaxide metasulfate and molecular oxygen. Biochem Biophys Res Commun 1972; 146(2): 849—854.
14. Aebi Y. Methoden der enzymatischen analyses. Verlag Chemie. Academic Press Inc 1970; 2: 636—647.
15. Кулаичев А.П. Методы и средства комплексного анализа данных. М: ФОРУМ ИНФРА-М; 2006; 512 с.