



УДК 612.354.1:615.917:615.015.12

## НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА В КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

**В.А. РАГУЛИНА<sup>1</sup>**  
**С.А. АЛЕХИН<sup>1</sup>**  
**Т.Г. ПОКРОВСКАЯ<sup>2</sup>**  
**О.С. ГУДЫРЕВ<sup>2</sup>**  
**М.В. КОРОКИН<sup>2</sup>**  
**В.И. КОЧКАРОВ<sup>2</sup>**  
**А.А. АРУСТАМОВА<sup>2</sup>**  
**Д.В. ЛОПАТИН<sup>1</sup>**  
**И.М. КОЛЕСНИК<sup>1</sup>**

<sup>1)</sup> Курский  
государственный  
медицинский университет

<sup>2)</sup> Белгородский  
государственный  
национальный  
исследовательский  
университет

e-mail: wvas@mail.ru

В статье изложены данные о нарушениях структурно-функциональных свойств эритроцитов у экспериментальных животных в условиях острого токсического поражения печени, вызванного введением четыреххлористого углерода. В работе определена эффективность использования производных 3-гидроксипиридина в коррекции нарушенных показателей липидно-белкового спектра мембран эритроцитов у животных при остром токсическом поражении печени.

Ключевые слова: 3-гидроксипиридин, острая токсическая гепатопатия, красные клетки крови, фармакокоррекция.

**Введение.** В патогенезе многих заболеваний лежит нарушение равновесия между процессами образования и нейтрализации продуктов перекисного окисления липидов, нарушением микроархитектоники клеточных мембран за счет изменения представительности белкового и липидного спектра [4, 13]. В связи с этим интерес к проблеме биооксидантов и антиоксидантной системе при патологии значительно возрос. В современной медицине для фармакологической коррекции оксидантных нарушений широко используют антиоксиданты различной химической природы, последнее во многом определяет мишени их действия в процессе коррекции окислительного стресса. Соответственно, изучение такой взаимосвязи может оказаться полезным при поиске новых антиоксидантных препаратов [3, 10].

В последние годы пристальное внимание фармакологов и клиницистов в качестве перспективных лекарственных средств, эффективно регулирующих процессы окисления и перекисидации, привлекли производные 3-гидроксипиридина (3-ГП). Производные 3-ГП относятся к простейшим гетероциклическим аналогам ароматических фенолов и в этой связи проявляют антиоксидантные и антирадикальные свойства [1].

**Цель исследования:** установление эффективности использования производных 3-оксипиридина (мексидола, этоксидола и нового производного 3-ГП под лабораторным шифром ХС-9, синтезированного в ВНИЦ БАВ) в коррекции нарушенных показателей липидного и белкового спектра мембран эритроцитов в условиях острого токсического поражения печени.

**Материал и методы исследования.** Эксперименты проводили на 246 здоровых половозрелых крысах линии Вистар, массой 180-200 г. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Все исследования проводили в одно и то же время суток, с 8 до 12 ч, с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).



Производные 3-ГП вводили пятикратно, через 24 часа, внутрибрюшинно в экспериментально подобранных дозах: соединение ХС-9 – 35 мг/кг, этоксидол – 50 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали производное оксипиридина – мексидол, который вводили внутрибрюшинно, в дозе 50 мг/кг, по той же схеме, что и исследуемые соединения.

Острое токсическое поражение печени (ОТПП) моделировали внутрибрюшинным введением 3 мл/кг четыреххлористого углерода в виде 50% раствора в оливковом масле, трехкратно, через 24 часа [2]. Токсикант вводили в последние 3 дня получения производных 3-оксипиридина.

Эритроциты получали из 5 мл гепаринизированной крови по методу E. Beutler [10]. Определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) [9] и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [8]. О функциональном состоянии эритроцитов судили также по накоплению малонового диальдегида (МДА) [7].

