

Глутатион и жизнеспособность консервированного эритроцита

П.Н.Мальш, Е.В.Фролова, Т.В.Письменная

Главное управление здравоохранения Луганской областной государственной администрации,
Луганская областная станция переливания крови
Луганск, Украина

Качество гемоконсервантов можно улучшить добавлением в рецептуру ингредиентов, позволяющих усилить антиоксидантную защиту клетки. Такими веществами могут быть глутатион восстановленный или аминокислоты, входящие в его состав: глутаминовая, цистеин, глицин.

Ключевые слова: гемоконсервант, эритроцит, глутатион, пентозофосфатный шунт.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что добавление к стабилизатору донорской крови метаболитов углеводно-фосфорного обмена (аденина, инозина, пирувата и др.) удлиняет срок жизнеспособности консервированных эритроцитов [1]. Усовершенствование растворов, пригодных для заготовки цельной крови и хранения ее компонентов, представляется актуальным, так как разработанные на настоящий момент гемоконсерванты не могут обеспечить морфофункциональную полноценность консервированных эритроцитов на поздних сроках их хранения. Оценка проявлений альтераций консервированного эритроцита и выявленные «слабые звенья» в его естественной антиоксидантной защите указывают на необходимость разработки рецептур гемоконсервантов с ингредиентами, оказывающими модулирующее действие [13]. С нашей точки зрения, необходим поиск новых добавок, позволяющих удлинить сроки хранения консервированных клеток крови.

Многочисленными исследованиями доказано, что глутатион вносит основной вклад в функционирование антиоксидантной системы

эритроцитов, выполняя роль донора водорода и кофактора ряда ферментных систем, тем самым осуществляя множественные функции, в том числе поддержание оптимального состояния клеточной мембраны [3, 4, 8, 20, 21, 25]. Известно, что концентрация восстановленного глутатиона (ВГ) по мере «старения» эритроцитов снижается *in vivo* и *in vitro* [5, 6, 23, 34]. Эффективность реакции восстановления глутатиона в значительной мере зависит от скорости восстановления образующегося НАДФ. Этот процесс осуществляется в результате реакций, катализируемых ферментами пентозофосфатного шунта (ПФС) [29, 30]. Скорость реакций окислительной ветви последнего, ответственных за генерацию НАДФ-Н₂, лимитируется активностью Г-6-ФДГ [24, 27, 35], а реакции пентозного цикла в целом являются лимитирующим звеном в цепи процессов, поддерживающих глутатиондисульфидное равновесие [33]. Установлено, что значительное снижение активности Г-6-ФДГ сочетается с развитием глубокого угнетения метаболизма эритроцитов [17].

В доступных для ознакомления литературных источниках изменения уровня восстановленного глутатиона на этапах хранения консервированной крови не освещены, так же как и зависимость таких изменений от энергетического статуса консервированной клетки, состояния пентозофосфатного шунта, в связи

ТАБЛИЦА 1
Состав гемоконсервантов

Компонент	Количество, г	
	ГПЦ	ЦФДА-1
Натрия цитрата дигидрат	20,0	26,3
Лимонной кислоты моногидрат		3,23
Глюкозы моногидрат	30,0	31,9
Натрия фосфат одноосновной		2,22
Аденин		0,275
Вода для инъекций	до 1000 мл	до 1000 мл

с чем нами была проведена работа по изучению данных показателей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали консервированную кровь группы 0(I) доноров-мужчин в возрасте 20-36 лет в контейнерах из поливинилхлорида с гемоконсервантами «ЦФДА-1» производства ZPSM «RAVIMED» (Польша, 160 образцов), и «Глюгицир» («ГГЦ») производства ОАО «Синтез» (Россия, 160 образцов), с 1 по 42 день хранения при температуре $6 \pm 2^\circ\text{C}$, с временными промежутками в 7 суток (табл. 1).

