

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

## **КИСЛОРОД И СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ**

Материалы Республиканской  
научно-практической конференции

Гродно  
ГрГМУ  
2014

УДК 612.014.464:005.745(06)  
ББК 28.707я431  
К44

Рекомендовано Редакционно-издательским советом УО «ГрГМУ» (протокол № 6 от 12 мая 2014 г.).

Рецензенты:

*Зинчук В.В.*, проф., проректор по научной работе УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

*Пырочкин В.М.*, проф., зав. каф. внутренних болезней № 1 УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

*Лелевич В.В.*, проф., зав. каф. биологической химии УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

*Максимович Н.Е.*, проф., зав. каф. патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

*Балбатун О.А.*, доц., зав. каф. нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет».

К44 **Кислород** и свободные радикалы : материалы Республиканской научно-практической конференции / под ред. В.В. Зинчука. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – 228 с.  
ISBN 978-985-558-388-3.

В сборнике статей представлены работы сотрудников научных и учебных учреждений Республики Беларусь и стран ближнего и дальнего зарубежья по проблемам экспериментальной и клинической медицины.

Представленные работы будут полезны широкому кругу научных сотрудников и работников практического здравоохранения.

УДК 612.014.464:005.745(06)  
ББК 28.707я431

ISBN 978-985-558-388-3

©УО «ГрГМУ», 2014

## СОДЕРЖАНИЕ

ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА, ДЕФОРМИРУЕМОСТИ И АГРЕГАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА С НАРУШЕНИЯМИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА <i>Буко И.В., Миронова Е.В., Мойсеёнок А.Г.</i> .....	10
ВЛИЯНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИГНАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НА ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ В НОРМЕ И ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВАХ <i>Булаева С.В.</i> .....	13
ПРОБЛЕМА ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА В ПРЕПОДАВАНИИ ФИЗИОЛОГИИ <i>Балбатун О.А.</i> .....	15
ВЛИЯНИЕ L-NAME НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ <i>Бородинский А.Н., Разводовский Ю.Е.</i> .....	18
НО-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ И ФОРМИРОВАНИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА У КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ <i>Висмонт Ф.И., Степанова Н.А.</i> .....	21
ОБ УЧАСТИИ МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМЕ АНТИПИРЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МОЧЕВИНЫ В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ <i>Висмонт А.Ф., Висмонт Ф.И.</i> .....	24
НО-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ УРОВНЯ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КРОВИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ <i>Висмонт Ф.И., Глебов А.Н.</i> .....	27
НО-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА И ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА НА ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ <i>Висмонт Ф.И., Глебов А.Н., Микулич А.Т.</i> .....	30
ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА, СТРАДАЮЩИХ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ <i>Ганчар Е.П., Кажина М.В.</i> .....	33
АКТИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА В СОЧЕТАНИИ	

С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА И МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ <i>Глуткина Н.В., Пырочкин В.М.</i> .....	36
НАРУШЕНИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ ПРИ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ КОЖИ У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ВОЗРАСТА <i>Глуткин А.В., Зинчук Вл.В., Бондарева П.В.</i> .....	39
КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ ПРИ ГИПОТЕРМИИ И ОТОГРЕВАНИИ <i>Глуткин С.В., Дорохина Л.В., Орехов С.Д., Зинчук В.В.</i> .....	42
ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ ДЕСИНХРОНОЗЕ <i>Гуляй И.Э., Алещик А.Ю., Зинчук В.В., Жук И.Т.</i> .....	44
НИТРИТ НАТРИЯ НЕ ВЛИЯЕТ НА ГЕНЕРАЦИЮ СУПЕРОКСИД АНИОНА ОБРАЗЦАМИ МИОКАРДА КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ <i>Гришин А.Ю., Проскурнина Е.В., Гаврилова С.А.</i> .....	47
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ НЕДОСТАТКА КИСЛОРОДА ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ <i>Гуменюк С.А., Бархина Т.Г., Гуцин М.Ю., Расулова А.М., Польшнер С.А., Голованова В.Е.</i> .....	49
ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У КРЫС С ИЗМЕНЕННЫМ ТИРЕОИДНЫМ СТАТУСОМ В ДИНАМИКЕ СТРЕСС-РЕАКЦИИ <i>Гусакова Е.А., Городецкая И.В.</i> .....	53
РОЛЬ ВОСПАЛЕНИЯ В ФОРМИРОВАНИИ ИЗМЕНЕНИЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА <i>Давыдова М.П.</i> .....	55
ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГАХ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С СИГАРЕТНЫМ ДЫМОМ <i>Девина Е.А., Таганович А.Д.</i> .....	58
АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА МИОКАРДА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ У ЖИВОТНЫХ С ИНТАКТНЫМ И ИЗМЕНЕННЫМ ТИРЕОИДНЫМ СТАТУСОМ ПРИ СТРЕССЕ <i>Евдокимова О.В., Городецкая И.В.</i> .....	61
АДАПТАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА В УСЛОВИЯХ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА <i>Жадько Д.Д., Гуляй И.Э., Зинчук В.В.</i> .....	64
ИЗМЕНЕНИЯ ВО ВРЕМЕНИ ПАРАМЕТРОВ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ И СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ	

МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ДИАБЕТЕ <i>Заводник И.Б., Лапина Е.А., Чещевик В.Т., Дремза И.К., Головач Н.Г.</i> .....	67
О РОЛИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В БИОСТИМУЛИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ <i>Залесская Г.А., Ласкина О.В., Митьковская Н.П.</i> .....	71
ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНАЯ СИСТЕМА РЕГУЛЯЦИЯ КИСЛОРОДСВЯЗУЮЩИХ СВОЙСТВ КРОВИ КАК ЧАСТЬ КРАТКОСРОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ <i>Зинчук В.В.</i> .....	76
ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В СЕРДЦЕ КРЫС В РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ ИНФАРКТА МИОКАРДА <i>Иванов Е.В., Давыдова М.П., Гаврилова С.А.</i> .....	77
ОБРАЗОВАНИЕ ТБК АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ПЕРЕХВАТЧИКОВ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ В УЗ ПОЛЕ <i>Игнатенко В.А., Кузнецов Б.К., Лысенкова А.В., Бебешко А.В., Козловский Д.А., Азаренок А.С.</i> .....	79
ДЕФИЦИТ ГЛУТАТИОНА ВЫЗЫВАЕТ УГНЕТЕНИЕ ФУНКЦИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ <i>Казакевич В.Б., Руткевич С.А.</i> .....	83
РЕДОКС-МОДУЛЯЦИЯ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИНИЦИИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ДОКСОРУБИЦИНОМ <i>Канунникова Н.П., Пеховская Т.А., Коваленчик И.В., Лукиенко Е.П., Семенович Д.С., Угляница К.Н., Мойсеенок А.Г.</i> .....	86
НАРУШЕНИЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ <i>Кидун К.А.</i> .....	89
ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПУРИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ КОРОНАРНОГО КРОВОТОКА У ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ ЛИНИИ TG $\alpha$ Q*44 <i>Козловский В.И., Зинчук В.В., Хлопицкий С.</i> .....	91
ИЗОБРЕТАТЕЛЬСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОТРУДНИКОВ ГРОДНЕНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА В ОБЛАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА <i>Королёв П.М.</i> .....	94
ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА В ПРОМЫВНОЙ ЖИДКОСТИ ИЗ ОЖОГОВОЙ РАНЫ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОМ СТРЕССЕ <i>Ковальчук-Болбатун Т.В.</i> .....	101
ТЕЛЕМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ CO <sub>2</sub> В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ	

В ПРОЦЕССЕ ДЫХАТЕЛЬНОГО ЦИКЛА <i>Кисляков Ю.Я., Кислякова Л.П., Зайцева А.Ю., Гуляев В.И.</i> .....	100
ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКАЯ ОБУЧАЕМАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕЛОВЕКА ПРИ УМЕРЕННЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ КОНДЕНСАТА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА <i>Кислякова Л.П., Кисляков Ю.Я., Зайцева А.Ю., Гуляев В.И.</i> .....	103
ЛИПОПРОТЕИД-ИНИЦИИРУЕМЫЕ РЕАКЦИИ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРИРОДНЫМИ ПОЛИФЕНОЛАМИ <i>Костюк В.А., Потапович А.И.</i> .....	105
МОДЕЛЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГКИХ IN VIVO <i>Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д.</i> .....	108
ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ КЛИНИКО-НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНТЕРВАЛЬНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИТЕРАПИИ <i>Кузнецов В.И., Белявский Н.Н., Беляева Л.Е., Солкин А.А.</i> .....	111
ОСОБЕННОСТИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ В I ТРИМЕСТРЕ <i>Кухарчик Ю.В., Гутикова Л.В.</i> .....	114
СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЕ СНИЖЕНИЕ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ ОБУСЛОВЛЕНО ГИПЕРПРОДУКЦИЕЙ NO, СИНТЕЗИРУЕМЫМ iNOS <i>Лазуко С.С.</i> .....	117
ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННАЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА В МАТРИЦЕ ЦИНК-ЗАМЕЩЕННОГО МИОГЛОБИНА <i>Лепешкевич С.В., Пархоц М.В., Шашевский А.С., Жарникова Е.С., Бритиков В.В., Усанов С.А., Джагаров Б.М.</i> .....	120
БИОФИЗИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ГИПОКСИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ <i>Лисуха Л.М., Березовский В.А., Степанова Е.И., Колпаков И.Е.</i> .....	124
СОПРЯЖЕННОЕ ОКИСЛЕНИЕ ТИАМИНА С ОКИСЛЕНИЕМ ПАРАЦЕТАМОЛА И ДРУГИХ МОНОФЕНОЛОВ В ПЕРОКСИДАЗНЫХ РЕАКЦИЯХ, КАТАЛИЗИРУЕМЫХ ЦИТОХРОМОМ С И МИОГЛОБИНОМ <i>Лабор С.А., Завадская В.М., Степура И.И.</i> .....	126
СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ЕЕ КОРРЕКЦИЯ <i>Лелевич В.В.</i> .....	129
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ NO-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТИВНОГО ВЛИЯНИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ	

НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ <i>Лепеев В.О.</i> .....	131
РОЛЬ ЭКЗОГЕННЫХ ОКСИДОВ АЗОТА В МОДУЛЯЦИИ ПРО- АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ В ОРГАНИЗМЕ МЫШЕЙ <i>Маковецкая Л.И., Ганжа Е.Б., Дружина Н.А., Михайленко В.М.</i> .....	134
ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ДЕТЕЙ С ПРЕДГИПЕРТЕНЗИЕЙ: ПУТИ КОРРЕКЦИИ <i>Максимович Н.А.</i> .....	137
НАПРАВЛЕННАЯ МОДУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ КИСЛОРОДА И ОКСИДОМ АЗОТА <i>Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Соловьева А.Г.</i> .....	140
СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ ЛОКАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БИОРАДИКАЛОВ <i>Мартусевич А.К., Иванникова Е.В., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Бояринов Г.А.</i> .....	143
ЭФФЕКТЫ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ТЕРАПИИ ЛЕРКАНИДИПИНОМ НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В СОЧЕТАНИИ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ <i>Матвейчик А.И., Ёриш И.Р., Романчук Э.В., Лучко В.С.</i> .....	146
ЛЬНЯНОЕ МАСЛО КАК ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТОР В УСЛОВИЯХ ОВАРИЭКТОМИИ И ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА <i>Милош Т.С., Максимович Н.Е.</i> .....	149
ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ, ПРООПЕРИРОВАННЫХ ПО ПОВОДУ КАРЦИНОМЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ <i>Митюкова Т.А., Леонова Т.А., Платонова Т.Ю., Юраго Т.М., Чередник О.М.</i> .....	152
ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ЛИЦ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С РАЗНЫМИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ КЛАССАМИ <i>Морголь А.С., Янковская Л.В.</i> .....	160
КЛЕТОЧНАЯ ГИПОКСИЯ ПРИ ОПУХОЛЕВОЙ БОЛЕЗНИ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ КОРРЕКЦИИ <i>Мосиенко В.С., Бурлака А.П.</i> .....	157
РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ПОЛИНЕЙРОПАТИИ С НЕЙРОПАТИЧЕСКИМ БОЛЕВЫМ СИНДРОМОМ <i>Нечипуренко Н.И., Пашковская И.Д., Василевская Л.А., Верес А.И.</i> .....	160

РАЗВИТИЕ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В КРОВИ <i>Овсянникова Т.Н., Дорош Е.Г., Забелина И.А., Коваленко И.А., Кравчун Н.А.</i> .....	163
РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ <i>Павловская М.А., Гутикова Л.В., Гуляй И.Э., Величко М.Г.</i> .....	166
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ <i>Петухова Н.Ф., Трошина М.В., Иванова Т.Г., Лютый Р.Ю., Цублова Е.Г., Яснецов Вик.В.</i> .....	169
КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ И НОЦИЦЕПТИВНАЯ НЕЙРОМЕДИАЦИЯ ПРИ КОМПРЕССИОННО-ИШЕМИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ С БОЛЕВЫМ СИНДРОМОМ <i>Пашиковская И.Д., Нечипуренко Н.И., Ходулев В.И.</i> .....	172
ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КУРСОВОЙ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ТЕРАПИИ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ КИСЛОРОДА <i>Перетягин П.В., Мартусевич А.К., Мартусевич А.А., Перетягин С.П.</i> .....	175
ЭФФЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СЕЛЕНОПИРАНА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА <i>Петушок Н.Э., Пеховская Т.А., Катковская И.Н., Шевалье А.А.</i> .....	178
ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ КОРРЕКЦИИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ПОЧКИ МИТОХОНДРИАЛЬНО- АДРЕСОВАННЫМ АНТИОКСИДАНТОМ SkQR1 <i>Семенович Д.С., Янкаускас С.С., Плотников Е.Ю.</i> .....	181
МОРФОЛОГИЯ ЭРИТРОЦИТОВ И УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У НОВОРОЖДЕННЫХ С СИНДРОМОМ ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ <i>Серебрякова Е.Н., Волосников Д.К.</i> .....	183
ОСТРЫЙ ПСИХОФИЗИЧЕСКИЙ СТРЕСС: РАЗВИТИЕ НАРУШЕНИЙ РИТМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ <i>Скуратова Н.А., Беляева Л.М., Грицук А.И.</i> .....	186
ВЛИЯНИЕ ГАЗООБРАЗНОГО И РАСТВОРЕННОГО ОЗОНА НА СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ КРОВИ IN VITRO <i>Соловьева А.Г., Мартусевич А.К., Перетягин С.П.</i> .....	189
КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ И АГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА <i>Степанова Ю.И., Нечипуренко Н.И., Алехнович Л.И.</i> .....	192

РОЛЬ АТФ В МОДИФИКАЦИИ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРКАПНИИ <i>Тихомирова И.А., Петроченко Е.П., Ослякова А.О.</i> .....	195
ИЗМЕНЕНИЕ НАПРЯЖЕНИЯ КИСЛОРОДА В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ПРИ РАЗВИТИИ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО ОЧАГА <i>Торшин В.И., Северин А.Е., Радыш И.В.</i> .....	198
ИЗМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТЬЮ <i>Угольник Д.В.</i> .....	201
ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ПРОТЕКТИВНОГО ВЛИЯНИЯ 1-МЕТИЛНИКОТИНАМИДА НА ПЕЧЕНЬ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ У КРЫС <i>Ходосвский М.Н., Гуляй И.Э., Зинчук Вл.В.</i> .....	203
АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗОТИАЗОЛА, ОБЛАДАЮЩИХ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ <i>Цублова Е.Г., Трошина М.В., Иванова Т.Н., Иванова Т.Г., Яснецов Вик.В.</i> .....	206
ОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ <i>Чубуков Ж.А., Угольник Т.С., Литвиненко А.Н.</i> .....	209
СЕГМЕНТАРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У КРЫС <i>Чумак А.Г., Руткевич С.А., Полюхович Г.С., Маньчик Е.Н., Люзина К.М.</i> .....	211
НАУЧЕНИЕ ПОВЫШАЕТ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ МОЛЛЮСКА <i>LUMNAEA STAGNALIS</i> <i>Эль Рахал А., Маслова Г.Т., Сидоров А.В.</i> .....	214
СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА РОЗАЦЕА <i>Ярмолик Е.С., Хворик Д.Ф., Гуляй И.Э.</i> .....	217
АКТИВНОСТЬ СИМПАТИЧЕСКИХ ЭФФЕРЕНТНЫХ ВОЛОКОН ПРИ ГИПОКСИЧЕСКОМ И МЕХАНИЧЕСКОМ РАЗДРАЖЕНИИ ПОЧЕЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ <i>Ясюченя, Р. Н., Чумак А. Г.</i> .....	220
OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE BLOOD OF WELL-TRAINED HORSES UNDER EXERCISE <i>Andriichuk A.V., Tkachenko H.M., Kurhaluk N.M., Tkachova I.V.</i> .....	223

# ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА, ДЕФОРМИРУЕМОСТИ И АГРЕГАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА С НАРУШЕНИЯМИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

<sup>1</sup>Буко И.В., <sup>1</sup>Миронова Е.В., <sup>2</sup>Мойсеёнок А.Г.

<sup>1</sup>ГУ РНПЦ «Кардиология», Минск;

<sup>2</sup>ГП «Институт биохимии биологически активных соединений  
НАН Беларуси», Гродно

Развитие новых представлений о роли эритроцитов (эритрона) в поддержании прооксидантно-антиоксидантного и редокс-баланса, стабилизации гемореологической ситуации в системе кровообращения [4] предполагает изучение взаимосвязи редокс-потенциала ( $E_h$ ) глутатиона, деформируемости (ДЭ), агрегационной способности (АСЭ) эритроцитов и кислородтранспортной функции при ишемической болезни сердца (ИБС) с нарушениями углеводного обмена.

Обследованы 42 пациента с предиабетом (группа 1), 19 пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2) (группа 2), 7 пациентов с предиабетом и ИБС (группа 3), 35 пациентов с СД2 и ИБС (группа 4) и 89 практически здоровых лиц (группа 5). Исследовали концентрацию общего глутатиона, глутатиона в восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) форме, величину соотношения 2GSH/GSSG и  $E_h$ , активность глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП) эритроцитов, АСЭ, показатели воспаления и ОС. ДЭ оценивали по индексу ригидности (ИРЭ). Параметры транспорта  $O_2$  определяли методом неинвазивной оксиметрии в условиях манжеточной пробы путем создания кратковременной ишемии сосудов плеча с использованием кислородного монитора TCM2. Анализировали следующие показатели:  $pO_2$ , кПа – парциальное напряжение  $O_2$  в ткани;  $V_1$ , кПа/сек – скорость утилизации  $O_2$  в ткани; LP, сек. – латентный период ишемической пробы;  $V_2$ , кПа/сек – скорость восстановления напряжения  $O_2$  после компрессии.

Выраженность окислительного стресса (ОС) была максимальной у пациентов на стадии предиабета с ИБС (тогда как при

СД2 или при его ассоциации с ИБС изменения показателей носили противоположный характер) или проявилась в меньшей степени (активность ГП и каталазы). У пациентов групп 1 и 4 наблюдали рост показателей активности системного воспаления с максимальным проявлением при ИБС, ассоциированной с СД2. Концентрация GSH и значение показателя  $E_h$  в эритроцитах пациентов группы 1 были повышены, а концентрация GSSG снижена (при СД2 оставалась в пределах нормы). Пациенты группы 4 характеризовались падением уровня GSH в 3,4 раза, соотношения 2GSH/GSSG в 5,8 раза в эритроцитах и величины  $E_h$  на 36,3 мВ в сторону окисленного состояния. В группе 3 изменения были менее выражены. У пациентов всех групп имело место снижение активности ГП, а в группах 3 и 4 – увеличение активности ГР эритроцитов.

Величины показателей ДЭ у обследованных пациентов существенно не различались, за исключением тенденции к увеличению при предиабете, что соответствовало изменению степени восстановленности  $E_h$ . Одновременно наблюдали рост АСЭ, равно как в других группах, что указывало на возможность неблагоприятных реологических последствий. Отмечена отрицательная корреляция между ДЭ и активностью ГП у пациентов с СД2 и между ДЭ и соотношением 2GSH/GSSG у пациентов с предиабетом.

У пациентов с СД2 и ИБС параметры парциального напряжения  $pO_2$  были снижены, величина LP была выше в 1,2 раза, а показатели, характеризующие состояние транспортной функции системы микроциркуляции  $V_1$  и  $V_2$ , ниже в 1,7 и 1,5 раза, соответственно, чем в группе 5. В группах 1–3 также наблюдали тенденцию уменьшения этих показателей. Отрицательная корреляционная зависимость между величиной ИРЭ и содержанием общего глутатиона, GSH и положительная с величиной  $E_h$  были выявлены только у пациентов группы 4. Кроме того, обнаружена отрицательная корреляция между активностью супероксиддисмутазы и показателями  $pO_2$  и  $V_1$ . Установлен ряд отрицательных корреляционных зависимостей между активностью ГП и параметрами транспорта кислорода, а у пациентов группы 2 с показателем ИРЭ.

Следовательно, у пациентов с предиабетом увеличение концентрации GSH и величины  $E_h$  эритроцитов отражали адаптационную реакцию редокс-систем в состоянии предпатологии и сопровождались ростом ДЭ. У пациентов с ИБС, ассоциированной с СД2, глубокие нарушения системы глутатиона и смещение величины  $E_h$  в окисленную сторону сопровождались нарушением ИРЭ и параметров транспорта кислорода. Степень изменения показателей ОС у пациентов группы 3 не соответствовала выявленным нарушениям ДЭ и транспорта  $O_2$ . Активность ГП эритроцитов отрицательно коррелировала с результатами исследования ИРЭ и транспорта кислорода, что особо проявилось у пациентов с СД2.

Соотношение между параметрами воспаления, прооксидантно-антиоксидантных систем плазмы и эритроцитов (в том числе системы глутатиона) недавно рассмотрено в исследовании на пациентах с атеросклерозом [1]. Определена существенная роль дисрегуляции тиол-дисульфидных реакций в плазме и эритроцитах при окислительном и нитрозильном стрессе, создающей угрозу для многочисленных редокс-чувствительных компонентов клетки [1, 2]. Результаты наших исследований убеждают в том, что система GSH находится в тесной взаимосвязи со структурно-функциональными свойствами эритроцитов, а их эффективный редокс-потенциал воздействует на процессы ДЭ и обратимой агрегации клеток [2, 3].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Медведева Е., Щукин Ю., Селезнев Е. Окислительный стресс и воспаление у больных атеросклерозом: [монография]. Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing. – 2013. – 65 с.
2. Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Ключев Д.А. и др. Характеристика мембран эритроцитов при хронической болезни почек и артериальной гипертензии // [http://www.rusnauka.com/26\\_NII\\_2011/Biologia/9\\_92008.doc.htm](http://www.rusnauka.com/26_NII_2011/Biologia/9_92008.doc.htm)
3. Муравлёва Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Колесникова Е.А. и др. Зарядовый баланс эритроцитов крови больных с хроническим пиелонефритом и на фоне артериальной гипертензии // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 10. – С. 126–130.
4. Minetti M., Agati L., Malorni M. The microenvironment can shift erythrocytes from a friendly to a harmful behavior: Pathogenetic implications for vascular diseases // *Cardiovascular Research*. – 2007. – Vol. 75. – P. 21–28.

# ВЛИЯНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИГНАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НА ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ В НОРМЕ И ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВАХ

*Булаева С.В.*

Ярославский государственный педагогический университет  
им. К.Д. Ушинского, Ярославль

**Введение.** В последние годы не угасает интерес ученых к исследованиям мембраны и внутриклеточных сигнальных путей эритроцитов. Считается, что красные клетки крови не только осуществляют доставку кислорода в тканевые микрорайоны, но и способны выступить в качестве сенсора гипоксии с последующим выделением регуляторных молекул [4]. При метаболических нарушениях вязкость цельной крови повышается [6]. Текучесть крови зависит от гемоконцентрации, вязкости плазмы, ригидности и агрегации эритроцитов [1, 3]. Эти показатели также повышаются при сахарном диабете 2 типа, имеет место дефект доставки кислорода к тканям, равно как и регуляторное выделение ими АТФ [2]. Было выяснено, что ингибирование фосфодиэстеразы (ФДЭ) приводит к восстановлению этой регуляторной функции эритроцитов [5]. К повышению цАМФ приводит и активация бета-2-адренорецептора. Влияние описанных регуляторных веществ на микрореологические свойства эритроцитов изучено недостаточно. Исследование изменений микрореологических свойств эритроцитов под влиянием регуляторных веществ каскада, приводящего к высвобождению АТФ, в норме и при метаболических нарушениях и было целью данного исследования.

**Материалы и методы.** Кровь для анализа с гепарином брали из локтевой вены. Сформировали 2 группы исследования: практически здоровые лица (n=30) и пациенты (n=35) с сахарным диабетом 2 типа (СД2). Эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием (10 мин., при 2750 об/мин), затем их трижды отмывали в изотоническом растворе. Суспензии эритроцитов (Hct=40%) инкубировали с препаратом в течение 15 мин. при 37<sup>0</sup>С. Регистрацию вязкости суспензии эритроцитов в изо-

тоническом растворе хлорида натрия с гематокритом 40% проводили на полуавтоматическом капиллярном вискозиметре. Для оценки деформируемости эритроцитов (ДЭ) определяли индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ) в проточной микрокамере. Агрегацию эритроцитов (АЭ) определяли на агрегометре Myrenne MA-1 и методом оптической микроскопии. Концентрацию АТФ в клетке измеряли люциферин-люциферазным методом. Препараты, которые использованы в исследовании, были получены от фирмы Sigma-Aldrich: метапротеренол 1  $\mu\text{M}$ , цилостазол 10  $\mu\text{M}$ , глюкагон 10  $\mu\text{M}$ , адреналин 1  $\mu\text{M}$ , инсулин 0,1  $\mu\text{M}$ .

**Результаты и обсуждение.** Метапротеренол, агонист бета-2 адренорецепторов, не изменял агрегацию и увеличивал деформируемость эритроцитов на 16% у лиц с сахарным диабетом, прирост на контроле составил 29% ( $p < 0,01$ ). Под влиянием ингибитора ФДЭЗ наблюдалось снижение вязкости суспензии эритроцитов на 2% в контрольной группе и отсутствие изменений в группе СД2. Агрегация эритроцитов под влиянием препарата снижалась как в контроле, на 7%, так и при диабете, на 5%. Инсулин приводил к снижению АТФ в эритроцитах диабетиков, на 34%, в контроле изменения составили 4%. На 23% ( $p < 0,05$ ) этот гормон снижал агрегацию у СД2, на 23% ( $p < 0,05$ ) снижал вязкость суспензии. У практически здоровых лиц изменения агрегации и деформируемости эритроцитов были однонаправленными, однако менее выраженными. Адреналин незначительно снижал вязкость суспензии эритроцитов в обеих группах. Агрегацию же повышал только на контроле, на 109% ( $p < 0,05$ ), а в группе СД, напротив, снижал на 10%. Еще один антагонист инсулина – глюкагон не приводил к изменениям деформируемости эритроцитов. Этот гормон повышал агрегацию на контроле на 50% и не приводил к изменениям при диабете. Наблюдалось снижение АТФ под влиянием адреналина и глюкагона в обеих группах. Снижение АТФ под влиянием антагонистов инсулина было более заметно при диабете.

#### **Выводы:**

1. Активация бета2-адренорецепторов способствует приросту деформируемости эритроцитов. Ингибирование ФДЭЗ приводило к снижению агрегации эритроцитов. Эффекты менее выражены при сахарном диабете 2 типа.

2. Инсулин приводит к снижению АТФ в эритроцитах, снижению их агрегации и ригидности, эффекты более выражены при диабете.

3. Влияние регуляторных веществ, таких как адреналин и глюкагон, в изменениях микрореологических свойств при диабете отличается от контроля, изменения содержания АТФ в клетках при патологии менее выражены.

Работа выполнена при поддержке гранта Минобрнауки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Brun J.F., Varlet-Marie E., Raynaud de Mauverger E., Mercier J. Both overall adiposity and abdominal adiposity increase blood viscosity by separate mechanisms // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2011. – Vol. 48, № 4. – P. 257-263.

2. Hanson M. S., Stephenson A. H., Bowles E. A., Sprague R. S. Insulin inhibits human erythrocyte cAMP accumulation and ATP release: role of PDE3 and PI3K // Exp. Biol. Med. – 2010. – Vol. 235, № 2. – P. 256-262.

3. Schmid-Schonbein H. Blood rheology in hemoconcentration // In. High Altitude Physiol. And Med. N.Y. Springer. – 1982. – P. 109–116.

4. Sprague R., Bowles E., Stumpf M., Ricketts G., Freidman A., Hou W.H., Stephenson A., Lonigro A. Rabbit erythrocytes possess adenylyl cyclase type II that is activated by the heterotrimeric G proteins Gs and Gi // Pharmacol. Rep. – 2005. – Vol. 57. – P. 222-228.

5. Sprague R.S., Bowles E.A., Achilleus D., Stephenson A.H., Ellis C.G., Ellsworth M.L. A selective phosphodiesterase 3 inhibitor rescues low PO<sub>2</sub>-induced ATP release from erythrocytes of humans with type 2 diabetes: implication for vascular control // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2011. – Vol. 301, № 6. – P. H2466-2472.

6. Vayá A., Hernández-Mijares A., Bonet E., Sendra R., Solá E., Pérez R., Corrella D., Laiz B. Association between hemorheological alterations and metabolic syndrome // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2011. – Vol. 49, № 1-4. – P. 493-503.

## ПРОБЛЕМА ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА В ПРЕПОДАВАНИИ ФИЗИОЛОГИИ

*Балбатун О.А.*

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

Гипоксия является патологическим состоянием, лежащим в основе, фактически, любого заболевания. Это обуславливает интерес к данной проблеме при преподавании физиологии и пред-

полагает глубокие знания у студентов медицинского вуза о механизмах поступления  $O_2$  в ткани.

В 1982 г. в ЦНИЛ Гродненского мединститута создана лаборатория по исследованию кислородтранспортной функции крови. Под руководством профессора Борисюка М.В. были разработаны теоретические положения системных механизмов регуляции сродства крови к кислороду [1, 2]. Научные исследования профессора Зинчука В.В. позволили существенно дополнить системный подход сведениями об интеграции элементов транспорта  $O_2$ , прооксидантно-антиоксидантного баланса и L-аргинин-NO системы при кислородном обеспечении тканей организма [3, 4]. Начиная с 1990 г., результаты проведенных исследований были включены в программу преподавания нормальной физиологии в нашем университете и в медицинских вузах Беларуси. Были изданы монографии, разработаны учебные, учебно-методические пособия по данной теме [5, 6]. Однако ряд вопросов системы транспорта кислорода (системная и регионарная кислородная емкость, прооксидантно-антиоксидантное равновесие, взаимодействие NO с гемоглобином и др.) явились сложными для усвоения студентами. Наряду с наглядными схемами и таблицами актуальной явилась разработка практической составляющей при освоении студентами системных механизмов транспорта кислорода.

В настоящее время на кафедре нормальной физиологии ГрГМУ выполняется комплекс лабораторных работ по физиологии дыхания. Газообмен в легких исследуется при помощи спирометрии (суховоздушный и водный спирометры), пневмотахометрии (ПТ-2), спирографии (Метатест-1) и на автоматическом многофункциональном спирометре МАС-1. Используются режимы МОД, ЖЕЛ, МВЛ и др. Транспорт газов оценивается на микрогазоанализаторе «Synthesis-15» с определением в венозной крови парциального напряжения  $O_2$ ,  $CO_2$  и расчетом содержания кислорода, степени оксигенации, кислородной емкости крови. Оценивается кислотно-основное состояние: pH, концентрация бикарбоната, общий  $CO_2$  плазмы, недостаток/избыток буферных оснований. Определяется параметр  $p_{50}$  (напряжение  $O_2$ , при котором гемоглобин насыщается кислородом на 50%) с последую-

щим анализом положения кривой диссоциации оксигемоглобина. Студенты имеют возможность сравнить параметры транспорта  $O_2$  с сердечно-сосудистым компонентом, по данным интегральной компьютерной реографии (систолический и минутный объемы кровообращения) и гемическим компонентом (общая концентрация гемоглобина, содержание метгемоглобина и карбоксигемоглобина). Лабораторные работы дополняются виртуальными физиологическими экспериментами программы InterNICHE.

Разработан элективный курс «Функциональная система транспорта кислорода: теоретические и прикладные аспекты». Факультативные занятия позволяют студентам 3-го курса углубленно изучить физиологические механизмы кислородтранспортной функции крови, кислородзависимый характер поддержания функций организма, проанализировать новые пути воздействия на кислородсвязывающие свойства крови.

Проблема транспорта  $O_2$  занимает важное место при обучении в магистратуре по специальности магистратуры 1-79 80 29 «Патофизиология, физиология». При освоении компонента: «Патофизиология, физиология кардио-респираторной системы» рассматриваются все этапы газообмена в организме с углубленным изучением кислородсвязывающих свойств крови. Сведения о функциональной системе транспорта  $O_2$  являются важной теоретической базой подготовки будущего медицинского специалиста высшей квалификации.

Перспективным направлением в преподавании физиологии дыхания является создание специализированных виртуальных и интерактивных компьютерных программ по данной проблеме. Существующие инструменты InterNICHE, Benjamin Camins и др., имея целый ряд достоинств, содержат крайне недостаточно сведений по некоторым вопросам транспорта  $O_2$ : внутриэритроцитарная регуляция кислородсвязывающих свойств крови, влияние газотрансмиттеров на положение кривой диссоциации оксигемоглобина и т.д.

Разработанный на основе проведенных научных исследований на кафедре нормальной физиологии ГрГМУ системный подход при преподавании проблемы транспорта  $O_2$  позволяет студентам получить фундаментальные знания по разным аспектам

нормо- и гипоксических состояний и является важным элементом подготовки будущего врача.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Борисюк М.В. Системный анализ механизмов регуляции сродства крови к кислороду. Внутриэритроцитарная регуляция сродства гемоглобина к кислороду // Успехи физиол. наук – 1983. – Т. 1 – С. 85-101.
2. Борисюк М.В. Системный анализ механизмов регуляции сродства крови к кислороду. Особенности регуляции кислородсвязывающих свойств крови в процессе ее циркуляции // Успехи физиол. наук – 1984. – Т. 15, № 2 – С. 3-26.
3. Зинчук, В.В., Борисюк М.В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма // Успехи физиологических наук. – 1999. – Т.30, № 3. – С. 38-48.
4. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Успехи физиологических наук. – 2003. – Т. 34, № 2. – С. 33-45.
5. Зинчук В.В., Максимович Н.А., Козловский В.И., Балбатун О.А., Пронько Т.П. Дисфункция эндотелия: фундаментальные и клинические аспекты / под ред. Зинчука В.В. – Гродно, 2006. – 183 с.
6. Нормальная физиология. Системные механизмы транспорта кислорода / Борисюк М. В., Зинчук В. В., Максимович Н. А.; под ред. Зинчука В.В. – Гродно, 2002. –148 с.

## **ВЛИЯНИЕ L-NAME НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

*Бородинский А.Н., Разводовский Ю.Е.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Хроническая алкогольная интоксикация сопровождается выраженными метаболическими нарушениями, которые становятся причиной поражения практически всех органов и систем, в первую очередь печени – главного органа-мишени токсических эффектов этанола и его метаболита ацетальдегида [4]. При этом ведущую роль в патогенезе этанол-индуцированного повреждения печени играет окислительный стресс [4]. В ряде исследований показана способность NO к те-

рминации цепных реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) индуцируемых, активными формами кислорода [3, 5]. NO реагирует с алкоксильным и липоперекисным радикалами – промежуточными продуктами реакций ПОЛ с образованием более стабильных алкил нитритов [5].

В этой связи целью настоящего исследования было изучение влияния ингибитора NO-синтазы L-NAME на некоторые показатели антиоксидантной системы и интенсивность перекисных процессов в печени крыс при субхронической алкогольной интоксикации (СХАИ).

**Материалы и методы.** В эксперименте использованы белые крысы-самцы линии Wistar массой 180-200 г, которые подвергались алкогольной интоксикации в течение 42 суток. Алкоголь вводили внутригастрально по 4 г/кг 2 раза в сутки. Животным второй опытной группы помимо этанола ежедневно в течение 42 дней внутривентриально вводили L-NAME в дозе 25 мг/кг.

Состояние антиоксидантной системы печени оценивали по уровню восстановленного глутатиона (GSH), уровню тиобарбитуровой кислоты (ТБК), активности супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГлПО), глутатионредуктазы (ГлРед), каталазы общепринятыми методами [1, 2].

**Результаты и их обсуждение.** СХАИ сопровождалась интенсификацией процессов ПОЛ (уровень ТБК-РП вырос в 1,5 раза, а уровень каталазы увеличился на 118% в сравнении с контролем). Активность ГГТП выросла более чем в три раза. Повышение активности каталазы (одного из основных пероксида утилизирующих ферментов) косвенно указывает на увеличение уровня пероксида водорода. При этом источником  $H_2O_2$  не является супероксиддисмутазная реакция, поскольку активность данного энзима не отличается от контрольных величин. Интенсификация процессов ПОЛ приводит к пероксидации мембранных липидов, что вызывает повышение проницаемости мембран, отмеченное в данном эксперименте (повышение активности ГГТП). Полученные данные можно рассматривать как доказательство того, что при СХАИ развивается состояние оксидативного стресса, обусловленного активацией свободнорадикальных процессов.

В группе животных, получавших, помимо алкоголя, ингибитор NO-синтазы L-NAME, признаки окислительного стресса не отмечены. Все исследуемые показатели антиоксидантной системы, а также активность ГГТП в плазме крови были на уровне контрольных величин. Кроме того, в группе животных, получавших L-NAME, на фоне СХАИ была существенно снижена концентрация Nox как в плазме крови, так и в печени (до 55 и 80%, соответственно).

Полученные данные дают основание полагать, что уровень NO может определять про/антиоксидантный статус клетки. Можно предположить два принципиальных механизма для объяснения полученных результатов: либо NO участвует в регуляции реакций наработки  $H_2O_2$  в клетке, либо оксид азота способен реагировать с пероксидом. Продуктом этого взаимодействия являются активные формы кислорода, которые могут запускать цепные реакции ПОЛ.

**Выводы.** Таким образом, СХАИ сопровождается интенсификацией процессов ПОЛ. Проявление токсичности пероксида, имеющее место при СХАИ, может быть следствием реакции пероксида с NO. Ингибирование NO-синтазы L-NAME препятствует развитию окислительного стресса. Следовательно, уровень NO при СХАИ может определять про/антиоксидантный статус клетки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
2. Чевари С.И., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах и метод определения ее в биологическом материале // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
3. Adams M.L. Alcohol Intoxication and Withdrawal: The Role of Nitric Oxide. // J. Alcohol. – 1998. – Vol. 16, № 2. – P. 153–158.
4. Lieber C.S. Role of oxidative stress and antioxidant therapy in alcoholic and nonalcoholic liver diseases. // Adv. Pharmacol. – 1997. – Vol. 38. – P. 601–628.
5. Uzun H. Potential effects of L-NAME on alcohol-induced oxidative stress // World J. Gastroenterol. – 2005. – Vol. 11, № 4. – P. 600–604.

# NO-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ И ФОРМИРОВАНИЯ ПРООКСИДАНТНО- АНТИОКСИДАНТНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА У КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

*Висмонт Ф.И., Степанова Н.А.*

Белорусский государственный медицинский университет,  
Минск

**Введение.** Многочисленные данные клинических и экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что монооксид азота (NO) выступает в качестве эффектора различных патологических процессов [2, 4]. Известно, что действие в организме животных гепатотропного яда  $CCl_4$  сопровождается увеличением образования NO в печени [3] и активацией в ней процессов свободнорадикального окисления [1]. В то же время данные о характере изменений детоксикационной функции печени, процессов ПОЛ в крови и печени у экспериментальных животных после интрагастрального введения им  $CCl_4$  в условиях депрессии синтеза NO в организме в литературе отсутствуют.

**Целью** исследования было выяснение значимости NO в процессах детоксикации и формирования прооксидантно-антиоксидантного состояния организма у крыс с острым токсическим поражением печени  $CCl_4$ .

**Методы исследования.** Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах самцах массой 160-220 г. Для выяснения роли NO использовались неселективный блокатор NO-синтазы  $N^G$ -нитро-L-аргинин (L-NNA, «Sigma», USA), который вводили крысам внутрибрюшинно на апирогенном физ. растворе в дозе 20 мг/кг. Острое токсическое поражение печени вызывали однократным интрагастральным введением животным гепатотропного яда  $CCl_4$ , разведенного в отношении 1:1 подсолнечным маслом. Масляный раствор  $CCl_4$  вводили крысам из расчета 5,0 мл/кг веса.

О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию фракции средних молекул (СМ) в плаз-

ме крови и степени её токсичности (СТК). ПНС (гексенал 100 мг/кг внутрибрюшинно) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку. Определение содержания в крови СМ проводили методом кислотного-этанольного осаждения, разработанным В.М. Моиным с соавт. (1989), СТК способом, предложенным О.А. Радьковой с соавт. (1985). Выраженность цитолиза в печени оценивали по активности в плазме крови аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ). Активность процессов ПОЛ в крови и печени оценивали по содержанию в них малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК), оснований Шиффа (ОШ), а состояние системы антиоксидантной защиты – по активности каталазы (КТ) и содержанию  $\alpha$ -токоферола ( $\alpha$ -ТФ).

Все полученные данные обработаны методами вариационной биологической статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты исследования и их обсуждение.** В опытах на крысах ( $n=7$ ) установлено, что через 24 часа после интрагастрального введения масляного раствора  $CCl_4$ , в условиях предварительного (за 30 минут до затравки) внутрибрюшинного введения блокатора NO-синтазы L-NNA, уровень основных продуктов ПОЛ в плазме крови и печени у крыс был ниже, чем у животных контрольной группы (физиологический раствор внутрибрюшинно и масляный раствор  $CCl_4$  интрагастрально). Так, содержание ДК, МДА и ОШ в плазме крови опытных крыс было ниже по сравнению с животными в контроле на 28,0% ( $p<0,05$ ), 48,2% ( $p<0,05$ ) и 41,8% ( $p<0,05$ ), а в печени на 21,5% ( $p<0,05$ ), 16,2% ( $p<0,05$ ) и 25,3% ( $p<0,05$ ), соответственно.

Содержание основных компонентов системы антиоксидантной защиты  $\alpha$ -ТФ и КТ в плазме крови опытных крыс было ниже по сравнению с животными в контроле на 34,1% ( $p<0,05$ ) и 48,0% ( $p<0,05$ ), а в печени на 21,2% ( $p<0,05$ ) и 20,0% ( $p<0,05$ ), соответственно.

Установлено, что действие  $CCl_4$  у животных, предварительно получивших L-NNA, сопровождалось менее выраженным изменением детоксикационной функции печени. Так, через 24 часа после введения  $CCl_4$ , в условиях депрессии NO-синтазы

L-NNA, содержание в плазме крови СМ было ниже на 22,3% ( $p < 0,05$ ,  $n = 8$ ), а степень её токсичности снижалась на 17,6% ( $p < 0,05$ ,  $n = 8$ ) по сравнению с соответствующим контролем (действие только  $CCl_4$ ). ПНС у крыс, получивших  $CCl_4$  в условиях действия L-NNA, через 24 часа после интрагастрального введения гепатотропного яда уменьшалась на 29,0% ( $p < 0,05$ ,  $n = 10$ ).

Выявлено, что введение  $CCl_4$  через 24 часа после инъекции у крыс, предварительно получивших внутрибрюшинно L-NNA, приводило к менее значительному повышению активности АлАТ и АсАТ в плазме крови – на 26,7%, ( $p < 0,05$ ) и 24,0% ( $p < 0,05$ ), (по сравнению с животными, которым ввели физиологический раствор внутрибрюшинно и раствор  $CCl_4$  интрагастрально), т.е. сопровождалось менее выраженным цитолизом.

**Выводы.** Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что активность образования NO имеет важное значение в регуляции процессов детоксикации и ПОЛ при действии в организме животных гепатотропного яда  $CCl_4$ . Действие в организме таких животных блокатора синтеза NO L-NNA оказывает защитное влияние: препятствует угнетению детоксикационной функции печени, чрезмерной активации ПОЛ в ней, развитию цитолиза гепатоцитов.

По-видимому, интенсивность образования NO, оказывая влияние на процессы свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты клеток печени, является одним из факторов регуляции функции гепатоцитов и их устойчивости к повреждающему действию четырёххлористого углерода.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Маеда Х., Акаике Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 1007-1019.
2. Тэйлор Б.С. Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905-923.
3. Коваленко О.А., Тарасова Н.И., Микоян В.Д., Ванин А.Ф.  $CCl_4$  как индуктор L-аргинин зависимого синтеза NO // БЭБ и М. – 1996. – № 4. – С. 414-416.
4. Li J., Billiar T.R. Nitric Oxide. IV. Determinations of nitric oxide protection and toxicity in liver // Am. J. Physiol. – 1999. – Vol. 276, № 5. – P.1069-1073.

# ОБ УЧАСТИИ МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМЕ АНТИПИРЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МОЧЕВИНЫ В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ

*Висмонт А.Ф., Висмонт Ф.И.*

Белорусский государственный медицинский университет,  
Минск

**Введение.** Ранее нами было показано, что введение в организм мочевины оказывает выраженный антипиретический эффект и что L-аргинин-NO система имеет важное значение в патогенезе эндотоксिनновой лихорадки [1, 2]. Однако значимость мочевины в процессах терморегуляции при лихорадочных состояниях, участие монооксида азота (NO) в реализации антипиретического эффекта мочевины остается невыясненным.

**Цель** исследования заключалась в выяснении возможной роли NO в механизме антипиретического действия мочевины при эндотоксिनновой лихорадке.

**Материалы и методы исследования.** Опыты выполнены на взрослых наркотизированных белых крысах массой 160-200 г и кроликах самцах массой 2,5-3 кг. Для создания экспериментальной модели эндотоксिनновой лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин *Escherichia coli* (Серотип 0111:B4, «Sigma», США), который вводили однократно кроликам в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг, крысам внутрибрюшинно в дозе 5 мкг/кг.

Для выяснения значимости L-аргинин-NO-системы в исследуемых процессах использовался неселективный ингибитор NO-синтазы – метиловый эфир N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина (L-NAME) фирмы ACROS ORGANIKS (США). Раствор L-NAME, приготовленный на апириногенном физиологическом растворе, вводили крысам внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг. L-аргинин моногидрохлорид (Carl Roth GmbH+Co.KG) вводили кроликам внутривенно в краевую вену уха в дозе 50 мг/кг. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню нитрат/нитритов [4]. Концентрацию мочевины в крови определяли фотометрически. Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли

методом обращено-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C<sub>8</sub> [3].

Ректальную температуру у крыс и кроликов измеряли электротермометром «MicroLife» (Швейцария). Полученные цифровые данные обработаны с помощью общепринятых методов вариационной статистики.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Внутривентральное введение крысам (n=12) ЛПС приводило к повышению температуры тела на 1,3°C и 1,2°C (p<0,001) через 120 и 180 мин. после инъекции эндотоксина и которая составляла 38,8±0,10 и 38,7±0,12°C. Температура тела у кроликов (n=9) через 30, 60 и 120 мин. после введения в кровотоки ЛПС возрастала на 0,6°C, 1,3°C и 1,6°C (p<0,001) и составляла, соответственно, 39,2±0,12; 39,9±0,10 и 40,2±0,11°C. При эндотоксической лихорадке (через 120 мин. после инъекции ЛПС) снижалось в плазме крови у крыс (n=7) содержание аргинина на 32,4% (p<0,02). Действие ЛПС у крыс (n=7), через 120 и 180 мин. после введения экзопирогена приводило к повышению уровня NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в плазме крови животных на 29,6% (p<0,05) и 60,7% (p<0,05) и составляло, соответственно, 7,0±0,40 и 9,8±1,30 мкмоль/л.

Как показали опыты, внутривентральное введение крысам и введение в кровотоки кроликам раствора мочевины (Carl Roth GmbH+Co.KG) в дозах 0,1, 0,3 и 1,0 г/кг не влияет на температуру тела и только лишь в дозе 3,0 г/кг приводит к значительному снижению температуры тела через 15 и 30 мин. после инъекции. В условиях гипотермии, вызванной внутривентральным введением мочевины (через 60 мин. после инъекции), в плазме крови крыс (n=7) имело место значительное снижение аминокислоты аргинина (на 95,5%, p<0,001). Содержание NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в этих условиях возрастало на 69,5% (p<0,01).

В опытах на кроликах показано, что введение в кровотоки мочевины (300 мг/кг) на высоте подъема температуры тела при эндотоксической лихорадке (через 60 и 90 мин. от момента инъекции ЛПС) приводит к значительному понижению температуры тела и ослаблению лихорадки. Так, через 15 и 30 мин. после введения мочевины ректальная температура на пике лихорадки

(60 мин.) снижалась по сравнению с контролем на  $0,9 \pm 0,08^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ) и  $0,8 \pm 0,10^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ).

Введение в краевую вену уха животным L-аргинина моногидрохлорида (50 мг/кг) в условиях действия в организме эндотоксина, через 60 мин. после инъекции ЛПС приводило к ослаблению лихорадки.

Выявлено, что в условиях предварительного введения в организм L-NAME действие ЛПС у крыс ( $n=7$ ) через 120 мин. после инъекции сопровождается менее значимым повышением температуры тела, а также снижением в плазме крови уровня  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  на 48,7% ( $p < 0,05$ ) и повышением концентрации мочевины 26,8% ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Таким образом, есть основания полагать, что в механизмах антипиретического действия мочевины в условиях эндотоксиновой лихорадки важное значение имеет повышение активности L-аргинин-NO системы и что утечка аргинина из цикла мочевины в цикл NO имеют важное значение в механизмах эндогенного антипиреза и развития компенсаторно-адаптивных перестроек организма при эндотоксиновой лихорадке.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Висмонт А.Ф., Лобанок Л.М. Об участии мочевины и аргиназы печени в процессах терморегуляции при эндотоксиновой лихорадке // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2010. – № 4. – С. 20-24.
2. Висмонт А.Ф. Об участии мочевины и аргиназы печени в формировании сосудистых терморегуляторных реакций при бактериальной эндотоксинеми // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: тр. VI Междунар. науч.-практ. конф., Витебск. 20-21 мая 2010 г. – Витебск: ВГМУ, 2010. – С. 135-139.
3. Дорошенко Е.М. Методические аспекты и трудности анализа свободных (физиологических) аминокислот и родственных соединений в биологических жидкостях и тканях / Аналитика РБ – 2010: тез. Респ. науч. конф. по аналит. химии с междунар. участием, Минск, 14–15 мая 2010 г. – Минск, 2010. – С. 126.
4. Moshage H., Kok B., Huizenga J.R., Jansen P.L. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, № 6. – P. 892-896.

# NO-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ УРОВНЯ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КРОВИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ

*Висмонт Ф.И., Глебов А.Н.*

Белорусский государственный медицинский университет,  
Минск

**Введение.** Известно, что от функционального состояния печени зависит активность процессов деградации йодсодержащих гормонов щитовидной железы [4], имеющих важное значение в терморегуляции [1]. Показано, что монооксид азота (NO) участвует в регуляции температуры тела [4] и функциональной активности клеток печени [2]. В то же время отсутствуют данные о значимости NO в формировании тиреоидного статуса и регуляции температуры тела при лихорадочных состояниях, вызываемых бактериальными эндотоксинами.

**Целью** исследования явилось выяснение роли NO в регуляции уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела при эндотоксиновой лихорадке.

**Методы исследования.** Опыты выполнены на 148 ненаркотизированных белых крысах обоего пола массой 160-220 г. Для создания общепринятой экспериментальной модели лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (лпс) – эндотоксин *e.coli* (серотип 0111: v4, sigma, США), который вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 5,0 мкг/кг. Гипертиреоз у крыс воспроизводили синтетическим гормоном трийодтиронином гидрохлорид (lyothyronine «berlin-chemie», Германия), который на 1% крахмальном растворе вводили животным интрагастрально ежедневно в течение 20 дней в дозе 30 мкг/кг. С целью выяснения роли NO в процессах формирования тиреоидного статуса и регуляции температуры тела в условиях действия бактериального эндотоксина использовали ингибиторы NO-синтазы L-NAME (<sup>n</sup>-нитро-L-аргинин) и L-NAME (метилловый эфир <sup>n</sup>-нитро-L-аргинина), которые вводили крысам внутрибрюшинно однократно в дозе 20 мг/кг и 25 мг/кг, соответственно. Ректальную температуру измеряли у крыс общепринятым методом с помощью электротер-

рмометра тпэм-1. Содержание в плазме крови тиреотропного гормона (тТГ) и йодсодержащих гормонов щитовидной железы (трийодтиронина –  $t_3$ , тироксина –  $t_4$ ) определяли радиоиммунным методом с помощью тест-наборов хоп ибох нан беларуси. Все полученные данные обработаны с помощью общепринятых методов вариационной статистики.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что действие в организме лпс приводит к повышению температуры тела животных и активности системы гипофиз – щитовидная железа. Введение крысам лпс приводило к медленному нарастанию температуры тела и слабовыраженной гипертермии. Ректальная температура у крыс повышалась на  $1,2^{\circ}\text{C}$  и  $1,1^{\circ}\text{C}$  ( $p < 0,001$ ,  $n=12$ ), соответственно, через 120 и 180 мин. после инъекции препарата. В условиях лихорадки через 120 и 180 мин. после внутрибрюшинного введения лпс в плазме крови крыс повышалась концентрация тТГ на 26,7% ( $p < 0,05$ ) и 38,5% ( $p < 0,05$ ), соответственно, по сравнению с контролем. Снижение уровня  $t_3$  (на 30,8%,  $p < 0,05$ ) и повышение концентрации  $t_4$  (на 24,3%,  $p < 0,05$ ) отмечалось только на 180 мин. эндотоксиновой лихорадки.