Мембраны эритроцитов получали методом G.T. Dodge [12]. Электрофорез проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli [15]. Белки окрашивали кумаси голубым R-250 по модифицированной методике G. Fairbanks [14]. Липиды выделяли методом тонкослойной хроматографии [5].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы [6].

**Результаты исследования и их обсуждение.** При ОТПП у экспериментальных животных снижается представительность в мембране эритроцитов обеих подфракций спектрина, анкирина, анионтранспортного белка (АТБ), белка полосы 4.5, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (Г-3-ФД), тропомиозина, глутатион-S-трансферазы и повышается уровень белка полосы 4.1 и паллидина (табл. 1). Кроме этого, в данной группе животных снижена ССЭ, СЕГ и повышена концентрация внутри красных клеток крови малонового диальдегида (МДА) (табл. 1).

Таблица 1

**Структурно-функциональные свойства мембраны эритроцитов у животных с ОТПП на фоне приема производных 3-гидроксипиридина (M±m)**

Показатели	1	2	3	4	5
	Контроль	ОТПП	ОТПП + мексидол	ОТПП + ХС-9	ОТПП + этоксидол
α-спектрин, мг%	110,3±5,21	74,3±3,8* <sup>1</sup>	78,4±4,1* <sup>1</sup>	91,5±4,31* <sup>1,2</sup>	88,5±3,12* <sup>1,2</sup>
β-спектрин, мг%	93,1±4,31	79,5±4,3* <sup>1</sup>	82,4±3,11* <sup>1</sup>	85,6±2,74* <sup>1</sup>	87,1±3,07* <sup>1,2</sup>
Анкирин, мг%	71,0±2,04	52,6±2,74* <sup>1</sup>	60,4±3,02* <sup>1,2</sup>	64,3±3,41* <sup>1,2</sup>	66,2±3,71* <sup>2</sup>
АТБ, мг%	169,6±6,22	142,7±5,47* <sup>1</sup>	150,7±4,81* <sup>1</sup>	159,5±4,2* <sup>1-3</sup>	164,7±5,89* <sup>2-4</sup>
4.1, мг%	81,4±4,1	96,1±5,3* <sup>1</sup>	90,3±5,12	88,1±2,17* <sup>2</sup>	86,3±3,2* <sup>2</sup>
Паллидин, мг%	62,13±4,09	74,7±4,8* <sup>1</sup>	75,2±3,31* <sup>1</sup>	73,3±4,7* <sup>1</sup>	70,2±2,2* <sup>1</sup>
4.5, мг%	69,79±3,13	52,6±3,82* <sup>1</sup>	60,2±2,27* <sup>1,2</sup>	64,7±3,12* <sup>2</sup>	65,8±4,3* <sup>2</sup>
Демагин, мг%	41,2±2,05	45,6±3,33	42,9±2,83	40,2±4,5	39,0±3,21
Актин, мг%	101,1±4,15	117,7±5,64* <sup>1</sup>	114,2±5,83* <sup>1</sup>	110,3±4,81* <sup>1</sup>	113,8±4,25* <sup>1</sup>
Г-3-ФД, мг%	54,3±2,0	40,7±3,14* <sup>1</sup>	39,5±2,81* <sup>1</sup>	45,8±2,12* <sup>1</sup>	48,2±3,2* <sup>1-3</sup>
Тропомиозин, мг%	65,3±3,09	56,2±3,81* <sup>1</sup>	60,8±4,03	59,6±5,12	62,8±4,81
Г-S-T, мг%	59,2±2,45	44,3±2,91* <sup>1</sup>	52,8±3,12* <sup>1,2</sup>	64,3±3,71* <sup>2,3</sup>	68,5±3,91* <sup>1-3</sup>
СЕГ, 10-12 г/эр.	2,4±0,12	1,8±0,09* <sup>1</sup>	2,01±0,08* <sup>1,2</sup>	2,31±0,11* <sup>2,3</sup>	2,51±0,13* <sup>2,3</sup>
ССЭ, %	46,2±3,0	12,2±4,84* <sup>1</sup>	30,4±1,18* <sup>1,2</sup>	35,6±1,1* <sup>1-3</sup>	36,1±1,83* <sup>1-3</sup>
МДА, нмоль х106 эр.	3,21±0,09	7,27±0,39* <sup>1</sup>	5,01±0,81* <sup>1,2</sup>	4,12±0,33* <sup>1-3</sup>	4,05±0,81* <sup>1-3</sup>

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических (p<0,05); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы эти различия.