Выбор возраста, пола и группы крови доноров с наименьшим содержанием эритроцитарных антигенов осуществляли с целью максимальной стандартизации испытуемых образцов консервированных эритроцитов.

Разделение консервированной крови на клеточную массу и плазму проводили с использованием центрифуги РС-6 (Республика Кыргызстан) в соответствии с «Инструкцией по фракционированию донорской крови на ее компоненты (плазма, эритроциты, тромбоциты, лейкоциты) и их консервированию», утвержденной приказом МЗ Украины №164 от 05.07.1999 г., и центрифуги лабораторной T23D (Германия).

Для исследования внутриклеточных показателей эритроциты лизировали на ледяной бане добавлением к стандартизованной взвеси эритроцитов ($6,5 \pm 0,5 \cdot 10^{12}/\text{мл}$) дистиллированной воды в соотношении 1:10 [15].

Концентрацию фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина в плазме определяли методом нормальнофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием микроколоночного хроматографа «Милихром-А 02» («ЭкоНова», Россия), колонок с силикагелем «Silasorb 600» («Медикант», Россия). Контролем служил образец Phospholipid Mixture for HPLC from Soybean фирмы SUPELCO (США) P3817-1VL хлороформенный раствор. Использовали детектор спектрофотометрический, длина волны 208 и 300 нм. Управление хроматографом осуществляли от IBM PC под WINDOWS. Обработка хроматографической информации (программа «Мультихром») включала функции автоматической разметки пиков, калибровки, идентификации пиков и расчета концентраций с автоматической выдачей печатного отчета.

Концентрацию АТФ и 2,3-БФГ определяли колориметрическим методом И.Л. Виноградо-

вой, С.Ю. Багрянцева, Г.В. Дервиз [2], базирующемся на реакции взаимодействия фосфора с молибденовой кислотой. В качестве восстановителя применяли эйконоген [7]. Учет результатов производили с использованием колориметра фотоэлектрического КФК-2 при длине волны 660 нм.

Определение активности Г-6-ДФГ в плазме и эритроцитах консервированной крови, основанное на определении продуктов восстановления НАДФ, проводили спектрофотометрическим методом при длине волны 340 нм с использованием «Набора для определения глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы» («Sentinel», Италия).

Концентрацию восстановленного глутатиона определяли колориметрическим методом, основанным на способности кислоторастворимых тиоловых группировок при взаимодействии в 5,5'-дитио-бис(2-нитробензойной кислотой) образовывать окрашенное соединение — тио-2-нитробензойную кислоту, водный раствор которого имеет максимум светопоглощения при длине волны 412 нм [16]. Расчет содержания восстановленного глутатиона производили с помощью калибровочного графика, для построения которого использовали растворы коммерческого препарата восстановленного глутатиона (Германия) с концентрациями от 0,02 до 2 ммоль/л.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В 1 сутки уровень ВГ в крови, заготовленной на альтернативных гемоконсервантах, достоверных различий не имел. По мере «старения» консервированных эритроцитов концентрация ВГ снижалась (к 7 суткам наблюдения $p < 0,05$),

ТАБЛИЦА 2

Концентрация восстановленного глутатиона в консервированных эритроцитах, ммоль/л

Сутки с момента заготовки	Гемоконсервант	
	ГГЦ	ЦФДА-1
1	1,49±0,04	1,55±0,07
7	0,85±0,03* **	1,30±0,07*
14	0,83±0,03* **	1,24±0,03*
21	0,56±0,02*	0,64±0,03*
28	0,55±0,02*	0,58±0,02*
35	0,53±0,01*	0,56±0,01*
42	0,49±0,02*	0,52±0,01*

Примечания: * — $p < 0,05$ в сравнении с 1 сутками наблюдения; ** — $p < 0,05$ в сравнении с показателем в крови, стабилизированной «ЦФДА-1».