Установлено, что через 21 день после ежедневного интрагастрального введения  $T_3$  (30 мкг/кг) у животных повышалась температура тела на  $0,7^{\circ}\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=8$ ). Обнаружено, что введение крысам ( $n=8$ )  $T_3$  в условиях блокады в организме не приводит к повышению температуры тела. Развитие лихорадки у гипертиреоидных крыс ( $n=9$ ) характеризовалось более высокими значениями температуры тела.

Выявлено, что действие в организме L-NNA в дозе 20 мг/кг – дозе, не влияющей на температуру тела, через 120 мин. после инъекции препарата сопровождается снижением активности системы гипофиз – щитовидная железа. Через 120 мин. после внутрибрюшинного введения L-NNA в плазме крови крыс ( $n=8$ ) наблюдалось снижение концентрации ТТГ на 32,7%,  $T_3$  на 19,5% по отношению к контролю (введение физ. раствора). Содержание  $T_4$  в этих условиях достоверно не изменялось.

Показано, что лихорадочная реакция, вызываемая введением ЛПС, ослабляется предварительным введением в организм лабораторных животных как L-NNA (20 мг/кг), так и L-NAME

(25 мг/кг), ингибиторов NO-синтазы, существенно не влияющих в указанных дозах на температуру тела в норме. Так, если ректальная температура у крыс (n=12), получивших только ЛПС, повышалась на 1,2°C и 1,1°C через 120 и 180 мин. после инъекции, то у животных (n=12), которые получили ЛПС в условиях действия L-NAME повышение температуры было всего лишь на 0,8°C и 0,6°C.

Установлено, что предварительное введение в организм животных L-NAME препятствует активации системы гипофиз – щитовидная железа на действие эндотоксина. Обнаружено, что действие ЛПС через 120 мин. после инъекции, в условиях угнетения активности NO-синтазы, сопровождается у крыс (n=8) более выраженным снижением уровня T<sub>3</sub> (на 19%, p<0,05) и снижением, а не повышением, как при действии ЛПС, уровней ТТГ и T<sub>4</sub> в плазме крови на 26,4% (p<0,05) и 34,6% (p<0,05), соответственно, по сравнению с контролем (действие ЛПС).

**Выводы.** Таким образом, результаты проведенных исследований дают основание полагать, что NO, его продукция в организме как прямо, так и опосредовано, через активацию процессов дейодирования йодсодержащих гормонов щитовидной железы в печени, а, соответственно, регуляцию тиреоидного статуса организма, определяет направленность и выраженность изменения процессов теплообмена и температуры тела на действие бактериального эндотоксина.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Божко А.П., Городецкая И.В. Повышение устойчивости организма к тепловому стрессу тиреоидными гормонами // Весці НАН Беларусі. Сер. медыка-біял. навук, 1998. – № 2. – С. 80-83.
2. Тэйлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции // Биохимия, 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905-923.
3. Gerstberger R. Nitric oxide and body temperature control // News Physiol. Sci., 1999. – Vol. 14, № 2. – P. 30-36.
4. Kelly G.S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review // Altern. Med. Rev. – 2000. – № 4. – P. 306-333.

# NO-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА И ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА НА ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

*Висмонт Ф.И., Глебов А.Н., Микулич А.Т.*

Белорусский государственный медицинский университет,  
Минск

**Введение.** Известно, что печень играет важную роль в метаболизме тиреоидных гормонов [4], участвующих в регуляции температуры тела [3]. Показано, что монооксид азота (NO) имеет значение в регуляции функционального состояния печени [2], терморегуляции [5], в патогенезе эндотоксинемии [1, 2]. Однако роль NO в механизмах регуляции температуры тела и уровня тиреоидных гормонов при действии бактериального эндотоксина в условиях функциональной недостаточности печени не была предметом специального комплексного исследования.

**Целью** исследования было выяснение значимости NO в формировании тиреоидного статуса и терморегуляторных реакций организма на действие бактериального эндотоксина в условиях токсического поражения печени.

**Методы исследования.** Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах-самцах массой 160-220 г и кроликах самцах массой 2,5-3,5 кг. Для создания модели эндотоксиновой лихорадки применяли бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин *Escherichia coli* (Serotype 0111:B4, «Sigma», США), который вводили кроликам в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг, крысам внутрибрюшинно в дозе 5,0 мкг/кг. Острое токсическое поражение печени вызывали интрагастральным введением животным раствора четырёххлористого углерода (CCl<sub>4</sub>), приготовленного на подсолнечном масле в соотношении 1:1, из расчета 2,0 мл/кг. Определение активности АлАТ и АсАТ в плазме крови проводили колориметрически динитрофенилгидразиновым методом. Содержание в плазме крови тиреотропного гормона (ТТГ) и йодсодержащих гормонов щитовидной железы (трийодтиронина – Т<sub>3</sub>, тироксина – Т<sub>4</sub>) определяли

радиоиммунным методом тест-наборами ХОП ИБОХ НАН Беларуси. У крыс и кроликов ректальную температуру измеряли электротермометром ТПЭМ-1. Все данные представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего арифметического ( $\bar{x} \pm s_x$ ). Результаты считали статистически значимыми при значении  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что внутрибрюшинное введение крысам ( $n=12$ ) ЛПС ( $5,0$  мкг/кг) приводит к медленному нарастанию температуры тела и слабовыраженной гипертермии. Температура тела повышалась на  $1,3^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ) и  $1,2^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ) через 120 и 180 мин. после инъекции экзопирогена и составляла  $38,9 \pm 0,1^\circ\text{C}$  и  $38,8 \pm 0,12^\circ\text{C}$ . Введение в кровоток ЛПС ( $0,5$  мкг/кг) кроликам ( $n=9$ ) приводило к быстрому и значительному повышению у животных ректальной температуры. Температура тела возрастала на  $0,6^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ),  $1,3^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ) и  $1,6^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ) через 30, 60 и 120 мин. после введения эндотоксина. Действие ЛПС у крыс ( $n=10$ ) приводило через 120 и 180 мин. после введения экзопирогена к повышению уровня ТТГ в плазме крови на  $33,3\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $38,5\%$  ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем, соответственно. В этих условиях у крыс через 180 мин. от момента инъекции эндотоксина содержание  $T_3$  в крови снижалось на  $30,2\%$  ( $p < 0,05$ ), а концентрация  $T_4$  возрастала на  $24,3\%$  ( $p < 0,05$ ).

Установлено, что затравка крыс  $\text{CCl}_4$ , через 24 и 48 час. от момента введения гепатотропного яда приводила к снижению температуры тела на  $1,2 \pm 0,13^\circ\text{C}$  ( $n=12$ ) и  $1,5 \pm 0,13^\circ\text{C}$  ( $n=10$ ), соответственно. Интрагастральное введение крысам  $\text{CCl}_4$  приводило через 24 и 48 час. после затравки к снижению по сравнению с контролем (введение в желудок подсолнечного масла) в плазме крови у животных содержания ТТГ,  $T_3$  и  $T_4$  на  $28,6\%$  ( $p < 0,05$ ,  $n=10$ ) и  $43,0\%$  ( $p < 0,05$ ,  $n=9$ ),  $44,3\%$  ( $p < 0,05$ ,  $n=10$ ) и  $50,8\%$  ( $p < 0,05$ ,  $n=9$ ),  $62,7\%$  ( $p < 0,05$ ,  $n=10$ ) и  $39,6\%$  ( $p < 0,05$ ,  $n=9$ ). В опытах на крысах и кроликах обнаружено, что пиретическая реакция на ЛПС предупреждается предварительным интрагастральным введением животным (за 24 часа до инъекции ЛПС) раствора  $\text{CCl}_4$ . Действие ЛПС в этих условиях не только не вызывало повышения температуры тела, но и сопровождалось более

значительным снижением в плазме крови концентрации  $T_3$  и повышением, а не понижением, как у животных контрольной группы, в ней концентрации  $T_4$ .

Установлено, что предварительное введение в организм кроликам ингибитора синтеза NO  $N^G$ -нитро-L-аргинина (L-NNA, Sigma, США) в дозе 20 мг/кг не только ослабляет лихорадочную реакцию на действие ЛПС, но и препятствует активации системы гипофиз - щитовидная железа в этих условиях. Предварительное введение в организм L-NNA не только ослабляло лихорадочную реакцию на ЛПС, но и развитие гипотермии на интрагастральное введение  $CCl_4$  у крыс. Действие  $CCl_4$  в условиях предварительного внутрибрюшинного введения L-NNA через 24 часа после введения в желудок гепатотропного яда приводило к менее значительному по сравнению с контролем (действие  $CCl_4$ ) повышению активности АЛАТ и АсАТ в плазме крови на 26,7%, ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) и 24,0% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ). Действие  $CCl_4$  в условиях блокады синтеза NO в организме сопровождалось и менее значимым снижением уровней  $T_3$  (на 26,2%,  $p < 0,05$ ),  $T_4$  (на 44,7%  $p < 0,05$ ) и увеличением концентрации ТТГ (на 59%  $p < 0,05$ ) в плазме крови по сравнению с соответствующим контролем (действие  $CCl_4$ ).

**Выводы.** Таким образом, выявленные особенности изменения тиреоидного статуса и температуры тела у крыс и кроликов на действие бактериального эндотоксина в условиях острого токсического поражения печени  $CCl_4$  связаны с изменением активности процессов образования NO.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Висмонт Ф.И. Механизмы изменения температуры тела у крыс и кроликов в зависимости от состояния детоксикационной функции печени и выраженности эндотоксинемии / Функциональное состояние организма в норме и при патологии: Сб. науч. тр. под ред. В.С. Улащика, А.Г. Чумака. – Мн.: РИВШ. – 2008. – С. 80-84.
2. Тейлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функция // Биохимия. – 1998. – Т. 63, вып.7. – С. 905-923.
3. Clark W.G., Lipton J.M. Brain and pituitary peptides in thermoregulation // Pharmacol. Ther. – 1993. – Vol. 22. – P. 249-297.
4. Kelly G.S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review // Altern. Med. Rev. – 2000. – № 4. – P. 306-333.
5. Schmid H.A., Riedel W., Simon E. Role of nitric oxide in temperature regulation // Prog. Brain Res. – 1998. – Vol. 115. – P. 87-110.

# ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА, СТРАДАЮЩИХ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

*Ганчар Е.П., Кажина М.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Метаболический синдром (МС) характеризуется совокупностью нарушений системной, в том числе гормональной регуляции липидного, углеводного, белкового и других видов обмена веществ под действием внешних и внутренних факторов. Работ, посвященных исследованию свободно-радикального окисления при различных патологических состояниях, довольно много. Однако данных о развитии окислительного стресса при МС явно недостаточно. Роль продуктов перекисного окисления липидов в патогенезе осложнений МС остается невыясненной. Для акушеров-гинекологов исследования активности свободнорадикальных процессов актуальны с точки зрения выбора правильной патогенетической терапии патологии репродуктивной системы у пациенток, страдающих МС.

**Цель исследования.** Изучить состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АЗ) по уровню диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), каталазы, церулоплазмينا в плазме крови у женщин с МС репродуктивного возраста, с учетом наличия или отсутствия у них дисфункции репродуктивной системы.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 116 женщин репродуктивного возраста (от 18 до 44 лет). Основную группу составили 87 пациенток с МС. Критерии включения в основную группу: наличие МС согласно критериям International Diabetes Federation (2005). Группу контроля составили 29 практически здоровых женщин без МС. Пациентки основной группы были разделены на 2 подгруппы: 1 подгруппа – 57 женщин с МС с дисфункцией репродуктивной системы, 2 подгруппа – 30 женщин с МС с реализованной репродуктивной функцией на фоне МС и нормальным менструальным циклом.

Уровень ДК, МДА, каталазы и церулоплазмина определяли на спектрофотометре «Solar» PV1251С.

**Результаты и обсуждение.** Изучение показателей ПОЛ в плазме крови женщин с МС репродуктивного возраста показало, что уровень ДК и МДА достоверно выше, чем у пациенток контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Содержание в плазме крови первичного продукта ПОЛ – ДК статистически значимо выше в 1 подгруппе, чем во 2 подгруппе ( $p < 0,05$ ) (таблица 1). Увеличение накопления продуктов ПОЛ свидетельствует об усилении процессов деструкции липидов, разрушения цитоплазматических мембран, неферментативного окисления полиненасыщенных жирных кислот, истощением антиоксидантных механизмов.

Таблица 1 – Показатели ПОЛ в плазме крови женщин с МС, репродуктивного возраста

Показатель	Основная группа	1 подгруппа	2 подгруппа	Контрольная группа
	n=87	n=57	n=30	n=29
ДК, $\Delta D_{233}/\text{мл}$	2,09 [1,3-3,64]*	2,36 [1,64-4,32]*#	1,89 [0,78-2,6]**	0,84 [0,4-1,5]
МДА, мкмоль/л	2,32 [1,62-3,17]**	2,53 [1,69-3,52]**	2,075 [1,33-3,03]	1,55 [1,2-2,25]

Примечания:

1) \* –  $p < 0,001$  разность показателей достоверна при сравнении с контрольной группой;

2) \*\* –  $p < 0,01$  разность показателей достоверна при сравнении с контрольной группой;

3) # –  $p < 0,05$  разность показателей достоверна при сравнении 1 и 2 подгрупп.

При изучении показателей АОЗ у женщин репродуктивного возраста, страдающих МС, были выявлены статистически значимые различия по уровню каталазы ( $p < 0,001$ ) и церулоплазмина ( $p < 0,05$ ), что говорит об истощении антиоксидантной системы у женщин с МС (таблица 2). Достоверных различий этих показателей АОЗ в подгруппах не выявлено ( $p > 0,05$ ).

Полученные нами результаты подтвердили наличие изменений в системе ПОЛ—АОЗ у женщин репродуктивного возраста, страдающих МС. В нашем исследовании наблюдается снижение АОЗ, приводящей к накоплению продуктов ПОЛ, усилению их токсического действия на клеточные мембраны, что ведет к изме-

нению процессов нормального метаболизма клетки. Нарушение функционирования АОЗ у пациентов с МС может играть существенную роль в развитии его осложнений. Полученные результаты обосновывают патогенетически правильное включение антиоксидантов в схемы лечения патологии репродуктивной системы на фоне МС. Результаты могут быть актуальны и в вопросах профилактики МС среди населения и в вопросах профилактики осложнений беременности у женщин с МС.

Таблица 2 – Показатели АОЗ в плазме крови женщин с МС, репродуктивного возраста

Показатель	Основная группа	1 подгруппа	2 подгруппа	Контрольная группа
	n=87	n=57	n=30	n=29
Каталаза, ед. активности	25,08 [22,88-27,84]*	25,08 [22,67-27,84]*	24,9 [23,23-27,77]*	27,89 [26,78-29,44]
Церулоплазмин, мг/л	230 [191-312]***	225 [191-306]***	251,5 [191-313]	290 [225-362]

Примечания:

- 1) –  $p < 0,001$  разность показателей достоверна при сравнении с контрольной группой;
- 2) \*\* –  $p < 0,01$  разность показателей достоверна при сравнении с контрольной группой;
- 3) \*\*\* –  $p < 0,05$  разность показателей достоверна при сравнении с контрольной группой.

### **Выводы:**

1. У женщин репродуктивного возраста с МС наблюдается усиление интенсивности ПОЛ, повышена концентрация ДК, МДА по сравнению с женщинами, у которых нет МС. Причем у пациенток с МС с дисфункцией репродуктивной системы выявлена более выраженная интенсивность ПОЛ – повышена концентрация ДК.

2. У пациенток с МС репродуктивного возраста наблюдается снижение показателей АОЗ – снижение концентрации каталазы и церулоплазмина, что свидетельствует об истощении антиоксидантной системы организма.

# АКТИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА В СОЧЕТАНИИ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА И МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

*Глуткина Н.В., Пырочкин В.М.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

Окислительный стресс, основу которого составляет избыточная активация процессов перекисного окисления липидов, является важным патогенетическим фактором многих заболеваний [2]. Доказано, что классические факторы риска развития сосудистых заболеваний: дислипидемия, артериальная гипертензия, сахарный диабет (СД) – активируют свободнорадикальные процессы [4]. При эссенциальной гипертензии, атеросклерозе, инфаркте миокарда (ИМ) отмечается системная гиперпродукция супероксидного и гидроксильного радикалов, гидропероксида, монооксида азота, пероксинитрита и других активных форм кислорода [1]. В генезе метаболического синдрома (МС) важную роль играют механизмы формирования прооксидантно-антиоксидантного баланса организма. Ишемия миокарда и его последующая реперфузия сопровождается активацией свободнорадикальных процессов, а при истощении запаса антиоксидантов данные процессы приобретают неконтролируемый характер, что приводит к прогрессирующему повреждению кардиомиоцитов, их гибели, что влечет за собой снижение функциональных свойств сердца [3].

**Целью** данной работы являлась оценка активности свободнорадикальных процессов у пациентов с ИМ в сочетании с СД 2-го типа и МС.

В исследование были включены 111 лиц, 15 соматически здоровых лиц в возрасте 54,0 (53,0; 57,0) лет, 19 пациентов, средний возраст – 60,0 (53,0; 65,0) лет) с ИБС: стабильной стенокардией напряжения ФК, 25 пациентов, средний возраст 57,0 (53,0; 64,0) лет, перенесших Q-ИМ, 27 пациентов, средний возраст 58,0 (53,0; 63,0) лет, перенесших Q-ИМ в сочетании с СД 2-го типа, 25 пациентов, средний возраст 58,0 (50,0; 61,0) лет, перенесших Q-ИМ в сочетании с МС.

Активность свободнорадикальных процессов оценивалась по содержанию первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, уровень антиоксидантной защиты по содержанию  $\alpha$ -токоферола и активности каталазы.

У пациентов с ИМ в сочетании с СД 2-го типа в плазме к концу 60-х суток на фоне проводимой терапии происходит снижение диеновых конъюгатов до 1,18 (0,96; 1,32)  $\Delta D_{233}/\text{мл}$  ( $p < 0,0003$ ), малонового диальдегида – до 2,20 (1,97; 2,47)  $\text{мкмоль/л}$  ( $p < 0,001$ ). В эритроцитарной массе динамика изменений уровня диеновых конъюгатов и малонового диальдегида была аналогичной, снижалась на 18,6% ( $p = 0,0006$ ) и 22,6% ( $p = 0,002$ ), соответственно. У данных пациентов наблюдается снижение активности свободнорадикальных процессов, однако не отмечается повышения активности каталазы в эритроцитарной массе. Ее значение составило 21,38 (20,18; 23,64) и 21,84 (20,58; 23,74)  $\text{ммоль H}_2\text{O}_2/\text{мин/г Hb}$  на 25-е сутки и 60-е сутки, соответственно. Концентрация  $\alpha$ -токоферола возросла с 13,05 (19,02; 15,79) на 25-е сутки до 14,66 (12,87; 15,78)  $\text{мкмоль/л}$  ( $p = 0,04$ ) к концу 60-х суток. Как видно из проведенных нами исследований, при ИМ в сочетании с СД 2-го типа на 25-е сутки наблюдается развитие окислительного стресса и не столь существенное уменьшение его проявлений на 60-е сутки.

У обследуемых пациентов с ИМ в сочетании с МС к концу 60-х суток происходит снижение только в эритроцитарной массе диеновых конъюгатов (14,44 (12,76; 14,84)  $\Delta D_{233}/\text{мл}$  ( $p < 0,005$ )) и малонового диальдегида (12,62 (11,84; 12,99)  $\text{мкмоль/л}$  ( $p < 0,001$ )), соответственно. Отмечается также уменьшение степени активности каталазы в эритроцитарной массе (22,4 (21,46; 22,8),  $p < 0,05$ ) в сравнении с аналогичным показателем у здоровых (26,26 (22,68; 28,48)  $\text{ммоль H}_2\text{O}_2/\text{мин/г Hb}$ ), но по отношению к 25-м суткам ее активность существенно не менялась. Кроме того, не наблюдалось достоверного изменения концентрации  $\alpha$ -токоферола в этот период.

Следует отметить, что при выделении подгрупп среди пациентов с МС по критерию наличия СД 2-го типа выявлено некоторое различие по данным показателям, свидетельствующее о

том, что в подгруппе с СД 2-го типа после проводимой терапии не отмечается значимого уменьшения проявлений окислительного стресса, а в другой подгруппе без СД 2-го типа после выполненного комплекса лечебных мероприятий наблюдается снижение степени прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса. У исследуемых пациентов без СД 2-го типа к концу 60-х суток происходит снижение диеновых конъюгатов в плазме и эритроцитарной массе с 1,19 (1,11; 1,39) до 1,14 (0,99; 1,6)  $\Delta D_{233}/\text{мл}$  ( $p < 0,05$ ) и с 14,32 (12,88; 14,78) до 11,96 (10,6; 13,6)  $\Delta D_{233}/\text{мл}$  ( $p < 0,03$ ), соответственно. Значения малонового диальдегида уменьшались в плазме и эритроцитарной массе на 24,4% ( $p < 0,01$ ) и 13,7% ( $p < 0,02$ ), соответственно.

**Выводы.** Как видно из проведенных нами исследований, при ИМ в сочетании с СД 2-го типа на 25-е сутки наблюдается развитие окислительного стресса и не столь существенное уменьшение его проявлений на 60-е сутки. У пациентов с ИМ в сочетании с МС в исследуемом постинфарктном периоде (на 60-е сутки) наблюдается снижение содержания диеновых конъюгатов, малонового диальдегида только в эритроцитарной массе, но проявление окислительного стресса остается достаточно выраженным, особенно в подгруппе пациентов с МС с наличием СД 2-го типа, а в подгруппе пациентов с МС без СД 2-го типа прооксидантно-антиоксидантный дисбаланс отмечался в меньшей степени.

Данная работа была выполнена при финансовой поддержке БФФИ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьева Е.Н., Воробьев Р.И. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе болезней системы кровообращения // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – Т. 118, № 4. – С. 24-30.
2. Горожанская Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях // Клиническая диагностика. – 2010. – № 6. – С. 28-44.
3. Пристром А.М., Бенхамед М. Оксидативный стресс и сердечно-сосудистые заболевания // Лечебное дело. – 2012. – № 2. – С. 19-2.
4. Armbruster R.A., Lim M.J. Modern cardiac rehabilitation: Preeive integrating the best measures to reduce a second cardiac event // Mo Med. – 2013. – Vol. 110, № 2. – P. 154-158.

# НАРУШЕНИЯ ПРООКСИДАНТНО-АнтиОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ ПРИ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ КОЖИ У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ВОЗРАСТА

*Глуткин А.В., Зинчук Вл. В., Бондарева П.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Термический ожог кожи приводит к нарушению прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме, что создает условия для возникновения окислительного стресса [1]. Формирование данного стресса при термической травме рассматривается как последовательные звенья патологической цепи: расстройства кровообращения и микроциркуляции, кислородное голодание, эндогенная интоксикация, микробная нагрузка, гиперпродукция активных форм кислорода и активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и недостаточность антиоксидантной системы (АОС) [2].

**Цель.** Оценить изменения прооксидантно-антиоксидантного баланса у детей младшего возраста после получения термического ожога кожи.

**Методы исследования.** Обследовано 36 детей, из них 21 пациент в возрасте от 8 до 24 месяцев с площадью ожогов от 8 до 25% (1-3 степени по МКБ 10), с индексом тяжести поражения (ИТП) от 8 до 30 единиц тяжести, проходивших лечение в Детской областной клинической больнице г. Гродно в 2010-2013 гг. Во всех случаях ожог кожи был получен вследствие действия горячей жидкости. Все пациенты были госпитализированы в отделение реанимации и интенсивной терапии, где проводилась экстренная коррекция волевических, гемодинамических нарушений согласно разработанному протоколу МЗ Беларуси (2009). Все пациенты были разделены на 2 клинические группы: 1-я группа (n=15): условно здоровые; 2-я группа (n=21) – пациенты, которым проводилось лечение согласно протоколу. Пациенты между группами были сопоставимы по полу и возрасту. Через 12 часов и на 3-и, 7-е сутки от момента получения

травмы у пациентов проводили забор венозной крови. Все этапы исследования проводились с разрешения комиссии по биомедицинской этике УО «Гродненский государственный медицинский университет».

В плазме и эритроцитарной массе определяли показатели процессов ПОЛ и состояния антиоксидантной защиты (АОЗ). Уровень диеновых конъюгатов (ДК) измеряли на спектрофотометре «СФ-46» по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232-234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) оценивали спектрофотометрически по насыщенности окраски триметинового комплекса розового цвета при длине волны 540 нм. Активность каталазы определяли по способности перекиси водорода образовывать с молибденово-кислым аммонием (4-водный) стойко окрашенный комплекс при длине волны 410 нм на спектрофотометре Solar PV 1251С. Определение уровня церулоплазмينا осуществляли по методу Равина, который базируется на окислении р-фенилендиамина при участии церулоплазмينا. Полученные данные статистически обрабатывались с помощью программы Statistica 6.0 (Statsoft Inc, US). Критический уровень статистической значимости принимали за  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В исследуемой группе по отношению к группе условно здоровых пациентов было выявлено наибольшее увеличение в плазме и эритроцитарной массе уровня ДК и МДА через 12 часов от момента получения ожога (ДК<sub>пл</sub> на 160,0% ( $p < 0,01$ ), МДА<sub>пл</sub> на 117,7% ( $p < 0,01$ ), ДК<sub>эр</sub> на 75% ( $p < 0,01$ ), МДА<sub>эр</sub> на 205,8% ( $p < 0,01$ )). На 3-и сутки в группе стандартного лечения снижается интенсивность процессов ПОЛ (ДК<sub>пл</sub> на 88,6% ( $p < 0,01$ ), МДА<sub>пл</sub> на 107,1% ( $p < 0,01$ ), ДК<sub>эр</sub> на 46,7% ( $p < 0,01$ ), МДА<sub>эр</sub> на 100,2% ( $p < 0,01$ )) и 7-е сутки (ДК<sub>пл</sub> на 38,6% ( $p < 0,01$ ), МДА<sub>пл</sub> на 74,3% ( $p < 0,01$ ), ДК<sub>эр</sub> на 27,0% ( $p < 0,01$ ), МДА<sub>эр</sub> на 64,4% ( $p < 0,01$ )).

Через 12 часов от возникновения ожога происходит снижение степени АОЗ, а затем постепенное её усиление. Активность каталазы снижается через 12 часов с 24,07 (22,17; 25,87) до 13,82

(10,88; 15,58), ( $p < 0,0001$ ) и 14,17 (13,60; 14,39), ( $p < 0,0001$ ) ммоль  $H_2O_2$ /мин/г Нв. На 3-и и 7-е сутки её значения составили в группе стандартной терапии 18,0 (16,30; 19,40) ( $p < 0,01$ ) и 20,16 (17,38; 22,10) ( $p < 0,01$ ) ммоль  $H_2O_2$ /мин/г Нв, соответственно. При этом состоянии отмечалось снижение содержания церулоплазмина, наиболее значимое через 12 часов, а затем некоторое повышение, не достигающее уровня у условно здоровых детей (248,0 (222,0; 279,0) мкмоль/л ( $p < 0,05$ )).

В развитии системных метаболических нарушений при ожогах большую роль играет активация процессов свободнорадикального окисления липидов на фоне недостаточности ферментного и неферментного звеньев АОС крови [2]. Так, у пациентов в возрасте от 5 месяцев до 14 лет с площадью поражения более 10% от общей площади тела установлено существенное повышение продуктов ПОЛ в эритроцитах, а также значительное снижение общей АОЗ, что влечёт развитие оксидативного стресса [3].

Таким образом, при термических ожогах у детей младшего возраста развиваются не только изменения со стороны ожоговой раны, но и системные нарушения функционирования организма, в частности, прооксидантно-антиоксидантного равновесия, что ведёт к развитию окислительного стресса.

Данная работа была выполнена при финансовой поддержке БФФИ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Глуткин А.В. Кислородтранспортная функция крови и свободно-радикальные процессы при экспериментальном моделировании термического ожога у крысят // *Новости хирургии*. – 2013. – Т. 21, № 4. – С. 16-24.
2. Полутова Н.В., Чеснокова Н.П., Островский Н.В. и др. О патогенетической взаимосвязи нарушений метаболического статуса, клеточного состава и реологических свойств крови при поверхностной термической травме, их диагностическое и прогностическое значение // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2011. – Т. 7, № 4. – С. 795-800.
3. Zembroń-Łacny J., Puchała A., Szyszka J. et al. Oxidative stress in burnt children // *Advances in Medical Sciences*. – 2006. – Vol. 51. – P. 316-320.

## КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ ПРИ ГИПОТЕРМИИ И ОТОГРЕВАНИИ

*Глуткин С.В., Дорохина Л.В., Орехов С.Д., Зинчук В.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Одним из центральных вопросов патогенеза гипотермии и постгипотермического состояния остается кислородный обмен теплокровного организма. До настоящего времени нет единого мнения о значимости и очередности действия факторов, приводящих к изменению кислородтранспортной функции крови на разных этапах гипотермии и последующего отогревания. В условиях изменения температуры тела протекание физиологических процессов не всегда подчиняется закону Вант-Гоффа-Аррениуса. Возникающая гипоксия определяется сложной динамикой, вовлеченностью широкого спектра функционально-метаболических систем, множественностью лимитирующих этот процесс факторов, один из которых – изменение сродства гемоглобина к кислороду (СГК) [3].

**Цель исследования** – изучить кислородсвязывающие свойства крови при введении модуляторов сродства гемоглобина к кислороду.

**Материалы и методы.** В эксперименте были использованы белые крысы-самцы массой 180-200 г, которые подвергались охлаждению и последующему отогреванию. Животным вводили модификаторы L-аргинин-NO системы (однократно нитропруссид натрия (40 мкг/кг/мин, в течение 10 минут, с помощью автоматического дозатора «Lineomat», L-NAME (30 мг/кг), L-аргинин (300 мг/кг)), мелатонин (однократно 0,1, 1, 10 мг/кг; и на протяжении четырёх суток 1 мг/г), эритропоэтин (в течение 10 дней в дозе 100 ЕД/кг ежедневно однократно). Для повышения СГК использовали цианат натрия (0,5% водный раствор в пищевой рацион 8 недель), а для уменьшения СГК – йодобензоат натрия (900 мг/кг, 3 недели). СГК оценивали по изменению  $p50_{\text{станд}}$  (при значениях  $pH=7,4$ ,  $pCO_2=40$  мм рт. ст. и температуры =  $37^\circ C$ ) и  $p50_{\text{реал}}$  (при реальных значениях  $pH$ ,  $pCO_2$  и температуры).

**Результаты и их обсуждение.** В проведенных нами исследованиях выявлено, что в ходе развития глубокой гипотермии на 90-й минуте охлаждения наблюдалось снижение ректальной температуры у животных более чем на 10°C. При этом происходило закономерное изменение показателей кислородтранспортной функции крови, выражающееся в достоверном снижении  $pO_2$  на 22,6% ( $p < 0,001$ ), а с учетом реальной температуры крови крыс,  $pO_2$  снижался на 71,6%, развивались гиперкапния и метаболический ацидоз. Холодовое воздействие сопровождалось значительным повышением СГК ( $p50_{\text{реал.}}$  уменьшается более чем на 10 мм рт. ст.). В условиях модуляции L-аргинин-NO системы степень снижения ректальной температуры была наиболее выражена при ингибировании NO-синтазы и менее – при инфузии L-аргинина. У получавших L-аргинин – исходный субстрат синтеза NO, сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево был наименьшим, что в большей степени способствовало компенсированию недостатка кислорода [1]. Введение мелатонина обуславливает смещение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH,  $pCO_2$  и температуры вправо, что способствует повышению потока кислорода к тканям, уменьшает проявления кислородного дефицита. Введение мелатонина благоприятствует более медленному снижению ректальной температуры крыс в период холодового воздействия, улучшению восстановления ее к исходному значению [4]. Эритропоэтин улучшает адаптивные процессы в условиях влияния низкой температуры, реализуя свое действие на механизмы транспорта кислорода как через увеличение количества гемоглобина, так и через снижение СГК. Эритропоэтин играет важную роль в формировании механизмов транспорта кислорода кровью: образования большого количества красных клеток крови, согласования механизмов легочной вентиляции и сердечного выброса, барьеров кислородной диффузии, контроля местной тканевой микроциркуляции и изменения СГК [2]. Целенаправленное уменьшение СГК (введение йодобензоата натрия) при холодовом воздействии сопровождается минимальными нарушениями кислотно-основного состояния и кислородного обеспечения, повышением устойчивости крыс к гипотермии.

**Выводы.** При гипоксических состояниях различного генеза в организме происходит дисбаланс между доставкой кислорода и эффективностью его использования в клетках, в связи с этим представляется целесообразным привести в соответствие доставку кислорода в ткани с возможностями полноценного его использования, что подтверждается проведенными нами опытами с изменением состояния L-аргинин-NO системы и с направленной коррекцией СГК в условиях действия низкой температуры и последующего её повышения в организме. СГК является не только важным механизмом, способствующим адекватному потоку кислорода в ткани и обеспечению их потребности в нем, но и механизмом, определяющим эффективность функционирования всей организации поддержания прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кислородзависимые процессы при гипотермии и отогревании: монография / В.В. Зинчук, Л.В. Дорохина, С.В. Глуткин; под ред. Зинчука В.В. – Гродно, 2010. – 192 с.
2. Diskin C.J. Towards erythropoietin equations that estimate oxygen delivery rather than static hemoglobin targets. // Nephron Clin. Pract. – 2012. – Vol. 120, № 1. – P 48-53.
3. Frappell P. Hypothermia and physiological control: the respiratory system. // Respir. Physiol. - 1998. – Vol. 115. – P. 125-133.
4. Hlutkin, S. Effect of melatonin on the blood oxygen transport during hypothermia and rewarming in rats / S. Hlutkin, V. Zinchuk // Adv. Med. Sci. – 2008. – Vol. 53, № 2. – P. 234-239.

## ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ ДЕСИНХРОНОЗЕ

*Гуляй И.Э., Алещик А.Ю., Зинчук В.В., Жук И.Т.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Известно, что живой организм имеет не только пространственную, но и временную организацию, наиболее сложным вариантом которой являются биологические ритмы [1]. Практически все показатели жизнедеятельности (биохимические, физиологические и поведенческие) обнаруживают циркадиан-

ную (околосуточную) ритмичность, отличающуюся стабильностью и строгой закономерностью. Отклонение от нормальных биоритмов под действием геофизических или социальных факторов может привести к существенным нарушениям жизненных процессов и физиологических функций организма. Ярким примером нарушения суточных биоритмов является десинхроноз (состояние организма, обусловленное рассогласованием биологических ритмов при резкой смене режима дня, суточного графика работы, при перелёте через несколько часовых поясов, переходе на летнее или зимнее время (переводе стрелок часов) [2].

В ситуации десинхроноза наблюдается вся гамма психологических, физиологических и биохимических проявлений стресса. В последние годы всё большее внимание исследователей привлекают хронобиологические аспекты функционирования антиоксидантной системы организма, нарушение которой влечет за собой усиление прооксидантных процессов и может привести к повреждению макромолекул, клеток, тканей и в конечном итоге – к развитию окислительного стресса, интенсивность которого зависит от физиологических особенностей организма [3].

В настоящее время в литературе имеются лишь единичные указания на изменение психофизиологических показателей в условиях перехода с зимнего на летнее время [4]. В связи с этим представляется важным оценить, как изменяется временная организация различных функций и состояний организма при переводе часов.

**Целью** исследования явилось изучение показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС) слюны при переводе часов на летнее время.

**Методы исследования.** Исследования проведены на добровольцах, студентах-мужчинах (15 чел.), без нарушений суточного ритма основных физиологических функций. Исследуемые натощак, предварительно обработав ротовую полость физиологическим раствором, пятикратно сдавали смешанную слюну: первый раз до перевода часов, второй – во время перевода, третий – на третьи сутки после перевода, четвертый – на пятые сутки и пятый – через неделю после перевода часов. Сразу после забора слюну центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин на клиниче-

ской центрифуге типа ОПН-3, отбирали супернатант и хранили его при температуре 4°C. В слюне определяли интенсивность процесса ПОЛ по концентрации первичных и вторичных продуктов этих реакций – диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА). Антиоксидантную защиту оценивали по активности каталазы. Полученные вариационные ряды показателей анализировали методом кластерного анализа (K-means), при помощи пакета прикладных программ «Statistica10.0». Все показатели проверялись на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка, Манна-Уитни. Достоверными считались различия при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** При анализе полученных данных (всего 117 измерений) на основании внутрикластерных и межкластерных дистанций было выделено 4 типа состояния антиоксидантной системы слюны у студентов до и после перевода часов.

До перевода у испытуемых преобладал первый кластер, который составил 47,6% и характеризуется средним уровнем ДК, низким уровнем МДА и активностью каталазы. В тот же срок на втором месте по частоте встречаемости был третий кластер (33,3%) с низким уровнем ДК, средним уровнем МДА и высокой активностью каталазы. После перевода часов в течение последующих пяти дней сохранялось преобладание первого (47,62–56,25%) и третьего (33,33–44,44%) кластеров. Однако через неделю после перевода часов существенно уменьшилась доля первого (17,64%) и третьего (11,76%) кластеров. В то же время резко увеличилась доля измерений, относящихся ко второму кластеру (70,59%), который характеризовался самым высоким уровнем ДК, низким уровнем МДА и средним значением активности каталазы. Следует отметить, что доля четвертого кластера, характеризующегося самыми высокими значениями МДА, убывала равномерно на протяжении всего исследования.

**Выводы.** Нами установлено, что отдельные показатели про- и антиоксидантной системы реагируют на хронобиологический стресс разнонаправленными изменениями во времени. Следовательно, перевод часов вызывает колебания в про- и антиоксидантной системе слюны, которые не нормализуются даже через не-

делю, что свидетельствует о несостоятельности антиоксидантной защиты и развитии окислительного стресса. Все это указывает на значительные внутрисистемные нарушения синхронизации ритмов изучаемых показателей системы ПОЛ и АОС слюны.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А., Шабатура Н.Н. Биоритмы, спорт, здоровье. – М.: Физкультура и спорт, 1989. – 208 с.
2. Ежов, С.Н. Основные концепции биоритмологии / С.Н. Ежов // Вестник ТГЭУ. – 2008. – № 2. – С. 104-121.
3. Зинчук В.В. Проблема формирования прооксидантно-антиоксидантного состояния организма // Медицинские новости. – 2002. – № 4. – С. 9-14.
4. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. – Триада-Х, 2000. – 488 с.

## **НИТРИТ НАТРИЯ НЕ ВЛИЯЕТ НА ГЕНЕРАЦИЮ СУПЕРОКСИД АНИОНА ОБРАЗЦАМИ МИОКАРДА КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ**

*Гришин А.Ю., Проскурнина Е.В., Гаврилова С.А.*

Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова, Москва

**Введение.** Оксид азота (NO) выполняет важную регуляторную функцию в биохимических процессах организма. Низкомолекулярный газ NO, несмотря на короткое время жизни (порядка 10 с) и небольшое расстояние возможной диффузии (в среднем 30 мкм), легко проникает через клеточные мембраны и компоненты межклеточного вещества. В митохондриях кардиомиоцитов определяют митохондриальную изоформу NO-синтазы. Считается, что оксид азота, образующийся в митохондриях, конкурирует с кислородом за центры связывания в дыхательных цепях переноса электронов. Этот механизм дает возможность митохондрии «чувствовать» разную степень оксигенации. В литературе рассматривается возможность ферментативного образования NO из нитритов и нитратов в условиях ишемии при кислом значении pH и отсутствии субстратов и кофакторов для NO-синтаз. Создавая такие условия, можно попытаться заставить ферменты, например ксантиноксиредуктазу, продуцировать NO из нитрита

натрия. Увеличение концентрации NO в свою очередь должно приводить к нарушениям в цепи переноса электронов в митохондриях, что должно отражаться на скорости продукции супероксид аниона.

**Цели исследования.** 1. Отработать протокол регистрации продукции супероксид аниона образцами миокарда крыс в нормальных, гипоксических условиях и условиях реоксигенации ткани; 2. Проверить гипотезу ферментативного образования оксида азота в тканях миокарда из нитрита натрия в условиях гипоксии.

**Материал и методы исследования.** Генерацию супероксид аниона оценивали в поперечных срезах миокарда толщиной 2 мм из сердец самцов крыс *Rattus Norvegicus* массой 400-500 г. Срез миокарда помещали в 2 мл раствора Кребса-Рингера (рН раствора в ходе эксперимента изменялся в пределах от 7,35 в начале до 7,80 в конце) с люцигенином. В раствор добавляли 100 мкл нитрита натрия в конечных концентрациях 40, 100, 300, 500 мкМ или 100 мкл раствора Кребса-Рингера для контрольного образца. Готовые растворы со срезами помещали в хемилюминометр Lum-5773 фирмы DISoft с термостатом ( $T=37,5^{\circ}\text{C}$ ) и системой аэрации. Далее регистрировали кривые развития хемилюминесценции в растворе Кребса-Рингера по схеме: 30 мин. аэрация кислородосодержащей газовой смесью (15%O<sub>2</sub>, 5%CO<sub>2</sub>, 80%N<sub>2</sub>), 60 мин. аэрация бескислородной газовой смесью (5%CO<sub>2</sub>, 95%N<sub>2</sub>), а затем снова 30 мин. аэрация кислородосодержащей смесью, создавая тем самым условия ишемии-реперфузии. На зарегистрированных хемилюминесцентных кривых изучали изменение амплитуды сигнала в срезах до и после эпизода 60 мин. гипоксии и влияние разных концентраций нитрита натрия в растворе на эти сигналы.

**Результаты и их обсуждение.** За первые 30 минут аэрации растворов с образцами наблюдали рост интенсивности хемилюминесцентного сигнала с последующим выходом на плато, т.е. устанавливался стационарный уровень дыхания клеток миокарда. Этот уровень принимали за базовый. При переключении аэрации на бескислородную смесь интенсивность хемилюминесцентного сигнала быстро снижалась до фонового значения и держалась на этом уровне в течение всего часа гипоксии, что свидетельствует об отсутствии дыхания митохондрий в этот период времени. После переключения аэрации на кислородную смесь для всех срезов прогнозируемо наблюдали увеличение амплитуды хемилюминесценции на 40-60% относительно базового уровня, что связано с накоплением восстановительных эквивалентов в митохондриях и, как следствие, образование дополнительного

количества супероксид аниона. Введение разных доз нитрита натрия в раствор не повлияло ни на базовый уровень, ни на изменение хемилюминесцентного сигнала после гипоксии. Возможно, условия поддержания рН в слабощелочном диапазоне во время эксперимента не позволили запустить образования NO не NO-синтазным путем. Возможно, этот механизм не реализуется в сердце крыс.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Haitao Li, Hongmei Cui. Nitric Oxide Production from Nitrite Occurs Primarily in Tissues Not in the Blood // The Journal of biological chemistry. – 2008 – Vol. 283, № 26. – P. 17855-17863.
2. Manukhina E.B., Downey H.F. and Mallet R.T. Role of Nitric Oxide in Cardiovascular Adaptation to Intermittent Hypoxia // Exp Biol Med (Maywood). – 2006. – № 231. – P. 343-365.
3. Zweier J.L., Samouilov A., Kuppusamy P. Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems // Biochimica et Biophysica Acta. – 1999. – № 1411. – P. 250-262.
4. Zweier J.L., Li H., Samouilov A., and Liu X. Mechanisms of Nitrite Reduction to Nitric Oxide in the Heart and Vessel Wall // Nitric Oxide. – 2010. – Vol. 22, № 2. – P. 83-90.

## **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ НЕДОСТАТКА КИСЛОРОДА ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ**

*Гуменюк С.А., Бархина Т.Г., Гущин М.Ю., Расулова А.М.,  
Польнер С.А., Голованова В.Е.*

ФГБУ НИИ морфологии человека РАМН, Москва;  
ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

**Введение.** По данным Всемирной Аллергологической Организации, аллергические заболевания относятся к 4 основным группам заболеваний и требуют углубленного изучения механизмов развития и разработки соответствующих эффективных методов фармакотерапии и профилактики. В настоящее время огромное внимание уделяется взаимосвязи бронхиальной астмы (БА) с другими заболеваниями. Нередко у пациентов с бронхолегочной патологией развивается другое заболевание дыхательной системы (ДС), резко декомпенсирующее течение основного

процесса. Так, сочетание БА с внебольничной пневмонией (ВП) является весьма часто встречающимся, представляющим непосредственную угрозу для жизни пациента.

**Цель:** выявить морфологические критерии БА и ВП при гипоксии.

**Материалы и методы:** ретроспективный анализ историй болезни, анализ структурных особенностей сопутствующих заболеваний, морфологического исследования слизистых оболочек носа и бронхов с помощью световой и электронной микроскопии.

**Результаты и их обсуждение.** В результате ретроспективного анализа 1241 истории болезни пациентов, находившихся на стационарном лечении в отделении «Бронхиальная астма» ФГБУ «ГНЦ Института иммунологии» ФМБА России за 2007-2011 гг., было выявлено, что около 7% (86 чел.) пациентов с БА поступили в стационар и с ВП. Установлены клинико-аллергологические и морфо-функциональные особенности течения сочетанной патологии

Установлено, что сочетание БА и ВП характеризуется наличием поражения всех звеньев дыхательной системы, что приводит к тяжелой интоксикации и тканевой, и клеточной гипоксии.

При присоединении ВП лейкоциты находят, идентифицируют, фагоцитируют и обезвреживают микробы, используя как кислород-зависимые, так и кислород-независимые, антимикробные системы. Важную роль в этих процессах играет кислород-чувствительный протеиновый комплекс (hypoxia-inducible factor (HIF), путем регуляции транскрипции катионных антимикробных полипептидов (2, 3, 5). Респираторный взрыв сопровождается снижением уровня кислорода в очаге воспаления, что обуславливает развитие локальной гипоксии и активацию гипоксии HIF, контролируя экспрессию продуктов генов, которые стимулируют ангиогенез и гликолиз, усиливая метаболическую адаптацию клеток к гипоксии (4-7).

Течение гипоксии при заболеваниях дыхательных путей (ДП) может быть разным, имеет свои морфологические особенности.

В случаях сочетания БА с различными патологиями бронхолегочной системы (ВП, синдромом обструктивного апноэ сна и др.) гипоксия вызывает не только повреждение сосудов мик-

роциркуляторного русла (МЦР), но и легочной паренхимы. При этом активируются приспособительные и компенсаторные реакции, направленные на ее предотвращение, устранение или снижение степени выраженности. Эти реакции включаются уже на начальном этапе гипоксии и их обозначают как экстренные, или срочные, в последующем (при длительной гипоксии) они сменяются более сложными приспособительными процессами - долговременными.

Механизмы срочной адаптации активируются сразу при возникновении гипоксии в связи с недостаточностью энергетического обеспечения клеток. К числу основных механизмов относятся системы транспорта кислорода и субстратов обмена веществ, а также тканевого метаболизма. ДС реагирует увеличением альвеолярной вентиляции за счет углубления, учащения дыхания и мобилизации резервных альвеол. Одновременно усиливается легочный кровоток и ангиогенез. Отдельной областью изучения физиологического ангиогенеза является ДС, так как ангиогенез есть неотъемлемая часть циклических превращений кислорода в энергию. У пациентов с хроническими обструктивными заболеваниями легких альвеолярная гипоксия ведет к развитию легочной гипертензии. Главным компонентом этого процесса является выработка таких пептидов, как эндотелин-1 и ангиотензин II, которые вызывают сокращение гладких мышц и гипертрофию сосудистой стенки. Было прямо доказано, что синтез ангиотензина II вызывается экспрессией HIF-1 $\alpha$  (5,6). Эти результаты свидетельствуют о первостепенной роли в развитии гипертрофии гладких мышечных клеток сосудов при гипоксии легких. Целенаправленное воздействие на HIF, а именно торможение его активации, может быть новым шагом, препятствующим деструкции альвеолярного эпителия при легочной патологии.

Нами показано, что с помощью световой и электронной микроскопии при сочетании БА с ВП в начальном периоде обнаруживаются морфологические особенности гипоксических повреждений в верхних и нижних ДП. Эти изменения характеризуются комплексом повреждений эпителиальных клеток и клеток собственной пластинки слизистой оболочки. Наибольшим повреждениям подвергаются сосуды МЦР. В них наблюдается по-

лиморфизм изменений эндотелиоцитов: от резкого их истончения до расширения с деструкцией органелл. В отдельных участках демонстрируется повреждение люминальной и базальной мембран эндотелиоцитов. Подобные изменения были обнаружены при изучении БА тяжелого течения (1). В просвете сосудов наблюдается значительное скопление эритроцитов и тромбоцитов, также как и в периваскулярных пространствах. При длительности течения без адекватной терапии наблюдаются и деструктивные изменения в эпителиальных клетках ДП. При адекватной терапии обоих заболеваний отмечается развитие значительных компенсаторно-приспособительных и адаптационных механизмов, улучшающих оксигенацию клеток и тканей.

**Заключение.** Механизмы долговременной адаптации формируются постепенно, в процессе хронической гипоксии, и эти реакции обеспечивают жизнедеятельность организма в новых условиях гипоксии при хронической недостаточности кровообращения. В случаях развития значительных компенсаторно-приспособительных и адаптационных механизмов при своевременном и правильном лечении сочетанной патологии ДС улучшаются процессы насыщения кислородом тканей и клеток.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Геренг Е.А., Суходоло И.В., Плешко Р.И. и др. Ультраструктурные характеристики капилляров слизистой оболочки бронхов при различных клинических фенотипах тяжелой бронхиальной астмы // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – Т. 30, № 6. – С. 105-109.
2. Серебровская Т.В. Новая стратегия в лечении болезней: гипоксия-индуцируемый фактор // Медико-биологические науки. – 2006. – № 1. – С. 29-31.
3. Lando D., Corman J.J., Whitelaw M.L., Peet D.J. Oxygen-dependent regulation of hypoxia-inducible factors by prolyl and asparaginyl hydroxylation // Eur. J. Biochem. – 2003 – Vol. 207, № 5. – P.781-790.
4. Pugh C.W., Ratcliffe P.J. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the Hif system // Nat. Med. – 2003. – Vol. 9 – P. 677-684.
5. Semenza G.L. O<sub>2</sub>-regulated gene expression: transcriptional control of cardiorespiratory physiology by Hif-1 // J. Appl. Physiol. – 2004. – Vol, № 3. – P.1173-1177.
6. Semenza G.L. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology // Annu. Rev. Pathol. – 2014. – Vol. 9. – P. 47-71.
7. Zarembek K.A., Malech H.L. Hif-1 $\alpha$  a master regulator of innate host defenses? // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 1702-1704.

# ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У КРЫС С ИЗМЕНЕННЫМ ТИРЕОИДНЫМ СТАТУСОМ В ДИНАМИКЕ СТРЕСС-РЕАКЦИИ

*Гусакова Е.А., Городецкая И.В.*

Витебский государственный медицинский университет,  
Витебск

**Введение.** Активные формы кислорода являются инициаторами перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических мембранах. Интенсификация этого процесса при стрессе приводит к развитию патологических изменений и повреждению клетки [1]. Установлена закономерная стимуляция ПОЛ при воздействии стрессоров разной природы [2]. Доказано, что одним из факторов, лимитирующих ее, являются йодсодержащие тиреоидные гормоны (ЙТГ) [3]. С другой стороны, известно, что стресс-реакция характеризуется динамическим развитием во времени, обозначаемым как общий адаптационный синдром. Вместе с тем влияние ЙТГ на активность ПОЛ в динамике развития стресс-реакции изучено недостаточно.

**Цель** – исследовать влияние изменения тиреоидного статуса организма на интенсивность ПОЛ в разные стадии общего адаптационного синдрома.

**Материал и методы исследования.** Опыты поставлены на 91-й беспородной крысе-самце массой 220–250 г. Тиреоидный статус изменяли внутрижелудочным введением в 1% крахмальном клейстере мерказолила (25 мг/кг, 20 суток) или L-тироксина (от 1,5 до 3,0 мкг/кг, 28 сут.). Стресс моделировали по методике «свободное плавание в клетке» (СПК) [4] в течение 1 часа. В опыт животных забирали через 1 час (стадия тревоги), 48 часов (стадия устойчивости) и после стрессирования в течение 10 дней по 1 часу (стадия истощения). Состояние ПОЛ в печени и крови оценивали по концентрации диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) [5]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «Статистика 6.0».

**Результаты и их обсуждение.** У интактных крыс концентрация ДК в печени и крови была равна 3,254 (3,127; 3,287) и 0,585 (0,542; 0,609) нмоль/мг липидов, МДА – 2,376 (2,287; 3,294) и 0,0537 (0,0521; 0,0563) нмоль/мг белка.

В стадию тревоги уровень ДК в печени увеличивался на 35% ( $p < 0,01$ ), МДА на 37% ( $p < 0,01$ ). Концентрация ДК и МДА в крови повышалась менее существенно – на 27% ( $p < 0,01$ ) и 30% ( $p < 0,01$ ). В стадию устойчивости содержание продуктов ПОЛ в печени и МДА в крови начинало возвращаться к контрольному значению, но все же незначительно превышало его. Сывороточная концентрация ДК полностью возвращалась к исходной величине. В стадию истощения развивалась наиболее значительная активация ПОЛ в печени и крови: уровень ДК возрастал на 59% ( $p < 0,01$ ) и 49% ( $p < 0,01$ ), МДА на 49% ( $p < 0,01$ ) и 42% ( $p < 0,01$ ).

Введение мерказолила сопровождалось уменьшением содержания продуктов ПОЛ в крови, особенно в печени: ДК на 12% ( $p < 0,01$ ) и 14% ( $p < 0,01$ ), МДА на 22% ( $p < 0,01$ ) и 26% ( $p < 0,01$ ). Стрессирование гипотиреоидных крыс сопровождалось более существенным, чем у стрессированных эутиреоидных животных, увеличением уровня продуктов ПОЛ: по отношению к группе «Мерказолил» через 1 час после СПК концентрация ДК в печени и крови возрастала на 45% ( $p < 0,01$ ) и 50% ( $p < 0,01$ ), МДА на 41% ( $p < 0,01$ ) и 35% ( $p < 0,01$ ); через 48 часов после СПК – ДК на 20% ( $p < 0,01$ ) и 16% ( $p < 0,05$ ), МДА на 24% ( $p < 0,01$ ) и 12% ( $p < 0,01$ ); через 10 суток СПК по 1 часу – ДК на 75% ( $p < 0,01$ ) и 62% ( $p < 0,01$ ); МДА на 58% ( $p < 0,01$ ) и 49% ( $p < 0,01$ ).

