

УДК 616.155.18–07

Р. А. Мухамадияров, В. В. Борисов, Я. Г. Торопова, М. В. Богданов, Е. В. Лахмоткина

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛИПОСОМ С РАЗЛИЧНЫМИ АНТИОКСИДАНТАМИ НА СТЕПЕНЬ ГЕМОЛИЗА И ФОРМУ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ГИПОХЛОРИТИНДУЦИРОВАННОМ ПЕРЕКИСНОМ ГЕМОЛИЗЕ

В работе исследована степень перекисного гемолиза, содержание малонового диальдегида и морфология эритроцитов человека при воздействии гипохлорита натрия после инкубации с липосомами различного состава. Исследован эффект «пустых» липосом и липосом, содержащих в своем составе α -токоферол, дигидрокверцетин и эмоксипин. Показано, что все типы липосом снижают степень гемолиза, накопление малонового диальдегида и тормозят трансформацию эритроцитов. По сумме исследованных характеристик все виды изученных липосом демонстрируют выраженный мембраностабилизирующий эффект в отношении перекисного гемолиза эритроцитов.

Ключевые слова: липосомы, гемолиз, α -токоферол, дигидрокверцетин, эмоксипин.

Липосомы в настоящее время рассматриваются как перспективная лекарственная форма для доставки биологически активных веществ к клеткам и тканям [1]. Высокая тропность липосом к биологическим мембранам может иметь важную практическую значимость, так как многие патологические процессы вызывают изменение состава и деструкцию клеточных мембран [2; 3, с. 71; 4, с. 96]. Ведущим механизмом, вызывающим повреждение мембран, является активация в них процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), активизирующихся в результате образования активных форм кислорода и снижения активности антиоксидантных систем клеток [5, с. 107; 6].

В связи с этим важное значение приобретает повышение окислительной устойчивости липидных мембран. Одним из способов торможения ПОЛ может быть доставка в мембраны веществ, обладающих антиоксидантным эффектом [7, с. 243–252; 8]. Способность липосом взаимодействовать непосредственно с клеточными мембранами превращает их в уникальное орудие для выполнения этой цели. Поэтому липосомы могут рассматриваться как универсальное и эффективное средство адресной доставки антиоксидантов в биомембраны [1].

В качестве антиоксидантов, включаемых в липосомы, в наших экспериментах использовали α -токоферол, дигидрокверцетин и эмоксипин. α -токоферол является широко распространенным природным антиоксидантом, обладает липофильными свойствами и играет важную роль в антиоксидантной защите клеток. Липофильный антиоксидант дигидрокверцетин и гидрофильный эмоксипин обладают более выраженным эффектом по сравнению с α -токоферолом и включаются в мембранную фазу и водную фазу липосом соответственно.

Несмотря на большой интерес исследователей к этим препаратам, мембраностабилизирующий эффект их липосомальных форм мало изучен. Важной особенностью липосом является то, что липиды, входящие в состав липосом, могут выступать в качестве «доноров» эссенциальных липидов, замещающих молекулы, поврежденных в результате ПОЛ и активизации фосфолипаз [9]. Для оценки мембранотропного эффекта различных препаратов удобной моделью является перекисный гемолиз эритроцитов (ПГЭ).

На основании вышеизложенного целью настоящего исследования явилось сравнительное исследование влияния липосомальных форм α -токоферола, дигидрокверцетина и эмоксипина на степень гемолиза и форму эритроцитов при ПГЭ, индуцированном гипохлоритом натрия.

Полученные данные могут быть использованы при создании липосомальных форм лекарственных препаратов, обладающих мембранопротекторным эффектом.

Полученные данные могут быть использованы при создании липосомальных форм лекарственных препаратов, обладающих мембранопротекторным эффектом.

Получение эритроцитов. Эритроциты выделяли из крови здоровых доноров центрифугированием в течение 10 минут при 2 800 об./мин. Затем эритроциты отмывали от плазмы трехкратно в физиологическом растворе (ФР). Полученную эритроцитарную массу разбавляли ФР до получения 5%-й взвеси по объему.

Приготовление липосом. Липосомы диаметром 100 нм готовили из мультиламелярных везикул, состоящих из лецитина и холестерина в молярном отношении 1 : 2, методом экструзии на экструдере Lipex Biomembranes (Канада). При получении липосом с α -токоферолом (α -ТЛ) и дигидрокверцетином (ДГКЛ) их добавляли на этапе получения липидной пленки. В случае липосом с эмоксипином (ЭМЛ) его раствор добавляли при оводнении липидной пленки. В эксперименте использовали «пустые» липосомы (ПЛ), содержащие в липидной фазе лецитин и холестерин в молярном отношении 7 : 5, и липосомы, содержащие вышеописанные ан-

тиоксиданты. Антиоксиданты добавляли из расчета 0,25 ммоль/г липида.