ТАБЛИЦА 3

Фосфолипиды в плазме консервированной крови на этапах хранения, мг/мл

Сутки хранения	Фосфатидилэтаноламин		Фосфатидилсерин	
	ГГЦ, М±m	ЦФДА-1, М±m	ГГЦ, М±m	ЦФДА-1, М±m
1	0,253±0,048	0,214±0,036	0,035±0,020	0,014±0,003
7	0,315±0,149	0,267±0,060	0,026±0,013	0,038±0,010*
14	0,321±0,065	0,254±0,035	0,077±0,027	0,040±0,010*
21	0,557±0,106*	0,367±0,061*	0,233±0,063*	0,126±0,027*
28	0,598±0,172*	0,418±0,076*	0,325±0,108*	0,188±0,037*
35	0,543±0,113*	0,484±0,059*	0,307±0,086*	0,296±0,041*
42	0,657±0,182*	0,641±0,144*	0,490±0,154*	0,349±0,115*

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с 1 сутками наблюдения.

причем в период с 7 по 14 сутки уровень ВГ в эритроцитах «ГГЦ»-крови был ниже, чем «ЦФДА-1»-крови (табл. 2).

Снижение уровня ВГ в консервированных эритроцитах было связано со следующими факторами. Во-первых, расходование ВГ на поддержание нативной структуры биологически значимых макромолекул (так называемый «дефицит потребления»). Чтобы показать значимость ВГ для сохранности фосфолипидного бислоя мембраны консервированного эритроцита, были изучены показатели элюирования основных структурных фосфолипидов (ФЛ) из мембраны эритроцитов в плазму, поэтапные изменения которых представлены в табл. 3.

Содержание в плазме фосфатидилэтаноламина (ФЭ), основного структурного ФЛ внутреннего листка мембраны эритроцита, в 1 день наблюдения не превышало референтных цифр (0-0,3 мг/мл) [11, 14]. В дальнейшем мы отметили прогрессирующее увеличение данного показателя, к 21 суткам достоверно превысившего исходное значение в плазме крови, консервированной как «ГГЦ», так и «ЦФДА-1». К концу срока наблюдения концентрация ФЭ в плазме превышала исходный уровень в «ГГЦ»-крови в 2,6 раза, в крови, заготовленной на (аденин+фосфат)-содержащем гемоконсерванте «ЦФДА-1» — в 3 раза.

Обнаружено, что уровень фосфатидилсерина (ФС), также ФЛ внутреннего монослоя мембраны эритроцитов, испытывал более значительные изменения. Если на 7 сутки наблюдения в плазме крови, консервированной «ГГЦ», он достоверно не отличался от исходного, то к 14 суткам уже превышал его в 2,2 раза, к 21 — в 6,7 раз ($p < 0,05$), к 28, 35, 42 — в 9,3; 8,8; 14,0 раз соответственно.

В плазме «ЦФДА-1»-крови достоверное повышение концентрации ФС (в 2,7 раза) выявили уже на 7 сутки. К концу исследования уровень ФС в плазме крови, консервированной «ЦФДА-1», превысил исходный показатель в 24,9 раза. Очевидно, по мере «старения» эритроцитов происходила транслокация ФЭ и ФС из внутреннего монослоя плазматической мембраны в наружный, что создало условия для их элюирования в плазму.

Значимость глутатиона как естественного антиоксиданта для сохранности структур консервированных эритроцитов показана в табл. 4.

Определены высокие коэффициенты корреляции в расходовании глутатиона для поддержания стабильности фосфолипидной составляющей бислоя мембраны.