Введение L-тироксина в малых дозах само по себе не изменяло концентрацию продуктов ПОЛ в печени и крови ( $p > 0,05$ ), но существенно ограничивало ее прирост во все стадии стресс-реакции: по сравнению с группой «Тироксин» через 1 час после СПК уровень ДК в печени и крови увеличивался только на 24% ( $p < 0,01$ ) и 19% ( $p < 0,01$ ), МДА на 28% ( $p < 0,01$ ) и 21% ( $p < 0,01$ ); через 48 часов после СПК содержание ДК и МДА в печени и крови не изменялось ( $p > 0,05$ ); через 10 суток СПК по 1 часу концентрация ДК в печени и крови повышалась лишь на 38% ( $p < 0,01$ ) и 32% ( $p < 0,01$ ), МДА на 41% ( $p < 0,01$ ) и 33% ( $p < 0,01$ ).

**Выводы.** Стадия тревоги стресс-реакции характеризуется активацией липопероксидации в крови и печени; стадия устойчивости – тенденцией к нивелированию интенсивности этого процесса, стадия истощения – его наибольшей стимуляцией. Экспериментальный гипотиреоз, сам по себе угнетающий ПОЛ в крови и печени, провоцирует более существенную его актива-

цию на стадиях тревоги и истощения и устраняет нормализацию интенсивности ПОЛ на стадии устойчивости. У гипотиреоидных животных на всем протяжении эксперимента наблюдается преобладание накопления ДК в печени и крови над таковым МДА, что свидетельствует об активности деструктивных процессов в клеточных мембранах. L-тироксин в малых дозах, *per se* не влияющий на напряженность ПОЛ в печени и крови, на стадии устойчивости стресс-реакции обеспечивает полную компенсацию этого процесса, а на стадиях тревоги и истощения ограничивает его активацию. Таким образом, доказана возможность реализации антиоксидантного действия ИТГ на всех стадиях стресс-реакции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
2. Gümüşlü S.İ., Sarıkçıoğlu S.B., Sahin E., et al. Influences of different stress models on the antioxidant status and lipid peroxidation in rat erythrocytes // *Free Radic. Res.* – 2002. – Vol. 36, № 12. – P. 1277–1282.
3. Городецкая И.В., Корневская Н.А. Влияние тиреоидных гормонов на изменения перекисного окисления липидов, вызванные острым и хроническим стрессом // *Весті НАН Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2010. – № 1. – С. 78–84.
4. Бондаренко С.Н., Бондаренко Н.А., Манухина Е.Б. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс // *Бюл. экспер. биол. и мед.* – 1999. – Т. 128, № 8. – С. 157–160.
5. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.

## **РОЛЬ ВОСПАЛЕНИЯ В ФОРМИРОВАНИИ ИЗМЕНЕНИЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА**

*Давыдова М.П.*

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова  
Москва

**Введение.** Окислительный стресс при легочной гипертензии (ЛГ) приводит к изменениям не только локального, но и системного характера: для вторичной ЛГ показано нарастание марке-

ров окислительного стресса в крови, моче и легких. Врожденные пороки сердца (ВПС) характеризуются нарушением гемодинамики в сторону увеличения или уменьшения кровотока в легких, в зависимости от типа порока сердца и степени увеличения давления в лёгочных сосудах. Направленность изменений в антиоксидантной системе при ВПС может зависеть от характеристик лёгочной гемодинамики.

**Целью** исследования было оценить параметры антиоксидантной активности плазмы крови у пациентов с ВПС и вторичной ЛГ и с помощью модельных экспериментов на крысах выявить вклад воспалительных процессов в легких и окислительного стресса за счет увеличенного времени экспозиции крови в области высокого  $pO_2$  при наличии шунта слева направо.

**Материал и методы исследования.** Были измерены экспрессия мРНК провоспалительных цитокинов моноцитарно-лимфоцитарной фракции клеток крови, активность каталазы и концентрация глутатиона в плазме крови у пациентов с ВПС без кардиохирургической коррекции, с наличием шунта слева направо и вследствие этого с гиперволемией сосудов лёгких ( $n=17$ , возраст  $3,7\pm 1,8$  мес.). Группу сравнения составили пациенты с малыми аномалиями развития сердца, не имеющими гемодинамического значения ( $n=15$ , возраст  $6\pm 4,8$  месяцев). Инфекционные заболевания и декомпенсированные соматические заболевания являлись критериями исключения. Экспрессию мРНК оценивали методом ОТ-ПЦР. РНК выделяли хлороформно-фенольным методом. Анализ данных проводили после нормирования проб по содержанию мРНК  $\beta$ -актина. Для оценки параметров антиоксидантной системы использованы спектрофотометрические методы. Активность каталазы измеряли по скорости утилизации ферментом  $H_2O_2$ ; концентрацию глутатиона определяли после восстановления глутатиона по изменению оптической плотности, вызванной образованием аниона тионитробензоат-дианиона в реакции DTNB (5,5'-дитиобис(2-нитробензойная кислота)) с восстановленным глутатионом.

Параметры антиоксидантной активности крови оценивали и в экспериментальных моделях: (1) ВПС с шунтом слева направо и увеличенным легочным кровотоком (сонно-ярёмный шунт) и

(2) ЛГ, развивающейся вследствие поражения эндотелия лёгочных сосудов и развитием воспалительного процесса (монокроталиновая модель). Монокроталин вводили подкожно в дозе 60 мг/кг. Развитие ЛГ оценивали по отношению массы правого желудочка сердца к общей массе желудочков и межжелудочковой перегородки.

**Результаты и их обсуждение.** У детей в группе с гиперволемией наблюдали уменьшение содержания глутатиона ( $4,4 \pm 2,1$   $\mu\text{M}$ , по сравнению с  $7,5 \pm 2,8$   $\mu\text{M}$  в контроле,  $p < 0,01$ ). С другой стороны, более тяжелые нарушения легочной гемодинамики, которые приводили к выраженной ЛГ, сопровождались более высоким уровнем антиоксидантной активности крови. В подгруппе с менее выраженной ЛГ, которой соответствовал больший межжелудочковый градиент давления, по данным эхокардиографии, активность каталазы была ниже ( $24,6 \pm 7,1$  Ед/мл), чем при выраженной ЛГ ( $42,3 \pm 6,8$  Ед/мл),  $p < 0,01$ . Несмотря на отсутствие явного воспалительного процесса, уровень экспрессии мРНК интерлейкина 1 в клетках крови был на порядок выше у пациентов с гиперволемией и ЛГ ( $p < 0,05$ ). Также была выявлена тенденция к увеличению экспрессии фактора некроза опухоли, однако из-за большой вариабельности индивидуальных значений отличие от группы контроля оказалось не значимым ( $p = 0,051$ ).

При моделировании ВПС с гиперволемией не было выявлено значимых изменений исследуемых параметров антиоксидантной системы крови. Так как поддержание повышенного кровотока в течение 1,5 месяцев не привело к развитию ЛГ, можно сделать вывод, что возврат крови в регион с высоким уровнем  $p\text{O}_2$  через шунт слева направо сам по себе не является фактором, способным изменить уровень активности антиоксидантной системы крови. Через месяц после инъекции монокроталина наблюдали развитие ЛГ (относительный вес правого желудочка сердца был значимо выше, чем в контроле –  $33,5 \pm 4,80\%$  по сравнению с  $20,1 \pm 2,25\%$ ,  $p < 0,001$ ). При этом обнаружено увеличение активности каталазы плазмы крови –  $41,7 \pm 3,56$  Ед/мл по сравнению с контролем –  $21,1 \pm 4,30$  Ед/мл,  $p < 0,01$ . Таким образом, для увеличения активности антиоксидантной системы большее значение имеет развитие воспалительных реакций и ЛГ.

По-видимому, увеличение антиоксидантной активности в случае ВПС с гиперволемией малого круга кровообращения связано с высоким уровнем активности провоспалительных механизмов на фоне развития ЛГ и отёка легких. Таким образом, степень антиоксидантной защиты в большой степени зависит от тяжести течения заболевания – например, от показателей воспалительных процессов в легких, которые могут сопровождать легочную гипертензию и сердечную недостаточность.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Bowers R., Cool C., Flores S.C. et al. Oxidative stress in severe pulmonary hypertension // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2004. – Vol. 169, № 6. – P. 764-769.
2. Bessard G., Bessard J., Cracowski C. et al. Increased lipid peroxidation in patients with pulmonary hypertension // Am. J. Respir Crit. Care Med. – 2001. – Vol. 164, № 6. – P.1038-1042.
3. Diana J.N., Lai Y.-L., Thacker A.A. Hypoxemia and elevated tachykinins in rat monocrotaline pneumotoxicity // Lung. – 1996. – Vol. 174, № 3. – P.195-203.

## ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГАХ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С СИГАРЕТНЫМ ДЫМОМ

*Девина Е.А., Таганович А.Д.*

Белорусский государственный медицинский университет,  
Минск

**Введение.** Полагают, что в формировании воспалительного процесса в легких при вдыхании сигаретного дыма активное участие принимают альвеолярные макрофаги (АМ). Сигаретный дым (СД) состоит из большого количества оксидантов и свободных радикалов ( $10^{17}$  спин на грамм смолы) [2]. Экзогенным (табачным) радикалам отводится главная роль в развитии воспалительного процесса в легких. При этом недооценивается значение эндогенных (клеточных) активных форм кислорода (АФК), образующихся при контакте частиц смол и других продуктов табачного дыма с клетками легких. В альвеолярных макрофагах, как известно, развиты процессы генерации АФК, которые определяют функции этих клеток в норме и при патологии.

**Цель исследования** – определить особенности окислительного метаболизма, в том числе антиоксидантной системы альвеолярных макрофагов, при контакте с сигаретным дымом в зависимости от его концентрации и длительности воздействия.

**Материал и методы исследования.** АМ получали из бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс. АМ выделяли путем адгезии к пластику в концентрации  $2,0 \times 10^6$  на чашку Петри и инкубировали 120 мин. при температуре  $37^\circ\text{C}$  в атмосфере с 5% содержанием  $\text{CO}_2$ . Затем АМ инкубировали с 10% и 30% экстрактом сигаретного дыма (ЭСД) в течение 1 ч и 20 ч.

ЭСД получали пропусканием дыма от десяти сигарет «Корона» через 100 мл питательной среды ДМЕМ с использованием вакуумного насоса.

Для оценки состояния окислительного метаболизма в АМ измеряли концентрацию пероксида водорода и ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Окислительную модификацию белков оценивали по количеству образовавшихся 2,4-динитрофенилгидразинов. Определяли активность каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП) и концентрацию небелковых SH-соединений. Статистическую обработку проводили с использованием пакета Statistica 6.0. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что контакт АМ с СД приводит к увеличению в клетках продуктов свободнорадикального окисления. Увеличивается концентрация  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ТБК-активных продуктов. При инкубации с 30% ЭСД в течение 1 ч уровень  $\text{H}_2\text{O}_2$  увеличился в 2,2 раза. Максимально высокий уровень был отмечен при 20 ч инкубации с 30% ЭСД.

В литературе есть данные, согласно которым не было обнаружено изменений уровня продуктов ПОЛ под влиянием ЭСД [3]. Установленное нами увеличение ТБК-активных продуктов было максимальным при инкубации АМ с 30% ЭСД в течение 20 ч. Увеличивался этот показатель и при инкубации клеток с 30% ЭСД в течение 1 ч.

На изменение окислительного метаболизма в АМ при контакте с СД указывает и установленное нами увеличение карбонильных производных аминокислот. Как известно, их повышение является одним из проявлений окислительной модификации

белковых молекул при окислительном стрессе [1]. Содержание карбонильных производных повышалось в 2 раза в АМ, при контакте с 10%, и в 2,5 раза – с 30% ЭСД, удлинение инкубации увеличивало этот показатель в 7 раз в сравнении с контролем.

Нами установлено, что ЭСД вызывает угнетение АОС. Для кратковременного контакта с ЭСД характерно постепенное снижение активности всех трех изучаемых ферментов. Хотя активность СОД через 1 ч инкубации с 10% ЭСД не отличалась от контроля, повышение концентрации ЭСД вызывало снижение активности СОД. Контакт в течение 20 ч приводит к более выраженному снижению активности ферментов уже при 10% ЭСД. Для СОД и каталазы последующее увеличение концентрации ЭСД не сопровождалось дальнейшим угнетением активности, а для ГП снижение активности нарастало при увеличении концентрации ЭСД.

Установлено, что ЭСД снижает уровень небелковых SH-соединений в АМ как при кратковременной (1ч), так и длительной (20 ч) инкубации. Различие заключается в том, что снижение содержания SH-соединений при длительной инкубации не зависело от концентрации ЭСД.

Таким образом, обнаруженное угнетение компонентов антиоксидантной системы в АМ в условиях воздействия сигаретного дыма сопутствует повышению  $H_2O_2$  в клетках и проявлению его токсического действия – увеличению окислительной модификации белковых молекул, интенсификации процессов перекисного окисления липидов. Тем самым создаются предпосылки для деградации структурной целостности биологических мембран и для дальнейших нарушений метаболизма и функционирования клетки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ciolino, H.P. Levine R.L. Modification of proteins in endothelial cell death during oxidative stress // *Free Rad. Biol. Med.* – 1997. – Vol. 22, № 15. – P. 1277-1282.
2. Yang S.R. Chida A. Cigarette smoke induces proinflammatory cytokine release by activation of NF- $\kappa$ B and posttranslational modifications of histone deacetylase in macrophages // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2006. – Vol. 291. – P. L46-L57.
3. Yang Y.M., Liu G.T. Injury of mouse brain mitochondria induced by cigarette smoke extract and effect of vitamin C on it *in vitro* // *Biomedical and environmental sciences.* – 2003. – Vol. 16. – P. 256-266.

# АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА МИОКАРДА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ У ЖИВОТНЫХ С ИНТАКТНЫМ И ИЗМЕНЕННЫМ ТИРЕОИДНЫМ СТАТУСОМ ПРИ СТРЕССЕ

*Евдокимова О.В., Городецкая И.В.*

Витебский государственный медицинский университет,  
Витебск

**Введение.** Активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) играет существенную роль в патогенезе заболеваний человека стрессорной этиологии. Установлено, что йодсодержащие тиреоидные гормоны (ЙТГ), вводимые в малых дозах, ограничивают интенсификацию ПОЛ в сердце при продолжительном стрессе за счет повышения активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ). Вместе с тем влияние ЙТГ на интенсивность ПОЛ и активность указанных ферментов, как и на уровень одного из важных компонентов ферментативного звена антиоксидантной системы – восстановленного глутатиона (GSH), при коротких стрессовых воздействиях не изучено.

**Цель** - изучить влияние тиреоидного статуса на изменение ПОЛ и состояние антиоксидантной защиты миокарда при кратковременном действии стрессоров.

**Материал и методы исследования.** Работа выполнена на 78 беспородных крысах-самцах массой 200–250 г. Физический стресс (ФС) – помещение крыс в холодовую камеру ( $t$  4-5°C) на 30 минут, химический (ХС) – введение этанола (внутрижелудочно 25% раствор в дозе 3,5 г/кг массы тела), эмоциональный – методика «свободного плавания животных в клетке» (СПК). Мерказолил вводили в дозе 25 мг/кг в течение 20 суток, L-тироксин (L-T4) – в дозах от 1,5 до 3,0 мкг/кг в течение 28 суток внутрижелудочно в 1% крахмальном клейстере. Состояние ПОЛ в сердце оценивали по концентрации диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), а также по скорости ПОЛ [2]. Содержание белка в миокарде изучали по Lowry, общих липидов – сульфофосфованилиновой реакцией. Активность СОД в сердце определяли по Fried, КАТ – по Баху

[1], концентрацию GSH – модифицированным методом Sedlak и Lindsay. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Статистика 6.0».

**Результаты и их обсуждение.** Все примененные нами стрессоры повышали концентрацию ДК и МДА в миокарде: ФС – на 13 и 16%, ХС – на 24 и 20%, СПК – на 32 и 37%. Скорость ПОЛ увеличивалась на 20% после ФС, на 29% после ХС, на 42% после СПК. Введение мерказолила *per se* угнетало ПОЛ в миокарде – содержание ДК снижалось на 20%, МДА – на 22%. Указанные изменения были обусловлены падением скорости этого процесса на 25%. После стресса у гипотиреоидных животных, как и у эутиреоидных, развивалась активация ПОЛ в сердце, но более выраженная. По отношению к группе «Мерказолил» содержание ДК и МДА и скорость ПОЛ в миокарде повышались после ФС на 39, 28 и 35%, после ХС – на 37, 23 и 39%, после СПК – на 47, 42 и 55%. Введение L-T4 не оказало влияния на уровень изученных продуктов ПОЛ и незначительно снизило его скорость – на 14%. ФС у животных, получавших L-T4, не сопровождался изменением содержания продуктов и скорости ПОЛ (по сравнению с группой «Тироксин»). ХС и СПК характеризовались значительно меньшей по сравнению со стрессом у животных, не получавших L-T4, активацией ПОЛ в миокарде: по отношению к группе «Тироксин» концентрация ДК увеличивалась на 10 и 16%, МДА – на 17 и 22%, скорость ПОЛ – на 12 и 26%, соответственно. Одной из причин обнаруженных нами изменений интенсивности ПОЛ в миокарде может служить изменение активности антиоксидантных ферментов и уровня GSH. В условиях всех изученных видов стресса активность СОД и КАТ в миокарде возрастала: после ФС – на 17 и 13%, после ХС – на 10 и 15%, после СПК – на 12 и 18%. Содержание GSH в сердце в отличие от активности антиоксидантных ферментов, падало: после ФС – на 11%, после СПК – на 23%, после ХС – на 31%. Введение мерказолила сопровождалось снижением антиоксидантной активности в сердце – и ферментативной, и неферментативной: активность СОД падала на 23%, КАТ – на 15%, концентрация GSH – на 10%. Стрессовые воздействия у гипотиреоидных крыс в отличие от таковых у эутиреоидных приводили к угнетению активности СОД и КАТ в миокарде: после ФС – на

18 и 10%, после ХС – на 16 и 15%, после СПК – на 24 и 14% (по отношению к группе «Мерказолил»). Уровень GSH в сердце, как и у стрессированных эутиреоидных крыс, падал, однако более существенно. По сравнению с его значением в группе «Мерказолил» после ФС он снижался на 14%, после СПК – на 27% и, после ХС – на 34%. Введение L-T4 в малых дозах увеличивало антиоксидантный потенциал сердца – повышало активность СОД на 9%, КАТ – на 12%, концентрацию GSH – на 10%. После ФС по отношению к группе «Тироксин» активность СОД в миокарде не изменялась, а КАТ – возрастала на 11%. После ХС и СПК повышалась активность и СОД – на 10 и 11%, и КАТ – на 9 и 13%. Уровень GSH в сердце при холодовом воздействии в отличие от неполучавших L-T4 животных, перенесших такой же стресс, не снижался, а после ХС и СПК хотя и падал, но в существенно меньшей степени – на 16 и 9%.

**Выводы.** Кратковременное действие стрессоров разного происхождения вызывает активацию ПОЛ в миокарде, выраженность которой зависит от природы стрессового фактора. Наименьшая интенсификация ПОЛ развивается после ФС, наибольшая – после СПК. Это приводит к компенсаторному росту активности основных антиоксидантных ферментов – СОД и КАТ, а также к падению концентрации неферментативного антиоксиданта GSH в сердце. Экспериментальный гипотиреоз сам по себе вызывает уменьшение интенсивности ПОЛ в миокарде и снижение его антиоксидантного потенциала, в условиях воздействия стрессоров различной природы обуславливает более выраженную активацию ПОЛ, что связано с депрессией активности антиоксидантных ферментов и более глубоким падением уровня GSH в сердце. Введение малых доз L-T4 per se не влияет на ПОЛ и повышает активность СОД, КАТ и содержание GSH в сердце. L-T4 предупреждает активацию ПОЛ после ХС и ограничивает ее после ХС и СПК за счет обеспечения большей активности СОД (после ХС и СПК) и КАТ (после СПК) и большего уровня GSH в сердце (после всех воздействий).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Балаховский С.Д., Балаховский И.С. Методы химического анализа крови. – 1953. – М. Медгиз. – 123 с.
2. Стальная И.Д. Современные методы в биохимии. – 1977. – М. Медицина. – 145 с.

# АДАПТАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА В УСЛОВИЯХ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА

*Жадько Д.Д., Гуляй И.Э., Зинчук В.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Кратковременный тепловой стресс оказывает выраженный эффект на сердечно-сосудистую, дыхательную, эндокринную и другие физиологические системы организма [3]. В основе положительных эффектов систематических тепловых воздействий лежат процессы адаптации к периодическому действию теплового фактора [1].

Важную роль в приспособлении организма к изменяющимся условиям среды играют процессы транспорта кислорода кровью и, в частности, сродство гемоглобина к кислороду, прежде всего в связи с тем, что данный параметр в значительной степени определяет поток кислорода в ткани, а также участвует в формировании прооксидантно-антиоксидантного баланса [2]. Однако состояние механизмов транспорта кислорода кровью, сродство гемоглобина к кислороду, процессы перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы в организме человека при систематическом действии высокой температуры внешней среды исследованы недостаточно полно и требуют дальнейшего изучения.

**Целью** исследования явилось изучение адаптационных изменений механизмов транспорта кислорода кровью, свободно-радикальных процессов и активности антиоксидантов при кратковременном тепловом стрессе.

**Методы исследования.** Экспериментальная часть работы проведена при участии добровольцев мужского пола ( $n=16$ ), средний возраст которых составил  $20,7 \pm 2,4$  года. В качестве кратковременного теплового стресса проводили сеанс в термокамере, включающий две экспозиции по 5 и 10 минут при температуре  $85-90^{\circ}\text{C}$ , относительной влажности 10-15%. До и после теплового воздействия из локтевой вены забирали кровь.

В исследуемых образцах на газоанализаторе «Synthesis-15» (Instrumentation Laboratory) определяли  $pO_2$  и  $pCO_2$ , насыщение крови кислородом, содержание кислорода, pH,  $HCO_3^-$  и  $TCO_2$ . Сродство гемоглобина к кислороду (СГК) оценивали по показателю  $p50$  ( $pO_2$ , соответствующее 50% насыщению гемоглобина кислородом), определяемому спектрофотометрически в стандартных условиях (pH=7,4,  $pCO_2=40$  мм рт. ст., температура = 37°C ( $p50_{\text{станд}}$ )). Полученные значения  $p50$  приводили к реальным значениям pH,  $pCO_2$  и температуры по уравнению Severinghaus [1966]. Также измеряли уровень диеновых конъюгатов, содержание малонового диальдегида и оснований Шиффа, концентрацию  $\alpha$ -токоферола и активность каталазы. Статистическую обработку результатов проводили с применением программного обеспечения «Statistica 10.0».

**Результаты исследования и их обсуждение.** В условиях кратковременного теплового стресса кислотно-основное состояние крови характеризуется увеличением pH на 1,2%. Отмечается уменьшение  $pCO_2$  на 26,7%,  $TCO_2$  – на 13,3%,  $HCO_3^-$  – на 11,6%. Повышается содержание кислорода на 133,7%,  $pO_2$  – на 132,1%. Насыщение крови кислородом возрастает с 47,10 (41,05-61,00) до 94,50 (92,55-95,55)%. Величина  $p50$  при стандартных значениях pH,  $pCO_2$  и температуры увеличивается с 26,44 (26,03-27,51) до 27,96 (27,70-28,77) мм рт.ст., что характеризует снижение сродства гемоглобина к кислороду. В реальных условиях данный показатель повышается с 26,60 (25,95-27,24) до 29,68 (28,96-30,65) мм рт.ст., что отражает смещение кривой диссоциации оксигемоглобина вправо и улучшение условий для отдачи кислорода тканям на уровне капилляров большого круга кровообращения.

Изучение влияния теплового стресса на прооксидантно-антиоксидантный баланс показало, что данное воздействие обуславливает резкий рост свободнорадикальных процессов при одновременном снижении активности антиоксидантной системы. Так, у испытуемых в плазме крови происходит увеличение уровня диеновых конъюгатов) на 33,3%, малонового диальдегида – на 48,4%, оснований Шиффа – на 38,7%. В эритроцитах после тепловой нагрузки также происходит рост активности сво-

боднорадикальных реакций: возрастает содержание диеновых конъюгатов на 26,3%, малонового диальдегида – на 30,5% и оснований Шиффа – на 55,1%. Увеличение активности процессов перекисного окисления липидов в условиях высокой температуры среды сопровождается снижением уровня  $\alpha$ -токоферола в плазме с 27,28 (26,66-29,34) до 25,15 (20,69-26,67) мкмоль/л и активности каталазы в эритроцитах – с 6,58 (6,12-7,26) до 5,60 (5,47-5,91)  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{мин/г Нв}$ .

Характер изменения кислотно-основного состояния крови отражает развитие респираторного алкалоза, что объясняется снижением уровня углекислого газа в результате развития гипервентиляции легких при повышении температуры тела при тепловом стрессе [7, 257]. Гипервентиляция легких и перераспределение кровотока со снижением доставки  $\text{O}_2$  к висцеральным органам с высоким уровнем обменных процессов, обуславливают рост оксигенированности венозной крови. Результаты исследования свидетельствуют об усилении свободнорадикальных процессов и снижении антиоксидантной защиты после теплового воздействия, очевидно, вызванные относительным недостатком поступления кислорода к внутренним органам и, как следствие, увеличением доли его использования по оксигеназному пути.

**Выводы.** Таким образом, кратковременный тепловой стресс приводит к изменениям кислотно-основного состояния и кислородтранспортной функции крови, проявляющимся развитием респираторного алкалоза, увеличением  $p\text{O}_2$ ,  $\text{SO}_2$ , уменьшением СГК и развитием окислительного стресса (усиление свободнорадикальных процессов, снижение антиоксидантной защиты).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А., Баевский Р.М., Берсенева А.П. Проблемы адаптации и учение о здоровье. – Изд-во РУДН, 2006. – 284 с.
2. Зинчук В.В. Кислородсвязывающие свойства крови // Lap Lambert Academic Publishing, 2012. – 167 с.
3. Золотухина Е.И., Улащик В.С. Современные методы термотерапии и их использование в клинической медицине // Здоровоохранение. – 2008. – № 10. – С. 30-38.

# ИЗМЕНЕНИЯ ВО ВРЕМЕНИ ПАРАМЕТРОВ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ И СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ДИАБЕТЕ

*Заводник И.Б., Лапшина Е.А., Чещевик В.Т.,  
Дремза И.К., Головач Н.Г.*

Гродненский государственный университет  
имени Янки Купалы, Гродно

Печень чрезвычайно чувствительна к токсическим воздействиям благодаря центральной роли в метаболизме ксенобиотиков и портальной локализации. Предполагают, что дисфункция митохондрий представляет начальный этап проявлений гепатотоксичности, а сами митохондрии служат первичной мишенью токсинов. Печень является также ключевым органом, обеспечивающим поддержание системного гомеостаза глюкозы у млекопитающих, регулируя уровень глюкозы плазмы крови. Согласно гипотезе об унифицирующем механизме развития диабета, дисфункция митохондрий и гиперпродукция ими супероксидных радикалов представляет основной механизм активации связанных с гипергликемией метаболических путей повреждения тканей при сахарном диабете.

В настоящей работе мы оценили зависимость степени нарушений функциональной активности и уровня антиоксидантной защиты митохондрий печени крыс от дозы токсического агента ( $CCl_4$ ), времени токсического воздействия и длительности диабета. Целью работы было выяснение возможности развития компенсаторных механизмов при интоксикации и диабете.

$CCl_4$  в дозе 4 г/кг спустя 12 ч вызывает выраженные нарушения энергетического обмена в митохондриях: уменьшение скорости потребления кислорода  $V_3$  (на 30% в случае использования глутамата и на 40% в случае использования сукцината); полное разобщение процессов окисления и фосфорилирования при использовании обоих субстратов дыхания (коэффициенты

АК=1 и ДК=1); уменьшение коэффициента фосфорилирования (АДФ/О=0). Скорости потребления кислорода  $V_2$  и  $V_4$  не отличались от контрольных значений при использовании обоих субстратов. Степень нарушений возрастала во времени: спустя 24 ч скорости  $V_2$  и  $V_4$  также не отличались от контрольных значений, тогда как скорость  $V_3$  снижалась на 50% в случае использования глутамата и на 60% в случае использования сукцината; коэффициенты АК и ДК в случае использования обоих субстратов равнялись единице, а коэффициент АДФ/О равнялся нулю.

Подобным образом при острой интоксикации  $CCl_4$  в меньшей дозе (0,8 г/кг) спустя 24 ч также наблюдали выраженное нарушение процессов окислительного фосфорилирования митохондрий (уменьшение скорости  $V_3$ , коэффициентов АДФ/О, ДК, АК) при использовании субстратов I и II комплексов дыхательной цепи на фоне отсутствия изменений антиоксидантной системы митохондрий, что связано, вероятно, с повреждением компонентов дыхательной цепи митохондрий (снижение активности сукцинатдегидрогеназы).

Интоксикация  $CCl_4$  (4 г/кг) через 24 ч приводила к снижению уровня глутатиона (на 25%) в митохондриях, увеличению содержания GSSP в митохондриях (на 30%) и активности митохондриальной глутатионпероксидазы (на 90%), что отражает развитие окислительного стресса в митохондриях. В то же время интоксикация  $CCl_4$  через 12 ч вызывала значительное повышение содержания глутатиона в 2,5 раза в цитоплазме клеток печени крыс, тогда как спустя 24 ч концентрация глутатиона уже не отличалась от контрольных значений, а уровень GSSP был повышен в 2,2 раза. Активности ферментов антиоксидантной защиты глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы в цитоплазме клеток печени спустя 12 ч были снижены на 25% и 30%, соответственно, а через 24 ч при той же дозе токсиканта не отличались от контрольных значений. Таким образом, из результатов видно, что активность ферментов метаболизма глутатиона в митохондриях и цитоплазме клеток печени коррелирует с уровнем глутатиона. Изменения ряда параметров, в первую очередь уровень GSH, активность сукцинатдегидрогеназы носят колебательный характер. Параллельно наблюдали окислитель-

ные повреждения белков и липидов ткани печени. Содержание белковых карбониллов в ткани печени спустя 24 ч после интоксикации  $\text{CCl}_4$  (4 г/кг) было повышено на 60%. Уровень ТБКРС в ткани печени при интоксикации  $\text{CCl}_4$  (4 г/кг) через 12 ч оставался неизменным, тогда как спустя 24 ч наблюдали повышение содержания ТБКРС на 40%.

Уровень NO в ткани печени при дозе  $\text{CCl}_4$  (4 г/кг) через 12 ч и 24 ч был повышен на 50%, что коррелирует с возрастанием оксида азота в плазме крови. Спустя 12 ч и 24 ч при интоксикации  $\text{CCl}_4$  активность одного из основных антиоксидантных ферментов в ткани печени, каталазы, оставалась неизменной, также как и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, поставляющего восстановительные эквиваленты.

Таким образом, мы наблюдали определенные компенсационные процессы в ткани печени, развивающиеся во времени: возрастание активности сукцинатдегидрогеназы, значительное увеличение уровня восстановленной формы глутатиона, снижение активностей глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы без изменения активности каталазы. Возрастание уровня глутатиона и снижение активности глутатион-метаболизирующих ферментов, вероятно, обусловлено воздействием либо развивающегося окислительного стресса [Deneke S.M., 1987], либо повышенного уровня NO, который способен активировать  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтазу [Kurozumi, 2005]. Митохондрии, таким образом, представляют собой одну из наиболее чувствительных мишеней в клетках печени, повреждаемых при токсическом воздействии.

При хронической интоксикации  $\text{CCl}_4$  (1,6 г/кг) мы не наблюдали изменения содержания TSH, PSH, активности глутатионтрансферазы в митохондриях печени крыс, тогда как уровень GSH и GSSP возрастал на 60% и 30%, соответственно, а активность глутатионпероксидазы снижалась на 40% без изменения активности глутатионтрансферазы. В цитоплазме клеток печени крыс наблюдали повышение содержания TSH (на 30%) вследствие возрастания содержания глутатиона в 2,5 раза, увеличение содержания GSSP в 1,5 раза и отсутствие изменений содержания PSH. Кроме того, наблюдали повышение содержания ТБКРС на

85% и снижение активности каталазы на 60%, что отражает развитие механизмов адаптации к длительному окислительному стрессу.

На ранних этапах экспериментального диабета (18 дней) мы наблюдали уменьшение уровня GSH (на 15%), снижение активности ферментов глутатионпероксидазы (на 25%) и каталазы (на 20%), уменьшение активности ферментов пентозофосфатного метаболического пути: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (на 60%) и транскетолазы (на 40%) в цитоплазме клеток печени крыс. В то же время уровень GSH и активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на более поздних этапах диабета (60 дней) значительно не отличались от контрольного уровня. В наших экспериментах развитие диабета сопровождалось нарушением метаболизма глюкозы и генерации НАД(Ф)Н вследствие ингибирования активности ферментов пентозофосфатного пути, повышением содержания NO и нарушением биоэнергетики клетки. Длительный экспериментальный диабет I типа (30 дней) приводит к нарушению параметров окислительного фосфорилирования в митохондриях печени (уменьшение  $V_3$ , АК, ДК) на фоне неизменной активности фермента сукцинатдегидрогеназы и значительного возрастания активности  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы при сохранении эффективности потребления митохондриями кислорода (коэффициент АДФ/О не изменялся) и мембранного потенциала. При длительном сахарном диабете I типа также как и при токсическом поражении печени мы наблюдали развитие адаптивных механизмов к длительному действию окислительного стресса: нормализация уровня восстановленной формы глутатиона и снижение активности глутатионсвязанных ферментов в митохондриях и ткани печени.

# О РОЛИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В БИОСТИМУЛИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

<sup>1</sup>Залеская Г.А., <sup>2</sup>Ласкина О.В., <sup>2</sup>Митьковская Н.П.

<sup>1</sup>Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск;

<sup>2</sup>Белорусский государственный медуниверситет, Минск

**Введение.** Низкоинтенсивное оптическое излучение (НОИ) широко используется в разных областях медицины. Сфера его терапевтического применения постоянно расширяется эмпирическим путем, опережая экспериментальные и теоретические исследования механизмов лечебного, биостимулирующего действия.

**Цель** настоящей работы – изучение влияния НОИ на кислородзависимые процессы и генерацию активных форм кислорода (АФК) при патологиях, сопряженных с продолжительным гипоксическим состоянием организма (заболевания сердечно-сосудистой системы (ЗССС)).

**Материал и методы исследования.** Изучались образцы крови пациентов с хроническими ЗССС и, как следствие, с разной степенью нарушения кислородного обмена. Облучение крови (ОК) *in vivo* осуществлялось: УФ излучением ртутной лампы (аппарат «Надежда», Россия), внутривенно лазерным излучением (632.8 нм или 670 нм, аппарат «Родник», Беларусь), а также надвенно (670 нм). Для каждого из методов использовались постоянные дозы. Для образцов облученной и необлученной крови, стабилизированной гепарином, сопоставлялись спектры поглощения, содержание различных фракций гемоглобина (Hb), степень насыщения гемоглобина венозной и артериальной крови кислородом ( $S_vO_2$  и  $S_aO_2$ ), парциальные давления газов крови, измеренные на приборе ABL-800 (Radiometer, Дания). Выполнялся статистический анализ данных, полученных в процессе исследования. Изменения считались значимыми при  $p < 0.05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Динамика кислородного обмена в течение курсов ОК *in vivo* изучалась по изменениям: спектров поглощения крови, газового состава,  $S_vO_2$ , содержания оксигемоглобина. Анализ спектров поглощения крови показал, что излучение используемых длин волн поглощается кровью,

Hb является первичным фотоакцептором. Инициированные ОК изменения формы и положения ее полос поглощения обусловлены диссоциацией комплексов Hb с лигандами непосредственно в эритроцитах. Первичный фотопроеесс – обратимая фотодиссоциация комплексов Hb с лигандами.

Изменения газового состава венозной крови и степени насыщения гемоглобина кислородом, на которые влияет отделение и присоединение лигандов, подтверждают предложенный механизм воздействия НОИ на кровь. Выявлены различия в краткосрочных и долгосрочных изменениях этих величин, которые претерпевали периодические осцилляции во время курса облучения и корректирующие сдвиги после окончания каждого из курсов. Во время процедур ОК происходили позитивные изменения в газовом составе крови и  $S_vO_2$ . Рост парциального давления кислорода  $p_vO_2$  и спад к началу следующего сеанса повторялись в течение каждого курса ОК. Во всех случаях давления  $p_vCO_2$  претерпевали изменения противоположные наблюдавшимся для  $p_vO_2$ .

Для отдельных пациентов индивидуальные изменения  $\Delta p_vO_2$  и  $\Delta p_vCO_2$  различались и зависели как от фотоиндуцированных изменений  $S_vO_2$ , так и от исходных значений  $p_vO_2$  и  $p_vCO_2$  в крови отдельных пациентов. В целом ОК оказывало регуляторный эффект на содержание газов крови, проявлявшийся в тенденции к уменьшению  $p_vO_2$  и  $p_vCO_2$  при высоких исходных значениях и увеличению при низких. Аналогичные краткосрочные и долгосрочные изменения при ОК наблюдались для  $S_vO_2$ .

Для оценки влияния ОК на кислородный обмен оценивались изменения артериовенозного различия по кислороду ( $AVPO_2$ ). Также как для  $S_vO_2$  и  $p_vO_2$  ОК инициировало у отдельных пациентов отличавшиеся по величине и даже разнонаправленные изменения  $AVPO_2$  с подобными зависимостями  $\Delta AVPO_2$  от  $\Delta S_vO_2$  для разных методов. Известно, что от  $AVPO_2$  зависит потребление  $O_2$  органами и тканями. Оказывая влияние на кислородный обмен в организме, ОК изменяет как потребление  $O_2$  тканями, так и поступление кислорода в клетки, что может способствовать нормализации внутриклеточных процессов производства АФК.

АФК в физиологически допустимых количествах действуют как регуляторы метаболических процессов, приспособлявая обмен веществ к патологическим условиям [2]. Коррекция баланса

между наработкой АФК и их ингибированием компонентами антиоксидантной защиты рассматривается нами как процесс, позволяющий стимулировать положительные терапевтические эффекты фототерапии [1].

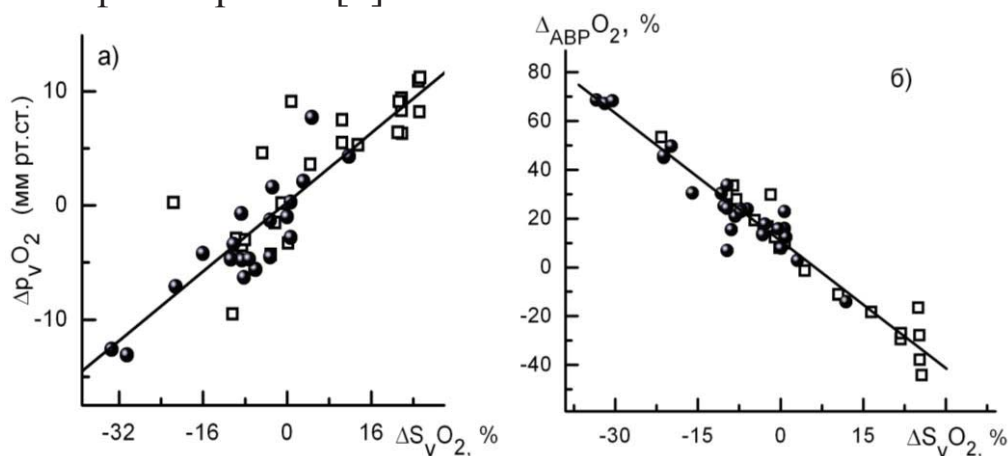


Рисунок 1 – Зависимости изменений парциальных давлений кислорода в венозной крови  $\Delta p_v O_2$  (а) и артериовенозной разности по кислороду  $\Delta ABP O_2$  (б) от  $\Delta S_v O_2$  после курсов УФОК (●) и НЛОК (□) излучением 670 нм; коэффициенты линейной корреляции  $r=0.67$  (а) и  $r=-0.97$  (б) при  $p<0.001$

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Залеская Г.А. Фотомодификация крови терапевтическими дозами оптического излучения. – Минск: Белорусская наука. – 2014.
2. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: биохимические и патофизиологические аспекты. – М: Наука: Интерпериодика – 2001.

## ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНАЯ СИСТЕМА РЕГУЛЯЦИИ КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ КРОВИ КАК ЧАСТЬ КРАТКОСРОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ

*Зинчук В.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

Адаптация к гипоксии, направленная на сохранение его жизнедеятельности в условиях дефицита кислорода, контролируется как центральными, так и межклеточными и внутриклеточными регуляторными механизмами, необходимыми для поддержа-

ния внутриклеточного уровня кислорода, структуры и функции клетки, а также ее метаболизма и, в первую очередь, синтеза энергии и энергозависимых процессов [3]. Кислородтранспортная функция крови обладает большим резервом изменения в содержании кислорода и его отдаче. Если сравнить артериовенозную разницу по кислороду крови, оттекающей от сердца и почки, видны существенные возможности крови в способности отдавать кислород, изменять оксигенацию тканей. Важно, что это достигается достаточно мобильно и без больших энергозатрат в сравнении с кровообращением.

Гемоглобин как аллостерический белок имеет множество связывающих участков, способных осуществлять обратимое нековалентное связывание с первичным лигандом, обуславливая их четвертичные конформационные изменения, вызываемые связыванием лигандов (гомotropные эффекты) и их модуляция вторичными эффекторами (гетеротропные эффекты), что определяет фундаментальное свойство гемоглобина обеспечивать кислородтранспортную функцию крови и отвечать на изменения физиологических потребностей в  $O_2$  организмом [2]. В нормальных условиях дыхания свойства гемоглобина в сосудистом русле не постоянны, а меняются по мере того как эритроциты движутся с потоком крови из артерий в вены, от одного органа к другому. Кислородтранспортная функция крови есть результат комбинированного взаимодействия непосредственно СГК и факторов, модулирующих его.

Как известно,  $p_{50}$  для гемоглобина в чистом растворе составляет примерно 16-18 мм рт. ст., а для внутриэритроцитарного гемоглобина – почти в 1,5-2 раза больше. Около 50 лет назад была предложена оригинальная и элегантная гипотеза аллостерической модели, описывающая функциональное поведение гемоглобина. Этот белок является динамичной молекулярной «машиной», структура и функция которого модулируется различными факторами [5]. Это пример молекулярного механизма ферментативной адаптации, позволяющий быстро и тонко реагировать на внешние возмущения. Кислородтранспортная функция крови есть результат модулирующего действия различных аллостерических эффекторов, таких как  $H^+$ ,  $Cl^-$ ,  $CO_2$ , органичес-

кие фосфаты и др., обеспечивающих адаптацию к гипоксической гипоксии. СГК определяется в значительной степени аллостерическим взаимодействием между гемоглобином и различными физиологическими модуляторами ( $H^+$ , 2,3-ДФГ,  $CO_2$  и др.), которые в совокупности на уровне клеточного компартмента крови образуют внутриэритроцитарную систему регуляции её кислородсвязывающих свойств. Данная система осуществляет регуляцию свойств гемоглобина и демонстрирует зависимость от метаболических процессов в эритроцитах, что с учетом скоростей биохимических реакций предполагает относительно быстрые изменения кислородсвязывающих свойств крови в ответ на внешние возмущения [1]. Через данный внутриэритроцитарный механизм положение кривой диссоциации оксигемоглобина может значительно изменяться в зависимости от потребностей организма в кислороде.

В крови циркулирует пул различных NO-производных, обеспечивающих биоактивность NO, в разных редокс-условиях. Эритроцитарная NO-синтаза может обеспечивать сосудорасширяющее действие в прилегающих к сосудам регионам в условиях гипоксии. Образование NO и его производных осуществляется во всех форменных клетках крови, но с различной активностью. Синтез NO внутри эритроцита, с одной стороны, может обеспечивать компенсаторную ловушку NO, а с другой – механизм поддержания эффективной внутриклеточной сигнализации [4].

Вклад NO во внутриэритроцитарные механизмы регуляции кислородсвязывающих свойств крови изучался в различных опытах *in vitro*. Доноры монооксида азота, относящиеся к группе S-нитрозотиолов, при соотношении NO и гемоглобина, равном 1:1, повышают сродство венозной крови к кислороду в опытах *in vitro*. Модифицирующее действие, оказываемое донорами монооксида азота на кислородсвязывающие свойства крови в опытах *in vitro*, зависит от степени насыщения гемоглобина кислородом. Действие пероксинитрита как модулятора кислородсвязывающих свойств крови наиболее эффективно реализуется при средних значениях напряжения кислорода и зависит от напряжения углекислого газа. Облучение магнитным полем в течение 120 сек. в опытах *in vitro* изменяет кислородсвязывающие свойства крови,

проявляющееся повышением, реализуемое через активацию NO-зависимых внутриэритроцитарных механизмов.

Процесс адаптации к гипоксии, направленный на поддержание кислородного гомеостаза организма, реализуется за счет сложнейшей системы межклеточных сигнальных взаимодействий, последовательно вовлекающихся на разных стадиях процесса [3]. Анализ особенностей внутриэритроцитарной регуляции свойств гемоглобина демонстрирует зависимость его свойства от метаболических процессов в эритроцитах, что с учетом скоростей биохимических реакций предполагает относительно быстрые изменения кислородсвязывающих свойств крови в ответ на внешние возмущения, но в то же время ресурс механизмов регуляции СГК ограничен и не может обеспечить длительно адаптивное поведение крови.

Таким образом, анализ собственных результатов исследований указывает, что монооксид азота выполняет роль аллостерического эффектора в механизмах относительно автономной системы регуляции свойств крови, который влияет на мобильность их адаптивных изменений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Борисюк М.В. Особенности регуляции кислородсвязывающих свойств крови в процессе ее циркуляции // Усп. физиол. наук. – 1984. – Т. 15, № 2. – С. 3-26.
2. Зинчук В.В. Кислородсвязывающие свойства крови: избранное. LAP LAMBERT, 2012. – 167 с.
3. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И., Сукоян Г.В. Новое о сигнальных механизмах адаптации к гипоксии и их роли в системной регуляции // Патогенез. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 4-14.
4. Cortese-Krott M.M., Kelm M. Endothelial nitric oxide synthase in red blood cells: Key to a new erythrocrine function? // Redox. Biol. – 2014. – Vol. 9, № 2. – P. 251-258.
5. Miele A.E., Bellelli A., Brunori M. Hemoglobin allostery: new views on old players // J. Mol. Biol. – 2013. – Vol. 425, № 9. – P. 1515-1526.

# ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В СЕРДЦЕ КРЫС В РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ ИНФАРКТА МИОКАРДА

*Иванов Е.В., Давыдова М.П., Гаврилова С.А.*

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова  
Москва

**Введение.** Ишемия миокарда вызывает метаболические нарушения в кардиомиоцитах, которые влекут за собой снижение рН, накопление восстановительных эквивалентов, биосинтез белков раннего реагирования, провоспалительных факторов. Во время реперфузии приток кислорода вызывает так называемое реперфузионное повреждение – продукцию большого количества свободных радикалов в короткий момент времени и связанные с этим повреждения клеточных структур. Глобализируется воспаление. Оксид азота при ишемии и ишемии-реперфузии играет двойную роль: эндотелий-зависимая вазодилатация и анти-апоптотические эффекты обеспечивают защиту миокарда. Гиперпродукция NO приводит к повреждающим эффектам, прежде всего через образования пероксинитрита; прямое связывание с белками может менять их функцию, а взаимодействие с металлосодержащими центрами необратимо повреждает ферменты. Рассматривают три пути образования оксида азота: неферментативный, нитритредуцирующий и NO-синтазный. Считается, что первые два из них реализуются лишь при низком парциальном давлении кислорода и в условиях ацидоза, т.е. при необратимой ишемии миокарда. Основным источником оксида азота – группа NO-синтаз. Для биосинтеза NO требуют кислород, аргинин, тетрагидробиоптерин и восстановительные эквиваленты, регулируются уровнем кальция. Индуцибельная изоформа, iNOS, продуцируется при воспалении, кальций-кальмодулиновый домен связан с ней ковалентно, поэтому она кальций-независима. В миокарде в норме iNOS отвечает за синтез не более чем десятой части оксида азота, но после индукции воспалительными цитокинами и увеличения экспрессии синтезирует подавляющее количество оксида азота [1, 2, 3].

**Цель исследования.** Для корректной оценки причин и источников увеличения продукции NO в сердце во время развития инфаркта, для изучения роли оксида азота в патогенезе этого заболевания исследовали особенности экспрессии мРНК iNOS в разных отделах левого желудочка (ЛЖ) сердца крыс в моделях необратимой ишемии через 2 и 4 часа и в модели ишемии-реперфузии через 4 часа от начала ишемии.

**Материал и методы исследования.** Инфаркт моделировали у самцов белых беспородных крыс массой 300-400 г. Под хлоралгидратным наркозом, 400 мг/кг, необратимо перевязывали (НИ) или пережимали на 2,5 часа с последующей реперфузией (ИР) левую коронарную артерию. Пробы миокарда отбирали из зоны ишемии (передняя стенка ЛЖ), из неишемизированного миокарда (межжелудочковая перегородка) и зоны, прилегающей к зоне риска (задняя стенка ЛЖ). РНК выделяли хлороформно-фенольным методом. Экспрессию мРНК iNOS оценивали методом ОТ-ПЦР в уравненных по содержанию РНК пробах и нормировали значения на уровень экспрессии мРНК бета-актина.

**Результаты и их обсуждение.** У интактных животных выявили небольшое количество мРНК iNOS, одинаковое во всех отделах сердца. Необратимая ишемия не вызывала изменений экспрессии мРНК iNOS через два часа от момента ишемии, через 4 часа уровень мРНК вырос в 20-30 раз только в зоне ишемии. В межжелудочковой перегородке и боковой стенке изменения не выявлены. Реперфузия коронарной артерии привела к увеличению экспрессии мРНК iNOS через 4 часа от ишемии в 30–50 раз во всех исследованных зонах миокарда по сравнению с интактным контролем. Итак, обнаружили два факта: 1. Нарастание экспрессии мРНК iNOS в пораженной области происходит через 4 часа после установления ишемии. 2. В непораженных ишемией областях миокарда в модели ишемии-реперфузии через 4 часа также значительно увеличивается экспрессия. Глобализация воспалительной реакции является отличительной особенностью реперфузионной модели и является одной из дополнительных повреждающих факторов в условиях реперфузии. Можно предположить два возможных пути увеличения концентрации мРНК iNOS в удаленных от зоны ишемии областях. Во-первых, распростра-

нение провоспалительных цитокинов по восстановленному кровотоку и в ответ на нарастание экспрессии iNOS в кардиомиоцитах. Во-вторых, распространение активированных клеток воспаления по кровотоку в другие области миокарда. Первый путь увеличения м-РНК iNOS менее вероятен, так как от момента реперфузии до взятия материала прошло 1,5 часа, промежуток времени недостаточный для значимой наработки мРНК iNOS. Второй механизм более реален, так как активированные провоспалительные клетки уже имеют высокий уровень экспрессии мРНК iNOS и поэтому могут быть причиной значимого повышения концентрации мРНК в этих образцах миокарда.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Manukhina E.B., Downey H.F. and Mallet R.T. Role of Nitric Oxide in Cardiovascular Adaptation to Intermittent Hypoxia // Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2006. – № 231. – P. 343-365.
2. Zweier J.L., Samouilov A., Kuppusamy P. Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems // Biochimica et Biophysica Acta. – 1999. – № 1411. – P. 250-262.
3. Zweier J.L., Li H., Samouilov A., and Liu X. Mechanisms of Nitrite Reduction to Nitric Oxide in the Heart and Vessel Wall // Nitric Oxide. – 2010. – Vol. 22, № 2. – P. 83–90.

## **ОБРАЗОВАНИЕ ТБК АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ПЕРЕХВАТЧИКОВ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ В УЗ ПОЛЕ**

*Игнатенко В.А., Кузнецов Б.К., Лысенкова А.В.,  
Бибешко А.В., Козловский Д.А., Азаренок А.С.*

Гомельский государственный медицинский университет,  
Гомель

Эффективность взаимодействия радикалов в водных растворах с гемоглобином (HbO<sub>2</sub>) и лигандами определяли из следующих соображений. Продукты звукохимических реакций воды и растворов - результат взаимодействия радикалов между собой и с растворенными веществами. Все вещества, растворенные в воде, могут рассматриваться как акцепторы радикалов

воды,  $\text{OH}$ ,  $\text{HO}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ . В результате их реакций с радикалами воды образуются радикалы растворенных веществ. При взаимодействии с окислительными радикалами  $\text{OH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}^+$  происходит окисление (отщепление электрона или  $\text{H}$ , или присоединение  $\text{OH}$ ) вещества. При взаимодействии с восстановительной компонентой ультразвукового действия на воду ( $\text{H}$  и  $e^-_{\text{aq}}$ ) – восстановление растворенного соединения в растворе веществ, в реакциях в которых расходуются радикалы растворенного вещества [1].

Защитным действием по отношению к образованию метНв из оксиНв в ультразвуковом поле обладают глюкоза и глицерин (рис. 1).