Инкубация эритроцитов с липосомами. К 5 мл 5%-й взвеси эритроцитов добавляли липосомы различного состава и инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 часов. Концентрация липосом в пробах в пересчете на липиды составила 10 мг/л (14,8 мкМ) с содержанием антиоксидантов 2,5 мкМ.

Исследование перекисного гемолиза эритроцитов. В настоящем исследовании применяли две модели гемолиза, отличающиеся концентрацией гипохлорита натрия (ГХН) и способом регистрации показателя. В настоящее время ПГЭ может рассматриваться как чувствительный лабораторный тест, отражающий структурные и химические изменения мембран, а также степень клеточных дисфункций [10].

«Быстрый» гемолиз. Для проведения данного вида ПГЭ к 2 мл 1,25%-й взвеси эритроцитов добавляли ГХН в концентрации 0,15 мМ (рН 7,8). Степень гемолиза оценивали по изменению пропускной способности при длине волны 670 нм на спектрофотометре Genesis (Thermo, США). Измеряли начальную оптическую плотность, затем добавляли окислитель и производили измерения в течение 10 минут с кратностью в 1 мин. Данная методика в течение этого времени обеспечивала 100%-й гемолиз. Модель «быстрого» гемолиза использовалась для изучения изменения формы эритроцитов на различных этапах ПГЭ.

«Медленный» гемолиз. Для проведения данного вида ПГЭ эритроциты, предварительно инкубированные с липосомами различного состава в течение 24 часов, трехкратно отмывали забуференным ФР. Затем к осадку добавляли 0,075 мМ ГХН (рН 7,8). Полученную взвесь инкубировали в течение 2 часов при 37 °С при постоянном перемешивании. В контрольной группе, без липосом, ПГЭ составлял 25%. Степень гемолиза оценивали по содержанию гемоглобина в растворе после осаждения эритроцитов. Концентрацию гемоглобина определяли при помощи набора «Гемоглобин-Ново» («Вектор-Бэст», Россия). Модель «медленного» гемолиза использовали для сравнительной оценки соотношения различных форм эритроцитов при ПГЭ после взаимодействия с липосомами различного состава.

Электронно-микроскопическое исследование. Для изучения методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) эритроциты фиксировали в 1%-м растворе глутарового альдегида в 0,1 М фосфатном буфере в течение 1 часа. После этого проводили дегидратацию эритроцитов по батарею спиртов возрастающей концентрации. Затем с использованием вакуумного поста (Quorum Technologies SC7640, Великобритания) наносили золото-палладиевое по-

крытие толщиной 30 нм и далее образцы изучали на сканирующем электронном микроскопе Hitachi S3400N (Япония) в условиях глубокого вакуума при ускоряющем напряжении 30 кV. С каждого образца делали по 10 снимков. По электронограммам производили количественный подсчет неизмененных эритроцитов (дискоцитов), эритроцитов в начальной стадии деформации, эхиноцитов и сфероцитов. Для каждой группы производили подсчет 1 000 эритроцитов.

Определение малонового диальдегида. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах определяли по образованию окрашенного продукта в ходе реакции с тиобарбитуровой кислотой [11]. Полученные данные пересчитывали на 1 мл эритроцитов.

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы Statistica 7.0. Производили предварительную проверку выборок на нормальность распределения с использованием критерия χ^2 . Рассчитывали значение средней арифметической величины и стандартной ошибки. Для оценки достоверности различий между группами использовали *t*-критерий Стьюдента. Для оценки корреляции между показателями применяли коэффициент Спирмена. Все эксперименты выполнены в 25-кратной повторности.

На начальном этапе исследования проводили изучение динамики ПГЭ. Известно, что разрушение эритроцитов сопровождается снижением светорассеивания. При воздействии ГХН через 1–2 минуты происходит увеличение светорассеивания луча на 0,1 единицу оптической плотности, затем в течение последующих 5 минут светорассеивание быстро снижается, достигая минимального значения, соответствующего полному гемолизу (рис. 1).

Другим информативным показателем, отражающим состояние эритроцитов, является изменение их формы. Форма эритроцитов тесно связана с метаболическими процессами, происходящими в них, и состоянием их клеточной мембраны [3, с. 71; 4, с. 82]. В норме в крови циркулируют эритроциты различной формы, подавляющее большинство из которых составляют дискоциты. При воздействии различных индукторов ПГЭ в эритроцитах происходит нарушение структуры мембраны, изменение ее проницаемости, истощение антиоксидантных систем и энергетического потенциала, что в итоге приводит к полному гемолизу [3, с. 72; 4, с. 82]. Данные процессы сопровождаются изменением формы эритроцитов [5, с. 108; 8, 10].