Во-вторых, снижение энергетического метаболизма. Чтобы подтвердить данную гипотезу, изучили концентрацию аденозинтрифосфата (АТФ) и 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ)

ТАБЛИЦА 4

Матрица коррелятивной связи концентрации глутатиона и показателей дестабилизации эритроцитов в консервированной крови на этапах наблюдения

Пары корреляционной связи	Гемоконсервант					
	ГГЦ		ЦФДА-1		АГЦ	
	г	р	г	р	г	р
Глутатион-фосфатидилэтаноламин, элюировавший в плазму	-0,86	<0,05	-0,96	<0,01	-0,99	<0,01
Глутатион-фосфатидилсерин, элюировавший в плазму	-0,93	<0,01	-0,96	<0,01	-0,99	<0,01

ТАБЛИЦА 5
Динамика концентрации АТФ (мкмоль/мл) и 2,3-ДФГ (ммоль/л) эритроцитов в процессе хранения консервированной крови

Сутки хранения	Гемоконсервант			
	ГГЦ		ЦФДА-1	
	АТФ	2,3-ДФГ	АТФ	2,3-ДФГ
1	0,88±0,07	5,75±0,18	1,19±0,99	5,63±0,17
7	0,77±0,08* **	3,65±0,23* **	1,14±0,13*	5,37±0,19*
14	0,72±0,09* **	3,40±0,19* **	1,07±0,08*	4,63±0,21*
21	0,46±0,03* **	2,85±0,12* **	0,97±0,06*	4,18±0,28*
28	0,39±0,05* **	2,60±0,09* **	0,86±0,05*	3,60±0,18*
35	0,14±0,03* **	1,70±0,09* **	0,65±0,06*	2,68±0,20*
42	0,1±0,01* **	0,80±0,02* **	0,54±0,05*	1,90±0,19*

Примечания: * – $p < 0,05$ в сравнении с показателем 1 суток хранения; ** – $p < 0,05$ в сравнении с кровью, консервированной «ЦФДА-1».

в эритроцитах на этапах хранения консервированной крови. Выявлено поэтапное снижение уровня указанных макроэргических соединений, однако в эритроцитах крови, заготовленной на гемоконсерванте «ЦФДА-1», содержащем в рецептуре аденин и неорганический фосфат, — в меньшей степени (табл. 5).

Соответствие поэтапных изменений количества глутатиона в консервированных эритроцитах количеству АТФ и 2,3-ДФГ показано в табл. 6.

Высокие коэффициенты положительной корреляции уровня ВГ и концентрации макроэргических соединений свидетельствовали о снижении энергообразования, негативно сказывающемся на эффективности осуществления антиоксидантной защиты в консервированном эритроците.

В-третьих, повышенная продукция АФК при снижении активности ферментов восстановления глутатиона, в частности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. В ходе исследования установлено, что в 1 сутки после заготовки в эритроцитах донорской крови, консервированной взятыми для сравнения растворами, уровень активности Г-6-ФДГ достоверных различий не имеет (табл. 7).

Он вдвое ниже референтных пределов, установленных для эритроцитов человека (118-144 мЕ/10⁹ эр. при 37°С), что можно объяснить влиянием температуры, при которой проводилось определение данного показателя (+25°С), поскольку известно, что скорость ферментативных реакций при снижении температуры инкубации на 10°С уменьшается в 2 раза [18, 22, 37].

В последующем наблюдается повышение активности Г-6-ФДГ: в крови, консервированной «ГГЦ», — до 14 суток, в «ЦФДА-1»-крови — до 28 суток наблюдения. В период с 1 по 14 сутки в крови, консервированной «ГГЦ», этот показатель возрос относительно исходного в 1,5 раза, в крови, консервированной «ЦФДА-1», — в 1,14 раза. Разница, возможно, обусловлена тем, что рецептура «ГГЦ» содержит больше цитрат-иона чем «ЦФДА-1» (0,015 ммоль против 0,013 ммоль соответственно). Соли лимонной кислоты (в данном случае ингредиент гемоконсервантов), ингибируя фосфофруктокиназу и, следовательно, тормозя гликолиз, могут переключать катаболизм глюкозы на ПФШ, тем самым способствуя повышению активности Г-6-ФДГ [10, 12, 19, 26]. Последнее можно рассматривать и как способ усиления эритроцитами собственной НАДФН-ВГ-зависимой антиоксидантной защиты в дестабилизирующих условиях искусственной среды гемоконсерванта на этапах хранения гемотрансфузионной среды, поскольку известно, что при нарастании в эритроците явлений оксидативного стресса часть гликолитического потока ответвляется в ПФШ [9].