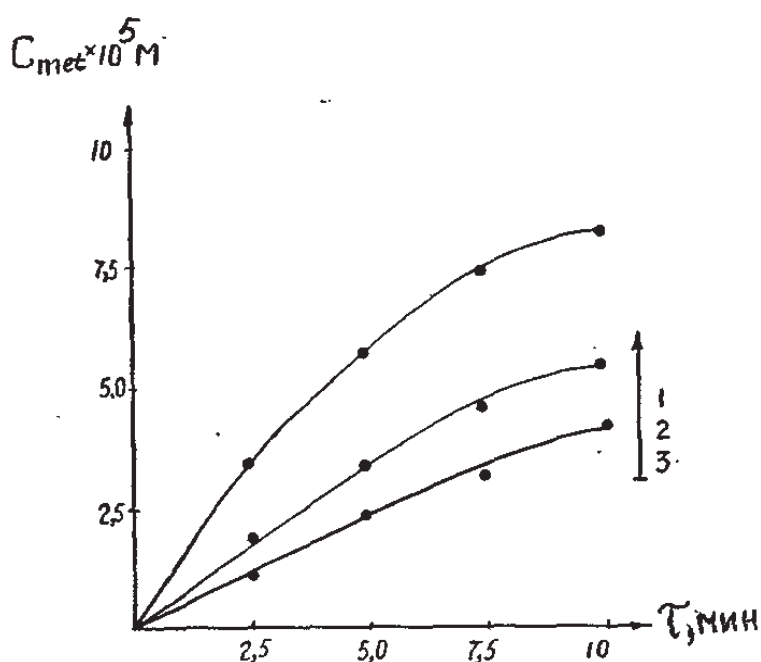


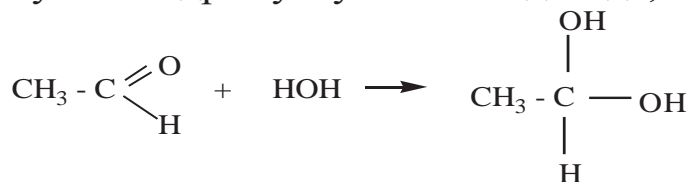
Рисунок 1 – Кинетические кривые образования метНв при действии ультразвуковых волн на растворы оксиНв (1), содержащие глюкозу (2) и глицерин (3). УЗ – 880 кГц, интенсивность 2 Вт/см<sup>2</sup>

Однако эффективность перехвата гидроксильных радикалов в сравнении с оксиНв этих веществ значительно ниже. Снижение эффективности взаимодействия с радикалами кислорода спиртов и углеводов связано с образованием стабильных продуктов, которые можно определить спектрофотометрически.

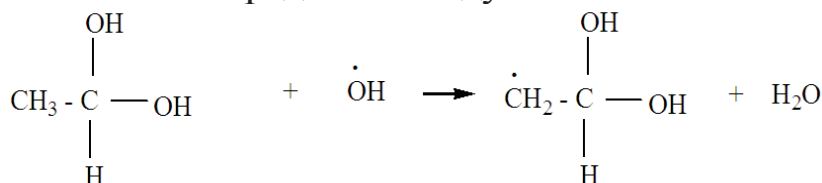
В связи с тем, что продукты, образующиеся из углеводов и спиртов при взаимодействии с радикалами кислорода, образуют вещества, которые опять взаимодействуют с радикалами кислорода образуя вещества, которые опять взаимодействуют с ради-

калами и т.д. В этом случае возможно образование веществ, обладающих ТБК активностью. Так, с молекулами спирта в ультразвуковом поле могут происходить следующие превращения:  $C_2H_5OH + \dot{OH} \rightarrow CH_3-CH_2\dot{O} + H_2O$ , где из полученных двух этоксид радикалов, возможно, получаются ацетальдегид и этанол

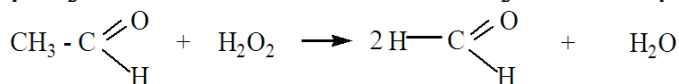
по реакции  $2(CH_3-CH_2\dot{O}) \rightarrow CH_3-C \begin{matrix} \text{=O} \\ \text{H} \end{matrix} + C_2H_5OH$ . В водной среде образуется гидрат уксусного альдегида,



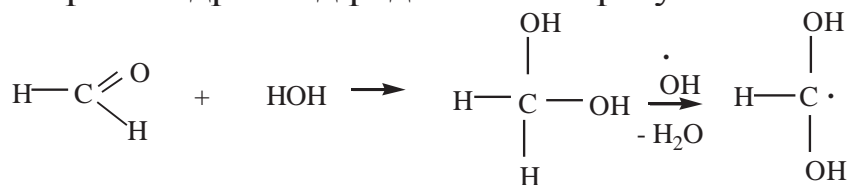
который, взаимодействуя с гидроксильным радикалом, может образовать новый радикал и воду по схеме:



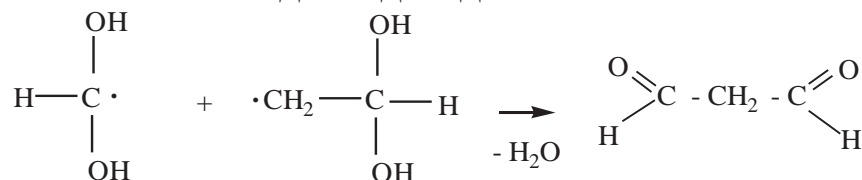
При взаимодействии ацетальдегида с водород пероксидом образуются две молекулы формальдегида и вода:



Формальдегид при взаимодействии с водой образует неустойчивый гидрат, при действии на который гидроксид радикалом образуется новый радикал:



В результате рекомбинации двух радикалов возможно образование малонового диальдегида:



Пробы облученных УЗ спиртов при добавлении ТБК, и кипячении 15 минут давали розовую окраску с максимумом поглощения на  $\lambda=532$  нм, в диапазоне 530-536 нм, что соответству-

ет максимуму оптической плотности поглощения малонового диальдегида (МДА) [2], рис. 2.

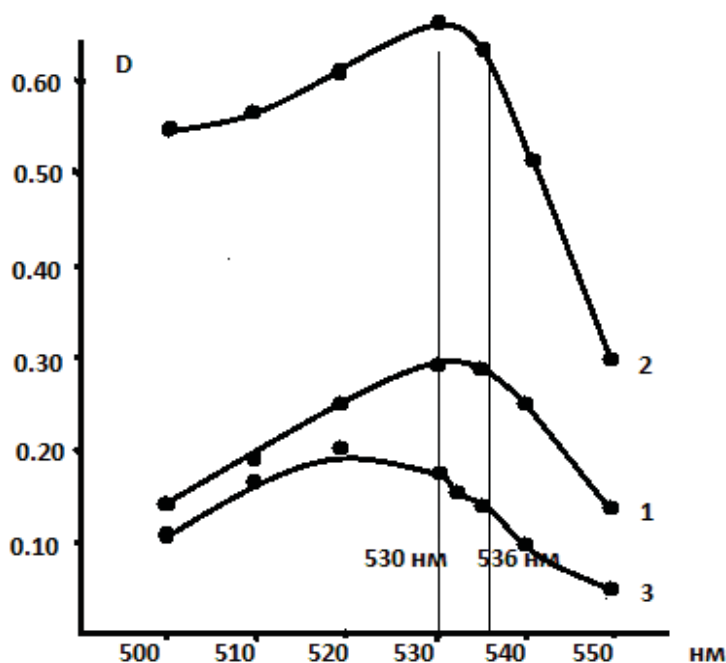
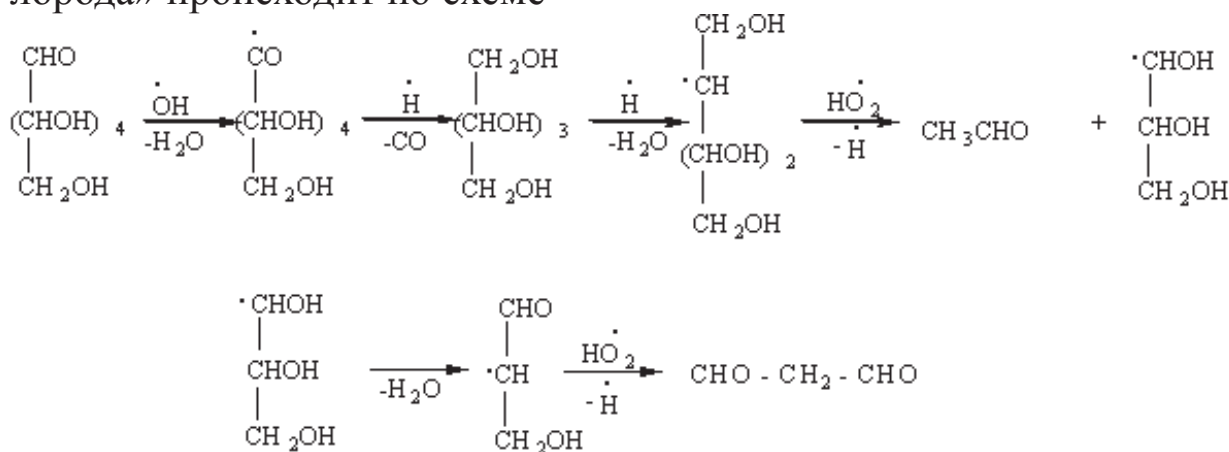


Рисунок 2 – Спектр поглощения ТБК активных продуктов, полученных из растворов: 1-метанола; 2 – этанола; 3 – глицерина под действием ультразвука интенсивностью 2 Вт/см<sup>2</sup>, частота 880 кГц в течение 20 минут. Концентрация спиртов по 0.5 мл на 20 мл растворителя. pH 5.6

Превращение глюкозы под действием «активных форм кислорода» происходит по схеме



В результате этих превращений возможно образование МДА. Пробы облученных УЗ углеводов при добавлении ТБК и кипячении 15 минут давали розовую окраску с максимумом поглощения на  $\lambda=532$  нм, в диапазоне 530-536 нм, что соответствует максимуму оптической плотности поглощения малонового диальдегида [3] (рис. 3).

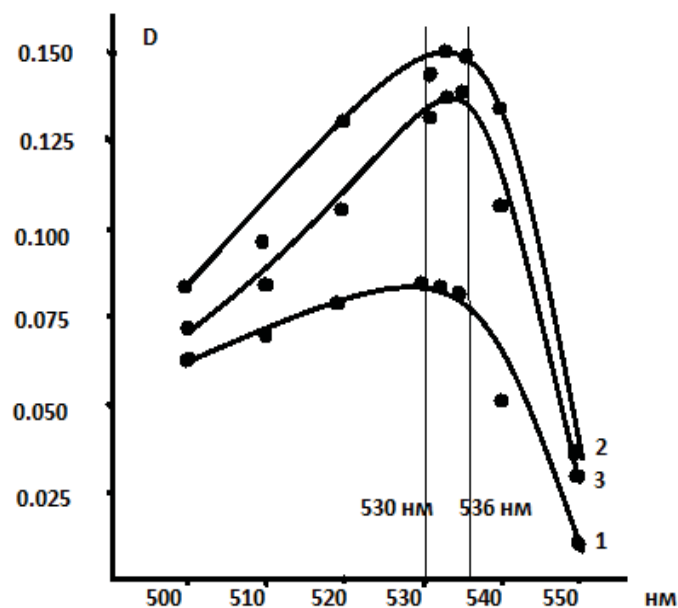


Рисунок 3 – Спектр поглощения ТБК активных продуктов, полученных из растворов: 1 – глюкозы; 2 – сахарозы; 3 – сахара под действием ультразвука интенсивностью 2 Вт/см<sup>2</sup> частота 880 кГц в течение 20 минут. Концентрация углеводов по 250 мг на 20 мл растворителя. рН 5.6

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Эльпинер И.Е. Биофизика ультразвука. – М.: Наука, 1973. – С. 383.
2. Игнатенко В.А., Лысенкова А.В., Калинин А.Л., Казушик А.Л. ТБК-активные продукты перекисного окисления липидов эритроцитов в УЗ- поле и при наличии этанола // Проблемы здоровья и экологии. – 2012. – Т. 34, № 4. – С. 117-122.
3. Дерюгина А.В., Корягин А.С., Копылова С.В., Таламанова М.Н. Методы изучения стрессовых и адаптационных реакций организма по показателям системы крови. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет. – 2010. – 25 с.

## ДЕФИЦИТ ГЛУТАТИОНА ВЫЗЫВАЕТ УГНЕТЕНИЕ ФУНКЦИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

*Казакевич В.Б., Руткевич С.А.*

Белорусский государственный университет, Минск

**Введение.** Восстановленный глутатион (GSH) присутствует в ЦНС в значительных количествах и высвобождается, как и окисленный глутатион (GSSG), при деполяризации астроцитов [1]. В последние годы появилось данные, согласно которым GSH и GSSG можно отнести к нейромодуляторам, имеющим

глиальное происхождение. Уровень GSH и активность ферментов (глутатион-S-трансферазы (GST), глутатионпероксидазы), использующих его в астроцитах, намного выше, чем нейронах [2, 3], и нарушение синтеза GSH, а также повышенное расхождение в реакциях детоксикации нарушает снабжение и функционирование нейронов [4].

**Целью** работы явилось исследование влияния диэтилмалеата (DEM), вызывающего истощение GSH в головном мозге, на показатели поведения, электрической активности коры, вегетативных и соматических нервов лабораторных грызунов.

**Методы исследования.** Эксперименты выполнены на крысах весом 250-290 г, находящихся под уретановым наркозом, которым были имплантированы электроды во фронто-париетальную соматосенсорную кору. Спонтанную симпатическую импульсацию регистрировали в волокнах брюшного аортального сплетения, а показатели Н-рефлекса – в мышцах подошвенной поверхности стопы крыс, возникающий при стимуляции медиального подошвенного нерва. Регистрация и обработка зарегистрированных электрических сигналов выполнялась на компьютеризированной электрофизиологической установке с помощью программы «Inputwin». Поведение мышей изучали в тесте «открытое поле»  $d=1$  м, ограниченное по окружности бортами высотой 30 см со стороной квадрата 10 см, по площади которого были неравномерно расположены 16 отверстий, предназначенных для выявления специфического компонента исследовательской активности грызунов (норковый рефлекс). DEM вводили внутрибрюшинно в дозе 0,6 мл/кг.

**Результаты и их обсуждение.** Наблюдения за поведением мышей в «открытом поле» в течение 20-40 минут после введения препарата показали, что у них резко снижается горизонтальная и вертикальная двигательная активность, а также исследовательская мотивация, что выражалось в полном отсутствии норковых реакций.

В электрофизиологических экспериментах на крысах установлено, что в начальный период действия DEM (на 6-10-й минутах) происходила активации синаптических процессов во фронто-париетальной коре, что выражалось в значительном

усилении альфа- и бета-активности. Затем развивалась высоко-амплитудная дельта-активность, характерная для глубокого сна. Эта активность сохранялась до конца эксперимента, то есть длилась примерно с 20 по 60 минуту после инъекции DEM.

Регистрация спонтанной электрической активности симпатических эфферентных волокон брюшного аортального сплетения выявила временное увеличение (на 10-15 минут), а затем значительное снижение частоты импульсов (в среднем на 30%) под влиянием DEM в течение следующего часа наблюдения.

Рефлекторные потенциалы, регистрируемые в мышцах стопы крыс, которые возникали при стимуляции медиального подошвенного нерва, также достоверно снижались к 20 минуте после воздействия DEM и оставались стабильно низкими до конца эксперимента. Эти данные свидетельствуют о стойком снижении возбудимости мотонейронов спинного мозга.

Известно, что DEM эффективно снижает уровень антиоксиданта GSH в клетках в реакции конъюгации, катализируемой GST [5]. Обнаруженные в работе эффекты DEM согласуются с данными литературы о том, что стимуляция перекисного окисления и накопление в мозге GSSG являются важными факторами, вызывающими медленноволновой сон [6]. Так как запасы GSH высоки в астроцитах и эпендимальных клетках, непосредственно примыкающих к гематоэнцефалическому барьеру и спинномозговой жидкости, но не в нейронах [2], можно предположить, что эти клетки и являются первичной мишенью DEM в ЦНС. Об этом же свидетельствуют полученные данные о модуляции Н-рефлекторных ответов. Известно, что в нейронах передних рогов спинного мозга взрослых грызунов GSH практически не содержится [7], поэтому обнаруженный эффект можно объяснить результатом истощения GSH в окружающей нейроглие и снижением его трафика к нервным клеткам и нейропиллю, где он, вероятно, играет роль положительного модулятора глутаматергической передачи.

**Выводы.** Истощение запасов восстановленного глутатиона в организме лабораторных грызунов с помощью диэтилмалеата приводит к угнетению поведенческой активности, снижению показателей электрической активности церебральной коры, вегетативных эфферентов и соматических рефлексов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Dringen R., Hirrlinger J. Glutathione pathways in the brain // Biol. Chem. – 2003. – 384. – P. 505-516.
2. Sun X. et al. Two-photon imaging of glutathione levels in intact brain indicates enhanced redox buffering in developing neurons and cells at the cerebrospinal fluid and blood-brain interface // J. Biol. Chem. – 2006. – Vol. 281. – P. 17420-17431.
3. Khanna P. Antioxidant enzymatic system in neuronal and glial cells enriched fractions of rat brain after aluminum exposure // Cell. Mol. Neurobiol. – 2007. – Vol. 27. – P. 959-969.
4. Keelan J. et al. Quantitative imaging of glutathione in hippocampal neurons and glia in culture using monochlorobimane // J. Neurosci. Res. – 2001. – Vol. 66. – P. 873-884.
5. Buchmüller-Rouiller Y. et al. Role of glutathione in macrophage activation: effect of cellular glutathione depletion on nitrite production // Cell Immunol. – 1995. – Vol. 164 – P. 73-80.
6. Ikeda M. et al. Brain oxidation is an initial process in sleep induction // Neuroscience – 2005. – Vol. 130. – P. 1029-1040.
7. Beiswanger C.M. et al. Developmental changes in the cellular distribution of glutathione and glutathione S-transferases in the murine nervous system // Neurotoxicology. – 1995. – Vol. 16. – P. 425-440.

## РЕДОКС-МОДУЛЯЦИЯ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИНИЦИИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ДОКСОРУБИЦИНОМ

*Канунникова Н.П.<sup>1</sup>, Пеховская Т.А.<sup>2</sup>, Коваленчик И.В.<sup>2</sup>,  
Лукиенко Е.П.<sup>2</sup>, Семенович Д.С.<sup>1</sup>, Угляница К.Н.<sup>3</sup>,  
Мойсеенок А.Г.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Гродненский государственный университет им. Я. Купалы;

<sup>2</sup> Институт биохимии биологически активных соединений НАНБ;

<sup>3</sup> Гродненский государственный медицинский университет,

Гродно

Роль эритроцитов (эритрона) в поддержании про- и антиоксидантного равновесия в системе кровообращения и тканевых системах организма в целом получила новое подтверждение в связи с раскрытием механизма поглощения эритроцитом супероксидного радикала [3]. В этой связи представляет интерес исследование системы глутатиона эритроцитов и его редокс-статуса при индуцировании окислительного стресса химиотера-

пептическим препаратом доксорубицином, для которого характерно активирование процесса образования супероксидного радикала [4, 5]. Возможность модулирования этого эффекта чрезвычайно важна для достижения оптимальной эффективности данного противоопухолевого средства. Поиск редокс-модулирующего соединения составляет актуальную задачу химиотерапии, в частности, среди препаратов, обладающих универсальной редокс-активирующей способностью (пантетин – дисульфидное производное пантотеновой кислоты – пантетеина) или способного опосредованно (через индуцирование селенсодержащих ферментов тиоредоксинредуктазы или глутатионпероксидазы) изменять баланс окисленных и восстановленных форм глутатиона в тканях [2].

Животные (крысы-самцы) получали в течение 5 дней пантетин (200 мг/кг, в/жел), селенометионин (200 мкг/кг, в/жел), или их сочетание. Доксорубицин вводили однократно за 3 дня до декапитации в эффективной терапевтической дозе (5 мг/кг, в/бр). На 6-й день животных декапитировали, собирали кровь, выделяли эритроциты, в которых и определяли показатели системы глутатиона. На основании соотношения окисленной и восстановленной форм глутатиона был рассчитан показатель редокс-потенциала глутатиона эритроцитов по уравнению Нернста (Eh). Для оценки воздействия основного субстрата глутатионпероксидазной (ГПО) активности перекиси водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) на электрон-донорные и электрон-акцепторные свойства внутриклеточной среды был использован «редокс-сенсор» – 2,7-дихлоргидрофлуоресцеин (H<sub>2</sub>DCF) [1], который легко проникает в клетки и в присутствии окислителя (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) превращается в сильно флуоресцирующий продукт – 2,7-дихлорфлуоресцеин (DCF). Снижение интенсивности реакции наступает в результате утилизации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> антиоксидантными системами (то есть ГПО) и используется для оценки редокс-буферной емкости эритроцита.

Установлено, что и пантетин, и селенометионин вызывают повышение уровня общего глутатиона за счет увеличения содержания его восстановленной формы при одновременном повышении соотношения GSH/GSSG. Показатель редокс-потенциала глутатиона в эритроцитах при этом также возрастает (уменьше-

ние степени окисленности величины Eh), что сопровождается повышением скорости окисления H<sub>2</sub>DCF (таблица).

Таблица – Показатели редокс-статуса эритроцитов при введении пантетина, селенометионина и доксорубицина (\* – p<0,05)

Группы	GSH/GSSG	Eh, мВ	Скорость окисления H <sub>2</sub> DCF, усл. ед/мг Hb
Контроль	20,31±3,48	-273,3±3,2	0,50±0,25
Селенометионин	22,55±6,36	-278,4±4,8*	0,89±0,18 *
Пантетин	27,02±7,10*	-282,3±5,2*	1,04±0,19 *
Селенометионин + пантетин	24,60±5,26	-276,7±3,6*	0,58±0,24
Селенометионин + пантетин + доксорубицин	17,95±2,74	-270,1±3,4	0,60±0,19

По-видимому, эти изменения можно расценить как показатели увеличения общего редокс-потенциала эритроцитов при введении пантетина и селенометионина, позиционируемых как антиоксиданты. Однако при совместном введении препаратов их эффект ослаблялся. Обнаружено также резкое снижение и общего глутатиона (за счет восстановленной формы), соотношения GSH/GSSG и показателей редокс-потенциала при назначении комплекса антиоксидантов совместно с доксорубицином. Значения всех этих показателей возвращаются практически на уровень значений контрольной группы. Полученные результаты указывают на активирование восстановительного потенциала системы глутатиона и процесса окисления H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в эритроцитах крыс при введении антиоксидантов – селенометионина и пантетина, но не при их сочетанном введении, в том числе на фоне доксорубицина.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Мартинович Г.Г. и др. Количественная характеристика редокс-состояния эритроцитов // Биофизика. – 2008. – Т. 53 (в.4). – С. 618-623.
2. Kanunnikova N.P., Bashun N.Z., Moiseenok A.G. Use of CoA biosynthesis modulators and selenoprotein model substances in correction of brain ischemic and reperfusion injuries // Lipid Peroxidation. Ch.23. – Intechopen. – 2012. – P. 492-513.
3. Minetti M., Pietraforte D. et al. Red blood cells as a model to differentiate between direct and indirect oxidation pathways of peroxynitrite // Methods Enzymol. – 2008. – V.440. – P. 253-272.
4. Montero A., Jassem J. Cellular redox pathways as a therapeutic target in the treatment of cancer // Drugs. – 2011. – V. 71. – P. 1385-1393.
5. Wondrak G.T. Redox-directed cancer therapeutics: molecular mechanisms and opportunities // Antioxid. Redox Signal. – 2009. – V. 11(12). – P. 3013-3069.

## НАРУШЕНИЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

*Кидун К.А.*

Гомельский государственный медицинский университет,  
Гомель

Спермальные митохондрии играют ключевую роль в обеспечении нормальной фертильности от стадии сперматогенеза до процесса взаимодействия сперматозоида с яйцеклеткой. На ранних стадиях сперматогенеза необходимое для роста и созревания количество энергии АТФ продуцируется преимущественно митохондриями. В процессе митохондриального дыхания образуются активные формы кислорода (АФК), необходимые для обеспечения процессов нормального функционирования сперматозоидов, таких как гиперактивация, капацитация, акросомальная реакция, а также для нормального взаимодействия с яйцеклеткой [1, 2]. В целом существуют две системы, с помощью которых сперматозоиды производят АФК: NADPH-оксидазы плазматической мембраны и митохондриальные NADH-зависимые оксидоредуктазы. В зрелых сперматозоидах цитоплазма практически отсутствует, поэтому основным источником АФК в них является система митохондриальных NADH-зависимых оксидоредуктаз [1].

В норме продукция АФК сбалансирована с нейтрализующими их антиоксидантными системами. Дефицит антиоксидантной емкости сперматозоидов в условиях повышенной выработки АФК может приводить к окислительному стрессу.

Высокое содержание АФК в непосредственной близости от митохондриальной ДНК (мтДНК) и примитивные механизмы репарации [3] обуславливают более высокий риск ее мутаций, чем в ядерной ДНК [2]. Скорость мутаций мтДНК человека оценивается примерно от  $3 \times 10^{-6}$  до  $2,7 \times 10^{-5}$  в общей популяции, тогда как частота мутаций ядерной ДНК –  $2,5 \times 10^{-8}$  [4]. Известно, что МтДНК с делециями реплицируются быстрее, чем нормальная мтДНК.

Дефекты митохондриальной дыхательной активности влияют на сперматогенез, вызывают мейотический арест, особенно на стадии пахитены в мейозе I. Сперматоциты в условиях дис-

функции дыхательной цепи не могут завершить мейоз и удаляются путем апоптоза. Сперматоциты, имеющие меньшее количество мутантной мтДНК, заканчивают мейоз и превращаются в сперматиды. Большинство сперматозоидов, которые в последующем образуются из них, имеют аномалию шейки, ядра и низкую двигательную активность. Дефицит энергообеспечения зрелых сперматозоидов обуславливает снижение их двигательной активности с развитием астеноспермии.

Изменение митохондриального генома приводит к нарушению процесса окислительного фосфорилирования и снижению мембранного потенциала, вызывает развитие митохондриальной дисфункции, и, в свою очередь, ведет к увеличению продукции АФК. Гиперпродукция АФК способствует развитию окислительного стресса как в зрелых сперматозоидах, так и в семенниках. Развитие окислительного стресса провоцирует увеличение продукции азотсодержащих соединений, известных под общим названием активных форм азота (АФА) [5]. АФА включают оксид азота, пероксинитрит анион, а также нитроксильный ион, нитрозил-содержащие соединения. Действие, оказываемое оксидом азота на клетки, во многом зависит от его количества. Физиологический уровень оксида азота играет важную роль в капацитации, акросомной реакции, реакции связывания с прозрачной зоной, обеспечении подвижности и жизнеспособности сперматозоидов, а также уменьшает объем повреждения при окислительном стрессе, снижает потребность тканей в кислороде [5]. В патологических количествах (больше одного микромоля) NO подавляет стероидогенез в клетках Лейдига, а также вызывает ингибирование митохондриальных ферментов, что приводит к снижению выработки АТФ, а также ферментов, участвующих в репликации ДНК. Кроме того, NO и пероксинитрит могут непосредственно повреждать ядерную и митохондриальную ДНК сперматозоидов в процессе дезаминирования, окисления или нитрования [5]. Сперматозоиды наиболее подвержены повреждению, индуцированному АФК и АФА, за счет высокого содержания полиненасыщенных жирных кислот в мембранах и низкой концентрации ферментов антиоксидантной системы в цитоплазме.

Таким образом, развитие окислительного стресса может приводить к повреждению мембран, главным образом митохондриа-

льных, с изменением мембранного потенциала и развития митохондриальной дисфункции сперматозоидов. В зависимости от состояния антиоксидантных систем, степени зрелости клетки, интенсивности и продолжительности действия стрессового фактора последствия развития окислительного стресса для отдельных сперматозоидов различны: от снижения подвижности до их гибели.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Agarwal, A. Oxidative stress and antioxidants in male infertility: a difficult balance / A. Agarwal, S.A. Prabakaran, // Iranian Journal of Reproductive Medicine. – 2005. – Vol. 3, № 1. – P. 1-8.
2. Mitochondrial functionality in reproduction: from gonads and gametes to embryos and embryonic stem cells / Joao Ramalho-Santos [et al.] // Hum. Reprod. Update. – 2009. – Vol. 15, № 5. – P. 553–572.
3. O’Connell, M. A comparison of mitochondrial and nuclear DNA status in testicular sperm from fertile men and those with obstructive azoospermia / M.O’Connell, N.McClure, S.E.M.Lewis // Human Reproduction. – 2002. – Vol. 17, № 6. – P. 1571-1577.
4. Wallace, D.C. The pathophysiology of mitochondrial disease as modeled in the mouse / D.C. Wallace, WeiWei Fan // Genes and Development. – 2009. – Vol. 23, № 15. – P. 1714–1736.
5. Doshi, S.B. Role of reactive nitrogen species in male infertility / S.B. Doshi, K. Khullar, R.K. Sharma, A. Agarwal // Reproductive Biology and Endocrinology 2012. – Vol 10. – P. 109-120.

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПУРИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ КОРОНАРНОГО КРОВОТОКА У ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ ЛИНИИ TG $\alpha$ Q\*44

*Козловский В.И.<sup>1</sup>, Зинчук В.В.<sup>1</sup>, Хлопицкий С.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Гродненский государственный медицинский университет, Гродно;

<sup>2</sup> Ягеллонский университет, Краков

**Введение.** Аденозин и другие пурины (АМФ, АДФ и АТФ) играют важную роль в механизмах регуляции коронарного кровотока. С другой стороны, аденозин участвует в механизмах защиты от окислительного стресса [4].

**Целью** настоящего исследования явилось изучить эффекты аденозина, АДФ и АТФ в коронарном русле в условиях хронич-

ческого окислительного стресса у трансгенных мышей линии Tgαq\*44.

Методы исследования. Трансгенные мыши линии Tgαq\*44 с повышенной экспрессией гена, ответственного за α-субъединицу трансмембранного сигнального белка Gq, получены в Гарвардской медицинской школе (Бостон, США) на основе мышей линии FVB [3]. Уже в возрасте 2 месяцев у этих животных повышено содержание супероксид-аниона в сердце, а в возрасте 14 месяцев у них развивается дилатационная кардиомиопатия и дисфункция коронарного эндотелия [2].

Исследование проводилось на модели изолированного сердца, перфузированного по методу Лангендорфа [1]. В течение эксперимента измерялся коронарный поток (КП) – объём жидкости, протекавший через сердце в единицу времени. Аденозин, АДФ и АТФ вводились болюсно в объёме 10 мкл. Для оценки роли аденозиновых рецепторов в механизме эффектов пуринов использовался антагонист аденозиновых рецепторов 8-сульфофенилтеофиллин (8-СФТ,  $5 \cdot 10^{-5}$  М), который добавлялся в перфузионный раствор. Кроме того, с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией измерялось выделение аденозина в эфлюэнте из изолированного сердца после введения исследованных соединений. Эксперименты были проведены на мышах трёх возрастных групп: 2, 8 и 14 месяцев, в качестве контроля использовались животные линии FVB соответствующих возрастов.

**Результаты и их обсуждение.** Аденозин, АДФ и АТФ увеличивали КП у трансгенных и у контрольных мышей. Эффекты пуринов не различались у контрольных и трансгенных мышей 2-месячного возраста. В то же время у мышей линии Tgαq\*44 8 и 14 месяцев уменьшение коронарорасширяющего эффекта АДФ под влиянием 8-СФТ было больше в сравнении с контрольными мышами данных возрастов (таблицы 1 и 2). Прирост КП, вызванный аденозином, у 14-месячных мышей линии Tgαq\*44 был в 1,3 раза выше, чем у контрольных мышей того же возраста. Наряду с этим выделение аденозина после введения АДФ у трансгенных мышей примерно в 2 раза выше в сравнении с контролем: 145,4 (115,3; 169,1) и 76,4 (68,5; 93,3) пкМ/мин, соответственно.

Таблица 1 – Влияние 8-СФТ ( $5 \cdot 10^{-5}$  М) на прирост КП, вызванный аденозином, АДФ и АТФ (все в дозе  $10^{-9}$  М) в изолированном сердце мышцей линий Tgaq\*44 и FVB в возрасте 8 месяцев –  $M \pm S$  или Me (25%;75%)

Соединение	контрольные мыши FVB (n=10)			трансгенные мыши Tgaq*44 (n=16)		
	прирост КП (мл/мин)		% снижения 8-СФТ	прирост КП (мл/мин)		% снижения 8-СФТ
	без 8-СФТ	в присутствии 8-СФТ		без 8-СФТ	в присутствии 8-СФТ	
аденозин	2,33±0,41	0,43±0,13	82,8 (80,2;85,4)	2,24±0,61	0,46±0,22	80,8 (75,5;87,4)
АДФ	1,76 (1,64;1,86)	0,87 (0,72;0,97)	51,8±10,7	1,96 (1,77;2,11)	0,62 (0,50;0,84)*	66,6±10,7*
АТФ	2,19±0,33	1,34±0,31	37,9±14,7	2,01±0,50	1,15±0,31	41,6±13,73

Примечание: здесь и далее \* – статистически достоверное различие при сравнении мышцей линий Tgaq\*44 и FVB по критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ )

Таблица 2 – Влияние 8-СФТ ( $5 \cdot 10^{-5}$  М) на прирост КП, вызванный аденозином, АДФ и АТФ (все в дозе  $10^{-9}$  М) в изолированном сердце мышцей линий Tgaq\*44 и FVB в возрасте 14 месяцев –  $M \pm S$  или Me (25%; 75%)

Соединение	контрольные мыши FVB (n=9)			трансгенные мыши Tgaq*44 (n=17)		
	прирост КП (мл/мин)		% снижения 8-СФТ	прирост КП (мл/мин)		% снижения 8-СФТ
	без 8-СФТ	в присутствии 8-СФТ		без 8-СФТ	в присутствии 8-СФТ	
аденозин	1,86 (1,69;1,94)	0,35 (0,30;0,48)	82,2 (75,0;86,0)	2,38 (2,06;2,45)*	0,33 (0,23;0,39)	85,5 (79,6;90,4)
АДФ	1,64 (1,55;1,93)	0,78 (0,68;1,21)	48,5±10,4	1,88 (1,46;2,06)	0,61 (0,50;0,82)*	61,3±12,8*
АТФ	1,85±0,32	1,24±0,41	34,3±14,7	2,09±0,37	1,20±0,37	43,6±12,7

Результаты проведенных экспериментов показали, что в сердце мышцей линии Tgaq\*44 в сравнении с сердцами контрольных мышцей линии FVB отмечается более существенный вклад аденозина в коронарорасширяющий эффект АДФ, что обусловлено усилением образования аденозина из АДФ. Указанные изменения предшествуют развитию дилатационной кардиомиопатии и дисфункции коронарного эндотелия. Очевидно, активация продукции аденозина из адениновых нуклеотидов в коронарных сосудах – компенсаторный механизм, направленный на уменьшение последствий окислительного стресса. В то же время у 14-месячных мышцей линии Tgaq\*44 увеличивается коронарорасширяющий эффект аденозина, что может быть обусловлено иррегуляцией аденозиновых рецепторов и также может рассмат-

риваться как механизм обеспечения перфузии миокарда в условиях дисфункции коронарного эндотелия.

### **Выводы:**

1. В изолированном сердце трансгенных мышей линии Tgαq\*44 8 и 14 месяцев отмечен более существенный, чем у контрольных животных линии FVB, вклад аденозиновых рецепторов в коронарную вазодилатацию, вызванную АДФ, что обусловлено повышенной генерацией аденозина из АДФ.

2. Коронарорасширяющий эффект аденозина более выражен у мышей линии Tgαq\*44 14 месяцев в сравнении с контрольными животными соответствующего возраста.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Chlopicki S, Kozlovski V.I., Lorkowska B. et al. Compensation of endothelium-dependent responses in coronary circulation of eNOS-deficient mice // J Cardiovasc Pharmacol. – 2005. – Vol. 46, № 1. – P. 115–123.

2. Drelicharz L., Kozlovski V., Skorka T. et al. NO and PGI(2) in coronary endothelial dysfunction in transgenic mice with dilated cardiomyopathy // Basic. Res. Cardiol. – 2008. – Vol. 103, № 5. – P. 417–430.

3. Mende, U., Semsarian C., D.C. Martins D.C. et al. Dilated cardiomyopathy in two transgenic mouse lines expressing activated G protein alpha(q): lack of correlation between phospholipase C activation and the phenotype // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2001. – Vol. 33. P. 1477–1491.

4. Ramkumar V. Nie Z., Rybak L.P., Maggiewar S.B. Adenosine, antioxidant enzymes and cytoprotection // Trends Pharmacol Sci. – 1995. – Vol. 16. – P. 283–285.

## **ИЗОБРЕТАТЕЛЬСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОТРУДНИКОВ ГРОДНЕНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА В ОБЛАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА**

*Королёв П.М.*

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

В 1982 г. в ЦНИЛ Гродненского мединститута была создана лаборатория по исследованию кислородтранспортной функции крови под руководством проф. Борисюка М.В. Впоследствии на базе указанной лаборатории была создана научная школа «Системные механизмы транспорта кислорода», руководителем ко-

торой с 1997 г. является проф. Зинчук В.В. [1]. Научная школа объединила сотрудников вуза, выполняющих исследования, связанные с ее тематической направленностью.

Одним из изважных критериев, определяющих признание научной школы, является ее изобретательский потенциал, способствующий формированию международного имиджа. В связи с этим представляло интерес проанализировать изобретательскую активность сотрудников Гродненского государственного медицинского университета (ГрГМУ) в области изучения системы транспорта кислорода за период с 1982 г. по март 2014 г.

Для реализации поставленной цели была использована база данных изобретений Роспатента [2] и Национального центра интеллектуальной собственности Государственного комитета по науке и технологиям Республики Беларусь [3].

В результате проведенного исследования установлено, что за указанный выше период времени сотрудники ГрГМУ получили по теме исследования 30 охранных документов на изобретения, из них 6 авторских свидетельств СССР и 24 патента Республики Беларусь.

Первые авторские свидетельства СССР на изобретения по проблеме разработки различных аспектов СТК были получены в 1982 г. проф. Борисюком М.В. (А.с. № 940204 SU, А.с. № 974397 SU, А.с. № 978044 SU), что явилось хорошим стимулом для реализации изобретательской активности сотрудников ГрГМУ по указанной выше проблеме.

Наиболее часто технические решения по теме исследования патентовались по классам Международной патентной классификации А61В, А61К, А61М, А61N, А61Р, С07С, G01N, G09В. В таблице 1 представлены объекты изобретения, их количество и номера авторских свидетельств и патентов, по которым можно найти полные описания изобретений с использованием соответствующих баз данных [2, 3].

Наиболее активными изобретателями по теме исследования, получившими три и более патентов, являются проф. Борисюк М.В., проф. Зинчук В.В., проф. Максимович Н.Е., проф. Иоскевич Н.Н., д.м.н. Шейбак В.М., доц. Наумов А.В., доц. Ходосовский М.Н., доц. Дорошенко Е.М., доц. Королёв П.М., асс. Шульга Е.В.

Таблица 1 – Характеристика изобретений сотрудников ГрГМУ, касающихся исследования системы транспорта кислорода

Объекты изобретения	Количество изобретений	Номера охранных документов
устройства	1	№ 978044 SU
Способы моделирования заболеваний и патологических состояний	7	А.с. № 974397 SU А.с. № 940204 SU А.с. № 1534491 SU. А.с. № 1728879 SU № 17199 BY, №17665 BY № 00019 BY
Способы исследования и диагностики	3	А.с. № 1232216 SU № 14611 BY, № 16410 BY
Способы профилактики и лечения	9	№ 5439 BY, № 5523 BY № 5524 BY, № 8459 BY № 10665 BY, № 14286 BY № 14474 BY, № 15098 BY № 16071 BY
Средства для профилактики и лечения	10	№ 5820 BY, № 10552 BY № 11175 BY, № 12584 BY № 12608 BY, № 13519 BY № 14188 BY, № 15877 BY № 17030 BY, № 17264 BY

Наиболее результативный период изобретательской активности зарегистрирован в 2011-2013 гг., когда было получено 12 патентов по теме исследования.

На рассмотрении в Белгоспатенте на 30.03.2014 г. находилось 18 опубликованных заявок по теме исследования, что дает основание ожидать достаточно высокой изобретательской активности в этом направлении на ближайшую перспективу.

В общем количестве патентов, выданных Национальным центром интеллектуальной собственности Республики Беларусь сотрудникам ГрГМУ за период исследования, доля патентов по СТК составила 10,3%.

Приведенные выше сведения являются подтверждением достаточно высокой изобретательской активности сотрудников ГрГМУ, объединенных в научную школу «Системные механизмы транспорта кислорода».

## ЛИТЕРАТУРА

1. Научные школы гродненского государственного медицинского университета : монография / под. ред. В.А. Снежицкого, В.В. Зинчука. – Гродно : ГрГМУ, 2013. – 314 с.
2. Федеральная служба по интеллектуальной собственности (роспатент). Базы данных по изобретениям [электронный ресурс]. – 2014. – Режим доступа: <http://www1.fips.ru/wps/portal/ips>. – Дата доступа: 30.03.2014.
3. Национальный центр интеллектуальной собственности. (белгоспатент). Базы данных объектов промышленной собственности - [электронный ресурс]. – 2014. – Режим доступа: <http://www.belgospatent.org.by/> – Дата доступа: 30.03.2014.

## ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА В ПРОМЫВНОЙ ЖИДКОСТИ ИЗ ОЖГОВОЙ РАНЫ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

*Ковальчук-Болбатун Т.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** В последние годы было показано, что в основе развития любого критического состояния лежит нарушение баланса прооксидантных и антиоксидантных систем, получившее название «окислительного стресса» [1]. Основными механизмами его формирования при тяжелых ожогах являются расстройства общего кровообращения и микроциркуляции, гипоксия и эндогенная интоксикация, инфекция. В остром периоде ожоговой травмы на фоне повышенной сосудистой проницаемости и секвестрации плазмы в интерстициальное пространство формируется относительная и абсолютная гиповолемия, централизация кровообращения. Последняя имеет приспособительный характер, обеспечивая адекватный кровоток в приоритетных органах (мозг, сердце, легкие), но одновременно приводит к существенным нарушениям регионарного кровотока. Нарастающие нарушения микроциркуляции сопровождаются тканевой гипоксией, активацией анаэробного гликолиза, образованием активных форм кислорода (АФК), которые одновременно запу-

скают процессы свободнорадикального окисления с последующим повреждением клеточных мембран и гибелью клетки. Подобные окислительные реакции идут с образованием токсических метаболитов, в том числе и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), которые в норме нейтрализуются в достаточной степени многокомпонентной антиоксидантной системой организма (АОС) [4].

Формирование свободных радикалов – важный защитный механизм, лежащий в основе неспецифического иммунитета. Фагоцитоз приводит к многократному увеличению содержания свободных радикалов в фагоцитирующих клетках с одновременным повышением потребления кислорода в 20 и более раз (так называемый «дыхательный взрыв») [3]. Вместе с тем АФК являются основой патогенеза многих патологических процессов, обладают антигенными свойствами, запускают аутоиммунные процессы повреждения тканей [2].

**Цель.** Определение показателей иммунитета в промывной жидкости из ожоговой раны.

**Материалы и методы.** Было обследовано 26 детей в возрасте до 3-х лет с термическими ожогами IIIA-IIIБ степени. Проводили забор промывной жидкости, полученной непосредственно из очага поражения в объеме 10 мл физиологического раствора на 13-16 сутки от момента получения травмы. Исследовали фагоцитарную активность нейтрофилов, относительное количество лейкоцитов и экспрессию лимфоцитарных антигенов с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD19. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по фагоцитарному индексу (ФИ) – процент фагоцитов, содержащих поглощенные микробные тела относительно общего числа, и по фагоцитарному числу (ФЧ) – среднее число на один фагоцит.

Полученные данные были обработаны методами непараметрической статистики с использованием критерия Манна-Уитни в программе Statistica 10.0. Достоверными считались различия при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Оценка функционирования клеток иммунной системы в локальном очаге поражения имеет диагностическое значение: в группе пациентов с тяжелым тече-

нием ожоговой травмы отмечены выраженные изменения специфической и неспецифической иммунорезистентности в виде резкого снижения фагоцитарной активности нейтрофилов (ФИ – 20,0 (20,0;36,0)%, ФЧ – 4,5 (4,0;5,2), лейкопении 2,1 (1,3;2,6)/мкл и подавления экспрессии лимфоцитарных антигенов (CD3 – 23,5 (20,0;31,0)%, CD4 – 22,5 (20,0;28,0)%, CD8 – 21,0 (20,0;27,5)%, CD19 – 14,0(10,0;18,5)%. Эти изменения приводят к снижению уровня элиминации клетками иммунной системы патогенной микрофлоры, усилению воспалительного процесса. Низкая функциональная активность клеток иммунной системы – не только общая, но и местная – определяет длительность течения и хронизацию процесса при ожоговой болезни.

Местный иммунный ответ при ожоговых повреждениях развивается на фоне воздействия огромного количества токсинов обожженных тканей, усиления пероксидации липидов, нарушения структуры мембранных клеток и, следовательно, экспрессии клеточных рецепторов. При тяжелых термических поражениях особенно угнетены клеточные механизмы защиты. Значительное угнетение Т- и В-систем иммунитета приводит к резкому снижению сопротивляемости организма к бактериальным агентам, что может стать предпосылкой для развития как местных, так и общих инфекционных осложнений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Горожанская, Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях / Э.Г. Горожанская // Клиническая диагностика. – 2010. – № 6. – С. 28–44.
2. Клигуненко, Е.Н. Интенсивная терапия ожоговой болезни / Е.Н. Клигуненко, Д.П. Лещев, С.В. [и др.]. – М.: Медпресс-информ, 2005. – 142 с.
3. Левин, Г.Я. Роль перекисного окисления липидов в агрегации клеток крови при ожоговой болезни / Г.Я. Левин, М.Н. Егорихина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – № 8. – С 43–44.
4. Почепень, О.Н. Перекисное окисление липидов и окислительный стресс у пациентов с тяжелой термической травмой / О.Н. Почепень // Здоровоохранение. – 2011. – № 1. – С. 19–23.

# ТЕЛЕМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ $\text{CO}_2$ В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ В ПРОЦЕССЕ ДЫХАТЕЛЬНОГО ЦИКЛА

*Кисляков Ю.Я., Кислякова Л.П., Зайцева А.Ю., Гуляев В.И.*

ФГБУН Институт аналитического приборостроения  
Российской академии наук, Санкт-Петербург

**Введение.** Важнейшим условием активной деятельности человека является поддержание его организма на требуемом уровне энергетического и пластического метаболизма, в значительной степени характеризуемого интенсивностью потребления  $\text{O}_2$  и выделения  $\text{CO}_2$ , образовавшегося в ходе биохимических реакций. Для исследований этих процессов разработаны приборы, контролирующие процессы дыхания и содержание в выдыхаемом воздухе респираторных газов. Это сложные и дорогостоящие устройства, которые регистрируют показатели газообмена с временной задержкой, обусловленной технологией удаления влаги из выдыхаемого воздуха. Это обстоятельство ограничивает их возможности при диагностике морфофизиологических особенностей дыхательной системы. Проблема синхронной регистрации парциальных давлений  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$  и объемной скорости выдоха в ходе каждого дыхательного цикла была нами решена при разработке аналитического комплекса, предназначенного для массовых исследований [1, 2].

**Цель** настоящего исследования – разработка аналитического комплекса для морфофизиологической диагностики дыхательной системы путем измерений парциального давления  $\text{CO}_2$  и объемной скорости выведения этого газа из легких у человека в ходе дыхательного цикла.

**Описание комплекса.** Аналитический комплекс состоит из двух блоков: *измерительного* и *информационного*.

Измерительный блок осуществляет регистрацию объемной скорости выдоха и парциального давления  $\text{CO}_2$  в порциях выдыхаемого воздуха у испытуемого и передает эти данные в информационный блок, который осуществляет определение на этой основе динамических характеристик скорости выделения

CO<sub>2</sub> в процессе выдоха. Измерительный блок состоит из модулей пробоотбора, сенсорного, электронного и передачи данных в информационный блок, в состав которого входят модули приема, обработки, анализа и хранения данных.

*Модуль пробоотбора* представляет собой дыхательную трубку, в которой поддерживается стабильная температура.

*Сенсорный модуль* состоит из двух быстродействующих датчиков – объемной скорости выдоха (Q, л/с) и парциального давления CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>, мм рт. ст.) в выдыхаемом воздухе.

*Электронный модуль регистрации данных* (на основе микропроцессора) выполняет высокоточные измерения выходных сигналов сенсоров – электрических потенциалов электродов – и передачу этих данных в информационный блок.

*Модули передачи и приема данных* осуществляют связь измерительного блока с информационным по каналам проводной или беспроводной связи.

*Модуль обработки, анализа и хранения данных* обеспечивает статистическую обработку и анализ результатов измерений, а также визуальное отображение и хранение информации в виде массива данных, таблиц и графиков.

*Основные измеряемые параметры:* объемная скорость выдыхаемого воздуха и парциальное давление CO<sub>2</sub> в нем.

*Определяемые параметры:* объемы выдыхаемого воздуха и выдыхаемого CO<sub>2</sub> в ходе дыхательного цикла.

**Результаты экспериментальных исследований.** Для отработки методики исследований были выполнены измерения у пяти добровольцев в спокойном состоянии объемной скорости дыхания и парциальных давлений CO<sub>2</sub> в потоке выдыхаемого воздуха при умеренных выдохах. Типичный результат измерений представлен в таблице 1.

Таблица 1 - результат измерений объемной скорости дыхания и парциальных давлений CO<sub>2</sub> в потоке выдыхаемого воздуха

Время, сек	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6
Скорость выдоха, л/сек	1.7	3.0	4.3	5.7	5.0	4.0	1.0	0.4
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	30.2	38.4	38.7	39.3	40.0	40.1	40.2	40.2

По результатам этих измерений рассчитывали объем выдыхаемого  $\text{CO}_2$  в фиксированных равных порциях выдыхаемого воздуха. Длительность выдоха, объемы выдыхаемого воздуха и  $\text{CO}_2$  у испытуемых варьировали в значительных пределах. Поэтому для их сравнения результаты измерений у каждого испытуемого нормировали в процентах относительно их максимальных величин. Результаты расчетов динамики содержания  $\text{CO}_2$  (средние значения по четырем измерениям объема  $\text{CO}_2$ , выведенного за один цикл в %) в порциях выдыхаемого воздуха представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты расчетов динамики содержания  $\text{CO}_2$  (средние значения по четырем измерениям объема  $\text{CO}_2$ , выведенного за один цикл в %) в порциях выдыхаемого воздуха

Объем выдоха, %	0-20	20-40	40-60	60-80	80-100
Испытуемый 1, объем выведенного $\text{CO}_2$ , %	8.2	26.2	34.3	24.9	6.4
Испытуемый 2, %	19.7	20.5	25.8	23.0	11.0
Испытуемый 3, %	12.3	43.2	28.5	13.2	2.8
Испытуемый 4, %	8.3	17.5	33.8	27.5	12.9
Испытуемый 5, %	18.5	52.4	19.7	5.2	4.2

Результаты проведенных исследований показали, что динамика содержания  $\text{CO}_2$  в потоке выдыхаемого воздуха у каждого испытуемого имеет свои индивидуальные особенности, которые определяются морфологическими и физиологическими параметрами дыхательной системы испытуемого.

**Выводы.** Разработан аналитический комплекс, предназначенный для измерений парциального давления  $\text{CO}_2$  и объемной скорости выведения этого газа из легких у человека в ходе дыхательного цикла. Данные показатели могут быть использованы для диагностики индивидуальных морфо-физиологических параметров дыхательной системы человека.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кислякова Л.П., Кисляков Ю.Я., Полукаров И.А., Зайцева А.Ю. Телеметрический многофункциональный капнограф // В мире научных открытий. – 2012. – Т. 26, № 2. – С. 152-154.
2. Kislyakov Yu.Ya., Kislyakova L.P., Zaiceva A.Yu., Gulyaev V.I. Universal mobile analytical complex for research of respiration and gas exchange in man and animals // Фізіологічний журнал. – 2013. – Т. 59, № 4. – С. 103-106.

# ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКАЯ ОБУЧАЕМАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕЛОВЕКА ПРИ УМЕРЕННЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ КОНДЕНСАТА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА

*Кислякова Л.П., Кисляков Ю.Я., Зайцева А.Ю., Гуляев В.И.*

ФГБУН Институт аналитического приборостроения  
Российской академии наук, Санкт-Петербург

**Введение.** Существующие методы оценки функционального состояния человека основываются на контроле комплекса физиологических и биохимических показателей, осуществляемом высокоточными, сложными в эксплуатации и дорогостоящими аналитическими приборами. Параллельно с этим подходом в последние десятилетия для решения данной задачи интенсивно развиваются новые методы диагностики, имитирующие принципы организации нервной системы биологических объектов. Их особенности: использование полиселективных сенсоров с перекрестной чувствительностью к разным группам значимых химических компонентов исследуемой среды; оценка результатов измерений с применением математических методов обучения, распознавания образов, обработки больших массивов многомерной информации и математических моделей искусственных нейронных сетей. Они успешно применяются для контроля функционального состояния по показателям жидких и газообразных сред организма [1, 2].

**Цель работы:** создание искусственной обучаемой мультисенсорной аналитической системы для оценки и контроля функционального состояния человека по интегральным электрохимическим показателям конденсата выдыхаемого воздуха при умеренных физических нагрузках.

**Описание комплекса.** Аналитический комплекс состоит из двух блоков: *измерительного* и *информационного*.

Измерительный блок содержит модули: пробоподготовки, сенсорный и микропроцессорный. Информационный блок содержит модули обучения и распознавания образов.

**Модуль пробоподготовки:** устройство на базе элемента Пельтье для отбора конденсата из потока выдыхаемого воздуха.

*Сенсорный модуль:* представляет собой массив полиселективных электрохимических сенсоров, имеющих: 1) высокую чувствительность к основному иону ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{H}^+$  и др.), 2) воспроизводимую перекрестную чувствительность к определенным группам ионов и веществ конденсата, многие из которых являются важными компонентами и индикаторами состояния организма. Совокупность ЭДС, регистрируемых сенсорами в конденсате, позволяет формировать его «образы» в виде композиций электродных потенциалов.

*Микропроцессорный измерительный модуль* обеспечивает высокоточные измерения ЭДС сенсоров в пределах  $\pm 2$  В с допускаемой основной абсолютной погрешностью не более  $\pm 0.02$  мВ.