Исследование формы эритроцитов методом СЭМ показало, что до воздействия ГХН эритроциты имели типичную форму дискоцитов (рис. 2, а).

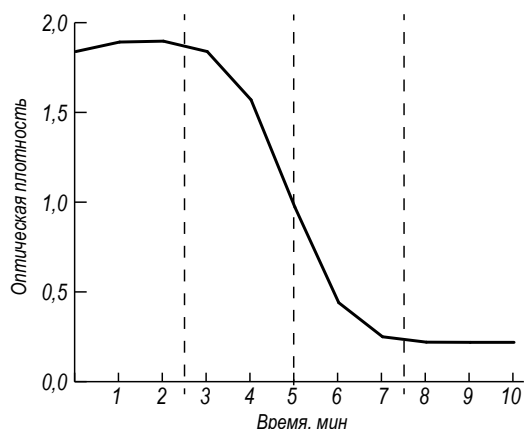


Рис. 1. Изменение оптической плотности 1,25 %-й суспензии эритроцитов при действии 0,15 мМ гипохлорита натрия. Минимальное значение соответствует 100 %-му гемолизу. Пунктирными линиями обозначены временные интервалы забора материала для электронно-микроскопических исследований

Через 2,5 минуты после воздействия ГХН – начальная стадия гемолиза – наблюдали повышение светорассеивания (рис. 1) и изменение формы эритроцитов от дискоцитов до эхиноцитов (рис. 2, б). Таким образом, зарегистрированное увеличение светорассеивания связано с изменением формы эритроцита – переход от дискоцитов к эхиноцитам, что подтверждено методом СЭМ.

Через 5 минут после индукции ПГЭ (50 % гемолиза) отмечали дальнейшую трансформацию формы эритроцитов. У сохранившихся эхиноцитов уменьшалось количество выростов и их форма приближалась к сфероцитам (рис. 2, в). При этом диаметр эритроцитов визуально не изменялся по сравнению с 2,5 минутами ПГЭ.

Через 7,5 минуты после добавления ГХН (стадия завершения гемолиза) большая часть эритроцитов гемолизирована, гемоглобин находится вне клеток. Эритроциты с сохранными клеточными мембранами имели форму эхиноцитов и сфероцитов (рис. 2, г).

Таким образом, при ПГЭ наблюдалась трансформация эритроцитов в следующей последовательности: дискоциты → эхиноциты → сфероциты → сфероциты с перфорированной мембраной → «тени» эритроцитов.