Начиная с 14 суток, в эритроцитах крови, консервированной «ГГЦ», отмечено прогрессирующее снижение уровня активности Г-6-ФДГ ($p < 0,05$), которое можно объяснить:

- а) инаktivацией фермента продуктами перекисного окисления липидов мембраны, которые модифицируют остатки лизина в активном центре Г-6-ФДГ;
- б) дестабилизирующим действием мембраноассоциированных и цитозольных эндопептидаз на фермент [28, 31, 32, 36].

В эритроцитах крови, консервированной «ЦФДА-1», на протяжении всего срока наблю-

ТАБЛИЦА 6
Матрица корреляционных связей между показателями концентрации глутатиона и показателями энергетического обмена в консервированных эритроцитах на этапах наблюдения

Пары корреляционной связи	Гемоконсервант					
	ГГЦ		ЦФДА-1		АГЦ	
	г	р	г	р	г	р
Глутатион – АТФ	0,99	<0,01	0,99	<0,01	0,99	<0,01
Глутатион – 2,3-ДФГ	0,99	<0,01	0,99	<0,01	0,99	<0,01

ТАБЛИЦА 7

**Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы
в эритроцитах консервированной крови
на этапах хранения (мЕ/10⁹ эритроцитов)**

Сутки хранения	Консервант	
	ГГЦ	ЦФДА-1
1	72,4±6,8	70,8±4,8
7	92,5±8,4	78,5±9,4
14	111,6±10,7*	80,8±9,4
21	97,6±9,7	81,3±7,0
28	88,6±4,6	86,3±5,3
35	57,5±4,7	72,9±21,3
42	40,6±4,9	60,6±10,5

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с показателем 1 суток хранения.

дения статистически достоверные изменения активности Г-6-ФДГ выявлены не были, что свидетельствует о стабильном метаболическом потенциале ПФШ консервированных эритроцитов. Не исключено, что некоторая тенденция к повышению показателя активности фермента к 28 суткам обусловлена активизацией ПФШ при уменьшении в эритроцитах интенсивности анаэробного гликолиза, так как существует возможность переключения потока метаболитов с пути Эмбдена-Мейергофа на пентозный цикл за счет общего субстрата последующих окислительных превращений (глюкозо-6-фосфат).

Снижение уровня активности Г-6-ФДГ на этапе 28-42 сутки, очевидно, обусловлено «возраст-зависимой» дестабилизацией данного энзима.

Установлено отсутствие коррелятивного соответствия концентрации глутатиона активности Г-6-ФДГ в эритроцитах («ГГЦ»-кровь: $r=0,54$; $p>0,05$; «ЦФДА-1»-кровь: $r=0,11$; $p>0,05$). Последнее можно объяснить нелинейностью изменений активности фермента на этапах хранения консервированных эритроцитов по причине оксидативной модификации его молекулы при «старении» крови (установлены прогрессирующее снижение концентрации глутатиона и параболический характер изменения активности Г-6-ФДГ). Таким образом, уровень каталитической активности Г-6-ФДГ может служить показателем жизнеспособности эритроцитов консервированной крови, а именно: состояния ПФШ и адекватности функционирования НАДФН-ВГ-зависимой антиоксидантной системы на протяжении установленного срока хранения гемотрансфузионной среды.

Суммируя полученные данные, можно утверждать, что на поздних сроках хранения донорской крови низкое содержание восста-

новленного глутатиона при одновременном снижении энергетического метаболизма и эффективности функционирования пентозофосфатного шунта («ГГЦ-кровь: 21-42 сутки; «ЦФДА-1»-кровь: 28-42 сутки) свидетельствует о неадекватности естественной антиоксидантной защиты консервированных эритроцитов.