Для производных 3-оксипиридинов показана способность проявлять антиоксидантную активность, связываться с биологическими мембранами, вызывая их структурную перестройку, и затруднять доступ активных форм кислорода к остаткам жирных кислот – субстратов реакции перекисного окисления липидов [1, 10]. Поэтому возникло предположение, что терапевтический эффект антиоксидантов при ОТПП, вызванном четыреххлористым углеродом, может быть частично обусловлен и нормализацией липидного обмена в клеточной мембране и соответственно, белкового спектра мембран. Для того чтобы проверить эту гипотезу, нами были проведены сравнительные исследования по изучению липидрегулирующей активности соединения ХС-9, этоксидола и мексидола при экспериментальном ОТПП.

Так, использование мексидола корректирует в мембране эритроцитов уровень анкирина, белка полосы 4.5, Г-S-T, внутри клеток концентрацию МДА и повышает, но не до уровня нормы ССЭ и СЕГ (табл. 1).

Введение соединения ХС-9 животным в условиях ОТПП, в отличие от предыдущей группы, позволило нормализовать в мембране красных клеток крови белка представительность полосы 4.1, 4.5, Г-S-T, СЕГ и корректировать дополнительно представительность  $\alpha$ -спектрина (табл. 1).

Применение в группе животных, подвергнутых воздействию четыреххлористого углерода, этоксидадола позволило дополнительно нормализовать представительность в эритроцитарной мембране анкирина, АТБ и корректировать уровень Г-3-ФД (табл. 1).

После отравления четыреххлористым углеродом у животных в эритроцитарной мембране повышен уровень холестерина, свободных жирных кислот, моно- и диглицеридов, лизофосфатидилхолина и снижена концентрация эфиров жирных кислот, триглицеридов, фосфатидилхолина и сфингомиелина (табл. 2).