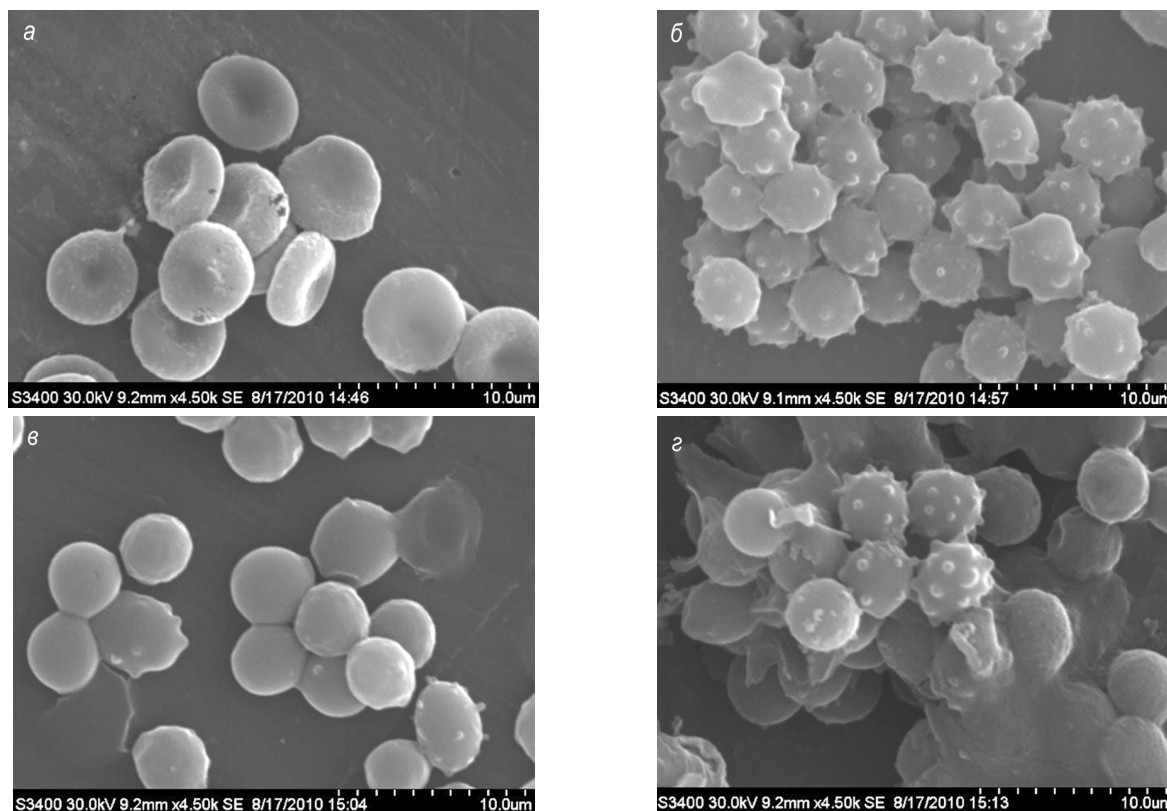


Рис. 2. Форма эритроцитов при перекисном гемолизе, вызванном 0,15 мМ гипохлорита натрия. Сканирующая электронная микроскопия: а – дискоциты до добавления гипохлорита натрия; б – через 2,5 минуты после начала гемолиза: образование эхиноцитов; в – через 5 минут после начала гемолиза: сфероциты и эритроциты с частичной деструкцией мембраны; г – через 7,5 минуты после начала гемолиза: оставшиеся негемолизированными эхиноциты и разрушенные эритроциты с выходом гемоглобина из клетки. Ув. ×4 500

На следующем этапе при помощи модели «медленного» гемолиза было изучено влияние липосом различного состава на степень ПГЭ. Установлено, что все исследованные липосомальные препараты

достоверно ($p < 0,01$) снижали процент ПГЭ (рис. 3). В пробах, инкубированных с «пустыми» липосомами, ПГЭ был ниже на 83,5% по сравнению с контролем. Применение антиоксидантных препаратов в составе липосом усиливало протективный

эффект в отношении ПГЭ. Так, в случае инкубации эритроцитов с липосомами, содержащими α -токоферол, дигидрокверцетин и эмоксипин, перекисный гемолиз снижался на 85,1, 86,4 и 92,0% соответственно.

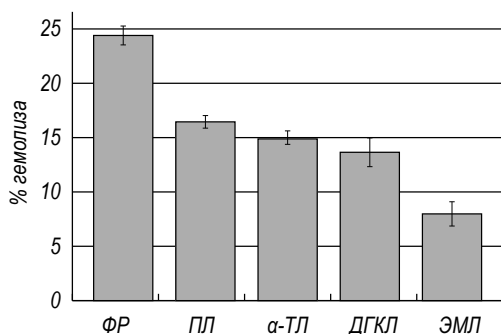


Рис. 3. Процент гемолизированных эритроцитов, предварительно инкубированных с липосомами в течение 24 часов. Перекисный гемолиз индуцирован 2-часовым воздействием 0,075 мМ гипохлорита натрия. Условные обозначения: ФР – физиологический раствор; ПЛ – «пустые» липосомы; α -ТЛ – липосомы с α -токоферолом; ДГКЛ – липосомы с дигидрокверцетином; ЭМЛ – липосомы с эмоксипином

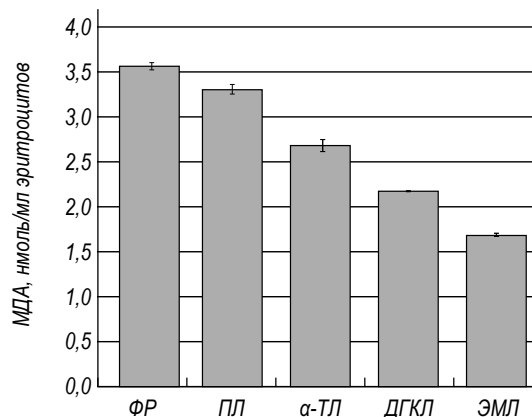


Рис. 4. Концентрация малонового диальдегида в эритроцитах, предварительно инкубированных с липосомами в течение 24 часов. Перекисный гемолиз индуцирован 2-часовым воздействием 0,075 мМ гипохлорита натрия. Условные обозначения: ФР – физиологический раствор; ПЛ – «пустые» липосомы; α -ТЛ – липосомы с α -токоферолом; ДГКЛ – липосомы с дигидрокверцетином; ЭМЛ – липосомы с эмоксипином

Параллельное исследование содержания МДА (маркера интенсивности процессов ПОЛ) в эритроцитах показало, что снижение ПГЭ сопровождается снижением содержания МДА (рис. 4). В группе без использования липосом отмечено максимальное содержание МДА, тогда как при инкубации с ЭМЛ концентрация МДА минимальна. Также установлена прямая корреляционная зависимость между МДА и ПГЭ ($r = 0,92$). Это свидетельствует о том, что липосомы с антиоксидантами оказывают выраженный мембраностабилизирующий эффект и,

следовательно, повышают перекисную резистентность эритроцитов.

