

УДК 616.89-02-092:612.118.221.3:616.89-008.441.13

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ АСКОРБАТА ЛИТИЯ

¹Ветлугина Т.П., ²Плотников Е.В., ¹Никитина В.Б., ¹Лобачева О.А., ¹Савочкина Д.Н.,
¹Радионова Т.С., ³Плотников В.М., ¹Бохан Н.А.

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск,
e-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru;

²Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск;
³ООО «Политек», Томск, e-mail: plotnikov.v.m@mail.ru

Проведено исследование влияния водорастворимой соли лития и аскорбиновой кислоты – аскорбата лития на устойчивость эритроцитов к действию этанола. Эритроциты больных алкоголизмом инкубировали с 10% раствором этанола при + 37°C с добавлением аскорбата лития в конечной концентрации лития в инкубационной смеси 0,48–4,8 ммоль/л. Установлено, что применение аскорбата лития позволяет повысить устойчивость эритроцитов крови больных алкоголизмом к гемолизу, индуцированному этанолом, в 1,5–2,2 раза по сравнению с контролем (эритроциты с добавлением в инкубационную смесь физиологического раствора).

Ключевые слова: эритроциты, гемолиз, этанол, аскорбат лития, алкоголизм

INVESTIGATION OF LITHIUM ASCORBATE HAEMOPROTECTIVE ACTIVITY

¹Vetlugina T.P., ²Plotnikov E.V., ¹Nikitina V.B., ¹Lobacheva O.A., ¹Savoshkina D.N.,
¹Radionova T.C., ³Plotnikov V.M., ¹Bohan N.A.

¹Mental Health Research Institute, Tomsk, e-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru,

²National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk;

³Polytech Ltd, Tomsk

The study of effect of water-soluble salt of lithium and ascorbic acid – lithium ascorbate on resistance of erythrocytes to action of ethanol has been carried out. Erythrocytes of alcoholic patients were incubated with 10% ethanol solution at + 37°C with addition of lithium ascorbate in final concentration of lithium in incubation mixture 0,48–4,8 mmol/l. It has been established that use of lithium ascorbate allows elevating the resistance of erythrocytes of blood of alcoholic patients to hemolysis induced by ethanol as compared with control (erythrocytes with addition of saline to incubation mixture) 1.5–2.2 times.

Keywords: erythrocytes, hemolysis, ethanol, lithium ascorbate, alcoholism

Алкогольная зависимость до настоящего времени остается значимой медико-социальной проблемой для России и других развитых стран в связи с высокой распространенностью, увеличением удельного веса тяжелых и ассоциированных форм, присоединением сопутствующих соматических заболеваний [2]. Чувствительной тест-системой внутренней среды организма при различных патологических состояниях являются клетки красной крови. При алкоголизме обнаруживается структурно-функциональная дезорганизация эритроцитов, изменение их морфологии, модификация липидного бислоя, сопровождающаяся снижением гемолитической устойчивости и развитием анемии [6; 7; 9]. В связи с этим, важное значение приобретает расширение арсенала защитных средств биологических мембран эритроцитов от воздействия этанола [3; 5; 10]. В нашей работе в качестве мембранопротектора эритроцитов была изучена синтезированная водорастворимая соль лития и аскорбиновой

кислоты – аскорбат лития. Интерес к синтезированным органическим солям лития, как основы для создания новых лекарственных средств, обусловлен применением препаратов лития, чаще в виде карбоната лития, для лечения биполярного аффективного расстройства и аффективных нарушений у больных алкоголизмом.

Цель исследования

Исследовать влияние аскорбата лития на устойчивость эритроцитов больных алкоголизмом к гемолизу, индуцированному этанолом.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования являлись эритроциты, выделенные из венозной крови 12 больных алкоголизмом. Необходимое для эксперимента количество аскорбата лития синтезировано на кафедре физической и аналитической химии Томского политехнического университета; молекулярная масса соли без кристаллизационной воды 182 г/моль, содержит 1 ион лития (рисунок). В качестве препарата сравнения использовали карбонат лития производства ЗАО

«Вектон» (Санкт-Петербург); молекулярная масса соли 74 г/моль, содержит 2 иона лития. В медицинской практике применение солей лития контролируется концентрацией ионов лития в плазме, в связи с чем для сравнения эффектов соединений их концентрации в эксперименте пересчитаны на равное содержание ионов лития.