Таблица 2

**Липидный спектр мембран эритроцитов у животных с ОТПП на фоне приема производных 3-гидроксипиридина (мг%, М $\pm$ m)**

Показатели	1	2	3	4	5
	Контроль	ОТПП	ОТПП + мексидол	ОТПП + ХС-9	ОТПП + этоксидадол
Холестерин	43,0 $\pm$ 2,14	54,4 $\pm$ 2,39 <sup>*1</sup>	52,6 $\pm$ 2,03 <sup>*1</sup>	50,2 $\pm$ 2,14 <sup>*1</sup>	48,3 $\pm$ 2,02 <sup>*1,2</sup>
Эфиры холестерина	38,03 $\pm$ 2,21	32,6 $\pm$ 1,74 <sup>*1</sup>	33,2 $\pm$ 2,01 <sup>*1</sup>	31,7 $\pm$ 1,83 <sup>*1</sup>	30,5 $\pm$ 2,15 <sup>*1</sup>
Свободные жирные кислоты	4,3 $\pm$ 0,17	5,09 $\pm$ 0,12 <sup>*1</sup>	4,72 $\pm$ 0,2 <sup>*1</sup>	4,62 $\pm$ 0,12 <sup>*1,2</sup>	4,51 $\pm$ 0,13 <sup>*2</sup>
Моно- и диглицериды	10,43 $\pm$ 0,42	11,31 $\pm$ 0,38 <sup>*1</sup>	10,52 $\pm$ 0,41	12,6 $\pm$ 2,21	11,03 $\pm$ 1,08
Триглицериды	15,63 $\pm$ 1,17	11,21 $\pm$ 1,31 <sup>*1</sup>	12,32 $\pm$ 1,04 <sup>*1</sup>	13,07 $\pm$ 1,21 <sup>*1</sup>	14,05 $\pm$ 1,32 <sup>*2</sup>
Фосфатидилхолин	24,0 $\pm$ 1,87	17,1 $\pm$ 2,01 <sup>*1</sup>	19,2 $\pm$ 1,23 <sup>*1</sup>	20,4 $\pm$ 1,18 <sup>*1,2</sup>	21,0 $\pm$ 1,04 <sup>*1,2</sup>
Фосфатидилэтанолламин	24,63 $\pm$ 2,12	22,3 $\pm$ 2,07	20,3 $\pm$ 1,14 <sup>*1</sup>	23,7 $\pm$ 1,1 <sup>*3</sup>	25,6 $\pm$ 2,27 <sup>*3</sup>
Лизофосфатидилхолин	22,3 $\pm$ 0,13	24,7 $\pm$ 0,23 <sup>*1</sup>	23,8 $\pm$ 0,82 <sup>*1</sup>	21,8 $\pm$ 0,71 <sup>*2,3</sup>	22,08 $\pm$ 1,14 <sup>*2</sup>
Фосфатидилинозитол	5,1 $\pm$ 0,06	4,94 $\pm$ 0,12	5,0 $\pm$ 0,09	4,81 $\pm$ 0,27	4,68 $\pm$ 0,96
Сфингомиелин	11,8 $\pm$ 0,49	9,31 $\pm$ 0,33 <sup>*1</sup>	8,07 $\pm$ 0,54 <sup>*1</sup>	10,4 $\pm$ 0,82 <sup>*2,3</sup>	11,0 $\pm$ 0,52 <sup>*2,3</sup>

Использование мексидола у животных с ОТПП не влияет на измененную представительность в мембране красных клеток крови липидов, тогда как применение нового производного 3-ГП – ХС-9 – нормализует представительность лизофосфатидилхолина, сфингомиелина и корректирует уровень свободных жирных кислот и фосфатидилхолина (табл. 2).

Введение животным с ОТПП этоксидадола нормализует дополнительно в эритроцитарной мембране уровень триглицеридов и свободных жирных кислот и корректирует концентрацию холестерина (табл. 2).

**Заключение.** Нарушения липидного и белкового обмена занимают важное место в развитии острых и хронических заболеваний печени. Основной путь прогрессирования заболеваний печени вне зависимости от этиологического фактора, приводящего к ее повреждению – это процесс фиброгенеза [2]. Развитию фиброза печени предшествует мембранодеструкция клеток-мишеней (гепатоцитов) и клеток крови, развивающаяся в результате интенсификации процессов липопероксидации и накопления высокоцитотоксичных продуктов перекисного окисления липидов. Гиперактивация процессов пероксидации липидов сопровождается значительным изменением состава и степени окисленности мембранных фосфолипидов, что в конечном итоге приводит к нарушению целостности липидного бислоя клеточных мембран и снижению активности фосфолипидзависимых ферментатических систем. В условиях активного протекания свободнорадикальных процессов наиболее резко уменьшается количество фосфолипидов, содержащих в своем составе полиненасыщенные жирные кислоты. Избирательная делипидизация мембран вызывает увеличение соотношения между содержанием холестерина и фосфолипидов в бислое, что способствует нарушению физико-химических свойств цитомембран, увеличению их микровязкости [4, 10].

Представленные выше данные позволяют сделать заключение о том, что в условиях острого токсического поражения печени претерпевает изменения белково-липидный спектр мембран красных клеток крови, который достаточно эффективно может быть скорректирован использованием производных 3-ГП: мексидолом,



соединением ХС-9, этоксиолом. По эффективности в коррекции нарушений структурно-функциональных свойств эритроцитарной мембраны производные 3-ГП располагаются в следующей последовательности по убыванию: этоксиол → соединение ХС-9 → мексидол.