При исследовании формы эритроцитов методом СЭМ также обнаружены морфологические изменения. Отмечено снижение содержания дискоцитов, появление большого количества эритроцитов, подвергнувшихся начальной трансформации, и эхиноцитов. Применение липосом приводит к изменению соотношения форм эритроцитов. Данный эффект зависит от наличия и вида антиоксиданта в составе липосом (рис. 5).

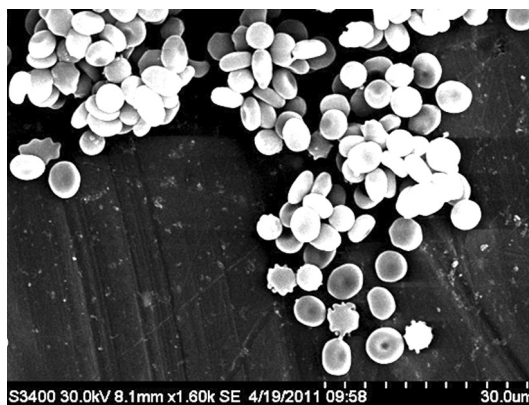


Рис. 5. Полиморфизм эритроцитов, предварительно инкубированных с липосомами в течение 24 часов. Перекисный гемолиз индуцирован 2-часовым воздействием 0,075 мМ гипохлорита натрия. Сканирующая электронная микроскопия. Ув. $\times 1600$

Данные о соотношении различных форм эритроцитов после их инкубации с липосомами и воздействия ГХН представлены в таблице.

Количественное содержание различных форм эритроцитов после 24-часовой инкубации с липосомами и индукции «медленного» перекисного гемолиза

	Форма эритроцита		
	дискоциты	начальная трансформация	эхиноциты
Контроль	97,5±1,4	2,2±0,7	0,3±0,2
ФР	81,6±2,1*	17,1±1,2*	1,3±0,2*
ПЛ	84,5±1,7*	13,9±0,9*	1,6±0,2*
α-ТЛ	87,9±1,4*	9,0±0,7* ⁺	3,1±0,9* ⁺
ДГКЛ	86,6±1,5*	11,8±0,9*	1,6±0,2*
ЭМЛ	91,6±2,4* ⁺	6,8±1,6* ⁺	1,6±0,1*

Примечание. ФР – физиологический раствор, ПЛ – «пустые» липосомы, α-ТЛ – липосомы с α-токоферолом, ДГКЛ – липосомы с дигидрохверцетином, ЭМЛ – липосомы с эмоксипином; * – $p < 0,05$ (по сравнению с контролем); ⁺ – $p < 0,05$ (по сравнению с ФР).

Необходимо отметить, что полностью гемолизованные эритроциты не визуализируются при помощи СЭМ, так как оставшиеся после гемолиза липидные мембраны растворяются в спиртах в процессе пробоподготовки. Поэтому на электронограммах видны только сохранившиеся эритроциты, среди которых и производили количественный подсчет процента трансформировавшихся.

В группе ФР после 2 часов воздействия ГХН количество дискоцитов снижается до 81,6% по сравнению с контролем (97,5%). Предынкубация эритроцитов с липосомами обеспечивает лучшую сохранность дискоцитов в присутствии ГХН. Все виды липосом повышают устойчивость эритроцитов к начальным стадиям ПГЭ, а включение в состав липосом антиоксидантных препаратов обеспечивает более выраженную сохранность эритроцитов (87,9–91,6% неизмененных форм в зависимости от вида антиоксиданта).

В группу эритроцитов с начальной трансформацией относили все эритроциты с небольшими дефектами, изменением формы, началом образования выростов. Сфероциты в этой серии не отмечены. Возможно, это связано с тем, что переход сфероцита к гемолизу очень быстрый и при сравнительно низком общем содержании эхиноцитов, из которых они образуются, не попадают в поле зрения. На модели «быстрого» гемолиза мы не наблюдали начальной трансформации эритроцитов ввиду слишком высокой скорости процесса. Последовательность трансформации выглядела следующим образом: дискоциты → эхиноциты → гемолиз.