ВЫВОДЫ

Повышение активности Г-6-ФДГ в процессе хранения консервированных эритроцитов можно считать показателем активизации пентозофосфатного шунта как компенсационного механизма антиоксидантной защиты.

Отсутствие достоверных изменений цитозольной Г-6-ФДГ в эритроцитах крови, заготовленной на (аденин+фосфат)-содержащем гемоконсерванте «ЦФДА-1», свидетельствует о более успешном, в сравнении с «Глюгициром», обеспечении метаболического потенциала пентозофосфатного шунта консервированных клеток.

Глутатион оказывает стабилизирующее действие на фосфолипидную составляющую мембраны консервированного эритроцита. Качество гемоконсервантов можно улучшить введением в их рецептуру веществ, позволяющих усилить антиоксидантную защиту клетки. Такими веществами могут быть глутатион восстановленный или аминокислоты, входящие в его состав: глутаминовая, цистеин, глицин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аграненко В.А. Консервирующие среды для сохранения цельной крови и эритроцитной массы в функционально-полноценном состоянии / I Всесоюз. съезд гематолог. и трансфузиолог. — Баку, 22-26 окт. 1979. — Москва, Авангард, 1979. — С. 448-449.
2. Виноградова И.Л., Багрянцева С.Ю., Дервиз Г.В. Метод одновременного определения 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах // Лаб. дело. — 1980. — №7. — С. 424-426.
3. Глушков С. И. Нарушения системы глутатиона и их роль в патогенезе острых интоксикаций ксенобиотиками с различными механизмами токсического действия. Автореф. дис. ... доктора мед. наук. — Санкт-Петербург, 2006. — 44 с.
4. Глушков С.И., Куценко С.А., Карпищенко А.И., Новикова Т.М. Состояние системы глутатиона и процессов перекисного окисления липидов в эритроцитах пациентов в клинике острых отравлений веществами седативно-гипнотического действия // Токсикологический вестник. — 2003. — №5. — С. 6-12.
5. Калугіна Л.В. Вміст глутатіону в еритроцитах жінок з анемією вагітних на тлі хронічного пієлонефри-