### Литература

1. Авдеева, Е.В. Влияние производных оксиникотиновой кислоты и 3-оксипиридина на функциональную активность полинуклеаров крыс / Е.В. Авдеева, А.И. Конопля, Л.Н. Сернов // Вестн. Уральской мед. академ. науки. – 2006. – № 3-1(14). – С. 102-104.
2. Печень и иммунологическая реактивность / Н.Н. Алексеева, Т.М. Брызгина, С.И. Павлович, Н.В. Ильевич. – Киев : Наук. Думка, 1991. – 168 с.
3. Цитопротекторный эффект препаратов метаболического типа действия / А.П. Власов, Н.Ю. Лещанкина, С.Б. Келеиников и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 2(107). – С. 59-62.
4. Гаврилюк, В.П. Иммунометаболические нарушения у детей с разлитым аппендикулярным перитонитом с различной степенью тяжести / В.П. Гаврилюк, А.И. Конопля, С.В. Костин // Человек и его здоровье. – Курск. – 2010. – № 4. – С. 38-42.
5. Крылов, В.И. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов / В.И. Крылов, А.Ф. Виноградов, С.И. Ефремова // Лаб. дело. – 1984. – № 4. – С. 205-206.
6. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1980. – 243 с.
7. Мельшиков, В.В. Лабораторные пробы, исследования в клинике / В.В. Мельшиков – М. : Медицина, 1987. – 365 с.
8. Семко, Г.А. Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопозе / Г.А. Семко // Украинский биохимический журнал. – 1998. – Т. 70, № 3. – С. 113-118.
9. Тогайбаев, А.А. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А.А. Тогайбаев // Лабораторное дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.
10. Шишкина, Л.Н. Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность / Л.Н. Шишкина, О.Г. Шевченко // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, № 6. – С. 587-602.
11. Beutler, E. How do red cell enzymes age a new perspective / E. Beutler // Brit. J. Haemat. – 1985. – Vol. 61. – P. 377-384.
12. Dodge, G.T. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes / G.T. Dodge, C. Mitchell, D.J. Hanahan // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. – Vol. 100. – P. 119-130.
13. Edidin, M. Lipids on the frontier: a century of cell-membrane bilayers / M. Edidin // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2003. – Vol. 4. – P.414-426.
14. Fairbanks, G. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane / G. Fairbanks, T. Steck // Biochemistry. – 1971. – Vol. 10. – P. 2606-2616.
15. Laemli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemli // Nature. – 1970. – Vol. 227. – P. 680.

## NEW DERIVATIVES OF 3-HYDROXYPIRIDIN IN CORRECTION OF DISTURBANCES OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES AT THE ACUTE TOXIC LESION OF THE LIVER

**V.A. RAGULINA<sup>1</sup>, S.A. ALEHIN<sup>1</sup>**  
**T.G. POKROVSKAYA<sup>2</sup>**  
**O.S. GUDYREV<sup>2</sup>, M.V. KOROKIN<sup>2</sup>**  
**V.I. KOCHKAROV<sup>2</sup>**  
**A.A. ARUSTAMOVA<sup>2</sup>**  
**D.V. LOPATIN<sup>1</sup>, I.M. KOLESNIK<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Kursk State Medical University*

<sup>2</sup> *Belgorod National Research University*

*e-mail: wvas@mail.ru*

In article data about disturbances of structural and functional properties of erythrocytes at experimental animals in the conditions of the acute toxic lesion of the liver caused by introduction of four-chloride carbeneum are stated. In work efficiency of use of 3-hydroxypyridin derivatives in correction of the broken indicators of the lipide and albuminous spectrum of membranes of erythrocytes at animals is defined at the acute toxic lesion of the liver.

Key words: 3-hydroxypyridin, acute toxic hepatopathy, red blood cells, pharmacotherapy.