Постановка опыта. В ряд центрифужных пробирок вносят по 100 мкл предварительно отмытых физиологическим раствором эритроцитов пациентов, добавляют равный объем рабочих разведений в физиологическом растворе (исходная концентрация) исследуемой соли лития, содержащих 100; 200; 300; 500; 1000 мкг/мл в расчете на литий (опыт), или физиологического раствора (контроль для каждого образца эритроцитов). Пробы помещают на 30 мин в термостат при +37°C для предварительной инкубации. Далее в инкубационную смесь вносят 10% этанол до разведения исходной концентрации лития в 30 раз и вновь помещают в термостат на 2 часа. После инкубации эритроциты осаждают центрифугированием, измеряют оптическую плотность супернатантов на спектрофотометре при 440 нм. Величину гемолиза эритроцитов в опытных пробах выражают в процентах по отношению к контролю, принимая оптическую плотность контрольных проб за 100%.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета программ STATISTICA для Windows, версия 7.0. Описательная статистика представлена медианой и межквартильным интервалом (LQ–UQ).

Результаты исследования и их обсуждение

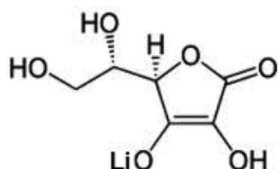
Гемолитическая устойчивость эритроцитов определяется разными методами, при которых на эритроциты воздействуют повреждающими факторами (кислотный гемолиз, термическая травма и др.). Мы

применили разработанный в лаборатории клинической психонейроиммунологии НИИ психического здоровья способ, при котором в качестве повреждающего эритроциты фактора использован раствор этанола, что вполне оправдано при изучении свойств эритроцитов больных алкоголизмом [4]. В табл. 1 представлены результаты исследования влияния аскорбата лития на устойчивость эритроцитов к действию этанола.

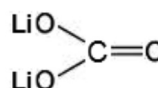
Как видно из таблицы, средний процент гемолиза эритроцитов, индуцированного этанолом, в опытных пробах (преинкубация с аскорбатом лития) по отношению к контрольным (преинкубация с физиологическим раствором) колебался в пределах 45,6–66,2% при всех используемых концентрациях реагента.

Далее была проведена серия сравнительных экспериментов по влиянию карбоната лития на устойчивость эритроцитов к действию этанола. Использовали эритроциты 5 больных алкоголизмом, рабочие разведения карбоната лития содержали 100; 200; 300 мкг/мл в расчете на литий, постановка опыта была аналогична опыту с аскорбатом лития. Результаты данной серии опытов приведены в табл. 2.

Только при концентрации лития в инкубационной смеси 3,33 мкг/мл процент гемолиза эритроцитов, индуцированного этанолом, был близок к показателю в контрольных пробах (94,5%), а при более высоких дозах – значительно его превосходил, и карбонат лития приводил, практически, к полному гемолизу эритроцитов.



Аскорбат лития



Карбонат лития

Структурные формулы тестируемых соединений лития

Таблица 1

Дозозависимый эффект аскорбата лития на гемолиз эритроцитов, индуцированный этанолом (Медиана (LQ–UQ))

Исходная концентрация лития на этапе преинкубации (мкг/мл)	Конечная концентрация лития в инкубационной смеси с этанолом (мкг/мл)	% гемолиза в опытных пробах по отношению к контролю
100	3,33	45,6 (31,9–63,7)
200	6,67	66,2 (39,0–75,0)
300	10,00	54,0 (42–62,2)
500	16,67	56,2 (44,7–62,7)
1000	33,33	61,5 (29,9–78,7)

Таблица 2

Влияние карбоната лития на устойчивость эритроцитов больных алкоголизмом к действию этанола (Медиана (LQ–UQ))

Исходная концентрация лития на этапе преинкубации (мкг/мл)	Конечная концентрация лития в инкубационной смеси с этанолом (мкг/мл)	% гемолиза в опытных пробах по отношению к контролю
100	3,33	94,5 (80–117,9)
200	6,67	302,1 (225,8–376,2)
300	10,00	389,5 (296,2–508,1)

В психиатрии и наркологии для редукции аффективной симптоматики терапевтическая концентрация ионов Li^+ в плазме должна быть 0,6–1,6 ммоль/л в зависимости от клинического состояния пациента. Используемые в эксперименте конечные концентрации лития в инкубационной смеси с этанолом в молярном выражении составляют 0,48; 1,44; 2,40; 4,8 ммоль/л, т.е. соответствуют терапевтической концентрации ионов Li^+ в крови пациентов или ее превышают. При этом аскорбат лития во всех исследованных дозах оказывает мембранопротекторное действие и значительно повышает устойчивость эритроцитов к действию этанола.