- ту // Український журнал гематології та трансфузіології. — 2006. — №2 (6). — С. 35-36.
6. Калугіна Л.В. Стан глутатіон-залежної ферментної системи еритроцитів у жінок з анемією вагітних на тлі хронічного пієлонефриту // Український журнал гематології та трансфузіології. — 2005. — №6 (5). — С. 34-36.
 7. Камышников В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я: Справочное пособие. — Москва: МЕД-пресс-информ, 2005. — 313 с.
 8. Коровина Н.А., Захарова И.Н., Обычная Е.Г. Применение антиоксидантов в педиатрической практике // Consilium-medicum (приложение). — 2003. — Т.5. — №9. www.consiliummedicum.com/media/consilium/03_09c/47.shtml.
 9. Кручинина М.В., Курилович С.А., Паруликова М.В. и соавт. ЗІЯМР-спектроскопия эритроцитов и фиброз печени: пилотное исследование // Бюллетень СО РАМН. — 2006. — №4 (122). — С. 108-115.
 10. Куртасова Л.М., Савченко А.А., Шмидт А.Р. Мониторинг течения аллергического воспаления у больных атопической бронхиальной астмой // Пульмонология. — 2003. — Т.13. — №5. — С. 47-52.
 11. Ленинджер А. Основы биохимии: в 3-х т. — М.: Мир, 1985. — 1056 с.
 12. Макух Є., Головацький І. Особливості впливу інсуліну, ацетату і цитрату натрію на окремі реакції пентозофосфатного шляху й обміну глутатіону в крові корів // Вісн. Львів. ун-ту. — 2002. — Вип.31. — С. 34-38.
 13. Малыш П.Н. Биохимические, структурно-функциональные и метаболические изменения консервированной крови человека в процессе хранения при позитивной температуре: Автореф. дис. ... доктора мед. наук. — Луганск, 2008. — 38 с.
 14. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. и соавт. Биохимия человека: в 2-х т. — М.: Мир, 1993. — 795 с.
 15. Медицинские лабораторные технологии: Справочник / Под ред. А.И.Карпищенко. — Санкт-Петербург: Интермедика, 1998. — Т.2. — 654 с.
 16. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. — М.: Наука, 1981. — 278 с.
 17. Никитин Е.В. Состояние процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), ферментативной антиоксидантной системы (ФАОС) и гемостаза у больных ОВГВ / Съезд врачей-инфекционистов. — Суздаль, 1992. — М., Киров, 1992. — Т.1. — С. 165-167.
 18. Старостина В.К. Ферменты в биохимическом анализе // Новости Вектор-Бест. — 1998. — №2 (8). — С. 14.
 19. Требухина Р. В., Островский Ю. М., Михальцевич П. Н. и соавт. Особенности и влияние оксигамина и цитрата на некоторые реакции пентозофосфатного цикла и гликолиза // Вопросы мед. химии. — 1977. — Т.23. — №2. — С. 266-269.
 20. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Источники образования свободных радикалов и их значение в биологических системах в условиях нормы // Современные наукоемкие технологии. — 2006. — №6. — С. 28-34.
 21. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах // Успехи современного естествознания. — 2006. — №7. — С. 29-36.
 22. Arden J.C., Edwards N., Hyde K. et al. A proposal for further standardization of red blood cell glucose 6-phosphate dehydrogenase determinations // Clin. Lab. Haematol. — 1988. — №10 (4). — P. 409-416.
 23. Baur G., Jung A., Wendel A. Activity of the glutathione redox system in human erythrocytes at various ages // Klin. Wochenschr. — 1982. — №60 (16). — P. 867-869.
 24. Beutler E. Glucose-6-phosphat dehydrogenase deficiency and red cell glutathione piroxidase // Blood. — 1977. — Vol. 49. — №3. — P. 467-469.
 25. Dumaswala U.J., Zhuo L., Jacobsen D.W. et al. Protein and lipid oxidation of banked human erythrocytes: role of glutathione // Free Radic. Biol. Med. — 1999. — №27 (9-10). — P. 1041-1049.
 26. Eggleston L.V., Krebs H.A. Regulation of the pentose phosphate cycle // Biochem. J. — 1974. — Vol. 138. — P. 425-435.
 27. Gaetani G.F., Salvidio E. Recent aspects on glucose-6-phosphate dehydrogenase // Carlsberg Res. Commun. — 1984. — Vol. 48. — №2. — P. 241-245.
 28. Harman D. Healthy aging for functional longevity: molecular and cellular interactions in senescence // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 2001. — №928. — P. 1-21.
 29. Jones D.P., Eklow L., Thor H. Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes // Arch. Biochem. Biophys. — 1981. — Vol. 210. — №2. — P. 506-515.
 30. Kumegava M., Hiramatsu M., Yamada T. et al. Effect of intermediate-sized molecular components in uremic sera on nerve tissues in vitro // Brain Research. — 1980. — Vol. 198. — P. 234-238.
 31. Prchal J.T., Gregg X.T. Red Cell Enzymes // Hematology. — 2005. — Vol. 1. — P. 19-23.
 32. Sanz N., Diez-Fernandez C., Alvarez A. et al. Age-dependent modifications in rat hepatocyte antioxidant defence systems // J. Hepatol. — 1997. — Vol. 27. — №3. — P. 525-534.
 33. Sies H., Gerstenecker C., Mencil H. et al. Oxidation in the NADP system and the release of G-S-S-G from hemoglobin-free perfused rat liver during peroxidatic oxidation of glutathione by hydroperoxides // FEBS Lett. — 1972. — Vol. 27. — №1. — P. 171-175.
 34. Suzuki T., Agar N.S., Suzuki M. The effect of experimental anaemia on red cell glutathione reductase // Comp. biochem. physiol. — 1984. — Vol. 79. — №3. — P. 473-478.
 35. Taraschi T.F., Ellingson J.S., Rubin E. Membrane structural alterations caused by chronic ethanol consumption: the molecular basis of membrane tolerance // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 1987. — Vol. 492. — P. 171-180.
 36. Tsu-Chung Chang, Wei-Yuan Chou, Gu-Gang Chang. Protein Oxidation and Turnover // J. Biomed. Sci. — 2000. — №7. — P. 357-363.
 37. Yuregir G.T., Aksoy K., Arpacı A. et al. Studies on red cell glucose-6-phosphate dehydrogenase: evaluation of reference values // Ann. Clin. Biochem. — 1994. — Vol. 31. — №1. — P. 50-55.