*Информационный модуль* выполняет функции *обучения* (создание библиотеки «образов эталонов функционального состояния») и *распознавания* предъявляемого «образа» путем его сравнения с «образами эталонов» из библиотеки.

**Результаты экспериментальных исследований.** Для отработки методики измерений были выполнены исследования конденсата выдыхаемого воздуха на 3-х испытуемых ( $n=4$ ) до и после умеренной физической нагрузки (подъем умеренным шагом на 5-й этаж и спуск с него). В экспериментах с физической нагрузкой использовали 8 потенциометрических полиселективных сенсоров с перекрестной чувствительностью. Результаты численного представления «образов» конденсата, испытуемого в виде композиции из восьми потенциалов (Е..., мВ), регистрируемых полиселективными сенсорами до умеренной физической нагрузки, представлены в таблице 1, а после нее – в таблице 2.

Таблица 1

Испытуемый	ЕрН	ЕН <sup>+</sup>	ЕНа <sup>+</sup>	ЕК <sup>+</sup>	ЕНО <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ЕНН <sub>4</sub> <sup>+</sup>	ЕCl <sup>-</sup>	ЕF <sup>+</sup>
1.	32,10	83,48	-49,75	-26,03	187,6	-30,71	159,05	170,1
2.	57,50	126,75	16,81	-21,86	183,25	-15,70	110,10	185,81
3.	-59,17	-39,48	-47,40	-22,33	125,81	3,59	187,21	242,11

Таблица 2

Испытуемый	ЕрН	ЕН+	ЕНа+	ЕК+	ЕНО3-	ЕНН4+	ЕCl-	ЕF-
1.	-17,80	-37,08	7,74	22,30	142,75	-15,50	145,80	254,81
2.	32,25	101,65	13,30	18,37	139,15	-15,50	152,20	295,47
3.	-42,12	-51,23	-64,10	-13,02	193,42	-58,20	163,91	302,11

Результаты проведенных исследований показывают, что «образ» каждого из испытуемых, формируемый композицией из 8 потенциалов электрохимических сенсоров в конденсате выдыхаемого воздуха, в покое имеет свои индивидуальные особенности. Умеренные физические нагрузки видоизменяют его. При этом характер изменений также индивидуален.

**Выводы.** Разработана искусственная обучаемая мультисенсорная аналитическая система для представления функционального состояния человека в виде индивидуального «образа», формируемого по интегральным электрохимическим показателям конденсата выдыхаемого воздуха. Особенности его изменений могут быть использованы в диагностических целях.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кисляков Ю.Я., Кислякова Л.П., Зайцева А.Ю. Обучаемая мультисенсорная электрохимическая система «Электронный язык» для контроля биологических сред // Proceedings XVI International Conference on Neurocybernetics. – Ростов-на-Дону, 2012. – P. 93-96.

2. Kislyakova L.P., Kislyakov Yu.Ya., Zaiceva A.Yu., Gulyaev V.I. Multisensory educational system «Electronic tongue» for the diagnosis of the functional state of the human body on the characteristics of exhaled breath condensate // Fiziologichnyi dzhurnal, 2013. – T. 59, № 4. – P. 99-102.

## ЛИПОПРОТЕИД-ИНИЦИИРУЕМЫЕ РЕАКЦИИ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРИРОДНЫМИ ПОЛИФЕНОЛАМИ

*Костюк В.А., Потапович А.И.*

НИЛ физиологии БГУ, Минск

Заболевания сердечно-сосудистой системы в настоящее время являются одной из основных причин высокой смертности во всем мире. Один из основных этиологических факторов этих патологий – атеросклероз: хронический процесс, протекающий в артериальных сосудах. Широко распространена теория, согласно которой ключевую роль в иницировании и прогрессировании атеросклеротических изменений играют липопротеины низкой плотности (ЛПНП). ЛПНП проникают через поврежденную сте-

нку эндотелия, аккумулируются и окисляются в интиме сосуда. Окисленная форма ЛПНП (окси-ЛПНП) стимулирует развитие воспалительной реакции. К настоящему времени выявлены различные механизмы, которые могут быть вовлечены в окисление ЛПНП. Один из наиболее вероятных путей окислительной модификации ЛПНП включает важнейший фермент системы неспецифического иммунитета – миелопероксидазу (МПО). В данной работе были исследованы воспалительные ответы и функциональные нарушения эндотелиальных клеток (HUVEC) при воздействии ЛПНП, окисленных в МПО-содержащей системе, и возможность коррекции окси-ЛПНП-индуцированных клеточных ответов растительными полифенолами.

Для инициирования перекисного окисления ЛПНП *in vitro* достаточно наличия МПО и  $H_2O_2$ -генерирующей системы. Добавление в модельную систему физиологических концентраций нитрит-ионов (50 мкМ) приводит к многократному усилению интенсивности ПОЛ. В результате последующих экспериментов было установлено, что воздействие на клетки эндотелия окисленного ЛПНП приводит к нарушению функционального состояния клеток и развитию воспалительного ответа. В частности, в HUVEC увеличивалось образование и высвобождение воспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, MCP-1), усиливалась экспрессия молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1), индуцибельной циклооксигеназы (COX2) и марганцовой СОД, снижалась продукция регулятора сосудистого тонуса – монооксида азота. Установлено, что выраженность воспалительного ответа возрастала с ростом степени окисленности ЛПНП в диапазоне 70–220 моль ROOH/моль ЛПНП. Для инициирования процессов сигнальной трансдукции, ведущих к развитию воспалительного ответа эндотелиальных клеток, достаточно воздействия ЛПНП, содержащих 70 моль ROOH/моль. Принимая во внимание, что ЛПНП с молекулярной массой  $2.5 \cdot 10^6$  содержит примерно 1300 молекул полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), можно сделать вывод, что при пероксидазном окислении МПО примерно 5% ПНЖК ЛПНП становятся атерогенными.

Эпидемиологические исследования природных полифенольных соединений (ППС) позволяют говорить о них, как о необ-

ходимых непитательных компонентах пищи. Связь между потреблением ППС и уменьшением смертности от сердечно-сосудистой патологии была установлена в многочисленных исследованиях. Одна из важных особенностей растительных полифенолов – чрезвычайно широкий спектр клеточных и внеклеточных мишеней, на которые они способны воздействовать. Все первичные молекулярные мишени полифенолов в организме человека могут быть классифицированы как специфические или неспецифические. К неспецифическим механизмам реализации биологической активности ППС относится и антиоксидантное действие, обусловленное их антирадикальными и хелатирующими свойствами. При исследовании ингибирования процессов МПО-зависимой окислительной модификации ЛПНП различными ППС установлено, что гликозилированный фенолпропаноид вербаскозид и флавоноиды, содержащие катехольную группу в кольце В (кверцетин, лютеолин, рутин, таксифолин, эпикатехин) ингибируют окисление ЛПНП в микромолярных концентрациях, увеличивая продолжительность лаг-периода и снижая скорость образования продуктов ПОЛ в экспоненциальной фазе. Анализ полученных экспериментальных данных позволил заключить, что антиоксидантное действие ППС при МПО-зависимом окислении ЛПНП в присутствии физиологических концентраций нитритов обусловлено способностью перехватывать  $\text{NO}_2$ -подобные радикалы.

Специфические мишени растительных полифенолов – это активные центры ферментов или связывающие сайты рецепторов. Благодаря высокому сродству связывания со специфическими мишенями, растительные полифенолы способны препятствовать связыванию эндогенных лигандов, ингибируя или, напротив, активируя соответствующий путь трансдукции сигнала. Установлено, что ППС оказывают выраженное модулирующее воздействие на воспалительный ответ эндотелиальных клеток, обусловленный воздействием на них окси-ЛПНП. Однако, если ресвератрол и вербаскозид ингибировали экспрессию провоспалительных цитокинов, то кверцетин, напротив, проявлял синергичный эффект, усиливая воспалительный ответ клеток, вызванный воздействием модифицированных ЛПНП. Установлено также, что ППС способны нормализовать окислительно-восстановительный дисбаланс в

HUVEC, вызванный воздействием окси-ЛПНП, а именно снижать внутриклеточный уровень активных форм кислорода и увеличивать продукцию монооксида азота.

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что растительные полифенольные соединения могут влиять на патогенетические процессы, протекающие на ранних этапах атерогенеза не только как антиоксиданты, но и как модуляторы сигнальной трансдукции, ведущей к развитию воспалительных процессов в сосудистой стенке. Поэтому интегральный эффект конкретного соединения будет зависеть от его антиоксидантных свойств в отношении окислительной модификации ЛПНП и способности предотвращать последствия воздействия модифицированных ЛПНП на клетки эндотелия, а именно нарушение окислительно-восстановительного баланса и продукцию медиаторов воспаления. Среди исследованных соединений вербаскозид и ресвератрол сочетают в определенной степени антиоксидантные и противовоспалительные свойства, тогда как кверцетин, являясь эффективным антиоксидантом, может потенцировать воспалительный ответ эндотелиальных клеток, обусловленный воздействием модифицированных ЛПНП.

## **МОДЕЛЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГКИХ IN VIVO**

*Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д.*

Белорусский государственный медицинский университет,  
Минск

Считается, что свободнорадикальное окисление имеет отношение к патогенезу ряда хронических и острых повреждений легких (хроническая обструктивная болезнь легких, астма, муковисцидоз, инфекции, аспирационный синдром, бронхолегочная дисплазия и др.) [1]. При этом прямые доказательства причастности свободных радикалов к повреждению структур легких при патологических состояниях отсутствуют, поскольку нет методических приемов, которые позволили бы доказать, что именно свободные радикалы оказывают повреждающее действие на ткани лег-

ких при той или иной патологии. Представляется, что только в условиях модельного эксперимента можно получить убедительные аргументы, касающиеся взаимосвязи между данными явлениями и обоснованностью применения антиоксидантов в качестве средств патогенетической терапии. Известны способы моделирования острого повреждения легких, которые, однако, не могут быть использованы для исследования состояний, сопровождающихся длительным оксидативным стрессом.

**Цель исследования:** разработать способ моделирования хронического окислительного повреждения легких *in vivo*.

**Материалы и методы.** Для стимуляции процессов пероксидации мы использовали смесь  $Fe^{2+}$ -аскорбат, которая неоднократно применялась в экспериментах на разных типах клеток в качестве индуктора генерации свободных радикалов [2-4], однако *in vivo* для стимуляции повреждения легких ранее не использовалась. Индукционную смесь, содержащую  $FeSO_4$  (0,2 ммоль/л, 0,4 мг/кг), аскорбиновую кислоту (2 ммоль/л, 2,5 мг/кг) и натрий-фосфатный буфер (0,1 моль/л) с ЭДТА (0,1 ммоль/л), pH=7,4, готовили непосредственно перед использованием и вводили морским свинкам ингаляционно с помощью компрессорного небулайзера Comp Air (Omron, Китай). Продолжительность одной ингаляции составляла в среднем 30 минут, общее число ингаляций – 14 (ежедневно в течение 14 дней).

По окончании эксперимента животных наркотизировали (тиопентал натрия 15 мг/кг интраперитонеально). В качестве материала для исследования использовали бронхоальвеолярную лаважную жидкость (БАЛЖ) и гомогенат легких. Мы изучали интенсивность генерации активных форм кислорода (АФК) клетками БАЛЖ (метод люминол-зависимой хемилюминесценции), клеточный состав БАЛЖ (в мазках после окраски по Романовскому-Гимзе), содержание общего белка (метод Лоури), сурфактантных фосфолипидов (тонкослойная хроматография), продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) (спектрофотометрический метод), содержание нейтрофильной эластазы (ELISA) в легких опытных животных.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6,0. Данные опытной и контроль-

ной групп сравнивали с использованием непараметрического U-теста Манна-Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде медианы и интерквартильных размахов (25 перцентиль – 75 перцентиль).

**Результаты и их обсуждение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что ингаляционное введение индукционной смеси  $Fe^{2+}$ -аскорбат приводит к развитию окислительного стресса и развитию воспалительных изменений в легких. Содержание общего белка в БАЛЖ морских свинок в условиях индукции свободнорадикального окисления с использованием системы  $Fe^{2+}$ -аскорбат достоверно увеличивалось и составляло 220,2 (192,9–346,2) мг/л по сравнению с контролем 164,2 (113,3–192,5) мг/л,  $p < 0,05$ . Среди клеток БАЛЖ преобладали альвеолярные макрофаги, однако относительное содержание нейтрофилов было увеличено до 10,5 (8,0–13,5)% по сравнению с контролем (1,5 (0–2,0)%),  $p < 0,05$ ).

Введение смеси  $Fe^{2+}$ -аскорбат в течение 14 суток сопровождалось суммарным усилением продукции АФК клетками БАЛЖ, в среднем, в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), что сопровождалось увеличением содержания в БАЛЖ продуктов ПОЛ, реагирующих с ТБК, до 7,25 (6,81–7,75) нмоль/мкмоль общего липидного фосфора по сравнению с 4,52 (3,75–7,39) нмоль/мкмоль общего липидного фосфора в контроле ( $p < 0,05$ ).

В условиях моделирования свободнорадикального окисления с использованием системы  $Fe^{2+}$ -аскорбат выявлено снижение уровня фосфолипидов сурфактанта в БАЛЖ. Содержание общего липидного фосфора составило 814,3 (486,3–1007,5) нмоль фосфора/мг белка (44,2% от контроля,  $p < 0,05$ ), фосфатидилхолина (суммарного) – 604,6 (372,0–740,4) нмоль фосфора/мг белка (46,5% от контроля,  $p < 0,05$ ), динасыщенного фосфатидилхолина – 430,5 (303,6–508,2) нмоль фосфора/мг белка (53,1% от контроля,  $p < 0,05$ ).

Содержание нейтрофильной эластазы в легких морских свинок после введения индукционной смеси  $Fe^{2+}$ -аскорбат в течение 14 дней составило 41,7 (23,8–60,0) пг/мг белка/г ткани, что в 3,1 раза выше, чем в контрольной группе (13,5 (10,2–19,2) пг/мг белка/г ткани,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, ингаляционное введение лабораторным животным смеси  $\text{Fe}^{2+}$ -аскорбат может использоваться для индукции процессов свободнорадикального окисления при изучении патогенетических механизмов и разработке способов коррекции патологических состояний, связанных с развитием оксидативного стресса в легких.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Cienciewicki J., Trivedi S., Kleeberger S.R. Oxidants and the pathogenesis of lung diseases // J. Allergy Clin. Immunol. – 2008. – Vol. 122. – P. 456-468.
2. Courtois F., Seidman E.G., Delvin E. et al. Membrane peroxidation by lipopolysaccharide and iron-ascorbate adversely affects Caco-2 cell function: beneficial role of butyric acid // Am. J. Clin. Nutr. – 2003. – Vol. 77. – P. 744-750.
3. Marcil V., Lavoie J.C., Emonnot L. et al. Analysis of the effects of iron and vitamin C co-supplementation on oxidative damage, antioxidant response and inflammation in THP-1 macrophages // Clin. Biochem. – 2011. – Vol. 44. – P. 873-883.
4. Martinez-Pastor F., Aisen E., Fernandez-Santos M. et al. Reactive oxygen species generators affect quality parameters and apoptosis markers differently in red deer spermatozoa // Reproduction. – 2009. – Vol. 137. – P. 225-235.

## **ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ КЛИНИКО- НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНТЕРВАЛЬНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИТЕРАПИИ**

*Кузнецов В.И., Белявский Н.Н., Беляева Л.Е., Солкин А.А.*

Витебский государственный медицинский университет,  
Витебск

**Введение.** Внедрение в клиническую практику новых эффективных методов немедикаментозного лечения и профилактики острых нарушений мозгового кровообращения остается одной из актуальных задач практического здравоохранения. Одним из таких методов, под влиянием которого повышается толерантность нейронов к тяжелой гипоксии и другим повреждающим факторам, улучшаются функциональные возможности головного мозга, а также происходят благоприятные изменения центра-

льной гемодинамики, можно считать интервальную нормобарическую гипокситерапию (ИНГ) [1].

**Цель работы.** Оценить функциональное состояние ЦНС у пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде под влиянием интервальной нормобарической гипокситерапии.

**Материал и методы исследования.** Обследованы 35 пациентов с ишемическим инсультом в каротидном бассейне в восстановительном периоде, получавших в комплексном лечении ИНГ. Контрольную группу составили 36 пациентов в восстановительном периоде ишемического инсульта в каротидном бассейне, у которых была применена стандартная терапия.

Группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту и степени выраженности клинической симптоматики.

Всем пациентам проводили запись ЭЭГ на компьютерном электроэнцефалографе Нейрон-Спектр-4/ВП фирмы Нейрософт (г. Иваново, Россия). Параметры спектральной мощности рассчитывали для каждого диапазона ЭЭГ: дельта (0,5-3,9 Гц), тета (4,0-7,9 Гц), альфа (8,0-12,9 Гц), бета-1 (13,0-19,9 Гц) и бета-2 (20,0-40,0 Гц). Для оценки межполушарной интеграции с помощью когерентного анализа использовались следующие межэлектродные пары: Fp1-Fp2, F3-F4, C3-C4, P3-P4, O1-O2, F7-F8, T3-T4, T5-T6. [2].

Пациенты обследовались утром, до приема лекарственных средств до и после курса лечения.

До начала курса ИНГ пациентам проводили гипоксический тест (вдыхание гипоксической смеси в течение 10 минут) с целью оценки переносимости гипоксии. Сама процедура ИНГ осуществлялась в циклически-фракционном режиме: в течение 5 минут через кислородную маску пациенты вдыхали гипоксическую газовую смесь, содержащую 10-12% кислорода в азоте при нормальном атмосферном давлении. Затем следовал 5-минутный интервал, во время которого пациенты дышали атмосферным воздухом (содержание кислорода 20,9%). Один сеанс ИНГ включал 6 таких циклов дыхания гипоксической газовой смесью. Общее время гипоксического воздействия составляло 30 минут. Курс лечения состоял из 12-15 сеансов, которые проводили ежедневно. Для получения нормобарической гипок-

сической газовой смеси с регулируемой концентрацией кислорода использовали мембранную газоразделительную установку волоконного типа фирмы «Био-Нова-204».

Статистический анализ выполняли с помощью программы Statistica 6.0.

**Результаты и их обсуждение.** Проведенный перед курсом ИНГ гипоксический тест не выявил индивидуальной непереносимости кислородной недостаточности ни у одного пациента. При проведении сеансов ИНГ какие-либо новые жалобы, побочные реакции, нежелательные явления не были зафиксированы.

В группе пациентов, получавших в комплексном лечении курс ИНГ, наблюдалось более значительное уменьшение головных болей, головокружения, шаткости при ходьбе, утомляемости, «чувства тяжести в голове», улучшение параметров физического здоровья, когнитивных функций, настроения, способности физически двигаться по сравнению с пациентами, которые принимали стандартную терапию. На фоне ИНГ у многих пациентов происходила постепенная нормализация уровня повышенного артериального давления при применении более низких доз гипотензивных препаратов.

Использование интервальной нормобарической гипокситерапии в комплексном лечении у пациентов, перенесших ишемический инсульт в каротидном бассейне, приводит к усилению мощности альфа-колебаний, бета-1-колебаний и уменьшению мощности дельта-колебаний, что свидетельствует о достоверном улучшении функционального состояния головного мозга по данным спектрального анализа ЭЭГ.

У пациентов после перенесенных ишемических инсультов при использовании в комплексном лечении ИНГ имеет место положительная динамика изменений состояния межполушарной интеграции, проявляющаяся в достоверном повышении средних значений коэффициентов когерентности в диапазоне альфа-колебаний. Кроме того, у пациентов, перенесших ишемический инсульт в правом каротидном бассейне, снижается уровень избыточной межполушарной интеграции в диапазоне дельта-колебаний, что указывает на благоприятное терапевтическое воздействие интервальной нормобарической гипокситерапии.

**Выводы.** Применение интервальной нормобарической гипокситерапии в комплексном лечении у пациентов, перенесших ишемический инсульт в каротидном бассейне, приводит к улучшению функционального состояния головного мозга по данным спектрального и когерентного анализов ЭЭГ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Закощиков К.Ф., Катин С.О. Гипокситерапия. – «Горный воздух». – М.: «Бумажная галерея», 2002. – 64 с.
2. Иванов Л.Б. Прикладная компьютерная электроэнцефалография. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ПБОЮЛ Т.М. Андреева, 2004. – 352 с.

## ОСОБЕННОСТИ ПРООКСИДАНТНО-Антиоксидантного Равновесия у Женщин с Невынашиванием Беременности в I Триместре

*Кухарчик Ю.В., Гутикова Л.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Охрана материнства и детства является одним из приоритетных направлений современной медицины. Невынашивание беременности – основной вид акушерской патологии, частота которой остается стабильной в течение многих лет и составляет, по данным литературы, от 15 до 20% всех желанных беременностей [2, 3].

Система перекисного окисления липидов (ПОЛ) является одной из ключевых метаболических систем организма, от состояния которой во многом зависят структура и функции биологических мембран, их доступность регуляторным воздействиям. Известно, что в патогенезе многих заболеваний, в том числе репродуктивной системы играет определенную роль нарушение баланса между образованием активных форм кислорода и работой антиоксидантной системы защиты [1, 4, 5]. Исходя из этого, изучение свободнорадикальных процессов у женщин с невынашиванием беременности ранних сроков не только расширит

представление о биохимических основах заболевания и функциональных резервах организма матери, но и позволит выработать стратегию профилактики этой патологии.

**Целью** работы явилась оценка состояния прооксидантно-антиоксидантного равновесия у женщин с невынашиванием беременности в ранние сроки.

**Материалы и методы исследования.** На основании информированного согласия было проведено обследование 60 женщин. Контрольную группу составили 30 здоровых беременных, состоявших на учете по беременности в женской консультации. В основную группу вошли 30 женщин с невынашиванием беременности в I триместре, находящихся на стационарном лечении в гинекологическом отделении Городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Гродно.

Всем пациенткам проведены общепринятые лабораторно-инструментальные методы исследования. В первые сутки после поступления в стационар у всех обследуемых проводили определение в крови продуктов ПОЛ и компонентов системы антиоксидантной защиты (АОЗ). Определение концентрации диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и каталазы в крови определяли спектрофотометрическим методом.

Результаты исследования обработаны на персональном компьютере с использованием стандартных компьютерных программ. При проведении статистической обработки данных использовали однофакторный дисперсионный анализ с выявлением межгрупповых различий по критерию Фишера. Различия между группами по частоте изучаемых показателей присутствует при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** По нашим данным, средний возраст обследуемых пациенток  $26,5 \pm 5,6$  года. При ретроспективном анализе нами отмечено, что у пациенток с невынашиванием беременности чаще, чем в контрольной группе, встречались перенесенные инфекционные заболевания, частота которых в основной группе составила 54,4% и 26,7% – в контрольной группе. Частота встречаемости различной соматической патологии в группе с невынашиванием беременности была достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем у здоровых беременных. Относительно наличия экстрагенитальной патологии, в основной группе

отмечена высокая частота заболеваний желудочно-кишечного тракта – в 86,7% наблюдений, хронического тонзиллита – в 62,2%, в 32,2% – заболевания щитовидной железы. У 41,1% пациенток основной группы выявлено сочетание нескольких экстрагенитальных заболеваний.

При изучении исходов предыдущих беременностей отмечено, что в основной и контрольной группах своевременными родами закончились 31,1% и 46,6%, соответственно. В основной группе 28,9% беременностей закончились самопроизвольным выкидышем в I триместре гестации, неразвивающейся беременностью – 13,3%, преждевременными родами – 10,0%. В группе контроля преждевременные роды наблюдались лишь у 6,7% женщин, самопроизвольные выкидыши отмечены только у 6,7%, что касается неразвивающейся беременности, данное осложнение у пациенток не отмечалось. Все пациентки, участвовавшие в обследовании, до наступления данной беременности ранее наблюдались и лечились по поводу различных гинекологических заболеваний. Однако наличие хронических воспалительных заболеваний половых органов в основной группе было достоверно выше, чем в контрольной.

При оценке показателей системы ПОЛ у женщин с первым эпизодом невынашивания беременности отмечалось достоверное снижение концентрации ДК и МДА в 1,3 и 1,4 раза, соответственно. Согласно полученным нами данным, средние значения активности каталазы в плазме крови у беременных с физиологическим течением гестационного процесса составили  $33,18 \pm 1,92$  ммоль $\text{H}_2\text{O}_2$ /мин/гНб. У беременных основной группы активность каталазы составила  $21,66 \pm 1,82$  ммоль $\text{H}_2\text{O}_2$ /мин/гНб и была достоверно снижена по отношению к группе контроля.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разнонаправленности окислительно-восстановительных механизмов у пациенток с физиологическим течением беременности и у женщин с первым эпизодом невынашивания беременности и необходимости осуществления свободнорадикальное окисление терапии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамченко В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве. – Санкт-Петербург, 2001. – 400 с.

2. Кулаков В.И., Сидельникова В.М. К вопросу о патогенезе привычного выкидыша // Акушерство и гинекология. – 1996. – № 4. – С. 3–7.
3. Сидельникова В.М. Невынашивание беременности – современный взгляд на проблему // Росс. вестник акушера-гинеколога. – 2007. – № 2. – С. 62–64.
4. Dix T.A., Aikens J. Mechanisms and biological significance of lipid peroxidation initiation // Chem. Res. Toxicol. – 2005. – № 6. – P. 2–18.
5. Brandes R.P. et al. Role of increased production of superoxide anions by NAD(P)H oxides and xanthine oxidase in prolonged endotoxemia // Hypertension. – 1999. – Vol. 33. – № 5. – P. 1243–1249.

## **СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЕ СНИЖЕНИЕ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ ОБУСЛОВЛЕНО ГИПЕРПРОДУКЦИЕЙ NO, СИНТЕЗИРУЕМЫМ iNOS**

*Лазуко С.С.*

Витебский государственный медицинский университет,  
Витебск

**Введение.** Стресс характеризуется дисфункцией эндотелия, сопровождающейся нарушением биодоступности как вазодилататорных (монооксида азота, эндотелиальный фактор гиперполяризации и др.), так и вазоконстрикторных субстанций. Известно, что повышенное образование NO при иммобилизационном стрессе уменьшает чувствительность сосудов к действию вазоконстрикторных веществ и приводит к снижению артериального давления [2]. Малоизученным остается вопрос, как NO, продуцируемый индуцированной NO-синтазой (iNOS), влияет на тонус сосудов сердца после 6-часового иммобилизационного стресса у крыс. В связи с этим **целью** работы было изучить влияние монооксида азота, продуцируемого iNOS, на величину артериального давления, тонус коронарных сосудов и сократительную функцию миокарда у крыс, перенесших иммобилизационный стресс.

**Методы исследования.** Тонус коронарных сосудов и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах изолированных по Лангендорфу сердец крыс-самок, в полость левого желудочка которых вводили латексный баллончик. Сердца перфузировали в условиях постоянного потока на разных уровнях

объемной скорости коронарного потока (ОСКП) (6, 8, 10 и 15 мл/мин). Животные были подразделены на группы: 1-я – контрольная (n=12); 2-я – группа животных, перенесших 6-часовой иммобилизационный стресс (n=10).

Измерение артериального давления (АД) производили неинвазивным методом при помощи прибора фирмы «Panlab».

NO-синтазную активность определяли в сыворотке крови спектрофотометрически при длине волны 340 нм, по изменению уровня NADPH в среде. Активность NO-синтаз выражали в нмоль/г белка в минуту. Концентрацию стабильных продуктов деградации оксида азота ( $\text{NO}^{2-}/\text{NO}^{3-}$ ) определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса [1].

Для изучения роли оксида азота в механизмах регуляции тонуса коронарных сосудов в перфузионный раствор добавляли высокоселективный блокатор iNOS S-метилтиомочевину (S-MT,  $10^{-6}$ М, Sigma, USA).

Иммобилизационный стресс воспроизводили путем фиксации животных на спине в течение 6-ти часов. Затем выпускали в клетку и через 90 минут брали в эксперимент.

Обработку полученных результатов проводили с применением пакета статистических программ Excel 2000, Statistica 6.0.

**Результаты и их обсуждение.** В сердцах животных, перенесших стресс, коронарное перфузионное давление, определяемое при каждом уровне ОСКП (6, 8, 10, 15 мл/мин), было меньше чем в контроле на 15, 17, 20 и 21%, соответственно ( $p < 0,05$ , по сравнению с группой контроля). Снижение сопротивления сосудов сердца в группе животных, перенесших стресс, сопровождалось уменьшением как развиваемого внутрижелудочкового давления при всех уровнях ОСКП в среднем на 38% ( $p < 0,05$ , по сравнению с контрольной группой животных), так и первой производной ( $dP/dt$ ) при всех уровнях перфузионного давления на 38%-44% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем). Эти данные указывают на постстрессорное снижение тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда.

Введение в перфузионный раствор высокоселективного блокатора индуцированной NO-синтазы S-метилизо-тиомочевины не приводило к изменению тонуса коронарных сосудов и сокра-

тительной функции сердца контрольных крыс. Подавление активности iNOS в сердцах крыс, перенесших иммобилизационный стресс, приводило к восстановлению коронарного перфузионного давления при всех уровнях ОСКП до контрольных показателей. Следовательно, S-MT устранял постстрессорную гиперпродукцию оксида азота, образуемого индуцированной NO-синтазой. Показатели развиваемого внутрижелудочкового давления при этом не отличались от таковых в группе «контроль». Таким образом, NO, образуемый индуцированной NO-синтазой при длительном иммобилизационном стрессе, играет важную роль в механизмах ослабления миогенного тонуса коронарных сосудов и снижения сократительной функции миокарда.

Из представленной таблицы видно, что артериальное давление у животных, перенесших стресс, оставалось достоверно более низким по сравнению с контрольными показателями.

Таблица – Влияние стресса на изменение показателей артериального давления у крыс

Группы животных	СД, мм рт.ст.	ДД, мм рт.ст.	СДД, мм рт.ст.	ЧСС, уд/мин.
Контроль (n=8)	126,0±2,0	110,0±1,9	115,0±1,8	304,0±5,7
Стресс (n=8)	117,0±3,6*	89,0±1,9*	97,0±1,2*	416,0±23,9*

Примечание: \* $p < 0,05$ , по сравнению с контролем; n – количество животных в группе

Концентрация  $\text{NO}^{2-}/\text{NO}^{3-}$  в крови крыс группы «стресс» достоверно увеличивалась на 39% по сравнению с контрольным значением, составлявшим  $29,2 \pm 1,45$  мкМ/л. Активность iNOS возрастала в 9 раз, а эндотелиальной снижалась на 58% по сравнению с контрольными показателями.

**Вывод.** На основании представленных данных можно заключить, что монооксид азота, индуцированный iNOS, приводит к снижению как тонуса коронарных сосудов, так и системного артериального давления у крыс, перенесших иммобилизацию.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Веремей И.С., Солодков А.П. Восстановление  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  цинковой пылью в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди // Сборник научных трудов. – Витебск, 1999. – С. 274-277.
2. Eatman D., Walton M., Succi R.R., Emmett N., Bayorh M.A. NOS II inhibition attenuates post-suspension hypotension in Sprague-dawley rats // Clinical and experimental hypertension. – 2003. – Vol. 25, № 1. – P. 11-24.

# ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННАЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА В МАТРИЦЕ ЦИНК-ЗАМЕЩЕННОГО МИОГЛОБИНА

*Лепешкевич С.В.<sup>1</sup>, Пархоц М.В.<sup>1</sup>, Сташевский А.С.<sup>1</sup>,  
Жарникова Е.С.<sup>1</sup>, Бритиков В.В.<sup>2</sup>,  
Усанов С.А.<sup>2</sup>, Джагаров Б.М.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Институт физики им. Б.И. Степанова, Минск;

<sup>2</sup> Институт биоорганической химии, Минск

Синглетный кислород ( $^1\text{O}_2$ ) – активная форма молекулярного кислорода ( $\text{O}_2$ ), находящегося в возбужденном электронном состоянии  $^1\Delta_g$ . К настоящему времени получены доказательства участия  $^1\text{O}_2$  в фотодинамических реакциях, приводящих к разрушению новообразований. Отличительной особенностью синглетного кислорода от других активных форм кислорода является его способность люминесцировать в ИК-области спектра (~1270 нм), что позволяет осуществлять контроль этого цитотоксического агента в разных средах. Более того, предложено использовать люминесценцию синглетного кислорода в качестве прямого дозиметрического метода фотодинамической терапии. Для успешного использования люминесценции  $^1\text{O}_2$  в качестве дозиметрического метода необходимо знание спектральных и кинетических характеристик  $^1\text{O}_2$  в биологических средах, таких, например, как матрицы белков.

**Целью** настоящей работы являлось исследование фотосенсибилизированного образования  $^1\text{O}_2$  в белковой матрице Zn-замещенного миоглобина. В данной работе использовался миоглобин, в котором интактный гем заменен на Zn-протопорфирин IX (ZnПП), низшее возбужденное электронное состояние которого является достаточно долгоживущим для фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода. Молекула ZnПП находится в области гемового кармана миоглобина и связана с проксимальным гистидином (His93). Необходимо отметить, что замена иона железа гема на ион цинка не приводит к заметному изменению структуры белка, а также не влияет на конформационную подвижность белка. Для изучения

свечения  $^1\text{O}_2$  внутри белковой матрицы нами был использован наносекундный лазерный флуорометр для ближнего ИК-диапазона [1, 2] и лазерный абсорбционный спектрометр с наносекундным временным разрешением [3, 4]. Zn-замещенный миоглобин получен по методике, описанной ранее [5].

Для описания генерации  $^1\text{O}_2$  внутри белковой матрицы и последующей дезактивации  $^1\text{O}_2$  нами предложена кинетическая модель (рис. 1) [5]. Данная модель содержит минимальное число состояний, необходимых для описания излучательной и безызлучательной дезактивации  $^1\text{O}_2$  как в матрице белка, так и в окружающей водной среде. Модель учитывает вход/выход  $^1\text{O}_2$  внутрь/из белка (рис. 1,  $k'_{\text{entry}}$  и  $k_{\text{escape}}$ ), излучательную и безызлучательную дезактивацию  $^1\text{O}_2$  внутри белка ( $k_r^p$  и  $k_{nr}^p$ , соответственно), излучательную и безызлучательную дезактивацию  $^1\text{O}_2$  снаружи белка молекулами растворителя ( $k_r^s$  и  $k_{nr}^s$ , соответственно), а также безызлучательную дезактивацию  $^1\text{O}_2$  в окружающей водной среде аминокислотными остатками на поверхности белка ( $k_a^s$ ). Значения констант скоростей выхода синглетного кислорода из миоглобина,  $k_{\text{escape}}$  и входа внутрь белка,  $k'_{\text{entry}}$  получены на основании исследований процесса повторного связывания молекулы кислорода нативным миоглобином [5].

На основании измеренных кинетик свечения  $^1\text{O}_2$  в ИК-области спектра (рис. 2) показано, что в среднем шесть из десяти фотосенсибилизированных молекул  $^1\text{O}_2$  покидают белковую матрицу и выходят в окружающую среду. Кроме того, определены константы скорости излучательной,  $k_r^p$ , и безызлучательной дезактивации молекулы  $^1\text{O}_2$  в матрице белка,  $k_{nr}^p$ . Соответствующие константы скоростей имеют значения  $1.7 \pm 0.4 \text{ с}^{-1}$  и  $4.4 \pm 1.1 \text{ мкс}^{-1}$ . Показано, что процесс безызлучательной дезактивации  $^1\text{O}_2$  в матрице белка может быть представлен в виде суммы независимых процессов тушения  $^1\text{O}_2$  всеми аминокислотами белка и фотосенсибилизатором, при этом эффективность дезактивации  $^1\text{O}_2$  отдельно взятым тушителем в белке равна соответствующей эффективности в водной среде:

$$k_{nr}^p = (D_p/D_s) \sum_i k_{nr}^i [Q_i], \quad (1)$$

где  $D_p$  и  $D_s$  – коэффициенты диффузии  $^1\text{O}_2$  в белке и окружа-



ванной фаз, ожидается, что излучательная константа скорости в матрице белка зависит от молекулярных параметров, таких как частота столкновений, молекулярный размер и молекулярная поляризуемость сталкивающихся молекул.

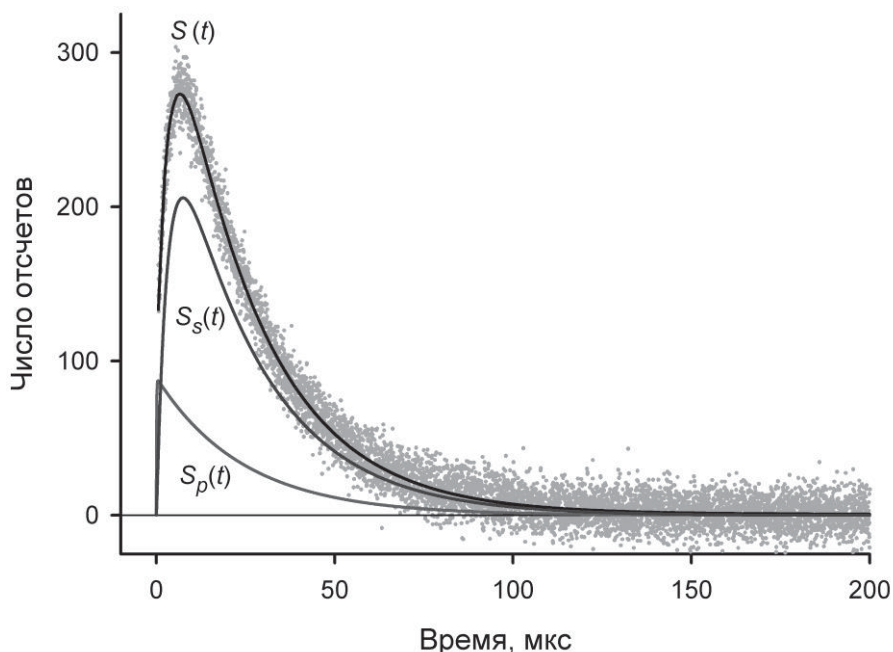


Рисунок 2 – Кинетика люминесценции синглетного кислорода фотосенсибилизированного Zn-замещенным миоглобином.

Экспериментальные данные представлены в виде точек. Сплошная линия  $S(t)$  представляет результат аппроксимации функцией вида  $S(t) = \chi_1 e^{-\alpha_1 t} - \chi_2 e^{-\alpha_2 t}$ .  $S_s(t)$  и  $S_p(t)$  – временные зависимости свечения  $^1O_2$  в окружающем белок водном буфере и в матрице белка, соответственно. Длина волны возбуждения и регистрации, соответственно, 532 и 1270 нм

Авторы благодарят Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований (№ Ф11М-084, Ф13-016) за финансовую поддержку.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сташевский А.С., Галиевский В.А., Джагаров Б.М. Высокочувствительные лазерные флуорометры для ближнего инфракрасного и видимого диапазонов // Приборы и методы измерений. – 2011. – № 1(2). – С. 25-31.
2. Lepeshkevich S.V., Stasheuski A.S., Parkhats M.V., Galievsky V.A., Dzhagarov B.M. Does photodissociation of molecular oxygen from myoglobin and hemoglobin yield singlet oxygen? // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 2013. – Vol. 120. – P. 130-141.
3. Lepeshkevich S.V., Dzhagarov B.M. Effect of zinc and cadmium ions on structure and function of myoglobin // Biochim. Biophys. Acta. – 2009. – Vol. 1794, № 1. – P. 103-109.
4. Lepeshkevich S.V., Parkhats M.V., Stepuro I.I., Dzhagarov B.M. Molecular oxygen binding with  $\alpha$  and  $\beta$  subunits within the R quaternary state of human he-

moglobin in solutions and porous sol-gel matrices // Biochim. Biophys. Acta. – 2009. – Vol. 1794, № 12. – P. 1823-1830.

5. Lepeshkevich S.V., Parkhats M.V., Stasheuski A.S., Britikov V.V., Jarnikova E.S., Usanov S.A., Dzhagarov B.M. Photosensitized Singlet Oxygen Luminescence from the Protein Matrix of Zn-Substituted Myoglobin // J. Phys. Chem. A. – 2014. – Vol. 118, № 10. – P. 1864-1878.

## **БИОФИЗИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ГИПОКСИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ**

*Лисуха Л.М., Березовский В.А.,  
Степанова Е.И.<sup>1</sup>, Колпаков И.Е.\**

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев;

<sup>1</sup>ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины  
НАМН Украины», Киев\*

Болезни органов дыхания у детей, проживающих на радиоактивно загрязненных территориях, в структуре заболеваемости находятся на первом месте. При хронической патологии органов дыхания, которая сопровождается бронхоспазмом, нарушается баланс между потребностью и доставкой кислорода. Нарушение вентиляционной способности легких приводит к развитию гипоксической гипоксии. Медикаментозная терапия не всегда обеспечивает ликвидацию кислородной недостаточности.

**Цель** нашей работы – изучить эффективность использования биофизической коррекции гипоксических состояний у детей при заболеваниях легких, которые проживают на радиоактивно загрязненных территориях, за счет применения инструментальной оротерапии (ИНО).

Обследованы 32 ребенка в возрасте 6-17 лет, которые находились на стационарном лечении в клинике ГУ «ННЦРМ НАМНУ» (с хроническим обструктивным бронхитом, бронхиальной астмой, пневмонией). Исследование вентиляционной способности легких проводили при помощи пневмотахометра автоматизированного ПТА-1, отечественного производства. Для дыхания гипоксической газовой смесью (ГГС) использовали аппарат «Борей» производства медико-инженерного центра «НОРТ»,

г. Киев. Курс ИНО состоял из 7-16 ежедневных сеансов. Общая продолжительность трех периодов прерывистой нормобарической гипокситерапии саногенного уровня одного сеанса составляла 45-60 минут. Для каждого ребенка длительность воздействия подбиралась индивидуально, исходя из показателей сатурации ( $SpO_2\%$ ), частоты сердечных сокращений (ЧСС), артериального давления (АД), частоты дыхания (ЧД), общего самочувствия. Измерения проводились до и после каждого сеанса. Парциальное давление кислорода ( $PO_2$ ) газовой смеси в начале сеанса было 106 мм рт.ст. На II и III сеансах  $PO_2$  понижали ступенчато, так, что IV и следующие сеансы проводились при уровне  $PO_2$  76-72 мм рт. ст.

Через две недели от начала комбинированного лечения с применением инструментальной оротерапии у большинства детей отмечено существенное увеличение вентиляционной способности легких: форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), пиковой объемной скорости выдоха (ПОС), максимальные объемные скорости выдоха соответственно уровням 25%, 50%, 75% (ФЖЕЛ-МОШ), объема форсированного выдоха в первую секунду (ОФВ<sub>1</sub>). Сеансы саногенной гипоксии и медикаментозная терапия привели к улучшению клинического течения заболевания, показателей сатурации. Воздействие нормобарической гипоксии саногенного уровня оказывает положительное влияние на клинический статус детей при заболеваниях легких, проживающих на радиоактивно загрязненных территориях.

Инструментальную оротерапию можно рекомендовать в качестве эффективного метода, устраняющего обструкцию бронхиального дерева, аллергические реакции при таких заболеваниях, как хронические обструктивные бронхиты, бронхиальная астма, пневмония.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Березовський В.Я., Горбань Є.М., Левашов М.І., Сутковський А.Д. Технологія підвищення резистентності організму за допомогою гіпокситерапії: [метод. рекомендації]. – Київ, 2000 – 23 с.
2. Березовский В.А. Природная и инструментальная оротерапия. – Донецк: Издатель Заславский А.Ю., 2012. – 304 с.
3. Богатырчук Л.М., Криворучко С.Г. Нормобарическая гипокситерапия в борьбе с последствиями чернобыльской катастрофы // Медицинская реабилитация, курортология, физиотерапия. – 1998. – № 2. – С. 25-16.

4. Колпаков І.Є. Стан функціональної системи дихання у дітей, які зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на чорнобильській АЕС: автореф. дис. д-ра мед. наук:14.03.04 / НАН України. – К., 2003. – 43 с.

5. Степанова Е.И., Вдовенко В.Ю., Кондрашова В.Г., Колпаков И.Е. Чернобыльская катастрофа и здоровье детей // Новая медицина тысячелетия. – 2010. – № 4 – С. 18-22.

## **СОПРЯЖЕННОЕ ОКИСЛЕНИЕ ТИАМИНА С ОКИСЛЕНИЕМ ПАРАЦЕТАМОЛА И ДРУГИХ МОНОФЕНОЛОВ В ПЕРОКСИДАЗНЫХ РЕАКЦИЯХ, КАТАЛИЗИРУЕМЫХ ЦИТОХРОМОМ С И МИОГЛОБИНОМ**

*Лабор С.А., Завадская В.М., Степура И.И.*

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси  
Минск

Как известно, оксоферрильные формы гемоглобина, миоглобина и цитохрома *c*, а также других гемопротейнов играют важную роль в развитии токсических процессов при окислительном стрессе. Оксоферрильные формы гемопротейнов образуются при взаимодействии их ферри-форм с пероксидом водорода [1-3]. Предварительный анализ имеющихся экспериментальных результатов позволяет заключить, что окисление тиамина, сопряженное с окислением монофенольных соединений в реакциях, катализируемых гемопротейнами в присутствии пероксидов, является одним из источников образования тиохрома и дисульфида тиамина в живых организмах [4].

**Целью** работы является изучение реакций пероксидазного окисления тиамина, катализируемого гемопротейнами в присутствии пероксида водорода.

**Материалы и методы.** Спектрально-флуоресцентными методами и методом восходящей бумажной хроматографии определяли продукты трансформации тиамина и фенольных соединений [5].

**Результаты.** Тиамин в присутствии цитохрома *c* и  $H_2O_2$  окисляется до тиохрома, оксодигидротιοхрома и тиаминдисульфида. Образовавшийся тиохром затем окисляется другой макромолекулой цитохрома *c*, которая находится в оксоферрильной форме

(соединение I), в оксодигидротиохром также вследствие протекания реакций взаимосвязанного двухэлектронного переноса. Тиохром, в отличие от тиамин, обладает планарной структурой и легко проникает в гемовый карман оксоферрильной формы цитохрома *c*. Скорость окисления тиохрома в оксодигидротиохром почти на два порядка выше, нежели скорость окисления тиамин в тиохром. Оксодигидротиохром и дисульфид тиамин были основными продуктами окисления тиамин, а тиохром присутствовал в небольших количествах. Протекания двухэлектронных реакций, характерных для тиамин, не наблюдали для его фосфорных эфиров.

Однако окисление тиамин и его фосфорных эфиров в тиохром и соответствующие тиохром фосфаты сопряжено с окислением фенолов в пероксидазной реакции, катализируемой цитохромом *c*. Парацетамол и другие монофенольные соединения увеличивали выход тиохрома и тиохром фосфатов на 1-2 порядка.

Снижение образования дитиозина и возрастание выхода тиохрома свидетельствует о том, что в регенерации тирозильных радикалов до тирозина участвует трициклическая форма тиамин, которая окисляется в тиохром (таблица). Тирозильные радикалы окисляют трициклическую форму тиамин в тиохром, а тиольную форму – в тиаминдисульфид. В результате этих реакций тирозильные радикалы восстанавливаются до молекул тирозина. В присутствии фенольных соединений в пероксидазной реакции, катализируемой цитохромом *c*, наблюдали увеличение выхода тиохрома и ингибирование образования оксодигидротиохрома. С другой стороны, тиамин или его фосфорные эфиры уменьшают образование димеров тирозина (таблица), в реакциях, катализируемых миоглобином.

Таблица – Ингибирование образования дитиозина тиамин в пероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином

Состав раствора	Дитиозин, мкМ	TChr, мкМ	Тиамин дисульфид, мкМ
MetMb+LTyr+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	72	-	
MetMb+L-Tyr +H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +T (0,01 мМ)	69	1,5	0,1
MetMb+L-Tyr +H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +T (0,1 мМ)	58	7,5	1,0
MetMb+L-Tyr +H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +T (0,5 мМ)	48	22,5	4,0
MetMb+L-Tyr +H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +T (1,0 мМ)	29	35	9,0
MetMb+L-Tyr +H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +T (5 мМ)	5,2	45	

**Результаты.** Полученные результаты позволяют заключить, что окисление тиамин с образованием тиохрома и оксодигидро-

тиохрома в двуэлектронных реакциях, катализируемых оксоферрильными формами гемопroteинов, а также псевдопероксидазное окисление тиамин в тиохром и тиаминдисульфид, сопряженное с окислением некоторых монофенолов, например, парацетамола, может выступать в качестве важного источника образования окисленных форм тиамин в живых системах.

Гидрофобные продукты окисления тиамин (тиохром и оксодигидротиохром), а также продукты окисления некоферментных форм тиамин, например, тиамин-монофосфата или тиамин-трифосфата, вероятно, являются дополнительными «резервными антиоксидантами», которые разрушают токсичные оксоферрильные формы гемопroteинов, взаимодействуют с пероксинитритом и диоксидом азота. Мы предполагаем, что противовоспалительное действие ацетилсалициловой кислоты, а также ряда других лекарств фенольной природы, например, парацетамола, фенацетина, может значительно усиливаться вследствие их сопряженного окисления совместно с тиамин. Мы показали, что благодаря протеканию реакций псевдопероксидазного окисления парацетамола (или других монофенольных соединений), сопряженных с окислением тиамин, обеспечивается восстановление оксоферрильной формы цитохрома *c* до ферри-цитохрома, который, вероятно, снова может участвовать в транспорте электронов. Важную роль в восстановлении оксоферрильной формы цитохрома *c* в ферри-форму играет тиохром.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда БРФФИ грант № M13MC-020.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Svistunenko D.A. et al., The globin-based free radical of ferryl hemoglobin is detected in normal human blood // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272, № 11. – P. 7114-7121.
2. Lawrence A. et al., Evidence for the role of a peroxidase compound I-type intermediate in the oxidation of glutathione, NADH, ascorbate, and dichlorofluorescein by cytochrome *c*/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Implications for oxidative stress during apoptosis // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, № 32. – P. 29410-29419.
3. Barr D.P. et al. ESR spin-trapping of a protein-derived tyrosyl radical from the reaction of cytochrome *c* with hydrogen peroxide // *J. Biol. Chem.* – 1996. – Vol. 272, № 26. – P. 15498-15503.
4. Степура И.И., Степура В.И. Окисленные производные тиамин // Lambert Academic Publishing. – 2014. – С. 280.
5. Stepuro I.I. et al. Oxidation of thiamine on reaction with nitrogen dioxide generated by ferric myoglobin and hemoglobin in the presence of nitrite and hydrogen peroxide // *Biochemistry (Mosc.)*. – 2012. – Vol. 77, № 1. – P. 41-55.

# СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ЕЕ КОРРЕКЦИЯ

*Лелевич В.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

Среди многочисленных висцеральных поражений, которые оказывают влияние на общую продолжительность жизни при алкоголизме, патологии печени отводится ведущее место. Данный орган несет основную нагрузку в метаболическом цикле этанола, поступающего в организм.

В патогенезе висцеральных осложнений хронической алкогольной интоксикации важную роль играет окислительный стресс, обусловленный генерацией активных форм кислорода [1]. При алкогольной болезни печени (АБП) отмечается накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), формирование некрозов печеночных клеток [2]. Можно выделить несколько патогенетических механизмов, приводящих к усилению свободнорадикальных процессов при АБП. При хронической алкоголизации активизируется монооксидазный тип окисления с участием цитохромов Р-450 и b5. Важной особенностью функционирования этого пути является образование супероксидного анион-радикала и перекиси водорода. Свободные радикалы активируют реакции ПОЛ, а также продукцию противовоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли [3]. На фоне повышенного образования активных форм кислорода при АБП ослабляется антиоксидантная система в результате истощения в клетке антиоксидантов и увеличения способности мембран к ПОЛ. Хроническая алкогольная интоксикация приводит к уменьшению в клетках содержания витаминов А и Е, а также глутатиона [1]. При дефиците витамина Е активируются процессы ПОЛ, недостаток витамина А способствует повреждению лизосом, снижение уровня глутатиона ведет к нарушению функций митохондрий и трансформирует клетку более чувствительной к апоптозу [4]. Окислительный стресс, индуцированный

алкоголизацией, активирует свободнорадикальное окисление белков и комплексов липидов с белками [2].

Среди множества форм алкоголизации в человеческой популяции наиболее часто встречается прерывистый прием алкоголя, который можно рассматривать как чередование более или менее длительных процессов алкогольной интоксикации и отмены его потребления. Прерывистую алкогольную интоксикацию (ПАИ) следует рассматривать как новое клиническое состояние алкогольной болезни с учетом выраженных клинических и патохимических симптомов алкогольной абстиненции.

Нами была разработана и экспериментально опробована модель ПАИ, где периоды алкоголизации составляли 4 суток, а отмена – 3 суток. Этанол в виде 25% раствора вводили внутривенно с интервалом в 12 часов в дозе 3,5 г/кг массы тела. Циклы алкоголизация/отмена повторялись 4 раза. С целью метаболической коррекции животным вводили аминокислотные препараты Тавамин (по 250 мг/кг массы тела два раза в сутки в период отмены этанола) и Тритарг (по 175 мг/кг массы тела два раза в сутки). Такие недельные циклы повторяли 4 раза. В плазме крови и гомогенатах печени общеизвестными методами определяли содержание молекулярного диальдегида, диеновых конъюгатов и витамина Е.

ПАИ сопровождается активацией процессов ПОЛ. На это указывает статистически значимое увеличение в плазме крови содержания диеновых конъюгатов (на 64%) и молекулярного диальдегида (в 4,6 раза). В печени уровень диеновых конъюгатов возрастает на 75% в сравнении с контрольной группой. При этом в данной ткани значительно снижается содержание витамина Е, что свидетельствует об уменьшении активности системы антиоксидантной защиты в условиях прерывистой алкоголизации.

Назначение Тавамина нормализует уровень диеновых конъюгатов как в плазме, так и в тканях печени. Тавамин статистически значимо увеличивает содержание витамина Е в печени в сравнении с ПАИ, хотя его уровень остается ниже контрольных значений.