Необходимо отметить, что предынкубация эритроцитов с липосомами обеспечивает лучшую со-

хранность дискоцитов в присутствии ГХН и снижает содержание эритроцитов, подвергшихся трансформации. Так, в группе ФР присутствовало 17,1% трансформировавшихся эритроцитов (см. табл.). После инкубации с липосомами отмечено их снижение, убывающее в ряду ПЛ → ДГКЛ → α-ТЛ → ЭМЛ.

Процентное содержание эхиноцитов в группах ПЛ, ЭМЛ, ДГКЛ было незначительно выше (на 0,3%), чем в группе ФР. Хотя это повышение не было статистически значимым ($p > 0,05$), но имело место во всех трех группах. Поэтому близкие по величине показатели количества эхиноцитов, превышающие это значение в группе ФР, дают основание предполагать, что накопление эхиноцитов в группах ПЛ, ЭМЛ, ДГКЛ обусловлено включением в эритроциты липидов, входящих в состав липосом.

В группе α-ТЛ количество эхиноцитов более чем в два раза превышает данный показатель в группе ФР. Возможно, данный феномен связан с повышением скорости их образования или снижением скорости их разрушения. Близкие по величине количественные значения эхиноцитов в группах ПЛ, ЭМЛ и ДГКЛ позволяют предположить, что скорость разрушения эхиноцитов является постоянной либо изменяется слабо. Таким образом, повышенное содержание эхиноцитов в группе α-ТЛ обусловлено прежде всего повышением скорости их образования.

При сравнении групп α-ТЛ и ДГКЛ было установлено, что в группе α-ТЛ наблюдается пониженное содержание эритроцитов, подвергшихся начальной трансформации, одновременно с повышенным содержанием эхиноцитов. Это может свидетельствовать о том, что липосомальная форма α-токоферола тормозит гемолиз прежде всего на этапе начальной трансформации эритроцитов, но не снижает, а увеличивает скорость образования эхиноцитов. В конечном итоге именно высокая скорость образования эхиноцитов в данной группе является причиной достоверно более высокого уровня ПГЭ относительно группы ДГКЛ.

В наших экспериментах установлено, что липосомы, содержащие эмоксипин, оказывали максимальный мембраностабилизирующий эффект. Это проявлялось в максимальном снижении степени ПГЭ, снижении содержания МДА и предотвращении трансформации эритроцитов.

Известно, что форма эритроцитов поддерживается за счет метаболических процессов в клетках и зависит от состояния их мембран [3, с. 72]. Окислительный стресс, вызванный ГХН, активизирует процессы ПОЛ в мембранах, что приводит к нарушению их структуры [5, с. 109; 6]. В связи с этим можно предположить, что изменение поверхностного рельефа эритроцитов при действии ГХН обус-

ловлено повреждением структуры мембраны и истощением метаболических систем.

Полученные данные подтверждают, что в условиях эксперимента липосомы эффективно взаимодействуют с эритроцитами, повышая их устойчивость к ПГЭ. Известно, что липосомы взаимодействуют с эритроцитами путем слияния с их мембраной и путем адгезии [9]. При этом липидная часть липосом встраивается в клеточную мембрану, а внутренняя фаза оказывается внутри клетки. На основании вышеизложенного можно предположить, что снижение ПГЭ даже при использовании ПЛ связано с тем, что липиды липосом оказывают репаративный эффект при активации ПОЛ и, возможно, путем восстановления структуры собственных мембранных липидов (фосфатидилхолина и фосфатилэтаноамина) [6, 12]. При наличии в липидной фазе липосом липофильных антиоксидантов – α -токоферола и дигидрохверцитина – они также встраиваются в клеточную мембрану эритроцитов.

Локализуясь в мембране, все антиоксиданты способны «гасить» образующиеся при ПГЭ липидные радикалы, тем самым оказывая мембраностабилизирующий эффект. Известно, что кроме взаимодействия с липидными радикалами, антиоксиданты способны в различной степени инактивировать активные формы кислорода [13, 14]. Для ДГК дополнительным механизмом антиоксидантного эффекта может быть связывание двухвалентных ионов железа, участвующих в образовании активных форм кислорода в клетках [15]. Аналогичным эффектом обладает и эмоксипин [14].

Несмотря на принципиальное сходство механизмов антиоксидантного действия изученных нами веществ, были отмечены различия в интенсивности протекторного эффекта. Возможно, это связано с индивидуальными химическими особенностями самих антиоксидантных препаратов. Также отмечено различие степени торможения ПГЭ и соотношение форм трансформировавшихся эритроцитов в зависимости от типа антиоксиданта.