Проведенный ранее комплекс токсикологических и гистологических исследований на мышках линии BALB/c показал отсутствие нейротоксического эффекта аскорбата лития по сравнению с карбонатом лития [1]. Установлено также, что аскорбат лития обладает антиоксидантной и иммуномодулирующей активностью [8]. Полученные в настоящем исследовании данные показали, что применение аскорбата лития позволяет повысить устойчивость эритроцитов крови больных алкоголизмом к гемолизу, индуцированному этанолом, в 1,5–2,2 раза. Проведенный комплекс исследований различных эффектов аскорбата лития свидетельствует о перспективности его дальнейшего изучения и продвижения в психиатрическую и наркологическую практику.

Список литературы

1. Балашов П.П. Сравнительное изучение нейротоксического действия солей лития / П.П. Балашов, Е.Ю. Аникина, Е.В. Плотников, А.В. Потапов, В.С. Чучалин // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2008. – № 4 (51). – С. 83–84.
2. Бохан Н.А. Клинико-патобиологические закономерности формирования и патоморфоза алкоголизма и наркоманий в социально-организованных популяциях / Н.А. Бохан, А.И. Мандель, И.А. Артемьев, Т.И. Невидимова, Е.И. Батухтина, И.В. Воеводин, А.Ф. Аболонин, А.В. Солонский, В.Д. Прокопьева, В.А. Тоцакова, Е.В. Епимахова, Т.В. Шушпанова // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2015. – № 3(88). – С. 53–62.
3. Способ повышения устойчивости к гемолизу эритроцитов и восстановление их поврежденной формы: патент 2162698 Рос. Федерация / В.Д. Прокопьева, А.А. Болдырев, Н.А. Бохан, В.Я. Семке, Е.М. Кулагин. – № 98119668/14; заявл. 29.10.1998; опубл. 10.02.2001. Бюл. № 4. – 5 с.
4. Способ повышения устойчивости эритроцитов к гемолизу, индуцированному этанолом: патент 2315605 Рос. Федерация / Т.П. Ветлугина, В.Х. Жиров. – № 2005123964/15; заявл. 27.07.2005; опубл. 27.01.2008. Бюл. № 3. – 6 с.
5. Chukwurah P.N. Protective capacity of *Artemisia annua* as a potent antioxidant remedy against free radical damage / P.N. Chukwurah, E.A. Brisibe, A.N. Osuagwu, T. Okoko // Asian Pac J Trop Biomed. – 2014. – № 4, Vol. 1. – P. 92–98. doi: 10.12980/APJTB.4.2014C731.
6. Cylwik B. The distribution of serum folate concentration and red blood cell indices in alcoholics / B. Cylwik, M. Naklicki, E. Gruszewska, M. Szmitkowski, L. Chrostek // J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). – 2013. – № 59, Vol. 1. – P. 1–8.
7. Maturu P. Modification of erythrocyte membrane proteins, enzymes and transport mechanisms in chronic alcoholics: an in vivo and in vitro study / P. Maturu, D. R. Vaddi, P. Pannuru, V. Nallanchakravarthula // Alcohol Alcohol. – 2013. – № 48, Vol. 6. – P. 679–686. doi:10.1093/alcalc/agt071.
8. Plotnikov E. Lithium-based antioxidants: electrochemical properties and influence on immune cells / E. Plotnikov, E. Korotkova, O. Voronova, E. Dorozhko, N. Bohan, S. Plotnikov // Physiology and pharmacology. – 2015. – № 19. – P. 107–113.
9. Sonmez M. The effect of alcohols on red blood cell mechanical properties and membrane fluidity depends on their molecular size / M. Sonmez, H.Y. Ince, O. Yalcin, V. Ajdžanović, I. Spasojević, H.J. Meiselman, O.K. Baskurt // PLoS One. – 2013. – № 8, Vol. 9. – e76579. doi: 10.1371/journal.pone.0076579.
10. Yan X. A study on the effect of ethanol extract of *Radix rhapontici* on erythrocyte immune function in rats / X. Yan, H. Zhao, Y. Guan, Y. Song, J. Meng // J Afr J Tradit Complement Altern Med. – 2013. – № 10, Vol. 6. – P. 538–541.