Тритарг нормализует содержание молекулярного диальдегида в крови, но при этом снижается ниже значений контрольной группы уровень витамина Е. В печени Тритарг статистически зна-

чимо понижает содержание диеновых конъюгатов и витамина Е в сравнении с прерывистой алкоголизацией. При этом Тритарг проявляет хорошо выраженный гепатопротекторный эффект, нормализуя в печени уровни девяти аминокислот и глутатиона, измененных на фоне ПАИ.

Таким образом, на основании полученных данных можно говорить о более позитивном влиянии Тритарга в качестве препарата для метаболической коррекции при ПАИ в сравнении с Тавамином.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Окислительный стресс в патогенезе алкогольной болезни печени / Л.Ф. Панченко [и др.] // Вопросы наркологии. – 2013. – № 2. – С. 82-91.
2. Albano E. Oxidative mechanisms in the pathogenesis of alcohol liver disease / E. Albano // Molecular aspects of Medicine. – 2008. – Vol. 29, № 1. – P. 9-16.
3. Gastrointestinal and liver disease /M. Feldman [et al.] //Saunders. – 2002. – № 2. – P. 1375-1391.
4. Способ моделирования прерывистой алкогольной интоксикации у крысы в эксперименте: пат. 14 289 Респ. Беларусь, МПК (2009) J09B 23/00 / В.В. Лелевич, С.В. Лелевич; заявитель Гродненский гос. мед. ун-т. – № 14 289; заявл. 11.05.08; опубл. 30.04.11// Афіцыйны бюл./ Нац. центр інтэлектуал. уласнасці. – 2011. – № 2. – С. 136.

## **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НО-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТИВНОГО ВЛИЯНИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ**

*Лелеев В.О.*

Гродненский государственный медицинский университет  
Гродно

**Введение.** Исследование механизмов формирования адаптивного влияния магнитного поля на систему крови является одним из активно развивающихся направлений экспериментальной и клинической медицины. Как известно, физиологическое действие физических факторов обуславливается усиленным образованием под их влиянием активных форм веществ, участву-

ющих в метаболизме и играющих важную роль в проявлении физиологической активности тканей, органов и систем, регуляции процессов жизнедеятельности [1]. Изменение ряда параметров со стороны крови при действии данного фактора: реакция свертывающей системы крови, в основном проявляется в гипокоагулирующем эффекте с улучшением ее гемореологических свойств и нормализацией плазменного звена гемостаза, однако увеличение длительности воздействия и величины магнитной индукции приводит к состоянию гиперкоагуляции. Среди других эффектов действия магнитного поля выявлено уменьшение степени гемолиза, снижение концентрации геминных пигментов в плазме, уменьшение вязкости крови [2]. Сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо при снижении  $pO_2$  можно расценивать как попытку организма компенсировать кислородную недостаточность, но в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация кислорода тканями и значительная его часть используется в оксигеназных реакциях, ведущих к образованию активных форм кислорода, это приводит к активации процессов свободнорадикального окисления, а сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево обладает антиоксидантным эффектом в этих условиях [3]. Имеются данные о том, что действие магнитных волн на кровь приводит к повышению кислородной емкости (антигипоксический эффект) [4], но конкретно механизм изменения кислородсвязывающих свойств крови при воздействии данного фактора изучен пока недостаточно, что и предопределило интерес к данной проблеме.

**Цель исследования** – изучить роль NO-зависимых механизмов в реализации адаптивных изменений кислородсвязывающих свойств крови при действии магнитного поля.

**Материал и методы исследования.** Экспериментальная часть работы была выполнена на лабораторных крысах-самцах массой 250-300 г. Эксперименты выполнялись в условиях *in vitro*. В серии опытов осуществлялось воздействие магнитным полем на кровь в условиях коррекции L-аргинин-NO-системы путем использования исходного субстрата синтеза оксида азота (NO) L-аргинина «Sigma-Aldrich» в конечной концентрации 3 ммоль и ингибитора фермента NO-синтазы метилового эфира

NG-нитро-L-аргинина (L-NAME) «Sigma-Aldrich» в конечной концентрации 1,25 ммоль. В качестве источника магнитного поля использовался аппарат «НемоСпок» (ООО «МагноМед», Беларусь). Показатели газотранспортной функции крови определяли с помощью микрогазоанализатора «Syntesis-15». Сродство гемоглобина к кислороду оценивалось по показателю  $p50$  ( $pO_2$  крови при 50% насыщении ее кислородом).

Полученные данные обработаны методами непараметрической статистики с использованием критерия Манна-Уитни в программе «Statistica 10.0». Достоверными считались различия при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** Выполнена серия с направленной коррекцией L-аргинин – NO-системы путем использования L-аргинина, L-NAME и их комбинации для изучения их вклада в возможные механизмы регуляции кислородсвязывающих свойств крови. При добавлении L-аргинина показатели кислотно-основного состояния SBE и SBC снижались с 9,9 (7,1;11,75) до 5,7 (2,9;8,4) ммоль/л и с 30,75 (28,45;31,5) до 27,01 (24,65;29,0) ммоль/л, соответственно. Отмечалось увеличение показателя  $p50_{\text{реал}}$  с 33,9 (32,6;36,3) до 38,7 (36,4;40,7) мм рт. ст., что свидетельствует о правостороннем сдвиге кривой диссоциации оксигемоглобина. Также происходило увеличение степени насыщения крови и содержание кислорода в крови. При воздействии магнитным полем на кровь в условиях инкубации ее с неселективным ингибитором NO-синтазы с помощью L-NAME не наблюдалось увеличения параметра  $p50_{\text{реал}}$ . Этот параметр не изменялся и при проведении данного воздействия в условиях добавления L-аргинина и L-NAME.

**Результаты,** полученные нами, позволяют выдвинуть предположение, что эффект воздействия магнитного поля реализуется через NO-зависимый компонент цикла оксида азота, т.к. изменение сродства гемоглобина к кислороду, вызванное облучением, не происходит при введении L-NAME. Известно что, L-аргинин-NO система определяет функциональные свойства гемоглобина путем модификации его сродства к кислороду через внутриэритроцитарные механизмы регуляции [3]. Под влиянием монооксида азота (NO) могут образовываться разные формы ге-

моглобина, разнонаправленно изменяющие сродство гемоглобина к кислороду: метгемоглобин, S-нитрозогемоглобин и нитрозилгемоглобин. В ферментных элементах локализован особый фермент NO-синтаза, активность которого важна для формирования кислородтранспортной функции крови и, судя по отсутствию изменений таких модуляторов, как рН, рСО<sub>2</sub>, возможно, изменение сродства гемоглобина к кислороду, выявленное в наших опытах, обусловлено через NO-зависимые внутриэритроцитарные механизмы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Улащик В.С. Изменение состояния физиологически активных веществ в тканях при действии лечебных физических факторов // Физиотерапевт. – 2011. – № 7. – С. 4-14.
2. Сысоева И.В. Современное представление о биологическом действии магнитных полей и их применение в медицине // Медицинские новости. – 2005. – № 4. – С. 21-28.
3. Зинчук В.В. Кислородсвязывающие свойства крови: Избранное // LAP LAMBERT. – 2012. – 167 с.
4. Якубцевич Р.Э., Спас В.В., Плетнев С.В. Использование магнитных полей в реаниматологии и интенсивной терапии // Медицинские новости. – 2003. – № 3. – С. 72-74.

## **РОЛЬ ЭКЗОГЕННЫХ ОКСИДОВ АЗОТА В МОДУЛЯЦИИ ПРО- АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ В ОРГАНИЗМЕ МЫШЕЙ**

*Маковецкая Л.И., Ганжа Е.Б.,  
Дружина Н.А., Михайленко В.М.*

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии  
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

**Введение.** Оксиды азота (ОА) и NO относятся к десяти основным загрязнителям воздуха, которые отрицательно влияют как на состояние окружающей среды, так и на здоровье человека. Системное действие ОА связано с инициацией в организме свободнорадикальных реакций, нитрозированием биологических макромолекул, а также с образованием канцерогенных нитрозосоединений *in vivo*.

Функции и роль эндогенного NO в организме многогранны и активно исследуются. Однако роль экзогенного NO в балансе свободнорадикальных процессов при его поступлении в организм ингаляционным путем изучена недостаточно. Монооксид азота легко реагирует с другими свободными радикалами, что приводит или к их детоксикации, или к генерированию других чрезвычайно токсических форм [1]. В наших предыдущих исследованиях показана взаимосвязь между развитием нитрозативного стресса и течением опухолевой болезни. Длительное воздействие экзогенного ОА негативно влияет на Т-звено иммунной системы, вызывает гиперактивацию макрофагов, что сопровождается более интенсивным ростом опухоли [2].

**Целью работы** было исследование влияния экзогенных ОА на образование супероксидного анион-радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ) и каталазную активность, которые определяют прооксидантно-антиоксидантное соотношение в организме мышей.

**Материалы и методы.** В опытах использовали самцов мышей линии С57В1/6 весом 20–25 г в возрасте 6 недель, содержащихся в условиях свободного доступа к пище и воде. Процедуры с экспериментальными животными проводили в соответствии с требованиями Государственного комитета по этике.

Ингаляционное действие экзогенного NO проводили в камере объемом 0,1 м<sup>3</sup> при концентрации ОА 50 мг/м<sup>3</sup> воздуха в пересчете на NO. На выходе из камеры доля NO составляла 20–25%, а NO<sub>2</sub> – 75–80% от их общего содержания.

Уровень генерации супероксидного анион-радикала определяли в суспензии клеток печени с помощью хемилюминесцентного (ХЛ) метода с использованием индикатора люцигенина. Состояние систем антиоксидантной защиты у животных оценивали по уровню каталазной активности периферической крови. Прооксидантно-антиоксидантное соотношение в крови исследовали методом индуцированной перекисью водорода ХЛ. Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** Исследование уровня РФК, в частности  $O_2^{\cdot-}$ , в клетках печени мышей линии С57В1/6 показало, что скорость наработки супероксида гепатоцитами при ингаляционном поступлении ОА достоверно возросла (рис. 1). Па-

раллельно отмечено постепенное снижение каталазной активности (до 38%) в крови мышей, находившихся в условиях повышенного содержания ОА в атмосферном воздухе.

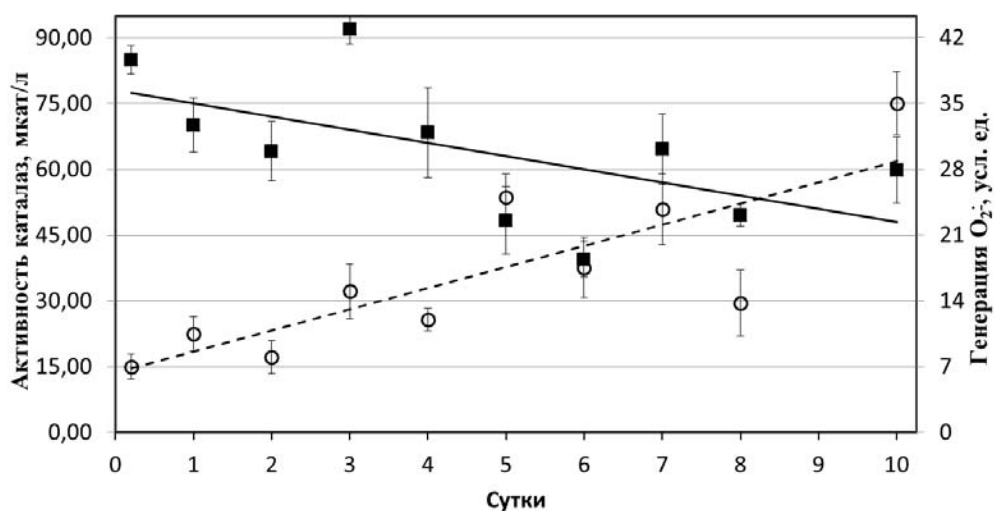


Рисунок 1 – Скорость генерации супероксидного анион-радикала гепатоцитами и каталазная активность в крови мышей линии C57Bl/6 при длительном ингаляционном воздействии ОА:  
 ○---○ уровень O<sub>2</sub><sup>•-</sup>; ■—■— каталазная активность

Фракционированное действие ОА на начальных этапах (1, 2-е сутки) вызывало незначительное снижение прооксидантно-антиоксидантного соотношения – на 14,4% (рис. 2), что связано, вероятно, с мобилизацией защитно-компенсаторных механизмов организма. В дальнейшем наблюдали общую тенденцию к росту светосуммы свечения, что свидетельствует о преобладании прооксидантного звена про- антиоксидантного соотношения в крови мышей.

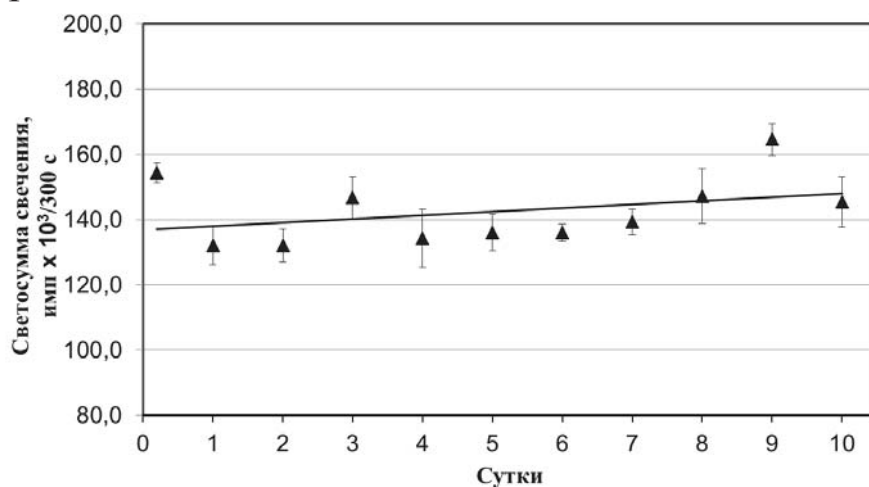


Рисунок 2 – Светосумма свечения гемолизата мышей линии C57Bl/6 при длительном ингаляционном воздействии ОА

Таким образом, длительное воздействие экзогенных ОА стимулировало развитие в организме мышей нитрозативно-оксидативного стресса, который характеризовался интенсификацией генерации супероксидного анион-радикала, ингибированием каталазного звена антиоксидантной системы и смещением про- антиоксидантного равновесия в сторону генотоксических прооксидантных процессов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Bonavida B. Nitric Oxide (NO) and Cancer. Prognosis, Prevention, and Therapy. – New York: Springer, 2010. – 513 p.
2. Mikhailenko V.M., Savtsova Z.D., Glavin O.A. et al. Effect of environmental nitric oxides on the antitumor resistance of rats // Exp Oncol. – 2005. – Vol. 27. – P. 65–70.

## ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ДЕТЕЙ С ПРЕДГИПЕРТЕНЗИЕЙ: ПУТИ КОРРЕКЦИИ

*Максимович Н.А.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Дисфункция эндотелия (ДЭ) у детей с предгипертензией, развившаяся на фоне действия факторов риска атеросклероза, все более часто становится предметом для дискуссии врачей педиатрического профиля.

Учитывая тесную связь вегетативной дисфункции (ВД) и первичной артериальной гипертензии [1-3], высокую распространенность артериальной гипертензии (1–18%) [2] и ВД (30%–50%) [1] среди детей, а также отсутствие их эффективного лечения, данная проблема приобретает не только медицинское, но и важное социально-экономическое значение.

**Цель исследования:** определить патогенетическую роль поливитаминов, рыбьего жира и эналаприла в коррекции дисфункции эндотелия и предгипертензивных состояний у детей с вегетативными расстройствами.

**Методы исследования.** Исследования выполнены у 246 де-

тей обоего пола в возрасте от 8 до 17 лет. В опытную группу вошли 56 детей с ВД с предгипертензией и с ДЭ на фоне высокого уровня атерогенных факторов риска, которым проведено стационарное обследование и лечение в УЗ «Детская областная клиническая больница» г. Гродно.

Для диагностики ДЭ у детей использовали тест с реактивной гиперемией с исследованием максимального прироста пульсового кровотока ( $\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$ ) в предплечье на реоанализаторе (Реоанализатор 5А-05, Украина) [3, 4].

Основу коррекции ДЭ и предгипертензивных состояний у пациентов составили 2-недельное традиционное лечение ВД (ТЛ, 1-я подгруппа,  $n=20$ ), а также включение в схемы ТЛ препаратов с эндотелий-протекторным действием: ундевита – 2-я подгруппа ( $n=14$ ), азелликапса (далее РЖ) – 3-я подгруппа ( $n=10$ ) и эналаприла как стимулятора синтеза оксида азота эндотелием – 4-я подгруппа ( $n=12$ ) [3].

Подгруппы пациентов не различались по массо-ростовым показателям ( $p>0,05$ ).

В плазме крови пациентов изучено содержание естественных антиоксидантов ( $\alpha$ -токоферола и ретинола) [3].

Контрольную группу составили 190 здоровых детей без признаков ДЭ.

Результаты оценены методами непараметрической статистики ( $p<0,05$ ) и представлены в виде среднего квадратичного отклонения ( $M\pm\text{STD}$ ).

**Результаты и их обсуждение.** Анализ  $\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$  у детей 1-й подгруппы до ( $7,5\pm 1,76\%$ ) и после ( $7,6\pm 1,48\%$ ) ТЛ ВД показал, что ТЛ не устраняет ДЭ.

В конце 2-недельного курса ТЛ детей с ВД  $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$  увеличился при включении в схему лечения ундевита – с  $7,9\pm 1,80\%$  до  $16,1\pm 2,03\%$  ( $p<0,001$ ), рыбьего жира – с  $7,6\pm 1,69\%$  до  $16,6\pm 3,51\%$  ( $p<0,001$ ) и эналаприла – с  $7,6\pm 1,74\%$  до  $15,4\pm 2,03\%$  ( $p<0,001$ ).

Двухнедельный курс использования в протоколах лечения детей с ВД ундевита, рыбьего жира и эналаприла повышает зависимую от эндотелия дилатацию сосудов, однако её значения не достигают возрастной нормы у здоровых детей ( $p>0,05$ ).

Содержание  $\alpha$ -токоферола и ретинола ацетата в плазме крови детей с ВД (таблица) после ТЛ и лечения эналаприлом – не

изменилось, а при включении в схему ТЛ ВД ундевита ( $p < 0,01$ ) и рыбьего жира – увеличилось ( $p < 0,05$ ).

Использование поливитаминовых препаратов с антиоксидантным действием (ундевита), а также препаратов, содержащих  $\omega$ -3-полиненасыщенные жирные кислоты (рыбий жир) и стимулирующих активность эндотелиальной изоформы NOS (эналаприл) приводит к улучшению функциональных свойств эндотелиоцитов и к нормализации АД.

Однако только при сочетании ТЛ с ундевитом содержание  $\alpha$ -токоферола и ретинола в плазме крови и уровень АД у детей с ВД с достигли значений, выявленных у здоровых детей ( $p > 0,05$ ).

Таблица – Уровень ретинола ацетата и  $\alpha$ -токоферола в плазме крови у детей с ВД на фоне традиционного лечения (ТЛ) при приеме ундевита (Унд), рыбьего жира (РЖ) и эналаприла (Эн)

Группы и подгруппы		Показатели		
		NO <sub>x</sub> (μM)	Ретинола ацетат (μM)	$\alpha$ -токоферол (μM)
Контрольная группа		27,5±5,87	1,8±0,49	22,3±5,00
1-я подгруппа (ТЛ)	до лечения	11,1±3,79 <sup>***</sup>	1,5±0,47 <sup>*</sup>	17,3±2,09 <sup>***</sup>
	после лечения	10,9±3,51 <sup>***</sup>	1,4±0,24 <sup>**</sup>	16,9±2,40 <sup>***</sup>
2-я подгруппа (ТЛ+Унд)	до лечения	12,2±3,24 <sup>***</sup>	1,4±0,19 <sup>***</sup>	7,8±1,48 <sup>***</sup>
	после лечения	26,1±7,06 <sup>##</sup>	1,9±0,38 <sup>##</sup>	22,0±2,89 <sup>##</sup>
3-я подгруппа (ТЛ+РЖ)	до лечения	12,2±3,24 <sup>***</sup>	1,3±0,24 <sup>***</sup>	16,7±2,11 <sup>***</sup>
	после лечения	26,2±4,78 <sup>##</sup>	1,6±0,28 <sup>##</sup>	19,2±2,92 <sup>#</sup>
4-я подгруппа (ТЛ+Эн)	до лечения	11,7±3,44 <sup>***</sup>	1,4±0,29 <sup>**</sup>	16,5±3,06 <sup>***</sup>
	после лечения	27,8±4,14 <sup>###</sup>	1,5±0,36 <sup>*</sup>	17,0±3,60 <sup>***</sup> 54,5±5,85 <sup>***##</sup>

Примечания:

1) \*, \*\*, \*\*\* –  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  – различия показателей в опытных подгруппах с контрольной группой для критерия Манна-Уитни;

2) ##, ### –  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  – различия показателей до и после лечения для критерия Вилкоксона.

Снижение степени окислительного стресса открывает новые пути коррекции предгипертензивных состояний у детей.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Беляева Л.М. Артериальные гипертензии у детей и подростков. – Мн.: «Белорусская наука». – 2006. – 162 с.
2. Коровина Н.А., Кузнецова О.А., Творогова Т.М. Первичная артериальная гипертензия в практике педиатра // Русский медицинский журнал. – 2007. – № 1. – С. 1-9.

3. Максимович Н.А. Диагностика, коррекция и профилактика дисфункции эндотелия у детей с расстройствами вегетативной нервной системы. – Гродно: ГрГМУ, 2010. – 212 с.

4. Celemajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // Lancet. – 1992. – V. 340. – P. 1111-1115.

## **НАПРАВЛЕННАЯ МОДУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ КИСЛОРОДА И ОКСИДОМ АЗОТА**

*Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Соловьева А.Г.*

ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России  
Нижний Новгород

**Введение.** В настоящее время активные формы кислорода (АФК), антиоксиданты и оксид азота в разной форме уже используются с лечебной целью во многих областях медицины. С другой стороны, практически единственной реально применяемой АФК остается озон, в отношении NO наиболее широко распространены введение его предшественника L-аргинина и опосредованная генерация под действием электромагнитного поля с особыми параметрами. Это обуславливает необходимость расширения спектра доступных АФК, а также оценку эффектов и возможностей других форм оксида азота на различных биомоделях, что и являлось **целью** исследования.

**Материал и методы исследования.** Для реализации цели работы нами на моделях *in vitro* (консервированная кровь человека) и *in vivo* (здоровые и имеющие термическую травму крысы линии Вистар) изучено действие газообразного синглетного кислорода; комбинации «оксигенация – дарсонвализация», способствующей образованию АФК в биообъекте; газообразного NO, полученного от различных генераторов; депонированного в составе тиол-содержащих динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) оксида азота. В качестве сравнительного воздействия использовали озон в газовой фазе и в виде озонированного фи-

зиологического раствора. Учитывали потенциальную дозозависимость эффектов всех физико-химических факторов.

В образцах крови человека и животных определяли показатели окислительного метаболизма методом биохемилюминесценции (интенсивность перекисного окисления липидов, общую антиоксидантную активность, перекисную резистентность эритроцитов), путем регистрации уровня малонового диальдегида в плазме и эритроцитах, а также активности супероксиддисмутазы. Состояние энергетического обмена оценивали по активности лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях, плазменной и эритроцитарной концентрациям лактата и глюкозы. Функционирование детоксикационных систем мониторировали по каталитическим свойствам альдегиддегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что изученные АФК и NO вызывают в биосистемах принципиально разные эффекты, которые могут быть резюмированы в следующем:

- применение *синглетного кислорода* способствовало дозозависимой активации промежуточной стадии энергетического обмена, детоксикационных ферментных систем, модификации окислительного метаболизма с превалированием нарастания антиоксидантного потенциала плазмы над стимуляцией процессов липопероксидации [1-3,6];

- *сочетанное воздействие кислорода и поля Дарсонваля* обуславливает умеренную активацию энергетического обмена за счет преимущественного повышения каталитической активности прямой реакции лактатдегидрогеназы; координированное нарастание интенсивности перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности [3, 5];

- наиболее негативное действие уже на этапе исследований *in vitro* было показано для *газообразного оксида азота, продуцируемого аппаратом «Плазон»*; в этом случае имеют место выраженное угнетение энергетического метаболизма, активности детоксикационных энзимов, развитие признаков окислительного стресса, формирование дисбаланса параметров кислотно-щелочного равновесия крови и др. [4, 5, 7];

- существенно более благоприятная динамика метаболичес-

ких показателей выявлена в отношении *газообразного оксида азота, синтезируемого экспериментальным NO-генератором* (РФЯЦ, Саров): стимуляция энергетического метаболизма, минимальное прооксидантное действие в сочетании с усилением каталитических свойств супероксиддисмутазы, активация ферментов детоксикации [4, 5];

- для *ДНКЖ с глутатионом* характерны антиоксидантное действие, стимуляция энергетического обмена и систем детоксикации эритроцитов [4, 5].

Таким образом, расширение «ассортимента» АФК и вариантов применения NO (как в свободной, так и в депонированной форме) существенно повышает возможности управления состоянием метаболизма биологических систем *in vitro* и *in vivo*. Это создает предпосылки для совершенствования лечебных технологий, основанных на использовании эффектов биорадикальной терапии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Мартусевич А.А., Мартусевич А.К., Перетягин С.П. Особенности действия синглетного кислорода и озона на процессы липопероксидации и антиоксидантную систему крови и тканей крыс // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99, № 9. – С. 1057-1066.
2. Мартусевич А.А., Перетягин С.П., Мартусевич А.К. Молекулярные и клеточные механизмы действия синглетного кислорода на биосистемы // Современные технологии в медицине. – 2012. - № 2. – С. 128-134.
3. Мартусевич А.К., Мартусевич А.А., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Изучение влияния некоторых активных форм кислорода на физико-химические показатели крови // Биофизика. – 2014. – Т. 59, вып. 2. – С. 369-372.
4. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Влияние свободного и депонированного оксида азота на энергетический метаболизм крови // Современные технологии в медицине. – 2013. – Т. 5, № 4. – С. 33-38.
5. Перетягин С.П., Мартусевич А.К., Ванин А.Ф. Молекулярно-клеточные механизмы трансформации гомеостаза биосистем активными формами кислорода и азота // Медицинский альманах. – 2013. - № 3. – С. 80-81.
6. Martusevich A.A., Solovieva A.G., Martusevich A.K. Influence of singlet oxygen inhalation on the state of blood pro- and antioxidant systems and energy metabolism // Bull. Exper. Biol. Med. – 2013. – Vol. 156, Iss. 1. – P. 41-43.
7. Martusevich A.K., Peretyagin S.P., Soloveva A.G., Vanin A.F. Estimation of some molecular effects of gaseous nitrogen oxide on human blood *in vitro* // Biophysics. – 2013. – Vol. 58, № 5. – P. 689-692.

## СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ЛОКАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БИОРАДИКАЛОВ

*Мартусевич А.К., Иванникова Е.В., Соловьева А.Г.,  
Перетягин С.П., Бояринов Г.А.*

ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России, Нижний Новгород;  
ГБУЗ НО «НОКБ им. Н.И. Семашко», Нижний Новгород;  
ГБОУ ВПО «НиЖГМА» Минздрава России, Нижний Новгород

**Введение.** Несмотря на распространенные представления о возникновении только локальных эффектов при местных лечебных (физиотерапевтических) воздействиях, многими работами показано наличие системных сдвигов разных параметров гомеостаза при их применении.

**Цель исследования** – оценка динамики окислительного метаболизма крови животных при местном введении АФК.

**Материал и методы исследования.** Для решения указанной задачи были сформированы 5 групп крыс линии Вистар (n=60). В контрольную группу, которой не выполняли никаких манипуляций, было включено 20 животных. Также сформированы 4 основных группы (по 10 крыс в каждой), причем животным первой группы подкожно (в область спины) вводили 1 мл кислорода, крысам второй группы осуществляли местную дарсонвализацию (продолжительность – 4 мин.), третьей группы – введение 1 мл озono-кислородной смеси (концентрация озона – 3000 мкг/л), четвертой – воздействие дарсовализации (продолжительность аналогична) после предварительного введения кислорода (1 мл).

В образцах крови животных методом Fe-индуцированной биохемилюминесценции определяли интенсивность перекисного окисления липидов (как светосумму хемилюминесценции за 30 сек.) и общую антиоксидантную активность плазмы (тангенс угла  $2\alpha$ ) на аппарате БХЛ-06. Содержание малонового диальдегида (МДА) в плазме крови оценивали по методу В.Г. Сидоркина, И.А. Чулошниковой (1993). Активность супероксиддисмутазы изучали по методике Т.В. Сирота (1999). Полученные данные обработаны в программном пакете Statistica 6.0.

**Результаты и их обсуждение.** Проведенные исследования позволили установить, что не для всех рассмотренных локальных воздействий имеют место системные эффекты в отношении баланса про- и антиоксидантных систем крови. Так, при местном введении кислорода интенсивность перекисного окисления липидов по сравнению с животными контрольной группы не изменяется ( $p > 0,05$ ). Аналогичную тенденцию наблюдали и в отношении местной дарсонвализации (рис. 1).

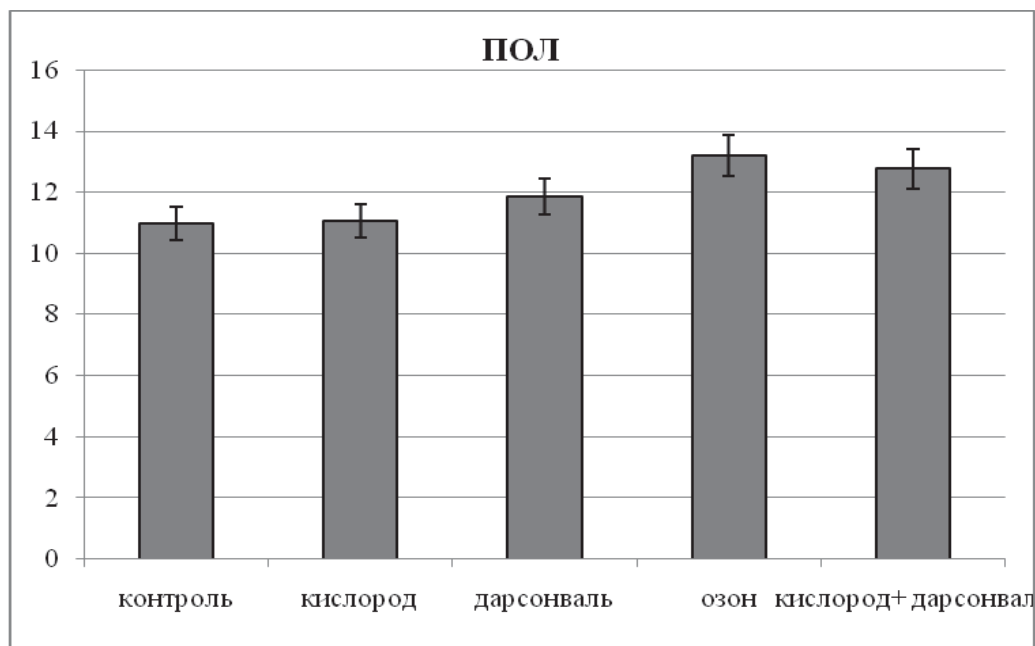


Рисунок 1 – Интенсивность процессов липопероксидации в плазме крови крыс при различных локальных воздействиях

Напротив, при озонировании участка кожи регистрировали умеренную активацию свободно-радикальных процессов в плазме крови крыс ( $p < 0,05$  по сравнению с интактными и получавшими инъекции кислорода животными). Это указывает на наличие в данном случае системности действия озона, обусловленной запуском изучаемым соединением каскада биорадикальных реакций в организме животного. Менее выраженные, но значимые сдвиги уровня липопероксидации обнаруживали при сочетании оксигенации участка кожи и его последующей обработки полем Дарсонваля.

Сведения об изменениях интенсивности перекисного окисления липидов конкретизируются результатами оценки общей антиоксидантной активности плазмы крови крыс (рис. 2). В час-

тности, отсутствие системных эффектов изолированного применения местной оксигенации и дарсонвализации проявляется в сохранности изучаемого показателя на уровне крыс интактной группы. В условиях локального введения озono-кислородной смеси в кожу спины животного наличие организменного действия соединения проявлялось в динамике изучаемого параметра крови. В рассматриваемом случае антиоксидантный потенциал биожидкости животных возрастал на 29% относительно аналогичного показателя у крыс контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

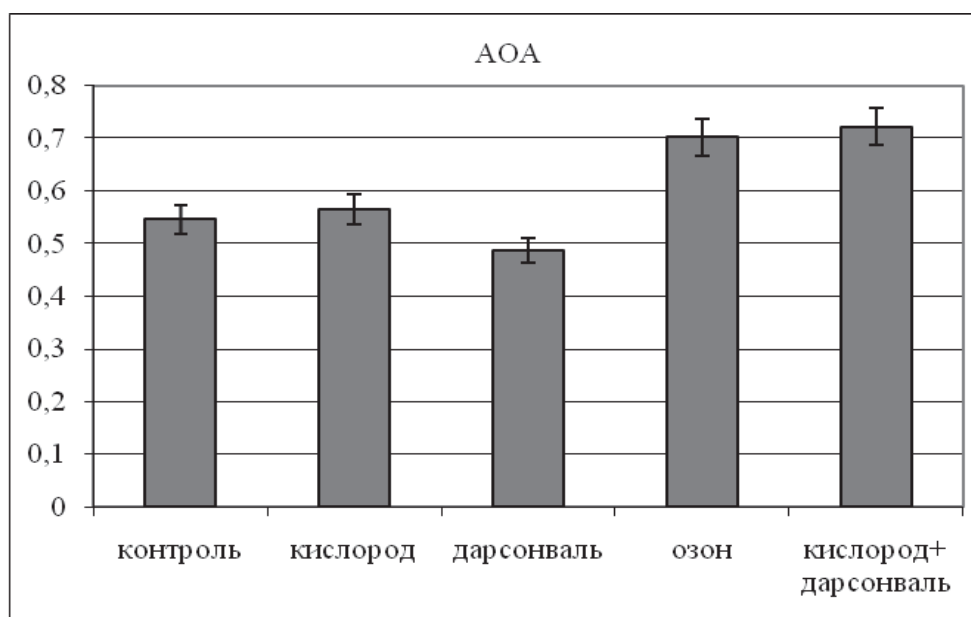


Рисунок 2 – Общая антиоксидантная активность плазмы крови крыс при различных локальных воздействиях

Аналогичная тенденция имела место и при сочетанном локальном воздействии кислорода и поля Дарсонваля: у крыс данной группы уровень антиоксидантной активности крови увеличивался на 32% по сравнению с таковым у интактных животных ( $p < 0,05$ ). На этом основании можно говорить о подтверждении системности действия данных источников АФК в отношении про- и антиоксидантных систем крови крыс.

В целом результаты изучения процессов липопероксидации крови и состояния антиоксидантной системы позволяют верифицировать наличие системного действия от локальной биорадикальной терапии, но оно проявляется лишь при озонировании, дарсонвализации и ее комбинации с предварительной оксигенацией участка.

# ЭФФЕКТЫ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ТЕРАПИИ ЛЕРКАНИДИПИНОМ НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В СОЧЕТАНИИ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

<sup>1</sup>Матвейчик А.И., <sup>1</sup>Ёрш И.Р., <sup>2</sup>Романчук Э.В., <sup>2</sup>Лучко В.С.

<sup>1</sup>Гродненский государственный медицинский университет;

<sup>2</sup>Гродненская областная клиническая больница, Гродно

**Введение.** Для пациентов артериальной гипертензией (АГ) в сочетании с бронхиальной астмой (БА) характерны нарушения кислородтранспортной функции крови (КТФК), которые проявляются увеличением сродства гемоглобина к кислороду (СГК), смещением кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) влево, развитием тканевой гипоксии [2]. Из данных литературы известно, что амлодипина малеат снижает СГК [1]. Сведения о влиянии лерканидипина на СГК и КДО в доступной нам литературе отсутствуют.

**Цель исследования:** оценить эффекты антигипертензивной терапии лерканидипином на КТФК у пациентов АГ в сочетании с БА.

**Методы исследования.** В исследование длительностью 6 недель, в было включено 30 пациентов с АГ в сочетании с БА. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, средний возраст которых составил 34,5 (22;40) года, из них: мужчин – 8 (36,36%), женщин 22 (73,33%). Средний возраст пациентов составил 43 (38;51), из них мужчин – 8 (26,67%), женщин – 22 (73,33%). В соответствии с классификацией ВОЗ (1999) и рекомендациями ESH и ESC(2007) АГ I степени диагностирована у 16 (53,3%) пациентов, II степени – у 14 (46,7%). В соответствии с GINA (2011) у 5 (16,7%) пациентов основной группы имела место легкая интермиттирующая, у 9 (30%) – легкая персистирующая и у 16 (53,3%) – средней степени тяжести БА. Пациенты с контролируемой БА постоянно находились на базисной терапии серетидом 25/125 мкг, а по требованию принимали сальбутамол либо беротек. Системные глюкокортикостероиды не назначались ни одному пациенту. Всем пациентам

назначался лерканидипин («Леркамен», «Берлин-Хеми», Германия) в средней суточной дозе 10,3 мг.

Определение КТФК выполнялось на микрогазоанализаторе «Syntesis-15» в газотранспортной лаборатории НИЛ УО «ГрГМУ». Определялись следующие показатели КТФК: напряжение кислорода в венозной крови ( $pO_2$ ), степень оксигенации ( $SO_2$ ), содержание кислорода ( $CvO_2$ ), кислородную емкость (КЕ), количество гемоглобина (Hb), а также показатели кислотно-основного состояния: напряжение углекислого газа в венозной крови ( $pCO_2$ ), концентрация водородных ионов (pH), стандартный бикарбонат (SBC), реальный/стандартный недостаток (избыток) буферных оснований (ABE/SBE), гидробикарбонат ( $HCO_3^-$ ) и общая углекислота плазмы крови ( $TCO_2$ ). СГК определяли по показателям  $p50_{\text{станд}}$  и  $p50_{\text{реал}}$ .

### Результаты и их обсуждение

Таблица 1 – Динамика параметров КТФК до и после терапии лерканидипином

Параметры	Контроль	Основная группа	
		до лечения (n=30)	после лечения (n=30)
$p50_{\text{реал}}$ , мм рт.ст.	29,4 (27,2;31,1)	26,7 (25,2;29,2)	27,9 (27;28,5)
$p50_{\text{станд}}$ , мм рт.ст.	29,2 (27;30,8)	25,6 (25,4;28,2)	27,3 (26,9;28,3)
Гемоглобин, г/л	137 (117;146)#	139 (122,5;145)#	133 (125;139)#
КЕ,	19,2 (19,2;20,3)	19 (16,9;20)	18,3 (17,9;18,8)
$CvO_2$ , мл на л крови	13,5 (10,4;15,3)	14,1 (13;15,8)	12,9 (11,5;14,1)*#
$SO_2$ , %	72,7 (64,3;81,6)	77,4 (6,7;79,8)	74,6 (67,8;77,3)*#
$pO_2$ , мм рт.ст.	44 (36;50)	43 (38,5;46)	45 (40;48,5)
pH, ед.	7,371 (7,349;7,398)	7,393 (7,366;7,421)	7,384 (7,358;7,392)
$pCO_2$ , мм рт.ст.	45,4 (42,1;53,6)	46,5 (42,9;51,1)#	45,6 (43,5;47,7)#
$HCO_3^-$ , ммоль/л	28,8 (27;30,1)	28,8 (27,1;30,3)#	27,8 (27,2;29,1)#
$TCO_2$ , ммоль/л	30,2 (27,8;32,3)	30,4 (28,6;33,1)#	30,7 (29,7;31,6)#
ABE, ммоль/л	3,2 (1,5;4,5)	2,9 (1,9;6,6)	3,1 (2,6;5)*#
SBE, ммоль/л	2,8 (1,3;4,7)	3,1 (1,6;4,2)	3 (2,4;4,9)
SBC, ммоль/л	26,8 (25;27,7)	26,5 (25,9;27,5)#	26,3 (25,4;27,5)

Примечания:

- 1) - $p < 0.05$  статистически значимое изменение показателя до и после лечения;
- 2) #- $p > 0.05$  отсутствие статистически значимых различий по сравнению со здоровыми лицами

Как видно из таблицы 1, содержание кислорода в венозной крови ( $CvO_2$ ) у пациентов основной группы было выше на 4,3%, а степень оксигенации гемоглобина ( $SO_2$ ) – на 6,1% по сравнению со здоровыми лицами ( $p < 0.05$ ). Проявлением гипоксии у обследованных пациентов явилось снижение показателя АВЕ на 9,4% по сравнению со здоровыми лицами ( $p < 0.05$ ). Также у них отмечено смещение рН в щелочную сторону. АВЕ после терапии лерканидипином увеличился на 6,9% и не отличался от значений контрольной группы (3,2 (1,5;4,5) ( $p > 0.05$ ), что свидетельствует о снижении уровня гипоксии. Терапия лерканидипином у пациентов основной группы привела к уменьшению  $SO_2$  с 77,4 (67;79,8)% до 74,6 (67,8;77,3)%;  $CvO_2$  уменьшилось с 14,1 (13;15,8)% до 12,9 (11,5;14,1)%, что свидетельствует об увеличении поступления кислорода в ткани, уменьшении его содержания в венозной крови. 6-ти недельная терапия лерканидипином привела к увеличению  $p50_{\text{реал}}$  на 4,5%,  $p50_{\text{станд}}$  – на 6,6%, которые составили 27,9 (27;28,5) мм рт.ст. и 27,3 (26,9;28,3) мм рт.ст. при исходных их значениях 26,7 (25,2;29,2) мм рт.ст. и 25,6 (25,4;28,2) мм рт.ст., соответственно.

На фоне терапии лерканидипином наблюдалось уменьшение СГК, что проявилось сдвигом КДО вправо по сравнению с исходными данными.

**Выводы.** Терапия лерканидипином в суточной дозе 10,3 мг. в течение 6-ти недель у пациентов АГ в сочетании с БА привела к увеличению показателя  $p50_{\text{реал}}$  на 4,5%,  $p50_{\text{станд}}$  – на 6,6%, что привело к сдвигу КДО вправо по сравнению с данными до лечения. У исследуемых пациентов показатель АВЕ, содержание кислорода в венозной крови и степень оксигенации гемоглобина достигли уровней таковых у здоровых лиц.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зинчук, В.В. Возможность фармакологической коррекции кислородтранспортной функции крови / В.В. Зинчук, О.А. Балбатун, Н.В. Зинчук // Вестник Смоленской медицинской академии. – 2005. – № 3. – С. 23-25.
2. Матвейчик А.И. Кислородтранспортная функция крови у пациентов с артериальной гипертензией в сочетании с бронхиальной астмой в зависимости от степени контроля над ней / А.И. Матвейчик // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2013. – №4. – С. 32-36.

# ЛЬНЯНОЕ МАСЛО КАК ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТОР В УСЛОВИЯХ ОВАРИЭКТОМИИ И ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*Милош Т.С., Максимович Н.Е.*

Гродненский государственный медицинский университет  
Гродно

**Введение.** Актуальной проблемой современного общества являются ишемические повреждения головного мозга (ИГМ), поскольку занимают второе место в структуре смертности во всем мире и первое место как причина стойкой утраты трудоспособности (ВОЗ 2003). Известно, что в постменопаузе функция яичников угасает, развивается дефицит эстрогенов, увеличивающий риск сердечно-сосудистых заболеваний, который повышается при хирургической менопаузе [1]. При этом тотальная овариэктомия (ТО) приводит к тяжелым климактерическим расстройствам: нарушению углеводного и липидного обменов, эндотелиальной дисфункции, изменению метаболизма костной ткани, ухудшению реологических свойств крови [2]. Вместе с тем известно, что в этот период у женщин значительно увеличивается количество инфарктов миокарда и инсультов, патогенез которых связан с дисфункцией эндотелия.

В связи с этим у женщин после ТО в молодом возрасте не разработана коррекция возникающего посткастрационного синдрома, кроме заместительной гормональной терапии [2].

На наш взгляд, в качестве корректора дисфункции эндотелия выбрано льняное масло. В его состав входят витамины Е, F, А и ненасыщенные кислоты (60% омега 3-альфа-линоленовая кислота, 20% омега 6-линолевая кислота, 10% омега 9-олеиновая кислота и 10% других кислот). Имеющаяся в составе омега 3-полиненасыщенная альфа-линоленовая кислота является незаменимой жирной кислотой, содержится в больших количествах в сое, морской рыбе и морских животных [3], обладает гиполипидемическим эффектом, оказывает гипокреационное, антиагрегантное, противовоспалительное, иммуномодулирующее [6], противоопухолевое [3] и положительное действие

при ишемической болезни сердца, а также гипотензивное – при гипертонической болезни [5, 6].

**Целью** исследования явилось изучение состояния эндотелия кровеносных сосудов у крыс в условиях двусторонней овариэктомии, ишемии головного мозга и введения льняного масла.

**Материалы и методы исследований.** Исследования выполнены на белых беспородных беременным крысам ( $n=27$ ) массой 200-250 г, разделенных на 4 группы: контрольная группа ( $n=8$ ); животным 1-й опытной группы ( $n=6$ ) выполнена двусторонняя овариэктомия; крысам 2-й опытной группы ( $n=7$ ) произведена субтотальная ИГМ в течение 1 часа; животные 3-й опытной группы ( $n=6$ ), после ТО и субтотальной ИГМ на протяжении 1 часа, ежедневно получали внутрь (per os) 0,2 мл льняного масла в течение 1 месяца.

Субтотальную ИГМ моделировали перевязыванием у крыс левой общей сонной артерии в течение 1 часа с помощью хлопчатобумажных нитей в двух местах открытым хирургическим способом. Перед накладыванием лигатур артерию выделяли от окружающей соединительной ткани и нерва, затем рану ушивали. Двустороннюю овариэктомию, субтотальную ИГМ в течение 1 часа и взятие крови для исследований осуществляли в условиях наркоза (внутримышечно тиопентал натрия, 60 мг/кг). Кровь забирали путем катетеризации общей сонной артерии с добавлением гепарина (20 Ед/мл).

Степень морфологического повреждения эндотелия кровеносных сосудов изучали по количеству циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в 1 л плазмы крови по методу Hladovec J. (1973) в модификации Власова Т. Д. (1999) [7].

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы Statistica 6,0 [4]. После проверки данных на нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка рассчитывали медиану, межквартильный интервал (25 и 75-й процентиля). Различия между группами устанавливали с помощью критериев Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Изучение выраженности десквамации эндотелия кровеносных сосудов на основании количе-

ства ЦЭК выявило наличие морфологического повреждения эндотелия кровеносных сосудов у крыс с ТО и субтотальной ИГМ.

Количество ЦЭК в плазме крови крыс 1-й опытной группы составило  $22,5 (21,0; 24,0) \times 10^4/\text{л}$  ( $n=6$ ,  $p < 0,001$ ), в то время как в контроле значение этого показателя составило  $4,5 (2,5; 5,0) \times 10^4/\text{л}$  ( $n=8$ ). У животных 2-й опытной группы количество ЦЭК отмечено  $12,0 (11,0; 15,0) \times 10^4/\text{л}$  ( $n=7$ ), что больше ( $p < 0,05$ ), чем в контроле, и меньше ( $p > 0,05$ ), чем у овариэктомированных крыс.

У животных, получавших льняное масло на фоне ТО и субтотальной ИГМ, установлено существенное уменьшение морфологического повреждения эндотелия кровеносных сосудов. Количество ЦЭК в плазме крови у животных данной группы оказалось меньше на 51,1%, чем в первой опытной группе, составив  $11,0 (7,0; 12,0) \times 10^4/\text{л}$  ( $n=6$ ,  $p < 0,001$ ), имело тенденцию к снижению ( $p > 0,05$ ) в сравнении со 2-й опытной группой, хотя оставалось на 59,1% больше ( $p < 0,05$ ), чем в контрольной группе. Это указывает на эндотелиопротекторный эффект льняного масла у овариэктомированных крыс и животных с субтотальной ИГМ.

Таким образом, изучение морфологического состояния эндотелия кровеносных сосудов крыс с тотальной овариэктомией и субтотальной ИГМ показало, что важное значение в генезе хирургической менопаузы и ишемических повреждений мозга могут играть нарушения морфофункциональных свойств эндотелия кровеносных сосудов.

Следовательно, недостаточность механизмов ауторегуляции кровотока, в том числе на уровне головного мозга и матки, можно рассматривать как один из множественных факторов патогенеза нарушений кровообращения у крыс, испытывающих выраженный дефицит эстрогенов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аккер Л.В. Хирургическая менопауза // Барнаул. – 2004. – С. 19–37.
2. Алиханова З.М. Патология физиологии системных изменений у женщин репродуктивного возраста после тотальной овариэктомии // Акушерство и гинекология. – 1996. – № 1. – С. 11–14.
3. Гаврисюк В.К. Применение омега-3-полиненасыщенных жирных кислот в медицине // Укр. пульмон. ж-л. – 2001. – № 3. – С. 5–10.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica // М.: Медиа Сфера. – 2003. – 312 с.

5. Knapp H.R. N-fatty acids and human hypertension// Curr Opin Lipidol. – 1996. – Vol. 3. – P. 30–33.
6. Krombout D., Bosschieter E.B., Coulander C. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease// N England J Med. – 1985. – Vol. 312. – P. 1205–1209.
7. Hladovec J., Rossman P. Circulating endothelial cells isolated together with platelets and the experimental modification of their counts in rats // Thromb. Res. – 1973. – V.3. – P. 665–674.

## **ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ, ПРООПЕРИРОВАННЫХ ПО ПОВОДУ КАРЦИНОМЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

*Митюкова Т.А.<sup>1,2</sup>, Леонова Т.А.<sup>1,2</sup>, Платонова Т.Ю.<sup>1,2</sup>,  
Юраго Т.М.<sup>2</sup>, Чередник О.М.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск;

<sup>2</sup>ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного  
образования», Минск

**Введение.** Свободнорадикальные процессы в норме всегда присутствуют во всех клетках и биологических средах, протекая в стационарном режиме и находясь под контролем антиоксидантных систем. Однако при патологических состояниях и воздействии ионизирующего излучения эти процессы могут приобретать неконтролируемый характер и играть роль повреждающего фактора.

**Целью** настоящей работы было изучение показателей антиоксидантной системы (АОС) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) у пациентов с карциномой щитовидной железы, получающих комплексное лечение.

**Материалы и методы.** Были обследованы пациенты с высокодифференцированным раком щитовидной железы (ВДРЩЖ) – 145 чел., и практически здоровые лица, которые составили группу контроля – 21 чел. Возраст обследованных был в пределах 18-28 лет, средний возраст – 22,65±2,56 года. Среди прооперированных пациентов с карциномой ЩЖ примерно половина лиц (75 чел.) проходили радиойодтерапию (РИТ). Пере-

кисное окисление липидов в сыворотке крови оценивали по уровню МДА [1], диенконъюгатов (ДК<sub>233</sub>) и диенкетонов (ДК<sub>278</sub>) [4]. Антиоксидантную систему оценивали по уровню восстановленных сульфгидрильных групп [2], а также витаминов А и Е спектрофлюориметрическим методом [3].

**Результаты и их обсуждение.** У пациентов с ВДРЩЖ показатели ПОЛ и АОС не давали достоверных отличий от группы контроля. У пациентов с ВДРЩЖ, которые не лечились радио-йодом, содержание витаминов А и Е, а также уровень восстановленных сульфгидрильных групп в сыворотке крови имели тенденцию к повышению как по сравнению с контролем, так и по сравнению с пациентами, получавшими лечение <sup>131</sup>йодом, что свидетельствует об удовлетворительном состоянии антиоксидантной защиты у этой категории пациентов. При лечении радио-йодом на фоне увеличения кумулятивной активности от 5 до 20 ГБк отмечалась тенденция к снижению уровней витаминов А и Е, но при этом была тенденция к нарастанию уровня SH-групп. При накопленной активности от внутреннего облучения в пределах 10-20 ГБк было отмечено достоверное снижение содержания витамина Е по сравнению с контролем. Показатели ПОЛ (МДА и Д<sub>233</sub>) достоверно увеличивались по сравнению с контролем только при супервысоких накопленных активностях от <sup>131</sup>йода – более 20 ГБк.

Изучение особенностей системы ПОЛ-АОС у пациентов, прооперированных по поводу ВДРЩЖ, позволяет сделать следующие **выводы**:

1. Обеспеченность витаминами А и Е и уровень восстановленных сульфгидрильных групп, характеризующих антиоксидантный статус, в общей группе обследованных пациентов с ВДРЩЖ, а также у лиц, не получавших радиойодтерапию, находятся на уровне контроля. Интенсивность процессов ПОЛ также не выходит за рамки контрольной группы.

2. Выявлены неблагоприятные тенденции к снижению уровней витаминов А и Е у пациентов, которые перенесли повторные курсы радиойодтерапии. Снижение уровня витамина Е после трех курсов радиойодтерапии и при кумулятивной активности от <sup>131</sup>йода в диапазоне 10-20 ГБк носит достоверный характер.

3. Показано нарастание продуктов ПОЛ – уровней ДК<sub>233</sub> и МДА при высокой накопленной активности от 131-йода, более 20 ГБк.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. – 1988. – № 11.–С. 41-43.
2. Сульфгидрильные и дисульфидные группы белков // Торчинский Ю.М. – М., 1971. – С. 89-97.
3. Черняускене Р.Ч., Вяршкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное флюорометрическое определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови //Лабораторное дело. – 1984. – № 6. – С. 362-365.
4. Шилина Н.К., Чернавина Г.В. Соотношение показателей перекисного окисления липидов печени, плазмы и эритроцитов у больных при недостаточности функции печени // Вопросы мед. химии. – 1980. – Т. 26. – Вып. 3. – С. 150-154.

## **ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ЛИЦ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С РАЗНЫМИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ КЛАССАМИ**

*Морголь А.С., Янковская Л.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) остаётся самым распространённым и прогностически неблагоприятным осложнением заболеваний сердечно-сосудистой системы. По данным Фремингемского исследования, пятилетняя летальность среди мужчин после появления ХСН достигала 62%, среди женщин – 42% [1].