«Пустые» липосомы эффективны только в мембранной фазе, поскольку в своем составе содержат только липиды. Данный вид липосом относительно слабо тормозит образование МДА, но в то же время обладает выраженным протекторным эффектом в отношении ПГЭ. Полученный эффект можно объяснить встраиванием липидов липосом в мембрану эритроцитов, тем самым способствуя стабилизации их структуры. Лецитин, входящий в состав ПЛ, также способен оказывать антиоксидантный эффект.

Так как α -токоферол практически нерастворим в воде, его действие может проявляться только в липидной фазе за счет инактивации липидных радикалов путем разрыва цепи свободно радикального окисления.

ДГК также является липофильным соединением, однако способен в малых концентрациях растворяться в воде. Можно предположить, что мембраностабилизирующий эффект ДГКЛ, превышающий таковой при использовании ПЛ и α -ТЛ, обусловлен не только «гашением» липидных радикалов, но и связыванием ионов Fe^{2+} вблизи плазматической мембраны эритроцитов. Снижение содержания МДА в этой группе подтверждает, что мембраностабилизирующий эффект ДГКЛ связан также с торможением ПОЛ.

Высокая мембраностабилизирующая активность ЭМЛ, вероятно, обусловлена способностью самого эмоксипина взаимодействовать не только с мембраной, но и его хорошей растворимостью в водных средах, что дает возможность оказывать эффект как на уровне плазмалеммы, так и в примембранном пространстве цитоплазмы. Кроме того, эмоксипин способен взаимодействовать с супероксидным радикалом и, по-видимому, с другими активными формами кислорода, ингибируя тем самым инициальные стадии свободно-радикального окисления [14] и усиливая ингибирующий эффект ЭМЛ в отношении процессов ПОЛ.

Таким образом, выраженный мембраностабилизирующий эффект липосом, содержащих антиоксиданты, может рассматриваться как сумма эффектов липидов самих липосом и антиоксидантов, входящих в их состав.

При этом различная эффективность липосомальных форм применявшихся антиоксидантов может быть связана с различной структурой их молекул, их различной подвижностью в мембранной фазе и различной активностью образующихся при взаимодействии радикалов.

Так как важнейшие физиологические функции эритроцитов зависят от состояния их клеточных мембран [16], можно ожидать, что мембранопротекторный эффект липосомальных форм антиоксидантов способствует сохранению их функциональной активности.

Таким образом можно констатировать:

1. Липосомы снижают степень гемолиза, проявляя мембраностабилизирующий эффект при ПГЭ. Введение в состав липосом антиоксидантных препаратов усиливает данный эффект.
2. Мембраностабилизирующий эффект липосом обусловлен торможением перекисного окисления липидов мембран.
3. По силе защитного эффекта использовавшихся липосом, содержащих антиоксиданты, их можно расположить в следующем порядке по мере возрастания – α -ТЛ, ДГКЛ, ЭМЛ.
4. Морфологически эффект липосом при перекисном гемолизе проявляется прежде всего на стадии начальной трансформации эритроцитов.