П.М.Малиш, О.В.Фролова, Т.В.Письменна.
Глутатіон і життєспроможність консервованого еритроцита. Луганськ, Україна.

Ключові слова: гемоконсервант, еритроцит, глутатіон, пентозофосфатний шунт.

Якість гемоконсервантів можна поліпшити додаванням до рецептури інгредієнтів, які дозволяють підсилити антиоксидантний захист клітини. Такими речовинами можуть бути глутатіон відновлений або амінокислоти, що входять у його склад: глутамінова, цистеїн, гліцин.

P.N.Malysh, E.V.Frolova, T.V.Pismennaya, V.Y.Gusakova.
Glutathione and stored erythrocyte viability. Lugansk, Ukraine.

Key words: haemoconserving agent, erythrocyte, glutathione, pentose-phosphate pathway.

The quality of haemoconserving agents is possible to make better by the adding to their reception ingredients, allowing an intensifying of the cell antioxidant protection. These substances may be reduced glutathione, or amino acids, formed its composition: glutamic acid, cysteine and glycine.

Надійшла до редакції 15.01.2009 р.

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2009
УДК 547.756: 548.73

Рентгеноструктурное исследование этилового эфира 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты

С.В.Колесник, В.В.Болотов, С.В.Шишкина

Национальный фармацевтический университет, Институт сквнтилляционных материалов НАН Украины
Харьков, Украина

Методом рентгеноструктурного анализа исследовано просторанственне строение этилового эфира 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты. Строение молекулы может быть представлено как суперпозиция трех резонансных структур.

Ключевые слова: 2-оксоиндолин, рентгеноструктурный анализ.

сической, антиоксидантной, ноотропной и церебропротекторной активностью [1, 3-5].

Целью настоящего исследования было установление определенных особенностей строения данного эфира методом рентгеноструктурного анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кристаллы этилового эфира 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты моноклинные,

ТАБЛИЦА 1

Длины связей (Å) в структуре этилового эфира 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты

Связь	l	Связь	l
N(1)-C(8)	1,345(2)	N(1)-C(1)	1,397(2)
O(1)-C(8)	1,253(2)	O(2)-C(9)	1,332(2)
O(3)-C(10)	1,196(3)	O(4)-C(10)	1,284(2)
O(4)-C(11)	1,465(2)	C(1)-C(2)	1,376(3)
C(1)-C(6)	1,401(3)	C(2)-C(3)	1,373(3)
C(3)-C(4)	1,359(3)	C(4)-C(5)	1,377(3)
C(5)-C(6)	1,394(3)	C(6)-C(7)	1,463(3)
C(7)-C(9)	1,364(3)	C(7)-C(8)	1,473(3)
C(9)-C(10)	1,492(3)	C(11)-C(12)	1,535(1)

ВВЕДЕНИЕ

Среди производных 2-оксоиндолина найдено большое количество соединений, которые проявляют высокую фармакологическую активность [6, 8-10, 12]. В то же время производные 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты остаются практически неизученными. Нами осуществлен однореакторный синтез [2] этилового эфира 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты, на основе которого получен ряд соединений, обладающих высокой антигипок-