В последние годы в дополнение к кардиальной, гемодинамической и нейрогуморальной концепциям прогрессирования ХСН получила развитие теория иммунной активации, согласно которой одним из ключевых звеньев патогенеза ХСН признана дисфункция эндотелия (ДЭ).

В настоящее время имеется крайне ограниченное количество данных о связи между функцией эндотелия и тяжестью состояния, функциональным классом (ФК) и прогнозом у пациентов с ХСН.

**Цель.** Провести комплексную оценку функции эндотелия у пациентов с ХСН, изучить степень её изменений в зависимости от ФК ХСН.

**Материалы и методы исследования.** На базе кафедры поликлинической терапии ГрГМУ нами обследовано 36 амбулаторных пациентов с ХСН ФК I–II по NYHA (New York Heart Association -Нью-Йоркская ассоциация кардиологов), которая развилась на фоне ишемической болезни сердца и/или артериальной гипертензии. Критериями исключения были: хроническая обструктивная болезнь лёгких, бронхиальная астма, приём гормональных препаратов, сахарный диабет, онкологические заболевания. Пациенты находились в стадии стабильной ХСН без эпизодов декомпенсации в течение последних 6 недель.

Всем пациентам для оценки ФК ХСН проводился 6-минутный тест ходьбы [2]. Группу ФК I составили 12 человек (8 женщин и 4 мужчин), средний возраст  $69,1 \pm 4,1$  года. Группу ФК II составили 24 чел. (15 женщин и 9 мужчин), средний возраст  $69,7 \pm 5,9$  лет. Группу контроля составили 12 клинически здоровых лиц, средний возраст которых –  $56,5 \pm 4,4$  лет. Возраст пациентов с ХСН ФК I и II был достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем в группе контроля.

Функция эндотелия оценивалась по уровню эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) и суммарному содержанию нитратов/нитритов в плазме крови (NOx). ЭЗВД определяли с помощью аппаратно-программного комплекса «Импекард-М» (РБ) при проведении пробы с реактивной гиперемией. Методом реоимпедансографии измерялась исходная скорость кровенаполнения обеих плечевых артерий в покое (после 10-15-минутного пребывания пациента в горизонтальном положении). Реактивную гиперемию создавали наложением на плечо манжеты, давление в которой повышали на 50 мм рт.ст. выше исходного у пациента. Изменение максимальной скорости кровенаполнения ( $\Delta dz/dt$ ) после декомпрессии оценивали в течение 5 минут. При-

знаком ДЭ считали максимальный прирост  $\Delta dz/dt$  менее 12%, диапазон значений  $\Delta dz/dt$  от 12% до -2% соответствовал 1-й степени ДЭ, от -2% до -15% - 2-й степени ДЭ, менее -15% соответствовал 3-й степени ДЭ [3].

Определение содержания нитритов/нитратов в плазме крови проводилось фотометрическим определением нитрит-ионов с помощью реакции Грисса после предварительного восстановления нитратов в нитриты.

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью программы «STATISTICA 7.0». Результаты исследования представлены в виде среднего значения  $\pm$  среднего квадратического отклонения после проверки на нормальность, и процентов. Достоверность различий между значениями оценивали по t-критерию Стьюдента. За уровень значимости статистических показателей принимали  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Группы были сопоставимы по измеренным антропометрическим данным. Средние показатели ЭЗВД составили  $8,1 \pm 13,0\%$ ,  $-5,9 \pm 14,0\%$  и  $29,3 \pm 17,4\%$  в группах ФК I, ФК II и в группе контроля, соответственно. Средние показатели ЭЗВД в группе контроля были достоверно выше ( $p < 0,05$ ), чем в обеих исследуемых группах, а в группе ФК I этот показатель был достоверно выше, чем в группе ФК II ( $p = 0,019$ ).

В таблице 1 показана встречаемость ДЭ при разных ФК ХСН. Как видно из таблицы, ДЭ III степени чаще ( $p < 0,05$ ) встречалась при ХСН ФК II, чем при ХСН ФК I.

Таблица 1 – Встречаемость ДЭ при разных ФК ХСН (%)

	Группа контроля, n=12	Группа ФК I, n=12	Группа ФК II, n=24
Без ДЭ	83,3%	25% <sup>1</sup>	12,5% <sup>2</sup>
ДЭ I степени	16,7%	41,7% <sup>1</sup>	25% <sup>2</sup>
ДЭ II степени	0%	25% <sup>1</sup>	29,2%
ДЭ III степени	0%	8,3% <sup>1</sup>	33,3% <sup>2,3</sup>

Примечания:

<sup>1</sup> - Статистически значимые различия между группой контроля и группой ФК I ( $p < 0,05$ );

<sup>2</sup> - Статистически значимые различия между группой контроля и группой ФК II ( $p < 0,05$ );

<sup>3</sup> - Статистически значимые различия между группой ФК I и группой ФК II ( $p < 0,05$ )

Средние уровни нитритов/нитратов в плазме крови составили  $30,9 \pm 25,3$  мкмоль/л,  $27,8 \pm 15,8$  мкмоль/л и  $54,2 \pm 51,35$  мкмоль/л в группах ФК I, ФК II и в группе контроля, соответственно. Уровень нитритов/нитратов в плазме крови у пациентов с ХСН ФК I и II был ниже ( $p=0,02$  и  $p=0,004$ , соответственно), чем в группе контроля.

**Заключение.** У лиц с ХСН снижается продукция NO эндотелием сосудов, имеет место ухудшение ЭЗВД. С повышением ФК ХСН ДЭ III степени встречается чаще.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алмазов В.А., Шляхто Е.В. Сердечная недостаточность: современные тенденции терапии // Харьков, мед. журн. 1995, № 2. – С. 19-22.
2. Беленков Ю.Н., Оганов Р.Г., Кардиология: национальное руководство. – 2008. – С. 93-94.
3. Методическое руководство к цифровому реографу интерпретирующему «Импекард – М». – 2005. – С. 59.

## КЛЕТОЧНАЯ ГИПОКСИЯ ПРИ ОПУХОЛЕВОЙ БОЛЕЗНИ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ КОРРЕКЦИИ

*Мосиенко В.С., Бурлака А.П.*

Институт экспериментальной патологии онкологии и радиобиологии им.Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

Вследствие нарушения механизма электронного транспорта в белковых электронтранспортных комплексах митохондрий и 4-электронного восстановления молекулярного кислорода формируется клеточная гипоксия и как следствие – повышение скорости генерирования супероксидных радикалов. Нами в митохондриях клеток злокачественных опухолей различного генеза зарегистрированы высокие уровни генерирования супероксидных радикалов методом ЭПР с использованием спиновых улавливателей. Также выявлены высокие уровни комплексов NO-FeS-белки в НАД·Н-убихинон-оксидоредуктазном комплексе митохондрий и скорости окислительного повреждения ДНК.

Считается, что клеточная гипоксия при опухолевом процессе есть проявление супрессорного влияния злокачественных

опухолей на организм; усугубляется на терминальной стадии заболевания и снижается при успешном лечении [1]. Клеточная гипоксия, вызванная нарушением дыхания и окислительного фосфорилирования, повышает уровни гликолиза, меняет рН в клетке, увеличивает содержание углекислого газа, нарушает прооксидантно-антиоксидантное равновесие, водно-структурный гомеостаз, вызывает окислительно индуцированные эпигеномные и геномные изменения.

Клеточная гипоксия при опухолевой болезни является не только сопровождением развивающейся опухоли, но и проявлением ее супрессорного влияния, фактором естественной адаптационной реакции организма на «повышенное» содержание кислорода в окружающей среде. Причиной, обуславливающей подобную реакцию, является нарушение дыхания и окислительного фосфорилирования, NO-зависимых механизмов, поддерживающих прооксидантно-антиоксидантное равновесие, создается «раковый фон» в тканях онкопациента. Такое состояние приводит к тому, что ранее приемлемое нормальное давление кислорода внешней среды становится избыточным для пациента, поскольку не соответствует новым антигипоксическим возможностям организма с опухолью, и, чтобы ему выжить, необходимо приспособиться к внешним условиям с помощью адаптационных реакций.

Отсюда вытекает, что помещение пациента в условия гипоксической гипоксии является переходом его в более адекватные (по содержанию кислорода) условия, пребывание в которых приближает организм пациента к состоянию физиологического покоя [2], снижению траты энергии, ухудшению условий существования злокачественных клеток.

Пребывание пациентов в умеренно гипоксических условиях высокогорья существенно повышает их адаптационные реакции, приводит к усилению неспецифической резистентности, снижает частоту заболеваний, в том числе и опухолевых, задерживается скорость роста злокачественных опухолей, увеличивается продолжительность их жизни [1]. Нами доказывается, что параметры земной атмосферы на высоте 1700-2100 м над уровнем моря наиболее соответствуют норме энергообмена большинства

здоровых людей, а тем более заболевших, чем атмосферная среда на уровне моря. Такие условия жизни человека постоянно способствуют перенапряжению и преждевременному износу антиоксидантных систем организма с негативными последствиями, особенно во время его дизадаптации. В ответ на повышение кислорода в атмосферной среде антигипоксантами, антиоксидантами и антиперекисными системами эволюционно «запаздывают» адаптироваться в организме человека.

Приведенные факты позволяют констатировать, что возникновение опухолевой болезни и многих других заболеваний приводит к существенным изменениям взаимоотношения организма и внешней среды. Поэтому поиск эффективных средств лечения пациентов со злокачественными опухолями должны основываться не только на учете связей «организм – опухоль» [3], но и в сложной триаде «опухоль – организм – внешняя среда», то есть лечение должно проводиться на основе интегративного, адаптивного подхода. Из этого вытекает, что многие болезни, по сути, являются проявлением такой дизадаптации, определяющей их существенные признаки, тяжесть и длительность заболевания.

Выздоровление может достигаться только в том случае, если адаптивные реакции организма пациента нормализуют его взаимоотношения с внешней средой и она снова станет для организма адекватной. Способность к выздоровлению будет определяться тем, сумеет ли организм пациента с помощью лекарственных средств или без них реализовать необходимые адапционные механизмы.

На основании результатов наших исследований [1] о роли гипоксии тканей и адаптационных реакциях организма в возникновении и развитии опухолей представляется перспективным применение лекарственных средств в низких дозах для лечения пациентов в условиях изменения гомеостаза организма и внешней среды.

Следует отметить, что благоприятное воздействие внешних гипоксических условий (интервальная нормобарическая гипоксия, дыхание с помощью аппарата Фролова, нахождение в горах и т.д.) на состояние организма пациента, в том числе и при опухолевом заболевании, является вариантом антипатической терапии (благоприятным изменением тех или иных параметров

окружающей пациента внешней среды). Замена фактически «гипероксической» среды на нормоксическую устраняет необходимость соответствующей адаптационной реакции больного организма. Использование интегративной терапии дает возможность снизить адаптационное напряжение в организме пациента, приблизить его гомеостаз к состоянию нормы».

Таким образом, проводимое на таком кислородном фоне основное лечение, в том числе и противоопухолевое, может оказаться более эффективным, поскольку решает менее трудные адаптационные задачи больного организма.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Мосиенко В.С. Рак: пути в незнание, разочарование и надежды. – Киев: Школьный мир, 2009. – 352 с.
2. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. – Ростов-на Дону: РГУ, 1990. – 224 с.
3. Кавецкий Р.Е. Взаимодействие организма и опухоли. – Киев: Наукова думка, 1977. – 235 с.
4. Бурлака А.П., Сидирик Е.П. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі. – Київ: Наукова думка, 2006. – 228 с.

## РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ПОЛИНЕЙРОПАТИИ С НЕЙРОПАТИЧЕСКИМ БОЛЕВЫМ СИНДРОМОМ

*Нечипуренко Н.И., Пашковская И.Д.,  
Василевская Л.А., Верес А.И.*

Республиканский научно-практический центр  
неврологии и нейрохирургии, Минск

**Введение.** В настоящее время феномен «окислительного стресса» рассматривают как основную причину формирования поздних осложнений сахарного диабета, в том числе диабетической полинейропатии (ДПНП). В условиях хронической гипергликемии процессы аутоокисления глюкозы, активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и значительного накопления конечных продуктов гликирования белков приводят к избыточному образованию кислородных радикалов, обладающих повы-

шенной реакционной способностью и нарушающих деятельность клеточных структур, в первую очередь эндотелия [1].

**Цель** – изучить болевую чувствительность, вазомоторную функцию эндотелия, состояние про-, антиоксидантной системы и содержание нейромедиаторов в крови у пациентов с ДПНП и нейропатическим болевым синдромом (НБС) в условиях стандартной терапии.

**Методы исследования.** Обследовано 16 пациентов с ДПНП и НБС, средний возраст которых составил  $55,3 \pm 15,5$  лет. Нормальные микроциркуляторные и биохимические показатели исследованы у 25 практически здоровых лиц со средним возрастом  $40,9 \pm 10,5$  лет ( $p > 0,05$ ).

Для количественной оценки болевого синдрома использовали: визуально-аналоговую шкалу (ВАШ) и шкалу NSS (Neuropathy Symptom Score). Пациенты получали стандартную терапию при лекарственной коррекции гликемии: курс ежедневных внутривенных инфузий тиоктацида по 600 мг № 10, внутримышечных инъекций витаминов В<sub>1</sub> и В<sub>6</sub> по 1 мл 5% раствора № 10.

Реактивность сосудов микрогемодиализаторного русла исследована методом высокочастотной ультразвуковой доплерографии с использованием прибора «Минимакс-Допплер-К» в условиях выполнения теста реактивной гиперемии с оценкой линейных и объемных скоростей кровотока.

Определяли содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П), по методике, модифицированной В.А. Костюком. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в крови изучали по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина, активность каталазы в плазме крови исследовали методом образования комплекса с солями молибдена. Концентрации субстанции Р и норадреналина в плазме крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа ELISA тест-наборами фирмы «DRG».

Использовали параметрические и непараметрические методы статистического анализа.

**Результаты и их обсуждение.** При неврологическом осмотре у пациентов выраженность болевого синдрома по шкалам NSS и ВАШ в 1-й день поступления достигала 8 (3-8) и 50 (35-

55) баллов, соответственно, а при выписке из стационара выраженность болевого синдрома снизилась до 4 (2-6),  $p=0,056$  и 35 (25-40) баллов,  $p=0,008$ , соответственно.

На момент госпитализации у пациентов отмечали повышение концентрации ТБК-П до 3,2 (2,6-3,6) мкмоль/л по сравнению с нормой – 1,8 (1,6-2,2) мкмоль/л ( $p=0,002$ ); тенденция к снижению активности СОД на 20% и каталазы – на 30% относительно нормального уровня, что указывает на развитие окислительного стресса при данной патологии. НБС при ДПНП сопровождается тенденцией к повышению уровня субстанции Р у пациентов до 0,84 (0,6-1,36) нг/мл относительно нормы – 0,53 (0,47-0,72) нг/мл на фоне статистически значимого снижения концентрации норадреналина до 0,1 (0,07-0,24) у относительно здоровых лиц – 0,29 (0,16-0,35) нг/мл ( $p=0,038$ ). Корреляционный анализ выявил прямую взаимосвязь между содержанием субстанции Р и балльной оценкой по шкале NSS –  $r=0,44$  ( $p=0,03$ ), что подтверждает зависимость выраженности НБС от уровня основного нейротрансммиттера боли при ДПНП.

У этих пациентов наблюдали снижение сосудистой реактивности с развитием недостаточных по величине реакций. В 36% случаев зарегистрированы парадоксальные сдвиги в виде редукции кожного кровотока в период декомпрессии плечевой артерии, что свидетельствует о дисфункции эндотелия.

После лечения у пациентов на фоне достоверного снижения выраженности болевого синдрома по шкалам NSS и ВАШ ( $p=0,002$  и  $p<0,001$ , соответственно) выявлены значимое снижение содержания ТБК-П по сравнению с исходным уровнем ( $p_1=0,011$ ) и возрастание активности СОД и каталазы. Концентрации субстанции Р и норадреналина практически не изменились. В то же время выявлено наличие обратной линейной взаимосвязи между активностью каталазы и содержанием субстанции Р,  $r=-0,7$  ( $p=0,006$ ), что характеризует связь между системой ферментативной антиоксидантной защиты и ноцицептивным влиянием у пациентов с НБС при ДПНП.

Основной эффект курса терапии на сосудистую реактивность пациентов с ДПНП выразался в снижении количества пациентов с парадоксальными реакциями до 19%, а также улучшением пат-

терна сосудистой реактивности с тенденцией к увеличению прироста значений скоростей кровотока в период декомпрессии.

Таким образом, при ДПНП с НБС установлены активация процессов ПОЛ на фоне недостаточности антиоксидантной системы и дисбаланс ноцицептивных – антиноцицептивных нейромедиаторов, нарушение вазомоторной функции эндотелия в виде снижения сосудистой реактивности. После курса терапии у пациентов выявлено улучшение функции эндотелия с тенденцией к нормализации сосудистых реакций, достоверное уменьшение выраженности окислительного стресса при неизменных концентрациях нейромедиаторов. Наличие обратной линейной зависимости между активностью каталазы и уровнем субстанции Р указывает на взаимосвязь между эндогенной системой антиоксидантной защиты и ноцицептивными норадренергическими влияниями, связанными с НБС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Нечипуренко Н.И., Пашковская И.Д., Забродец Г.В. Диабетическая полиневропатия: клиничко-биохимические нарушения и их коррекция // Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. – 2013. – Т. 20, № 4. – С. 59-68.

## РАЗВИТИЕ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В КРОВИ

*Овсянникова Т.Н.<sup>1</sup>, Дорош Е.Г.<sup>2</sup>, Забелина И.А.<sup>1</sup>,  
Коваленко И.А.<sup>1</sup>, Кравчун Н.А.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина;

<sup>2</sup>ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я.Данилевского НАМН Украины», Харьков

**Введение.** Одну из главных ролей в развитии неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) отводят перекисному окислению липидов (ПОЛ), усиливающемуся за счет образования активных форм кислорода (АФК) в печени, в частности. Предполагаемые места их образования – митохондрии и эндоплазматический ретикулум гепатоцитов, а также клетки Купфера, активно перерабатывающие эритроциты с высвобождением железа [4, 5].

**Цель работы** – установить, действительно ли пул эритроцитов более активно обновляется при НАСГ, чем у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД 2) как монопатологией и у здоровых лиц; а также выяснить, как может перераспределяться пул полиненасыщенных жирных кислот при активации ПОЛ на разных этапах заболевания и можно ли это использовать как стадиоспецифичный диагностический фактор.

**Методы исследования.** Обследованы 153 пациента с СД 2, из них 126 пациентов с НАСГ и 27 – с СД 2 без патологии печени, а также 10 здоровых лиц – контрольная группа. Резистентность эритроцитов исследовали дифференциальным методом определения качественного состава красной крови на агрегометре-фотометре Shapemeter-01В. Эритрограммы, полученные в результате компьютерной обработки данных кинетики кислотного гемолиза эритроцитов, характеризуют процентное распределение эритроцитов образца крови по стойкости [6]. Первичные продукты ПОЛ в плазме крови – диеновые, оксодиеновые, триеновые и тетраеновые конъюгаты жирных кислот (ДК, ОДК, ТК и ТЕТ, соответственно) измерялись спектрофотометрически после экстракции проб в смеси гептан:изопропанол. Расчет концентраций проводили с использованием величины коэффициентов молярной экстинкции,  $\epsilon_0$ , продуктов, по закону Ламберта-Бэра (за исключением ТЕТ, для которого  $\epsilon_0$  не определен) [1].

**Результаты и их обсуждение.** Анализ эритрограмм, полученных при кислотном гемолизе красных клеток, показал наличие большого пула молодых клеток с пониженным гемоглобином у пациентов с НАСГ. Кроме того, в контроле лаг-период гемолиза составлял  $132,08 \pm 0,099$  сек., а скорость гемолиза –  $2,28 \pm 0,068$  ед.опт.пл. $\cdot X10^3$  за 1 сек., тогда как при СД 2 и СД 2 в сочетании с НАСГ эти показатели были  $129,02 \pm 0,095$  и  $2,36 \pm 0,077$  в первом случае и  $115,56 \pm 1,41$  и  $1,69 \pm 0,061$ , во втором, соответственно. Все это действительно может говорить о более быстром обновления клеток в костном мозге и, соответственно, более активном эритрофагоцитозе в печени. Освобождающееся в таком случае из эритроцита железо может активировать ПОЛ, инициировать воспаление и фиброз. Активация ПОЛ характерна для СД 2 [3], как и для НАСГ, однако во втором слу-

чае для нее появляются дополнительные причины в виде повышенного синтеза жирных кислот в печени и жировой ткани [2]. Первичными продуктами ПОЛ являются конъюгаты жирных кислот – ДК, ТК, ТЕТ и ОДК, в том числе из мембранных фосфолипидов. Нами установлено повышение уровня всех этих показателей у пациентов с НАСГ по сравнению со здоровыми лицами: ДК –  $306,4 \pm 19,32$  нмоль/л, ТК –  $1,8 \pm 2,75$  нмоль/л, ТЕТ –  $2,77 \pm 1,9$  ед.опт.пл. $\times 10^2$ /л, ОДК –  $79,6 \pm 4,8$  нмоль/л против  $57,60 \pm 20,03$  нмоль/л,  $31,02 \pm 10,9$  нмоль/л,  $1,01 \pm 0,43$  ед. опт. пл.  $\times 10^2$ /л,  $49,75 \pm 19,3$  нмоль/л, соответственно. При этом у пациентов с монопатологией, СД 2 лишь показатели ДК были достоверно выше относительно контроля, но ниже, чем у пациентов с НАСГ –  $212,4 \pm 12,09$  нмоль/л. Вместе с тем, анализ клинико-антропометрических показателей и данных ПОЛ позволил выделить информативные подгруппы внутри выборок величин каждого из изученных метаболитов. Было сформировано четыре подгруппы. Особое внимание привлекают первая и последняя подгруппы. В первой значения всех конъюгатов находились на уровне показателей СД 2 после лечения, интересное исключение составляют лишь ТЕТ, где наблюдалось значительное повышение –  $3,53 \pm 3,2$  ед.опт.пл. $\times 10^2$ /л. Такой же уровень ТЕТ был в четвертой подгруппе –  $3,3 \pm 0,1$  ед.опт.пл. $\times 10^2$ /л. В этой подгруппе конъюгаты жирных кислот с 3-4 двойными связями были выше примерно в 3 раза относительно контроля, а ДК выше более, чем в 10 раз –  $751,88 \pm 9,7$  нмоль/л. Во второй и третьей подгруппах концентрации ДК и ОДК были выше, чем при СД 2, на 25-50%, а ТК возрастал от подгруппы к подгруппе стабильно почти на 10 единиц. Комплексное изучение уровня конъюгатов является информативным для оценки стадий НАСГ.

**Выводы.** Учитывая разное метаболическое и структурное значение жирных кислот биомембран, можно предположить, что увеличение ТЕТ в первой подгруппе относится к явлениям адаптации, а в четвертой, наряду со значениями ДК, свидетельствует в пользу дегградации мембран, их разрыхления с установлением максимального доступа для молекул кислорода. Такая ситуация может приводить к наиболее выраженному истощению пула полиненасыщенных жирных кислот до максимального преобла-

дания в составе сложных липидов мембран насыщенных ацилов. Одним из неблагоприятных факторов поддержания ПОЛ при НАСГ на высоком уровне является эритрофагоцитоз.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ганстон Ф.Д. Химия и биохимия липидов / Общая органическая химия. Т.11: Липиды, углеводы, макромолекулы, синтез / под ред. Е. Хаслама. – М.: Химия. – 1986. – С. 12-126.
2. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease / Puri P., Baillie R.A., Wiest M.M. [et al.] // *Hepatology*. – 2007. – V. 46. – P.1081–1090.
3. Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity / P. Newsholme, E. P. Haber, S. M. Hirabara [et al.] // *J. Physiol.* – 2007. – V. 583, № Pt1. – P. 9-24.
4. Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis: Human data // *Clin.Liver.Dis.* – 2007. – № 11. – P. 75-104.
5. Lotowska JM, Sobaniec-Lotowska ME, Lebensztejn DM. The role of Kupffer cells in the morphogenesis of nonalcoholic steatohepatitis – ultrastructural findings. The first report in pediatric patients. // *Scand J Gastroenterol.* – 2013. – V. 48, № 3. – P. 352-357.
6. Rudenko, S. V. Determination of time-depend shape changes in blood cells [Text] / S. V. Rudenko, J. H. Crow, F. Tablin // *Byochemistry (Moscow)*. – 1998. - № 3. – P. 21-29.

## РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ

*Павловская М.А., Гутикова Л.В.,  
Гуляй И.Э., Величко М.Г.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Актуальность гиперплазии эндометрия (ГЭ) у женщин фертильного возраста имеет большое значение как с позиций восстановления и сохранения репродуктивной функции, так и профилактики онкологической патологии [1]. В последние годы особое внимание уделяется цитопатогенному воздействию свободных перекисных радикалов, обладающих способностью обеспечивать неконтролируемые процессы разрушения структурных и ферментных белков клеток, полиненасы-

щенных жирных кислот, нуклеиновых кислот, обладающих мутагенным эффектом, что является иницирующим фактором грубой деструкции клеток или её малигнизации [2].

Вместе с тем до настоящего момента недостаточно данных об активации процессов липопероксидации, дисбалансе антиоксидантной системы крови в развитии оксидативного стресса при гиперпластических процессах эндометрия.

**Цель исследования** – оценка прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза при гиперплазии эндометрия у женщин репродуктивного возраста.

**Материалы и методы исследования.** В исследование включены 103 женщины в возрасте 20-40 лет, в том числе 34 практически здоровые женщины, не имевшие когда-либо эпизодов заболеваний эндометрия (контрольная группа), и 63 пациентки (основная группа) с ГЭ: 31 пациентка с простой ГЭ (1 основная подгруппа) и 33 пациентки со сложной ГЭ (2 основная подгруппа).

Критерии включения в группы: репродуктивный возраст, ГЭ без атипии, отсутствие тяжелой экстрагенитальной патологии.

Диагностика ГЭ проведена в соответствии с действующими стандартами ультразвукового исследования. М-эхо оценивали в конце второй фазы менструального цикла трансвагинальным доступом конвексным датчиком с частотой 8 мГц. Гистологические исследования биоптатов, полученных при лечебно-диагностическом выскабливании эндометрия и слизистой цервикального канала, выполнены в патолого-анатомическом отделении областной клинической больницы г. Гродно по стандартной методике.

В последующем у пациенток с гистологически подтвержденной ГЭ и практически здоровых женщин спектрофотометрически исследовали показатели, характеризующие активность процессов ПОЛ: содержание диеновых конъюгатов (ДК) по методике И.Д. Стальной (1977), оснований Шиффа (ОШ) и малонового диальдегида (МДА) по методике G. Kurian (1976). Активность каталазы определяли по E. Beutler (1984), оценку активности супероксиддисмутазы – по стандартной методике С. Чевари с соавт. (1991).

Результаты исследования обработаны на персональном компьютере с использованием стандартных компьютерных программ Statistica 6.0, Microsoft Excel, Anova.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Анализ результатов исследования факторов риска развития и клинкоморфологических признаков свидетельствует о том, что у пациенток с ГЭ в анамнезе отмечается большее количество аборт (3,54±0,23) по сравнению с практически здоровыми женщинами (1,98±0,12, P<0,001). Не выявлено значимых различий в контрольной и в основной группах в возрасте, уровне артериального давления, массе тела. Результаты УЗИ органов малого таза показали значительное увеличение толщины эндометрия в конце второй фазы менструального цикла у пациенток (М-эхо 16,95±0,21 мм в 1 основной подгруппе и 17,15±0,33 мм во 2 основной подгруппе), что было достоверно выше по отношению к контрольной группе (P<0,05). Зарегистрировано более высокое содержание продуктов оксидативного стресса в сыворотке крови пациенток с простой ГЭ по сравнению с практически здоровыми женщинами (повышение уровней МДА, ДК и оснований Шиффа на 31,8%, 16,6% и 28,6%, соответственно). При сложной ГЭ обнаружено более выраженное увеличение этих показателей на 47,7%, 33,6% и 55,4%), что свидетельствует о более высокой интенсивности процессов ПОЛ у данной категории пациенток и его развитии до стадии накопления конечных продуктов липопероксидации – оснований Шиффа, которые являются наиболее токсичными.

Активность каталазы у пациенток 1 основной подгруппы была на 26,4% ниже, а у женщин 2 подгруппы на 43,3%, чем в контрольной. Подобные изменения выявлены и при исследовании активности СОД (снижение на 15,8% и 31,3%, соответственно, в основных подгруппах по сравнению с контролем).

Результаты проведенного исследования о характере и механизмах развития системных метаболических расстройств при гиперплазии эндометрия позволяют рекомендовать для внедрения в практическую медицину использование новых объективных критериев оценки прогностически неблагоприятных метаболических сдвигов, лежащих в основе развития данной патологии, а также для мониторинга эффективности терапии.

**Выводы.** Развитие окислительного стресса при гиперплазии эндометрия индуцируется активацией процессов липопероксидации и дисбалансом антиоксидантной системы крови, что определяет целесообразность использования в комплексной терапии этой патологии антиоксидантов, антигипоксантов, донаторов сульфгидрильных групп, мембрано- и гепатопротекторов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецова И.В. Гиперпластические процессы эндометрия // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2007. – Т. 6, № 5. – С. 68-77.

2. Обухов Л.Р. Динамика показателей перекисного окисления липидов при применении препаратов гестагенов у пациенток с гиперплазией эндометрия // Аспирантские чтения – 2011: материалы докл. Всероссийской конф. с межд. участием «Молодые ученые – медицине» (Самара, 26 октября 2011 г.). – Самара. – 2011. – С. 149-151.

## ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

*Петухова Н.Ф., Трошина М.В., Иванова Т.Г.,  
Лютый Р.Ю., Цублова Е.Г., Яснецов Вик.В.*

ФГБОУ ВПО «Брянская государственная  
инженерно-технологическая академия», Брянск;  
ФГБОУ ВПО «Брянский государственный университет  
им. акад. И.Г. Петровского», Брянск;  
ОАО «ВНЦ БАВ», Москва

Азотсодержащие гетероциклические соединения являются одной из перспективных групп в плане скрининговых исследований потенциальных противогипоксических препаратов. Во многом это обусловлено не только значительным количеством биологически активных веществ клетки, имеющих гетероциклическую структуру (переносчики протонов, активные центры и структурные элементы макромолекул и т.д.) [1], но и успешными разработками лекарственных средств на их основе [3].

Многие авторы отмечают наличие прямой зависимости между антигипоксической и антиоксидантной активностью. Известно, что азотсодержащие гетероциклические соединения обладают ярко выраженными антиоксидантными свойствами. В основе такого действия лежит взаимодействие с образующимися в ходе перекисного окисления липидов перокси- и алкоксирадикалы за счет легко подвижного атома водорода, связанного с азотом в составе ароматического гетероцикла [2]. В связи с вышеуказанным, а также наличием успешно применяемых в клинической практике лекарственных соединений на основе азотсодержащих гетероциклов, можно предполагать антигипоксическую активность у новых производных пиридина.

**Целью** исследования было оценить влияние производных пиридина на продолжительность жизни лабораторных животных в условиях острой гипоксии различного генеза.

Опыты проведены на белых нелинейных мышах-самцах массой 20–24 г. Опыты проводились с учетом Правил лабораторной практики, принятых в Российской Федерации [5].

В качестве материалов исследования нами были выбраны новые соединения с шифром ЛХТ-, являющиеся комплексами пиридина с аминокислотами, синтезированные в ОАО «ВНЦ БАВ» д.х.н., профессором С.Я. Скачиловой. Вещества вводили внутрибрюшинно в дозах от 0,5 до 10 мг/кг за 1 час до проведения опыта. Контрольным животным в те же сроки и тем же путем вводили соответствующий объем физиологического раствора. Полученные результаты сравнивали с действием препарата сравнения – мексидол, который также является производным пиридина [6].

Острую гистотоксическую гипоксию вызывали подкожным введением раствора натрия нитропрусида в дозе 20 мг/кг. Острую гемическую гипоксию создавали подкожным введением натрия нитрита в дозе 400 мг/кг. Для моделирования острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией мышей помещали в стеклянные герметически закрывающиеся емкости объемом 250 см<sup>3</sup> [4]. Во всех опытах регистрировали продолжительность жизни мышей в минутах.

Статистическую обработку цифрового материала проводили

с использованием программного комплекса Statistica 6.0, достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

В результате проведенных экспериментов установлено, что из четырех исследованных соединений противогипоксические свойства проявили только два соединения. Так, на модели острой гистотоксической гипоксии положительное действие оказывал ЛХТ-10-12 в дозе 10 мг/кг. При этом мыши контрольной группы жили на 19% дольше животных контрольной группы. На модели острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией активность проявил ЛХТ-21-01 в дозе 0,5 мг/кг. Действие вещества превышало контрольные значения на 27%. ЛХТ-4-97 в дозе 10 мг/кг достоверно снижал на 16% продолжительность жизни животных.

Эталонный препарат мексидол (100 мг/кг) был эффективен на моделях острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией и острой гемической гипоксии. Величина положительного действия была выше контрольных значений на 22 и 15%, соответственно.

Таким образом, среди новых производных пиридина есть вещества, проявляющие антигипоксические свойства. Оказываемое действие сопоставимо с таковым у лекарственного средства мексидол.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Астафьева Н.Г., Удовиченко Е.Н., Гамова И.В., Перфилова И.А. Левопетиризин: современные аспекты применения при аллергических заболеваниях с точки зрения доказательной медицины // Лечащий врач. – 2010. – № 5. – С. 62–68.
2. Зайцев В.Г., Островский О.В., Закревский В.И. Связь между химическим строением и мишенью действия как основа классификации антиоксидантов прямого действия // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – № 4. – С. 66–70.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. Справочник. – М.: Новая Волна, 2005. – 1164 с.
4. Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств / под ред. Л.Д. Лукьяновой. – М., 1990. – 18 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева – М., 2007. – С. 15.
6. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система) / под. ред. А.Г. Чучалина. – М., 2013. – Вып. 14. – 960 с.

# КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ И НОЦИЦЕПТИВНАЯ НЕЙРОМЕДИАЦИЯ ПРИ КОМПРЕССИОННО-ИШЕМИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ С БОЛЕВЫМ СИНДРОМОМ

*Пашковская И.Д., Нечипуренко Н.И., Ходулев В.И.*

Республиканский научно-практический центр  
неврологии и нейрохирургии, Минск

**Введение.** Наиболее частой причиной компрессионно-ишемической нейропатии (КИН) является компрессия срединного нерва в запястном канале. Ишемизация нерва вызывает нарушение окислительно-восстановительных процессов и про-, антиоксидантного равновесия в организме [2]. Также КИН зачастую сопровождается выраженным нейропатическим болевым синдромом (НБС), обусловленным возникновением патологических взаимодействий между нервными волокнами. При этом резко повышается чувствительность болевых рецепторов с формированием сенситизации ноцицепторов в результате активации таких нейротрансмиттеров, как глутамат, субстанция Р, кальцитонин-ген-родственный пептид, которые избыточно вырабатываются при болевой импульсации [1].

**Цель** – изучить показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность ферментов антиоксидантной системы, содержание норадреналина и субстанции Р, их корреляционные взаимоотношения у пациентов с КИН срединного нерва с НБС до и после стандартной терапии.

**Методы исследования.** Обследовано 10 пациентов с КИН срединного нерва с НБС в возрасте  $52,4 \pm 13,3$  лет. Нормальные биохимические показатели исследованы у 25 практически здоровых лиц со средним возрастом  $40,9 \pm 10,5$  лет ( $p > 0,05$ ).

У пациентов с КИН электронейромиографическое (ЭНМГ) обследование проводили однократно на нейрофизиологическом диагностическом комплексе VikingSelect (США). Исследовали моторные и сенсорные волокна срединного нерва с помощью поверхностных регистрирующих электродов.

Для количественной оценки болевого синдрома использовали: визуально-аналоговую шкалу (ВАШ) и шкалу NSS

(Neuropathy Symptom Score). Пациенты получали стандартное лечение: блокады запястных каналов с глюкокортикостероидами, симптоматическую терапию, ультрафонофорез гидрокортизоновой мази.

Определяли содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П), по методике, модифицированной В.А. Костюком. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в цельной крови изучали по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина, активность каталазы в плазме крови исследовали методом комплексообразования с солями молибдена. Концентрации субстанции Р и норадреналина в плазме крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа ELISA тест-наборами фирмы «DRG». Все указанные показатели изучали на момент госпитализации и после курсового лечения.

Использовали параметрические и непараметрические методы статистического анализа.

**Результаты и их обсуждение.** При ЭНМГ обследовании у пациентов выявлено значительное увеличение латентного периода М-ответа, снижение скорости проведения импульса по моторным и сенсорным волокнам на дистальном сегменте срединного нерва, возрастание длительности М-ответа, что свидетельствует о нарушении проведения на дистальном сегменте срединного нерва. Кроме того, обнаружено достоверное снижение амплитуды М-ответа и потенциал действия чувствительного нерва, характеризующее изменение аксональной целостности нерва.

Выраженность болевого синдрома по шкалам NSS и ВАШ в 1-й день поступления составила 8 (3-8) и 50 (35-55) баллов, соответственно, а при выписке из стационара выраженность болевого синдрома снизилась до 4 (2-6),  $p=0,056$  и 35 (25-40) баллов,  $p=0,008$ , соответственно.

До лечения у пациентов установлено увеличение содержания ТБК-П ( $p=0,03$ ) по сравнению со здоровыми лицами на фоне сохранения активности СОД и каталазы на уровне нормальных значений, что отражает интенсификацию процессов ПОЛ и недостаточность системы антиоксидантной защиты организма. Одновременно у пациентов выявлено повышение содержания субстанции Р и снижение уровня норадреналина в плазме крови

( $p < 0,05$ ). Значительное снижение содержания норадреналина в крови, выявленное у пациентов с КИН, может косвенно отражать дефицит антиноцицептивных норадренергических влияний при повышенном образовании субстанции Р, что способствует центральной сенситизации к болевым раздражениям. Корреляционный анализ выявил прямую взаимосвязь между концентрацией норадреналина и активностью СОД до начала курса лечения ( $r=0,5$ ;  $p=0,02$ ), которая характеризует положительную зависимость показателей антиноцицептивной системы от активности ферментов антиоксидантной защиты у пациентов с данной патологией.

После курса терапии у пациентов на фоне достоверного снижения выраженности болевого синдрома по шкале ВАШ ( $p=0,008$ ) выявлено значимое снижение содержания ТБК-П по сравнению с исходным уровнем без существенных изменений активности СОД, каталазы, концентраций субстанции Р и норадреналина. В то же время существенно усилилась прямая взаимосвязь между концентрацией норадреналина и активностью СОД ( $r=0,9$ ;  $p=0,007$ ).

Таким образом, при КИН срединного нерва с НБС регистрируются активация процессов ПОЛ и дисбаланс в системе анти-, ноцицептивной нейромедиации. Выявленная прямая корреляционная зависимость между концентрацией норадреналина и активностью СОД, которая существенно усилилась после лечения, указывает на взаимосвязь между эндогенной системой антиоксидантной защиты и антиноцицептивной норадренергической нейротрансмиссией, влияющими на выраженность НБС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Данилов А.Б., Давыдов О.С. Нейропатическая боль. – М.: Боргес, 2007. – 192 с.
2. Нечипуренко Н.И., Танин А.Л., Пашковская И.Д. и др. Динамика нейропатической боли и метаболических показателей у пациентов с синдромом запястного канала при комплексном лечении с использованием внутривенного лазерного облучения крови // Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. – 2013. – № 3 (19). – С. 35-48.

# ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КУРСОВОЙ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ТЕРАПИИ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ КИСЛОРОДА

*Перетягин П.В., Мартусевич А.К.,  
Мартусевич А.А., Перетягин С.П.*

ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России,  
Нижний Новгород

**Введение.** В последнее время наиболее перспективным направлением развития медицины является изучение физиологических и патологических процессов как на макро- так и на микроуровне. В этом плане особое внимание привлекают факторы регуляции локальной гемодинамики. Кроме того, оценка показателей микроциркуляции является одним из методов тестирования эффективности проводимого лечения.

В связи с этим **целью работы** служило выяснение динамики состояния микроциркуляции крыс в условиях экспериментальной ингаляционной терапии активными формами кислорода (АФК).

**Материалы и методы.** Эксперимент выполнен на 30 белых крысах-самцах линии Wistar массой 180-220 г. Все животные содержались в стандартных условиях вивария в клетках при свободном доступе к пище и воде на рационе питания, соответствующем нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» (1978 г.). Сформировано 5 групп животных: интактная (10 крыс) и 4 экспериментальных (5 крыс, которым проводили ингаляции озоном; 5 крыс, получавших ингаляции увлажненным озоном при пропускании его через воду и 5 крыс, ингалирование которых проводили при помощи озонидов, образующихся при пропускании озона через водно-масляную эмульсию, и 5 крыс с ингаляциями синглетным кислородом). Концентрация озона во всех случаях была 60 мкг/л. Ингаляции проводили в течение 10 дней. На 11-й день животных выводили из эксперимента путем декапитации с предварительной перерезкой сонной артерии под наркозом.

Исследование микроциркуляции производили с помощью программно-аппаратного комплекса «ЛАКК-М» (Москва, Рос-

сия). При анализе временной динамики микроциркуляции с применением математического аппарата вейвлет-преобразования оценивались изменения амплитуды колебаний в диапазонах активных и пассивных факторов регуляции микрокровотока. Из активных, тонус-формирующих влияний оценивались эндотелиальный, нейрогенный и миогенный механизмы регуляции микроциркуляции, а из пассивных факторов – воздействие дыхательных и пульсовых волн. Исследовались изменения в диапазонах осцилляций, соответствующих эндотелиальным (0,01-0,02 Гц.), нейрогенным (0,02-0,06 Гц), миогенным (0,06-0,2 Гц), дыхательным (0,2-0,6 Гц) и пульсовым (0,6-1,6 Гц) колебаниям интенсивности кровотока.

В связи с тем, что запись параметров микроциркуляции проводилась на участке кожи с гемодинамически значимым количеством артериоло-венулярных анастомозов, рассчитывали изменения показателя шунтирования (ПШ). Он связан с различием тонуса микрососудов и отражает соотношение шунтового и внешунтового (капиллярного) путей кровотока.

Исследование проводилось на интактном, предварительно эпилированном участке тела крыс.

Полученные данные были обработаны с помощью программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel. Достоверность различий средних определяли по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что проведение курсовых ингаляций озono-кислородной смесью приводило к существенному снижению основного показателя микроциркуляции (ПМ) по сравнению с интактными животными (в 2,98 раза;  $p < 0,05$ ). Это сопровождалось явлениями венозного застоя с притоком артериальной крови, на что указывало повышение дыхательного и сердечного компонента ( $p < 0,05$ ). Применение озона в газовой фазе приводит к преимущественной симпатической стимуляции микроциркуляции, что подтверждается увеличением нейрогенного компонента.

Ингаляции увлажненного озона демонстрировали динамику, по направленности аналогичную сухой озono-кислородной смеси, но в отношении некоторых компонентов регистрировали

существенные вариации. Так, на фоне снижения уровня ПМ у животных данной группы наблюдали увеличение эндотелиального компонента, ассоциированного с синтезом оксида азота, а также вазодилатацию (рост миогенного компонента) и нарастание симпатической стимуляции (максимальный уровень нейрогенного компонента относительно всех групп).

Животные, получавшие ингаляцию масляными озонидами, демонстрировали минимальное по сравнению с другими группами животных, но значимое относительно интактных крыс повышение активности эндотелиального компонента ( $p < 0,05$ ). Следует подчеркнуть, что при использовании данного варианта экспериментального воздействия наблюдается одновременное уменьшение величины среднеквадратичного отклонения и увеличение нейрогенной компоненты, что свидетельствует об угнетении активных вазомоторных механизмов модуляции тканевого кровотока. Таким образом, при ингаляции озонидами, образовавшимися в результате пропускания озono-кислородной смеси через водно-масляную эмульсию, наблюдаются выраженные сдвиги компонентов регуляции микрокровотока в сторону симпатических влияний.

Воздействие синглетного кислорода на микрокровоток кожи животных способствовало максимальному увеличению ПМ относительно животных всех групп ( $p < 0,05$ ). Это обеспечивалось усилением вазомоторной активности (увеличение миогенного компонента) и активацией нутритивного кровотока (показатель шунтирования  $> 1$ ), а также улучшением венозного оттока на фоне активного притока артериальной крови. Подобная динамика регуляторных механизмов микроциркуляции свидетельствует об оптимизации микрокровотока.

**Заключение.** В целом установлено, что курсовая ингаляционная терапия АФК оказывает существенное влияние на микроциркуляцию, обеспечиваемое в том числе и за счет модуляции вегетативной стимуляции кровотока. При этом применение разных вариантов введения АФК способствует разнонаправленной динамике. Наиболее физиологичными оказались эффекты ингаляций увлажненного озона и синглетного кислорода, приводящие к сбалансированной стимуляции активных и пассивных фа-

кторов регуляции системы микроциркуляции. В то же время применение сухой озono-кислородной смеси и масляных озонидов вызывает преимущественную активацию симпатических влияний на микроциркуляцию.

## **ЭФФЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СЕЛЕНОПИРАНА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

*Петушок Н.Э.<sup>1</sup>, Пеховская Т.А., Катковская И.Н.,  
Шевалье А.А.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Гродненский государственный медицинский университет;

<sup>2</sup>Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,  
Гродно

Метаболическим следствием недостатка селена является ослабление антиоксидантной защиты организма, и прежде всего ферментных систем глутатионпероксидаз и тиоредуктаз. Изучение механизмов возникновения некоторых заболеваний ЖКТ дало ряд бесспорных доказательств участия активных форм кислорода в их патогенезе. В частности, убедительно доказано, что система глутатионпероксидаза/восстановленный глутатион является важным фактором модуляции симптомов при хроническом воспалении кишечника. Целью проведенных нами исследований была оценка протективной активности 2-фенил-октагидроселеноксантина («Селенопирана»).

Исследования проведены на крысах линии Wistar CRL: (WI)WU BR. Животные в течение 42 дней получали селенопиран (10 мкг Se/кг). За 24 ч до декапитации группа крыс получала подкожные инъекции бактериального липополисахарида (ЛПС), инициирующего развитие эндогенной интоксикации и окислительного стресса. В плазме крови определяли содержание тиобарбитурат-реагирующих продуктов (ТБК-РП), в эритроцитах – уровень восстановленного глутатиона (GSH), активность глутатионпероксидаз (субстраты H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и t-бутилгидропероксид, t-BOOH). В гомогенатах слизистой отделов кишечника измеря-

ли активность глутатионпероксидаз и глутатионредуктазы, содержание GSH и ТБК-РП.

Наличие окислительного стресса у животных, получивших инъекции ЛПС, подтверждается повышенным содержанием ТБК-РП в плазме крови. Других достоверных изменений в эритроцитах в этой ситуации не отмечено (табл. 1).

Таблица 1 – Активность глутатиопероксидаз, уровень GSH и ТБК-РП в крови крыс с эндогенной интоксикацией, вызванной ЛПС, на фоне потребления селенопирана

Показатель	Контроль	ЛПС	Селенопиран	Селенопиран+ЛПС
ГПО (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) <sup>1</sup>	139.1±13.6	129.7±10.1	131.7±9.8	126.6±13.0
ГПО (t-BOOH) <sup>2</sup>	437.4±13.1	404.0±16.9	571.9±13.8 <sup>a</sup>	510.9±20.0 <sup>b</sup>
GSH <sup>3</sup>	6.62±0.24	6.32±0.18	6.05±0.14 <sup>a</sup>	5.300.28 <sup>b</sup>
ТБК-РП <sup>4</sup>	3.61±0.15	4.63±0.14 <sup>a</sup>	4.25±0.17 <sup>a</sup>	4.75±0.10

Примечания:

1 – нмоль GSH/мин/гHb, 2 – мкмоль GSH/мин/г Hb, 3 – мкмоль/г Hb, 4 – нмоль/мл плазмы;

a – достоверные изменения по отношению к группе «контроль», b – по отношению к группе «ЛПС»

В слизистом эпителии 12-перстной кишки происходит уменьшение концентрации GSH (табл. 2) и ТБК-РП. В тонком кишечнике также снижается уровень GSH. В эпителии толстого кишечника после применения ЛПС изменений уровня ТБК-РП нами не наблюдалось.

Применение селенопирана в качестве добавки к рациону способствовало повышению активности ГПО (с t-BOOH) и концентрации ТБК-РП при сниженном уровне GSH в крови. В эпителии 12-перстной кишки уменьшалась интенсивность ПОЛ. В тонкой кишке отмечено увеличение концентрации GSH и активности ГПО (с t-BOOH), в толстом кишечнике животных данной группы выросла активность ГР.

При иницировании эндогенной интоксикации у животных, предварительно получивших селенопиран, не произошло снижения уровня GSH в 12-перстной кишке. Содержание ТБК-РП было выше, чем в группах «ЛПС» и «селенопиран». В тонком кишечнике повышена активность ГР и достаточно высоко содержание GSH. В толстом кишечнике значительно возрастает активность H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-метаболизирующей ГПО.

Таблица 2 – Глутатионовая система и уровень ТБК-РП в кишечнике крыс с эндогенной интоксикацией на фоне потребления селенопирана

Показатель	Контроль	ЛПС	Селенопиран	Селенопиран+ЛПС
12-перстная кишка				
ГПО (t-BOOH) <sup>2</sup>	1.16±0.03	1.10±0.01	1.23±0.06	1.20±0.01 <sup>b</sup>
GSH <sup>5</sup>	15.23±0.86	8.48±0.39 <sup>a</sup>	19.88±2.14 <sup>a</sup>	15.81±1.83 <sup>b</sup>
ТБК-РП <sup>6</sup>	46.7±7.9	21.5±3.8 <sup>a</sup>	28.1±2.0 <sup>a</sup>	37.8±3.6 <sup>b</sup>
тонкий кишечник				
ГПО (t-BOOH) <sup>2</sup>	1.06±0.02	1.00±0.01	1.13±0.01 <sup>a</sup>	1.08±0.01
ГР <sup>3</sup>	69.6±1.2	60.6±2.8 <sup>a</sup>	71.3±7.7	81.4±85.5 <sup>b</sup>
GSH <sup>5</sup>	2.46±0.14	1.06±0.03 <sup>a</sup>	4.02±0.46 <sup>a</sup>	3.13±0.19 <sup>b</sup>
толстый кишечник				
ГПО (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) <sup>1</sup>	101.2±9.2	158.3±24.9 <sup>a</sup>	84.0±9.2	256.3±32.1 <sup>b</sup>
ГР <sup>3</sup>	62.0±4.0	74.5±1.3 <sup>a</sup>	77.6±8.3 <sup>a</sup>	67.8±7.9
ТБК-РП <sup>6</sup>	111.0±5.9	112.5±6.6	95.7±4.0 <sup>a</sup>	107.5±6.5

Примечания:

1 – нмоль GSH/мин/ г белка, 2 – мкмоль GSH/мин/ г белка, 3 – нмоль НАДФН/мин/мг белка, 5 – нмоль/мг белка, 6 – нмоль/г ткани;

a – достоверные изменения по отношению к группе «контроль», b – к группе «ЛПС»

Таким образом, можно констатировать, что применение селенопирана способствует адекватному функционированию глутатионовой системы в эпителии кишечника при окислительном стрессе, но не предотвращает интенсификации ПОЛ в эпителии 12-перстной кишки. Полученные данные могут служить основой для исследований, касающихся стабилизации системы глутатиона и антиоксидантной системы в целом при различных патологических состояниях человека, вызванных окислительным стрессом и (или) недостатком селена в рационе.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б05М – 195).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Arteel G.E., Sies H. The biochemistry of selenium and the glutathione system // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. – 2001. – Vol. 10. – P153-158.
2. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона. I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // *Биомедицинская химия*. – 2009. – Т. 55, вып 3. – С. 255-277.

# ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ КОРРЕКЦИИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ПОЧКИ МИТОХОНДРИАЛЬНО-АДРЕСОВАННЫМ АНТИОКСИДАНТОМ SKQR1

Семенович Д.С.<sup>1</sup>, Янкаукас С.С.<sup>2</sup>, Плотников Е.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>– Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно;

<sup>2</sup>–Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Острая почечная недостаточность (ОПН) – это синдром, характеризующийся быстрым (в течение часов или недель) снижением скорости клубочковой фильтрации, которое сопровождается накоплением продуктов азотного метаболизма, водно-электролитными и кислотно-щелочными нарушениями [2]. Известно, что основным звеном патогенеза ишемической ОПН являются митохондрии, генерирующие в условиях ишемии/реперфузии (И/Р) активные формы кислорода (АФК), которые активируют процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). Наиболее эффективными цитопротекторными и антиоксидантными свойствами обладают митохондриально-направленные соединения из семейства SkQ, что было показано на различных моделях *in vitro* и *in vivo* [1, 3].

**Целью** настоящего исследования явилось изучение действия митохондриально-адресованного антиоксиданта 10-(6'-пластолхинонил)-децилпродамина (SkQR1) на процессы ПОЛ и активность ферментов антиоксидантной защиты, при ишемии/реперфузии почки крыс.

Для моделирования И/Р крысам-самцам массой 180-200 г под хлоралгидратным наркозом, введенным внутривентриально в дозе 300 мг/кг, выделяли и пережимали сосудистую ножку почки сосудистым зажимом на 40 минут. После снятия зажимов отсчитывали время реперфузии. После окончания периода реперфузии накладывали швы и выводили животное из наркоза.

SkQR1 вводили внутривентриально, в дозах 20 и 500 нмоль/кг, за 3 ч до операции, через час после проведения реперфузии, и в

течение двух суток после операции – с интервалом 8 ч, утром и вечером.

С целью характеристики выраженности окислительного стресса в почечной ткани изучали базальный уровень ТБК-реактивных соединений (ТБКРС). Состояние антиоксидантной системы в почечной ткани оценивали с помощью определения активностей ключевых ферментов антиоксидантной защиты: глутатионпероксидазы (ГПО), супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ).