Список литературы

1. Сейфулла Р. Д. Фармакология липосомальных препаратов (в эксперименте и клинике). М., 2010. 241 с.
2. Афанасьев С. А., Реброва Т. Ю., Кондратьева Д. С. Особенности фосфолипидного состава мембран эритроцитов в условиях постинфарктного кардиосклероза // Биомедицинская химия. 2007. Т. 53, вып. 5. С. 541–546.
3. Шифман Ф. Д. Патолофизиология крови. М.: Изд-во «Бином», 2001. 448 с.
4. Шперлинг И. А., Рязанцева Н. В., Новицкий В. В., Жаткин О. А. Патология эритроцита при экзогенной интоксикации. Томск: Изд-во Томского ун-та, 2006. 122 с.
5. Бохан Н. А., Прокопьева В. Д. Молекулярные механизмы влияния этанола и его метаболитов *in vitro* и *in vivo*. Томск: Изд-во Томского ун-та, 2004. 167 с.
6. Hatherill J. R., Till G. O., Ward P. A. Mechanisms of oxidant-induced changes in erythrocytes // Agents and Actions. 1991. Vol. 32, 3/4. P. 252–258.
7. Ипатова О. М. Фосфогливы: механизм действия и применение в клинике / под ред. акад. РАМН А. И. Арчакова. М.: Изд-во ГУ НИИ биомедицинской химии РАМН, 2005. 318 с.
8. Мамонтова Е. В. Влияние α -токоферола на степень перекисного гемолиза эритроцитов белых мышей в норме и при иммобилизационном стрессе // Современные проблемы науки и образования. 2006. № 3. С. 27–28.
9. Schwartz R. S., Duzgunes N., Tsun-Yee Chu D., Lubin B. Interaction of phosphatidylserine-phosphatidylcholine liposomes with sickle erythrocytes. Evidence for altered membrane surface properties // J. Clin. Invest. 1983. Vol. 71, № 3. P. 1570–1580.
10. Щербаченко И. М., Лисовская И. Л., Любицкий О. Б., Осипов А. Н. Определение осмотической резистентности эритроцитов, модифицированных окислением, как способ оценки активности антиоксидантов // Вестник РГМУ. 2007. № 6 (59). С. 70–75.
11. Стальная И. Д., Гаришвилли Т. Г. Метод определения малонового диальдегида по реакции с тиобарбитуровой кислотой // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. М., 1977. С. 66–68.
12. Gratzer W. B. The red cell membrane and its cytoskeleton // J. Biochem. 1981. Vol. 198, № 1. P. 1–8.
13. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В., Демин Е. М. [и др.]. Дигидрохверцетин (таксифолин) и другие флавоноиды как ингибиторы образования свободных радикалов на ключевых стадиях апоптоза // Биохимия. 2009. Т. 74, вып. 3. С. 372–379.
14. Клебанов Г. И., Любицкий О. Б., Васильева О. В. [и др.]. Антиоксидантные свойства производных 3-оксипиридина: мексидола, эмоксипина и проксипина // Вопросы медицинской химии. 2001. № 3. С. 62–74.
15. Van Acker S. A., Van Balen G. P., Van den Berg D. J. et al. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids // Biochem Pharmacol. 1998. Vol. 56, № 8. P. 935–43.
16. Трубачева О. А., Шахристова Е. В., Галич А. И., Петрова И. В. Влияние повышенной Ca^{2+} -зависимой калиевой проницаемости на деформируемость эритроцитов // Вестн. Томского гос. пед. ун-та (Tomsk State Pedagogical University Bulletin). 2011. Вып. 5 (107). С. 59–72.

Мухамадияров Р. А., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН.

Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002.

E-mail: gem57@rambler.ru

Борисов В. В., кандидат биологических наук, заведующий лабораторией.

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН.

Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002.

E-mail: borisov_vadim@mail.ru

Торопова Я. Г., научный сотрудник.

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН.

Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002.

E-mail: yana.toropova@mail.ru

Богданов М. В., младший научный сотрудник.

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН.

Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002.

E-mail: bigimax@mail.ru

Лахмоткина Е. В., младший научный сотрудник.

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН.

Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Россия, 650002.

Материал поступил в редакцию 06.02.2012.

R.A. Muhamadiyarov, V.V. Borisov, Y.G. Toropova, M.V. Bogdanov, E.V. Lakhmotkina

COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECT OF LIPOSOMES WITH VARIOUS ANTIOXIDANTS UPON THE DEGREE OF HEMOLYSIS AND SHAPE OF THE ERYTHROCYTE WITH HYPOCHLORITE-INDUCED PEROXIDE HAEMOLYSIS

In this paper the authors investigate the extent of peroxide haemolysis, contents of malonic dialdehyde and morphology of human erythrocytes under the influence of sodium hypochlorite after incubation with liposomes of different composition. There is an effect of “empty” liposomes and liposomes containing in the structure α -tocopherol, and dihydroquercetin emoksipin. It is shown that all types of liposomes reduce the degree of hemolysis, the accumulation of malonic dialdehyde and inhibit transformation of erythrocytes. All investigated characteristics of the studied liposomes exhibit a pronounced membrane-stabilizing effect on the peroxide hemolysis of erythrocytes.

Key words: *liposomes, hemolysis, α -tocopherol, dihydroquercetin, emoksipin.*

Muhamadiyarov R.A.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.

Sosnovyj bul'var, 6, Kemerovo, Russia, 650002.

E-mail: rem57@rambler.ru

Borisov V.V.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.

Sosnovyj bul'var, 6, Kemerovo, Russia, 650002.

E-mail: borisov_vadim@mail.ru

Toropova Y.G.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.

Sosnovyj bul'var, 6, Kemerovo, Russia, 650002.

E-mail: yana.toropova@mail.ru

Bogdanov M.V.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.

Sosnovyj bul'var, 6, Kemerovo, Russia, 650002.

E-mail: bigimax@mail.ru

Lakhotkina E.V.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.

Sosnovyj bul'var, 6, Kemerovo, Russia, 650002.