Нами установлено, что внутрибрюшинное введение антиоксиданта SkQR1 в дозах 20 нмоль/кг и 500 нмоль/кг демонстрирует эффективную антиоксидантную защиту на фоне индуцируемой И/Р. Так, по отношению к группе животных с И/Р значение количества ТБКРС у животных, принимавших SkQR1, на 28-32% ниже.

Таблица 1 – Показатели окислительного стресса при введении SkQR1 (Me±QR)

Группа	ТБКРС, нмоль/мг	ГПО, ммоль·мг <sup>-1</sup> ·мин <sup>-1</sup>	СОД, усл.ед.	КАТ, мкмоль·мг <sup>-1</sup> ·мин <sup>-1</sup>
Контроль	0,29±0,03	39,74±12,1	42,5±12,4	2,02±0,3
И/Р	0,45±0,03*	50,14±11,8	18,18±13,6*	4,23±0,1*
И/Р + SkQR1 20 нмоль/кг	0,31±0,06#	58,28±12,3	19,45±6,4*	2,51±0,7#
И/Р + SkQR1 500 нмоль/кг	0,33±0,03 *#	58,16±8,9*	31,57±12,9#	2,20±0,5#

Примечание: статистически достоверно при  $p < 0,05$ , \* – по отношению к контролю, # – по отношению к И/Р

По сравнению с интактными животными, животные после И/Р и обе группы с И/Р + SkQR1 обладают значительной активацией ГПО. Возможно, высокая активность ГПО обусловлена усиленным окислением GSH активными формами кислорода.

**Результаты.** Как показали результаты проведенных экспериментов, спустя 40 минут с момента развития ишемии происходит повышение активности СОД при введении животным SkQR1. После И/Р ингибирование реакции аутоокисления кверцетина у животных на 24-26% ниже по отношению к активности СОД у интактных животных. В то же время введение SkQR1 в дозах 20 и 500 нмоль/кг не повлияло на это изменение, досто-

верных различий между группами И/Р, И/Р+SkQR1 20 и И/Р+SkQR1 500 не наблюдалось.

При И/Р возрастает активность каталазы на 51% по отношению к группе контрольных животных. Нами отмечено, что введение животным SkQR1 в дозах 20 нмоль/кг и 50 нмоль/кг способствует снижению активности каталазы на 35-38% по отношению к группе животных с И/Р.

Таким образом, митохондриально-адресованный антиоксидант 10-(6'-пластолхинонил)-децилпродамин (SkQR1) обладает нефропротективным действием за счет выраженного антиоксидантного эффекта, проявляющегося в снижении уровня концентрации ТБКРП, увеличении активности ГПО и снижению активности каталазы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Изюмов Д.С., Домнина Л.В., Непряхина О.К., Аветисян А.В., Голышев С.А., Иванова О.Ю., Коротецкая М.В., Лямзаев К.Г., Плетюшкина О.Ю., Попова Е.Н., Митохондрии как источники активных форм кислорода при окислительном стрессе. Исследование с помощью новых митохондриально-направленных антиоксидантов на основе «ионов Скулачёва» // Биохимия, 2010, т. 75. – С. 123-129.
2. Мухин Н.А., под ред., Нефрология. Национальное руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 720 с.
3. Плотников Е.Ю., Митохондрия как центральное звено повреждающих и защитных путей при развитии почечной недостаточности. Автореферат док. биол. наук. – М., 2009. – 48 с.

## **МОРФОЛОГИЯ ЭРИТРОЦИТОВ И УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У НОВОРОЖДЕННЫХ С СИНДРОМОМ ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

*Серебрякова Е.Н., Волосников Д.К.*

Южно-Уральский государственный медицинский университет,  
Челябинск, Россия

Самые высокие показатели заболеваемости и смертности от синдрома полиорганной недостаточности (СПОН) среди детей имеют место у новорожденных [4]. Известно, что новорожден-

ные, особенно недоношенные, в большей степени подвержены окислительному стрессу, чем взрослые [6].

**Цель** настоящего исследования – оценить морфологию эритроцитов и интенсивность окислительного стресса у новорожденных в зависимости от тяжести СПОН.

В исследование включено 87 новорожденных со СПОН, поступивших в раннем неонатальном периоде в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) Челябинской детской областной клинической больницы. Критерии включения: недостаточность двух и более систем органов на момент поступления в ОРИТ. Критерии исключения: хромосомные аномалии, смертельный исход в неонатальном периоде. Исследование морфологии эритроцитов проведено на 7-е сутки жизни с использованием световой иммерсионной микроскопии. Рассчитан индекс трансформации (ИТ) эритроцитов как отношение количества эритроцитов с аномальной формой к количеству дискоцитов. ИТ эритроцитов является интегральным показателем, позволяющим оценить количественно газотранспортную функцию эритроцитов [3]. Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию диеновых конъюгатов (ДК) в плазме крови [1].

Тяжесть состояния новорожденных ежедневно оценивалась в раннем неонатальном периоде по шкале NEOMOD [5]. По тяжести состояния на основании оценки по шкале NEOMOD новорожденные были разделены на две группы. Новорожденные (n=44) с максимальной оценкой в раннем неонатальном периоде 5 и более баллов составили основную группу (тяжелые проявления СПОН). Новорожденные (n=43) с максимальной оценкой в раннем неонатальном периоде 4 и менее баллов составили группу сравнения (умеренные проявления СПОН). Статистический анализ проведен с использованием непараметрических методов – двустороннего теста Фишера, теста Манна-Уитни. Количественные данные представлены в формате Me (медиана), интерквартильный размах – UQ-LQ (25%-75% процентиля).

В таблице 1 представлены гестационный возраст (ГВ), масса тела при рождении (МТ), оценка по шкале Апгар на первой и пятой минутах, максимальная оценка по шкале NEOMOD в раннем неонатальном периоде, распределение по полу среди обследованных новорожденных в группах.

Таблица 1 – Характеристика обследованных новорожденных

Показатели	Основная группа n=44	Группа сравнения n=43	p
ГВ, нед	35 (32-38)	34 (31-38)	0,5
МТ, г	2200 (1830-2970)	2100 (1600-2900)	0,2
Апгар на 1', баллы	5 (4-7)	5 (4-6)	0,9
Апгар на 5', баллы	6 (5-7)	6 (5-7)	0,4
NEOMOD, баллы	6 (5-6)	4 (3-4)	<0,001
Мальчики/девочки	26/18	24/19	0,8

Как показано в таблице 1, новорожденные сопоставимы по гестационному возрасту, массе при рождении, полу, нет значимых различий в оценке по шкале Апгар на первой и пятой минутах.

В таблице 2 представлены индекс трансформации (ИТ) эритроцитов, уровень ДК в плазме на 7-е сутки жизни в группах новорожденных.

Таблица 2 – ИТ эритроцитов, уровень ДК в плазме (индексы окисления) на 7-е сутки жизни в группах новорожденных

Показатели	Основная группа n=44	Группа сравнения n=43	p	
ИТ эритроцитов	0,75 (0,58-0,96)	0,49 (0,35-0,64)	<0,001	
ДК (E232/220), фазы	гептановая	0,69 (0,57-0,85)	0,52 (0,49-0,65)	0,005
	изопропанольная	0,76 (0,65-0,89)	0,54 (0,44-0,62)	<0,001

Как показано в таблице 2, ИТ эритроцитов выше в группе новорожденных с тяжелыми проявлениями СПОН. Увеличение ИТ эритроцитов свидетельствует об увеличении в периферической крови эритроцитов с аномалиями формы. Интенсивность окислительного стресса также выше в группе новорожденных с тяжелыми проявлениями СПОН, на что указывают более высокие индексы окисления диеновых конъюгатов. Следует отметить, что активация окислительного стресса способствует повреждению клеточных мембран, и нарушению их функции. Деформируемость эритроцитов с аномалиями формы, позволяющая осуществлять газообмен на микроциркуляторном уровне, нарушена. Нарушение оксигенации тканей способствует активации окислительного стресса. Эритроциты с аномальной формой, разрушаясь в микроциркуляторном русле, увеличивают ин-

тенсивность окислительного стресса, так как содержат в составе гемоглобина мощный окислитель – железо [2].

Таким образом, изучение морфологии эритроцитов и интенсивности окислительного стресса у новорожденных в зависимости от тяжести СПОН показало, тяжесть СПОН у новорожденных определяется интенсивностью окислительного стресса. Интенсивность окислительного стресса связана с функциональным состоянием эритроцитов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах // Вопросы медицинской химии. – 1989. – № 1. – С. 127-131.
2. Герасимов Л.В., Мороз В.В., Исакова А.А. Микрореологические нарушения при критических состояниях // Общая реаниматология. – 2010. – Т. 6, № 1. – С. 74-78.
3. Лисовский В.А., Гуц В.Н., Кидалов В.Н. Трансформация эритроцитов как диагностический тест в клинической практике // Лаб. дело. – 1986. – № 10. – С. 594-598.
4. Bestati N., Leteurtre S., Duhamel A., Prolux F., Grandbastien B., Lacroix J., Leclerc F. Differences in organ dysfunctions between neonates and older children: a prospective, observational, multicenter study // Crit. Care. – 2010. – Vol. 14, № 6. – R202.
5. Janota J., Simak J., Stranak Z. et al. Critically ill newborns with multiple organ dysfunction: assessment by NEOMOD score in a tertiary NICU // Ir. J. Med. Sci. – 2008. – Vol. 177, № 1. – P. 11-17.
6. Nassi N., Ponziani V., Becatti M., Galvan P., Donzelli G. Anti-oxidant enzymes and related elements in term and preterm newborns // Pediatr. Int. – 2009. – Vol. 51, № 2. – С. 183-187.

## ОСТРЫЙ ПСИХОФИЗИЧЕСКИЙ СТРЕСС: РАЗВИТИЕ НАРУШЕНИЙ РИТМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Скуратова Н.А., Беляева Л.М., Грицук А.И.*

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель;  
Белорусская медицинская академия последипломного образования,  
Минск

**Введение.** Разрушительное действие избыточных концентраций свободных радикалов проявляется в ускорении процессов старения организма, провоцировании воспалительных процессов в мышечных, соединительных и других тканях, непра-

вильном функционировании циркуляционной системы, нервной системы (включая клетки мозга) и иммунной системы [1, 2]. Актуальным вопросом физиологических исследований по проблемам адаптации является выяснение адекватности реагирования и функциональной устойчивости систем организма при действии на него острого стресса в виде физического и психоэмоционального перенапряжения. Экстремальные факторы, нарушающие гомеостаз (форсированные физические нагрузки, нервное перенапряжение, гипоксия, иммобилизация, нарушение и лишение сна), вызывают в организме комплекс специфических нарушений и неспецифических адаптивных реакций, изменение деятельности сердечно-сосудистой системы, центральной нервной системы, эндокринных желез, метаболических процессов, снижение иммунитета.

Первым этапом разработки превентивных мероприятий являются доклинические испытания. Важная составляющая – изучение влияния «запредельных» физических и психоэмоциональных нагрузок на показатели вегетативной и сердечно-сосудистой систем организма. Необходимость моделирования различных параметров организма в условиях экстремальных нагрузок не вызывает сомнений при создании программы профилактических мероприятий в медицине [1, 2, 3, 4].

**Материалы и методы исследования.** Эксперимент проводился на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории УО «Гомельский государственный медицинский университет» на 10 белых беспородных молодых крысах-самках массой 180-220 г. Исследования проводились в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (86/609 ЕЕС). Животные содержались в стандартных условиях вивария при температуре  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  без ограничения в воде и пище в условиях относительной гиподинамии. В качестве психофизического стресса у крыс использовали плавание с грузом-гайкой –10% от массы тела. Критериями окончания пробы являлась нагрузка «до отказа» (падение на дно). Перед началом эксперимента у крыс была проведена электрокардиограмма (ЭКГ) в 6-ти отведениях (стандартных и усиленных). Запись ЭКГ у крыс проводилась на трехканальном электрокардиографе «Shiller».

**Результаты и их обсуждение.** В результате острого стресса (первые 5 минут восстановительного периода) на ЭКГ животных были зарегистрированы следующие изменения: замедление внутрижелудочкового проведения (4 случая – 21%), экстрасистолия (5 случаев – 27%), увеличение вольтажа ЭКГ (2 случая – 11%), ишемические изменения (2 случая – 11%), замедление АВ-проведения (2 случая – 11%), синусовая аритмия (4 случая – 21%).

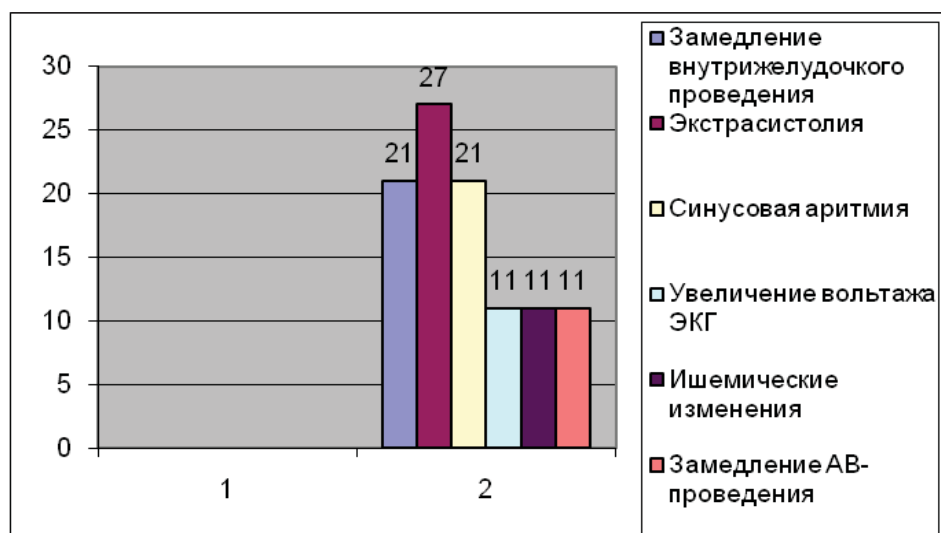


Рисунок 1 – Структура изменений на ЭКГ у экспериментальных животных в восстановительном периоде после острого психофизического стресса

### Выводы:

1. Модель острого психофизического стресса в плавательной пробе у экспериментальных животных привела к развитию у последних различных нарушений ритма, в том числе эктопической активности, что отражает снижение устойчивости сердечно-сосудистой системы в условиях стресса.

2. Необходимо дальнейшее изучение морфологических и гистологических изменений структур организма, возникающих на фоне регулярного «запредельного» психофизического стресса.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаева А.Г., Шканд Т.В., Чиж Н.А. и др. Биотехнологические принципы формирования экспериментального некроза миокарда // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2012. – Т. 13, № 1. – С. 11-15.

2. Глушковая-Семячкина О.В., Анищенко Т.Г., Бенрдникова В.А. Половые особенности кардиоваскулярной чувствительности к адреналину у здоровых и гипертензивных крыс // Фундаментальные исследования. 2006. – № 3. – С. 33-34.

3. Грязных А.В. Особенности восстановления некоторых показателей желудочковой секреции в условиях последствий острой физической нагрузки // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 4. – С. 45-52.

4. Каркищенко В.Н. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине // Биомедицина. – 2012. – № 4. – С. 15-21.

## **ВЛИЯНИЕ ГАЗООБРАЗНОГО И РАСТВОРЕННОГО ОЗОНА НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ КРОВИ IN VITRO**

*Соловьева А.Г., Мартусевич А.К., Перетягин С.П.*

ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России,  
Нижний Новгород

**Введение.** Активное применение озонотерапии в медицине выводит на первый план вопросы потенциальных токсических эффектов высоких доз соединения [2]. В то же время проблема определения «пороговой» и «высокой» дозы озона остается нерешенной не только для организма человека и животных, но и для биосистем in vitro [2-3]. С учетом того, что основной «точкой приложения» эффектов озона и других активных форм кислорода являются процессы липопероксидации [1], целью исследования служила оценка влияния разных вариантов озонирования на баланс про- и антиоксидантных систем крови.

**Материал и методы исследования.** Нами проведена серия экспериментов (n=10) по изучению действия озона в форме кислородно-озоновой газовой смеси и озонированного физиологического раствора (ОФР) на изолированную кровь человека. Для каждого эксперимента кровь делили на 7 равных порций (по 5 мл), первая из которых являлась контрольной. В последующие 3 порции вводили по 0,5 мл физиологического раствора с концентрацией озона 3000, 10000 и 40000 мкг/л, соответственно. Остальные 3 порции барботировали кислородно-озоновой смесью (концентрации озона – 3000, 10000 и 40000 мкг/л, соответственно) в течение 5 минут. Экспозиция после воздействий составляла 3 минуты.

Оценивали интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общую антиоксидантную активность (АОА) в плазме крови методом Fe-индуцированной биофлуоресценции. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в плазме крови определяли по методу M. Mihara et al. (1980). Результаты обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что кислородно-озоновая смесь и озонированный физиологический раствор дозозависимо, но нелинейно изменяют состояние про- и антиоксидантных систем крови (рис. 1).

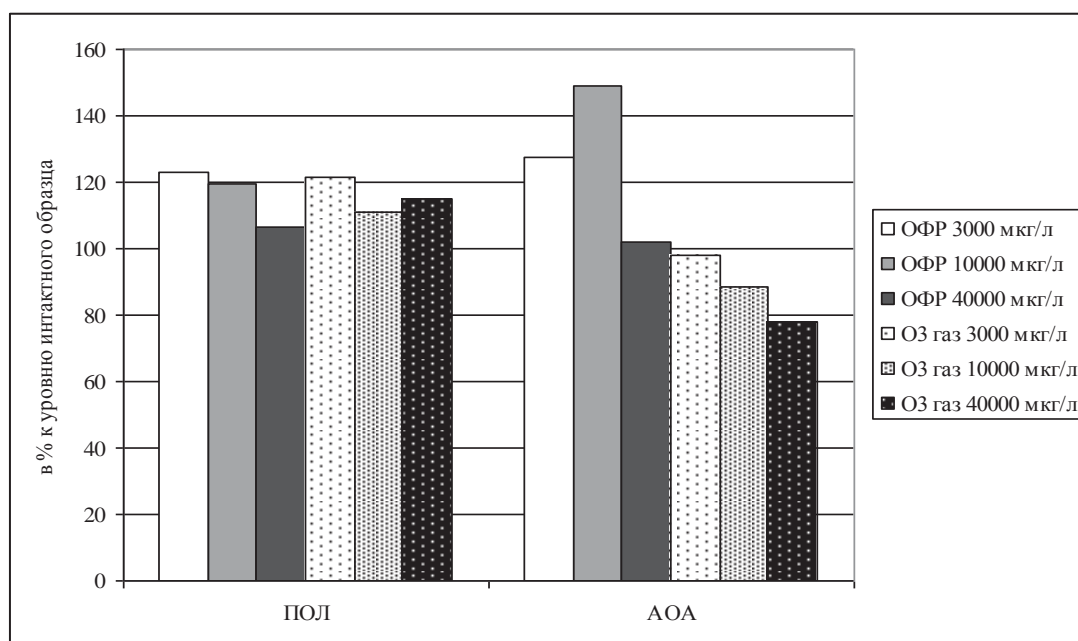


Рисунок 1 – Интенсивность липопероксидации и антиоксидантная активность плазмы крови при действии озона (по отношению к контролю, принятому за 100%)

Выявлено, что воздействие на образцы крови озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 3000 и 10000 мкг/л вызывает умеренную интенсификацию липопероксидации (на 23 и 19,6% относительно интактного уровня) в сочетании с преобладающим увеличением антиоксидантных резервов (на 27,3 и 49,1%, соответственно). При дальнейшем увеличении дозы озона (до 40000 мкг/л) регистрировали отсутствие изменений обоих показателей.

Напротив, при прямом барботаже крови кислородно-озоновой смесью динамика светосуммы хемилюминесценции и

общей антоксидантной активности плазмы была более негативной (рис. 1). Так, на фоне умеренного нарастания активности перекисного окисления липидов плазмы крови, не зависящего от дозы соединения и колеблющегося в пределах 15-20% относительно контрольного образца, отмечали четкую тенденцию к дозозависимому падению общей антиоксидантной активности биологической жидкости. При этом применение минимальной из изучаемых доз озона (3000 мкг/л) не изменяло уровень параметра по сравнению с интактным образцом, а дальнейшее нарастание концентрации соединения приводило к его снижению на 13,1 и 28%, соответственно.

Показано, что все использованные дозы озона, содержащиеся в физиологическом растворе, способствуют снижению концентрации малонового диальдегида (на 10-20%;  $p < 0,05$ ). В то же время газообразная кислородно-озоновая смесь вызывает принципиально иные сдвиги концентрации МДА: 3000 и 10000 мкг/л озона приводят к значимым изменениям показателя, тогда как максимальная из примененных доз (40000 мкг/л) обеспечивает его выраженное нарастание (на 35,1% относительно интактного образца;  $p < 0,05$ ), что четко сопоставляется с наличием признаков окислительного стресса.

**Заключение.** Таким образом, ответ процессов липопероксидации крови на газообразный и растворенный озон существенно различается, причем более позитивной следует признать динамику показателей биохемилюминесценции и концентрации малонового диальдегида плазмы при действии низких и средних доз растворенного озона. Газообразный озон обеспечивает дозозависимое истощение антиоксидантных резервов биологической жидкости, вплоть до развития явлений окислительного стресса.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Меньщикова Е.Б. с соавт. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРТА, 2008.
2. McClellan R.O. et al. Critical considerations in evaluating scientific evidence of health effects of ambient ozone: a conference report // *Inhal. Toxicol.* – 2009. – Vol. 21, Suppl 2. – P. 1-36.
3. Peretyagin S.P., Martusevich A.K., Solovyeva A.G. et al. Enzymological evaluation of hepatotropic effect of ozone in a subchronic experiment // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2013. – Vol. 154, Iss. 6. – P. 789-791.

# КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ И АГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*Степанова Ю.И.<sup>1</sup>, Нечипуренко Н.И.<sup>2</sup>, Алехнович Л.И.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования,

<sup>2</sup> Республиканский научно-практический центр

неврологии и нейрохирургии,

Минск

**Введение.** В условиях интенсификации свободно-радикального окисления (СРО) и нарушения кислородтранспортной функции крови (КТФК) одним из патогенетических механизмов развития инфаркта головного мозга (ИГМ) является патологическое тромбообразование как результат активации клеток крови, в том числе эритроцитов [1, 2]. В основе этого процесса лежит изменение структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов, ведущее к образованию эритроцитарных агрегатов и уменьшению просвета сосудов микроциркуляторного русла, что усугубляет гипоксию церебральных структур.

**Цель исследования** – изучение состояния КТФК во взаимосвязи с агрегационной активностью эритроцитов в острейшем периоде ИГМ.

**Методы исследования.** Обследованы 97 пациентов с острым ИГМ (средний возраст –  $72,1 \pm 9,3$  г.; 45 женщин и 52 мужчины), поступивших в неврологическое отделение № 1 БСМП г. Минска. Критерием включения пациента в исследование в течение первых суток пребывания в стационаре было наличие острого ИГМ длительностью менее 48 ч. На участие в исследовании от всех пациентов или их представителей было получено информированное согласие. Контрольную группу составили 24 практически здоровых человека (средний возраст –  $64,4 \pm 8,3$  г.; 10 женщин и 14 мужчин).

Локализация очага инфаркта мозга была определена на основании клинических и нейровизуализационных данных (КТ и/или МРТ). Тяжесть заболевания оценивали по инсультным шкалам Национального института здоровья – NIHSS (National

Institutes of Health Stroke Scale) и модифицированной шкале Рэнкина (мШР). Патогенетический вариант инсульта определяли с использованием критериев TOAST. Атеротромботический подтип ишемического инсульта выявлен у 53 (54%) пациентов, кардиоэмболический – у 29 (29%), лакунарный – у 11 (12%), смешанный – у 4 (5%). Антиагрегантную терапию проводили препаратами ацетилсалициловой кислоты в дозе 75-125 мг в сутки, антикоагулянтную – нефракционированным гепарином. Также пациентам назначали гипотензивные, нейропротективные и антигипоксические лекарственные средства.

Медиана времени от развития инсульта до взятия венозной крови составила 22,5 {16,0; 27,0} ч. Состояние КТФК оценивали по следующим параметрам, определенным с использованием газоанализатора ABL-800 («Radiometer», Дания): содержание общего гемоглобина, парциальное давление  $O_2$  ( $p_vO_2$ ), сатурация гемоглобина ( $s_vO_2$ ), кислородная ёмкость крови (КЕК),  $p50_{\text{реал}}$ . С помощью агрегометра AP-2110 («Солар», РБ) проводили оптическую агрегатометрию эритроцитов (ОАЭ), в качестве индуктора использовали 0,05% раствор альциана голубого.

При проведении статистической обработки данные, имеющие ненормальное распределение, выражали в виде медианы и квартилей Med {Q1; Q3} и сравнивали с помощью теста Манна-Уитни. Характер связи между явлениями исследовался с вычислением коэффициента корреляции Спирмена ( $r$ ). Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В дебюте инфаркта мозга у пациентов наблюдалось нарушение КТФК, что заключалось в повышении  $p50_{\text{реал}}$  в сравнении с контрольными величинами ( $p < 0,05$ ), снижении сродства гемоглобина к  $O_2$  (СГК) и сдвиге кривой диссоциации оксигемоглобина вправо на фоне лактоацидоза, развитие которого установлено нами ранее [3]. Выявлены снижение КЕК, а также высокий уровень  $p_vO_2$  и  $s_vO_2$  по сравнению с нормальными данными, что характеризовало несоответствие между степенью потребления  $O_2$  и его транспортом в ткани, которое возникает при ишемии/реперфузии и обуславливает развитие СРО [4]. Кроме того, у пациентов с ИГМ при поступлении в стационар обнаружено повышение степени и скоро-

сти агрегации красных клеток крови по сравнению с контрольными данными ( $p < 0,001$ ), а также снижение активности обратного процесса дезагрегации за счет увеличения прочности эритроцитарных агрегатов ( $p = 0,01$ ). Корреляционный анализ обнаружил сильные прямые ассоциации между значениями скорости и степени эритроцитарной агрегации и уровнем  $p50_{\text{реал}}$  ( $r = 0,72$ ;  $p = 0,020$  и  $r = 0,76$ ;  $p = 0,01$ ), соответственно.

Выявленные зависимости заключаются в том, что при остром ИГМ усиление агрегационной активности эритроцитов сопровождается развитием сладж-синдрома и снижением поступления  $O_2$  в ткани, на которое по механизму обратной связи реагирует КТФК с повышением  $p50_{\text{реал}}$  и снижением СГК.

**Выводы.** Установлено несомненное значение повышенной агрегабельности эритроцитов в нарушении функционирования системы транспорта кислорода при острой церебральной ишемии. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости терапевтической коррекции агрегационной активности эритроцитов у пациентов с острым ИГМ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Нечипуренко н.и. и др. Метаболические нарушения при острой и хронической ишемии головного мозга (экспериментально-клиническое исследование) // актуальные теоретические и прикладные аспекты патофизиологии: материалы респ. конф. – Гродно, 2010. – С. 157-162.
2. Ройтман Е.В. и др. Изменение реологических свойств крови и осмотической резистентности эритроцитов при активации свободнорадикальных процессов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – № 3. – С. 42-43.
3. Нечипуренко Н.И., Короткевич Е.А., Степанова Ю.И. Механизм формирования метаболических нарушений при церебральной ишемии и их патогенетическая коррекция // Актуальные проблемы неврологии и нейрохирургии. – 2008. – Вып. 10. – С. 167-174.
4. Зинчук В.В., Максимович Н.А., Борисюк М.В. Функциональная система транспорта кислорода: фундаментальные и клинические аспекты. – Гродно: ГрГМУ, 2003. – 236 с.

## РОЛЬ АТФ В МОДИФИКАЦИИ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРКАПНИИ

*Тихомирова И.А., Петроченко Е.П., Ослякова А.О.*

Ярославский государственный педагогический университет  
им. К.Д. Ушинского, Ярославль

**Введение.** На уровне микроциркуляции, где непосредственно протекают обменные процессы, от реологических свойств крови (способность эритроцитов объединяться в агрегаты и деформироваться при прохождении через сосуды малого калибра) во многом зависит реализация кислородтранспортной функции крови. Кроме транспорта кислорода эритроциты способны в ответ на физиологические (гипоксия, механическая деформация) и фармакологические стимулы (воздействие простагландинов, гормонов) высвобождать АТФ, которая выступает в качестве сигнальной молекулы и, взаимодействуя с эндотелиоцитами, обеспечивает вазодилатацию микрососудов, регулируя кровоток в соответствии с локальными потребностями тканей [4]. Ранее нами были получены данные, свидетельствующие о том, что энергетический потенциал красных клеток крови оказывает влияние на их микрореологические характеристики.

**Целью** настоящего исследования было оценить роль АТФ в модификации реологических свойств крови в условиях гиперкапнии.

**Материал и методы исследования.** Для изучения влияния кратковременного накопления углекислого газа в эритроцитах (что имеет место при гипоксии) на реологические свойства крови отмытые клетки инкубировали при 37°C в физиологическом растворе (контроль) и в растворе ацетазоламида (100 мкМ) (эксперимент). Ацетазоламид – ингибитор карбоангидразы – используется для моделирования тканевой гипоксии, он играет важную роль в физиологических процессах при необходимости быстрого связывания или освобождения CO<sub>2</sub>. Инкубационный раствор удаляли центрифугированием, а клетки крови использовали для оценки содержания АТФ методом биолюминесценции и измерения реологических характеристик: вязкости суспензии

эритроцитов в плазме с фиксированным гематокритом (40%), деформируемости эритроцитов (по индексу элонгации в проточной микрокамере) и их агрегируемости (методом оптической микроскопии с видеорегистрацией и компьютерной обработкой изображения).

**Результаты и их обсуждение.** После обработки красных клеток крови ацетазоламидом было отмечено снижение вязкости крови на 14% ( $p < 0,05$ ) при высоких напряжениях сдвига и на 21% ( $p < 0,05$ ) при низкосдвиговом течении. Такие изменения реологических свойств крови были обусловлены снижением агрегируемости эритроцитов и ростом их деформируемости: степень агрегации уменьшилась на 50% ( $p < 0,001$ ), средний размер агрегата – на 17% ( $p < 0,001$ ), индекс элонгации увеличился на 21% ( $p < 0,05$ ). Сосудорасширяющий эффект ацетазоламида доказан в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [6]. Ингибирование карбоангидразы создает гиперкапнические условия, способствуя компенсаторному расслаблению гладкомышечных клеток сосудов. В нашем исследовании ацетазоламид оказал выраженный положительный эффект на микрореологические свойства эритроцитов, повысив текучесть крови.

Эритроциты содержат миллимолярные количества АТФ и обладают мембранно-связанными гликолитическими ферментами, необходимыми для его продукции [1]. Было продемонстрировано, что АТФ высвобождается эритроцитами в ответ на снижение напряжения кислорода и рН, а количества этого АТФ связаны со снижением кислородной сатурации гемоглобина [3]. Эритроциты также высвобождают АТФ под влиянием совместного действия гипоксии и гиперкапнии, механической деформации [2], которая происходит, когда эритроциты проходят через узкие сосуды. АТФ, высвободившийся из красных клеток крови, широко используется в качестве внеклеточной физиологической сигнальной молекулы [5].

Корреляционный анализ продемонстрировал наличие тесных взаимосвязей между содержанием АТФ в эритроцитах и реологическими характеристиками крови, наиболее выраженную после обработки клеток ацетазоламидом. Так, коэффициенты корреляции между вязкостью крови и содержанием АТФ

составили -0,713 в контроле и -0,822 при гиперкапнии, между степенью агрегации эритроцитов и содержанием в них АТФ: -0,676 в контроле и -0,931 после обработки ацетазоламидом; деформируемость эритроцитов коррелировала с содержанием в них АТФ только в после инкубации с ацетазоламидом ( $r=-0,509$ ).

**Вывод.** Если исходить из того, что эффект ацетазоламида на микрореологические свойства красных клеток крови обусловлен ингибированием их карбоангидразы, можно предположить, что наблюдаемые благоприятные изменения клеточных свойств эритроцитов являются адаптивной реакцией клеток, направленной на сохранение оптимального кислородтранспортного потенциала крови в условиях гиперкапнии. Внутриклеточное содержание АТФ играет существенную роль в обеспечении их микрореологических свойств, особенно в условиях гиперкапнии.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 14-04-01703-а.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Dietrich H.H., Ellsworth M.L., Sprague R.S. et al. Red blood cell regulation of microvascular tone through adenosine triphosphate // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2000. – Vol. 278. – P. H1294–H1298.
2. Ellsworth M.L., Sprague R.S. Regulation of blood flow distribution in skeletal muscle: role of erythrocyte-released ATP // *The Journal of Physiology.* – 2012. – Vol. 590. – P. 4985-4991.
3. Jagger J.E., Bateman R.M., Ellsworth M.L. et al. Role of erythrocyte in regulating local O<sub>2</sub> delivery mediated by hemoglobin oxygenation // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* - 2001. – Vol. 280. – P. H2833–H2839.
4. Jensen F.B. The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery: oxygen carriers and regulators of local blood flow / F.B. Jensen // *The Journal of Experimental Biology.* – 2009. – Vol. 212. – P. 3387-3393.
5. Novak I. ATP as a signalling molecule: the exocrine focus // *News Physiol. Sci.* – 2003. – Vol. 18. – P. 12-17.
6. Torring M.S., Holmgaard K., Hesselund A. et al. The vasodilating effect of acetazolamide and dorzolamide involves mechanisms other than carbonic anhydrase inhibition // *IOVS.* – 2009. – Vol. 50. – No 1. – P. 345-351.

# ИЗМЕНЕНИЕ НАПРЯЖЕНИЯ КИСЛОРОДА В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ПРИ РАЗВИТИИ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО ОЧАГА

*Торшин В.И., Северин А.Е., Радыш И.В.*

Российский университет дружбы народов,  
Москва

Эпилепсия – хроническое заболевание головного мозга различной этиологии, для которого характерны повторные припадки, возникающие в результате чрезмерных нейронных разрядов. Исследование механизмов возникновения и подавления эпилептической активности представляет собой основу разработки методов лечения и профилактики эпилепсии. Развитие и прекращение приступов зависит от взаимоотношения организма с внешней средой, эпилептического очага с защитными и компенсаторными процессами. Гипоксия оказывает существенное влияние на течение эпилепсии, причем она способна не только усиливать эпилептическую активность, но в ряде случаев и предотвращать судорожные приступы [1, 2].

**Целью** данной работы была проверка предположения, что гипоксия, которая сопровождает эпилептический приступ [3], может являться одним из механизмов его подавления. Опыты проводились на не наркотизированных, обездвиженных миорелаксином 52 нелинейных белых крысах-самцах (160-180 г), дыхание обеспечивалось с помощью аппарата искусственного дыхания. Фокальный пенициллиновый очаг создавался в сенсомоторной области коры больших полушарий аппликацией раствора пенициллина в концентрации 20000 ЕД/мл. В течение всего опыта регистрировались ЭКоГ в области эпилептического очага и напряжение кислорода в коре другого полушария (в зоне, симметричной эпилептическому очагу). Для регистрации напряжения кислорода применялся полярограф LP-7е. В качестве активного использовали платиновый электрод открытого типа диаметром 200 мкм. Индифферентный электрод и хвост животного помещались в колбу, заполненную физраствором.

Полученные данные показали, что характер изменений в биоэлектрической активности мозга в ответ на аппликацию пе-

пенициллина был не одинаков: у части животных (низкоустойчивых) через 1-3 мин. после аппликации возникали первые эпилептические разряды (ЭР), а через 5-10 мин. появлялись эпилептические приступы (ЭП); у остальных крыс (высокоустойчивых) возникли только ЭР. Одновременная регистрация ЭКоГ в области эпилептического очага, вызванного аппликацией пенициллина и в симметричной области другого полушария, показала, что в коре другого полушария практически одновременно возникает очаг эпилептической активности («зеркальный» очаг). Частота ЭР в обоих очагах одинакова, хотя их амплитуда в «зеркальном» очаге была меньше.

**Результаты** исследования  $PO_2$  в коре головного мозга на разных стадиях развития очага свидетельствуют о существенной связи  $PO_2$  с развитием эпилептической активности. В зависимости от степени эпилептизации мозга характер полярограммы изменялся. У низкоустойчивых животных (аппликации пенициллина вызывала как ЭР, так и ЭП) напряжение кислорода в области «зеркального» очага начинало возрастать уже через 30-40 с после аппликации, увеличиваясь на 15-20% через 1,5-2 мин. (период начала возникновения ЭР на ЭКоГ). К моменту генерации первого ЭП оно превышало исходный уровень на 25-35%. Возникновение ЭП приводило к снижению  $PO_2$  на 5-10% ниже исходного уровня через 15-20 с после его начала. После прекращения припадка напряжение кислорода постепенно увеличивалось и через 1,5-2 мин. достигало уровня, который существовал до приступа, а иногда даже превышало его. У более устойчивых к судорожному действию пенициллина животных ЭР возникали позже (через 5-10 мин. после аппликации), их частота постепенно увеличивалась и через 15-20 мин. стабилизировалась, а ЭП не генерировались. Напряжение кислорода в «зеркальном» очаге начинало возрастать через 30-40 с после аппликации, через 5-6 мин. превышало исходный уровень на 15-20%. Такой уровень напряжения кислорода регистрировался вплоть до окончания генерации ЭР, после чего восстанавливалось исходное  $PO_2$ . Полученные данные указывают на взаимосвязь развивающейся эпилептической активности с уровнем  $PO_2$  в области очага. Напряжение кислорода начинает увеличиваться

уже в латентной стадии развития эпилептического очага, а на стадии генерации ЭР оно превышает исходный уровень на 15-20%, причем время наступления этого увеличения зависит от устойчивости животных к судорожному действию пенициллина (у более устойчивых крыс оно возникает позже). Дальнейшая генерализация судорожного процесса (стадия генерации ЭП), которая наблюдалась только у менее устойчивых животных, приводила к еще большему увеличению  $PO_2$ , которое к моменту возникновения первого ЭП превышало исходный уровень примерно на 30%.

Таким образом, эпилептизация мозга сопровождается прогрессирующим ростом напряжения кислорода в области очага, т.е. увеличением его доставки. Известно, что во время появления ЭР, вызванных аппликацией пенициллина, локальный кровоток в области очага возрастает на 200-300% по сравнению с контролем. Однако даже этого не хватает для обеспечения активности нейронов очага в период эпилептического приступа, об этом свидетельствует то, что генерация ЭП вызывает снижение  $PO_2$  на 10% ниже исходного уровня в области «зеркального» очага уже через 15-25 с после его начала, и лишь после окончания припадка напряжение кислорода постепенно восстанавливается. Возможно, снижение  $PO_2$  в первичном очаге еще больше, чем в «зеркальном», и достигает значений, при которых повышенная активность нейронов уже невозможна, поэтому приступ прекращается.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А., Торшин В.И. Влияние адаптации к гипоксии на резистентность крыс к эпилептогенному действию пенициллина // Бюлл. Экпер. биол. и мед. – 1986. – № 12. – С. 638-685.
2. Агаджанян Н.А., Торшин В.И., Шевченко Л.В., Елфимов А.И. Влияние острой гипоксии на развитие коразоловых судорог // Бюлл. экпер. биол. и мед. – 1990. – № 6. – С. 529-531.
3. Власова И.Г., Торшин В.И. Сравнительная оценка эффективности использования некоторых антигипоксантов для восстановления активности нервных клеток после гипоксии // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2004. – Т. 25, № 1. – С. 6-11.

# ИЗМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТЬЮ

*Угольник Д.В.*

Гомельский государственный медицинский университет,  
Гомель

**Введение.** Изменения антиоксидантного статуса пациентов с острой кишечной непроходимостью (ОКН) подтверждают влияние этих изменений на состояние кишечной стенки при ОКН и прогноз заболевания [1, 2]. Полученные данные определяют необходимость дальнейшего изучения данной проблемы.

**Цель.** Изучить антиоксидантную активность (АОА) сыворотки крови у оперированных и неоперированных пациентов с ОКН в разные сроки от поступления в стационар.

**Методы исследования.** В исследовании принимали участие 40 пациентов, находившихся на стационарном лечении в УГОКБ и ГУЗГГКБСМ г. Гомеля в 2013-2014 гг. Все пациенты были разделены на три группы. В группу наблюдения вошли пациенты с тонкокишечной непроходимостью неопухолевого генеза. В 1-ю подгруппу были включены пациенты, которым проводилось консервативное лечение, во 2-ю подгруппу – оперированные пациенты, 3-я группа – контроль.

Определение антиоксидантного статуса сыворотки крови проводили по методу Сироты Т.В. (1999 г.) в модификации Грицука А.И. на спектрофотометре СФ-46 [3]. АОА оценивалась по способности биологических жидкостей влиять на скорость (V) аутоокисления адреналина в щелочной среде.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием прикладного пакета программного обеспечения Statistica 8.0.

**Результаты и их обсуждение.** Медиана возраста пациентов составила 64 (54;74) года. Количество мужчин и женщин распределилось поровну. 87,5% пациентов были госпитализированы со спаечной ОКН. В группе пациентов с ОКН 33,3% чел. были прооперированы, 66,7% получали консервативное лечение. У 62,5% прооперированных пациентов был выполнен висцеролиз, у остальных (37,5%) – резекция тонкой кишки.

Определение АОА в сыворотке крови у пациентов выполняли при поступлении в стационар, на 1-2 сутки, 3-4 сутки, 5-6 сутки пребывания в стационаре.

Таблица – Показатели АОА сыворотки крови в группе наблюдения и контрольной группе (Me(Q1;Q3))

Срок пребывания в стационаре	Группа наблюдения		Контроль
	1-я подгруппа	2-я подгруппа	
При поступлении	-29,99%* (-35,07;-22,03)	-18,69% (-39,36;6,97)	2,38% (-2,12;7,2)
1-2 сутки	-48,0%* (-75,8;-40,28)	-27,81%* (-48,24;-2,4)	
3-4 сутки	-31,11%* (-79,78;-2,37)	-75,88% (-171,8;3,51)	
5-6 сутки	—————	-28,02% (-59,21;3,17)	

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой, (p<0,05)

Между первой и второй подгруппами у пациентов с ОКН не было выявлено статистически значимых различий по АОА сыворотки крови.

В группе пациентов, получавших консервативное лечение, сыворотка крови уже с момента поступления в стационар имела прооксидантную активность (p<0,05), которая продолжала нарастать в течение первых двух суток, по сравнению с пациентами группы контроля (p<0,05). На 3-4 сутки прооксидантная активность сыворотки крови имела статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой (p<0,05).

В группе пациентов, которым было выполнено оперативное вмешательство, на 1-2 сутки после операции прооксидантная активность сыворотки крови увеличивалась по сравнению с контролем (p<0,05) и имела тенденцию к снижению на 5-6 сутки после операции.

Изначально высокий уровень прооксидантной активности сыворотки крови показывает, что в организме человека с ОКН происходит недостаточная утилизация продуктов свободнорадикального окисления в связи с истощением ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ), что свидетельствует о развитии окислительного стресса. Последующее уменьшение прооксидантной ак-

тивности связано с компенсаторной реакцией системы АОЗ и стремлением к восстановлению равновесия анти-/прооксидантов.

### **Выводы:**

1. У пациентов с ОКН при поступлении в стационар сыворотка крови имела прооксидантные свойства.

2. С увеличением сроков пребывания в стационаре возрастает прооксидантная активность сыворотки крови с тенденцией к снижению на 3-4 сутки у неоперированных, и на 5-6 – у оперированных пациентов.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Волков Д.В. и др. Влияние перфторана и супероксиддисмутазы на процессы свободно-радикального окисления и антиоксидантный статус у больных с острой кишечной непроходимостью // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 9. – С. 340-345.

2. Пермяков П.Е. и др. Значение синдрома ишемии-реперфузии в развитии эндогенной интоксикации при острой кишечной непроходимости // *Инфекции в хирургии* – 2009. – № 2. – С. 47-50.

3. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // *Вопросы медицинской химии* – 1999. – Т. 45, № 3. – С. 263-272.

## **ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ПРОТЕКТИВНОГО ВЛИЯНИЯ 1-МЕТИЛНИКОТИНАМИДА НА ПЕЧЕНЬ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ У КРЫС**

*Ходосовский М.Н., Гуляй И.Э., Зинчук Вл.В.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** Реперфузионные повреждения печени часто встречаются в клинической практике после травм, резекций, трансплантации органа [1]. Среди механизмов данных нарушений выделяют расстройства микроциркуляции и транспорта кислорода, ухудшение прооксидантно-антиоксидантного состояния, миграцию лейкоцитов и воспалительную реакцию, а также активацию апоптоза [1, 2]. Свободнорадикальные процессы, такие как перекисное окисление липидов (ПОЛ), играют важную роль в механизмах развития реперфузионных повреждений пе-

чени. Избыток прооксидантов ведет к окислительному стрессу в тканях, что может быть причиной повреждения и даже гибели клеток путем некроза или апоптоза. Недавно установлено, что производное витамина РР – 1-метилникотинамид (МНА) – может улучшать показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния, а также снижает активность трансаминаз крови при ишемии-реперфузии печени (ИРП) [3]. Механизм данного эффекта нуждается в изучении.

**Цель исследования** – изучить механизм протективного влияния МНА при ИРП у крыс.

**Материалы и методы исследования.** Опыты выполнены на белых взрослых крысах-самцах, предварительно выдержанных в стандартных условиях вивария. Ишемию печени вызывали маневром Прингла в течение 30 мин., реперфузионный период длился 120 мин. Все оперативные вмешательства осуществляли в соответствии с нормами, принятыми комиссией по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета.

Животных разделили на 5 экспериментальных групп: 1-я – контрольные животные (n=8), во 2-й моделировали ИРП (n=8), в 3-й за 10 мин. до ИРП вводили МНА 100 мг/кг (n=8), в 4-й ИРП моделировали в условиях совместной инфузии МНА 100 мг/кг и ингибитора простаглицлиновых рецепторов RO3244794 (5 мг/кг) (n=8), в 5-й группе ИРП выполняли при комбинированном введении МНА 100 мг/кг и ингибитора NO-синтазы метилового эфира N $\omega$ -нитро-L-аргинина (L-NAME, 5мг/кг) (n=8). Изучали следующие показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния: диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ),  $\alpha$ -токоферол и активность каталазы. Статистическую обработку полученных результатов проводили параметрическими и непараметрическими методами вариационной статистики в зависимости от нормальности распределения выборок. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что моделирование ИРП у животных 2-й группы приводило к накоплению продуктов ПОЛ в тканях печени. Так содержание ДК и ОШ в конце реперфузии увеличилось на 313,5% ( $p < 0,001$ ) и 219,3% ( $p < 0,001$ ) по отношению к контролю, соответственно. Одновре-

менно у крыс 2-й группы в печени снижался уровень антиоксидантов:  $\alpha$ -токоферола – на 28,6% ( $p < 0,01$ ) и ретинола – на 40,4% ( $p < 0,001$ ), активность каталазы – на 46,8% ( $p < 0,001$ ). Данные изменения параметров прооксидантно-антиоксидантного равновесия указывают на развитие окислительного стресса в постшемическом периоде, что является одним из механизмов реперфузионных расстройств [1, 2]. Введение перед ишемией печени МНА способствовало улучшению прооксидантно-антиоксидантного состояния. Так, уровень ДК и ОШ у крыс 3-й группы в конце реперфузионного периода снижался на 53,3% ( $p < 0,01$ ) и 49,9% ( $p < 0,01$ ) по отношению к животным 2-й группы, соответственно. Вместе с тем повышалось содержание  $\alpha$ -токоферола на 21,4% ( $p < 0,05$ ), ретинола – на 21,7% ( $p < 0,01$ ), активности каталазы – на 346,2% ( $p < 0,001$ ) по отношению к животным, которые препарат не получали (2-я группа). Полученные результаты указывают, что использование МНА повышало антиокислительную активность каталазы, что благоприятно отразилось на прооксидантно-антиоксидантном равновесии в целом. Совместная инфузия МНА и ингибитора простаглицлиновых рецепторов RO3244794 устраняла протективные эффекты МНА (4-я группа) на прооксидантно-антиоксидантный баланс. Так, уровень ДК и ОШ в тканях печени у крыс 4-й группы увеличивался на 413,9% ( $p < 0,001$ ) и 313,1% ( $p < 0,001$ ) по отношению к контролю. Факторы антиоксидантной защиты снижались:  $\alpha$ -токоферол – на 25,0% ( $p < 0,001$ ), ретинол – на 46,2% ( $p < 0,001$ ), активность каталазы – на 50% ( $p < 0,001$ ) по отношению к животным 1-й группы. Данные изменения указывают на участие простаглицлиновых рецепторов в реализации защитных эффектов МНА. Напротив, ингибирование NO-системы в организме с помощью L-NAME не блокировала эффекты МНА на печень у экспериментальных животных (5-я группа). Так, уровень ДК и ОШ у крыс 5-й группы по отношению к животным 2-й группы в конце реперфузионного периода снижался на 49,9% ( $p < 0,01$ ) и 45,8% ( $p < 0,01$ ), соответственно. Вместе с тем повышалось содержание  $\alpha$ -токоферола – на 20,7% ( $p < 0,05$ ), ретинола – на 19,2% ( $p < 0,01$ ), активности каталазы – на 342,8% ( $p < 0,001$ ) по отношению к животным 2-й группы.

**Выводы.** Таким образом, улучшение прооксидантно-антиоксидантного баланса и функционального состояния печени при ишемии-реперфузии под влиянием МНА опосредовано простаглицлиновыми рецепторами, указывая на дуалистическую роль провоспалительных цитокинов в патогенезе реперфузионного синдрома.

Данная работа была выполнена при финансовой поддержке БФФИ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зинчук В.В., Ходосовский М.Н. Участие кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени // Успехи физиол. наук. – 2006, № 4. – С. 45-56.
2. Jaeschke H., Woolbright B/L. Current strategies to minimize hepatic ischemia-reperfusion injury by targeting reactive oxygen species // Transplant. Rev. (Orlando). – 2012. – Vol. 26, № 2. – P.103-114.
3. Ходосовский М.Н., Зинчук В.В., Хлопицкий С. Влияние 1-метилникотинамида на параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса у крыс при ишемии-реперфузии печени // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010, № 4. – С. 11-13.

## **АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗОТИАЗОЛА, ОБЛАДАЮЩИХ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

*Цублова Е.Г., Трошина М.В., Иванова Т.Н.,  
Иванова Т.Г., Яснецов Вик.В.*

ФГБОУ ВПО «Брянская государственная  
инженерно-технологическая академия», Брянск;  
ФГБОУ ВПО «Брянский государственный университет  
им. акад. И.Г. Петровского», Брянск;  
ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности  
биологически активных веществ», Москва

Среди перспективных веществ в плане поиска потенциальных антигипоксантов можно рассматривать производные бензотиазола. Вещества, синтезированные на его основе, нашли широкое применение в медицине в качестве лекарственных средств,

регулирующих клеточные процессы через центральные структуры. Входящий в состав молекулы тиазол является частью витамина В<sub>1</sub> – тиамина. Биологические эффекты этого вещества связывают именно с наличием тиазольной структуры [1, 4, 6].

Наличие разнообразной биологической и фармакологической активности у производных бензотиазола дало основание предполагать способность веществ этой группы повышать продолжительность жизни животных в условиях острого кислородного голодания.

**Цель работы** – исследовать противогипоксическую активность новых производных бензотиазола на моделях острой гипоксии.

Опыты были проведены на белых нелинейных мышам-самцах массой 20–24 г. Опыты проводились с учетом Правил лабораторной практики, принятых в Российской Федерации [5].

В качестве материалов исследования были выбраны производные аминобензотиазола с шифрами АБТИ-, ГАБТИ-, ЭАБТИ- и МАБТИ-, синтезированные в лаборатории низкомолекулярных антиоксидантов Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН под руководством д.х.н., профессора Л.Д. Смирнова. В ранее проведенных опытах установлена ярко выраженная антиоксидантная активность указанных веществ, превышающая в 1,5–10 раз таковую у известного антиоксиданта мексидол [3]. Вещества вводили внутрибрюшинно в дозах 0,5; 1 и 5 мг/кг за 1 час до проведения опыта в виде взвеси с твин-60. Контрольным животным в те же сроки и тем же путем вводили соответствующий объем взвеси твин-60. Полученные результаты сравнивали с действием препаратов сравнения – мексидола и амтизола сукцината.

Острую гистотоксическую гипоксию вызывали подкожным введением раствора натрия нитропруссид в дозе 20 мг/кг. Острую гемическую гипоксию создавали подкожным введением натрия нитрита в дозе 400 мг/кг. Для моделирования острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией мышей помещали в стеклянные герметически закрывающиеся емкости объемом 250 см<sup>3</sup> [2]. Во всех опытах регистрировали продолжительность жизни мышей в минутах.

Статистическую обработку цифрового материала проводили с использованием программного комплекса Statistica 6.0, достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Было установлено, что среди исследованных соединений имеются вещества, обладающие антигипоксическими свойствами. Оказываемое действие зависит от структуры вещества, его дозы, а также условий опыта. Так, повышению продолжительности жизни животных в условиях острой гемической гипоксии способствовали только 4 соединения: ЭАБТИ-3 (0,5 мг/кг), ЭАБТИ-А1 (5 мг/кг), ЭАБТИ-1 (0,5 и 1 мг/кг) и ГАБТИ-1 (1 и 5 мг/кг). Положительный эффект составил 18–27% в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ), принятым за 100%. Влияние мексидола в указанных условиях опыта наблюдалось при его введении в дозе 100 мг/кг (положительный эффект составил 15% в сравнении с контролем), а амтизола сукцинат в дозах 25, 50 и 100 мг/кг (повышение продолжительности жизни составило 31, 34 и 55%, соответственно).

На модели острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией антигипоксические свойства проявляли 9 соединений: ЭБТИ, АБТИ, ГАБТИ, ГАБТИ-1, ЭАБТИ-1, ЭАБТИ-А1, ЭАБТИ-ШЗ, МАБТИ-1, МАБТИ-2 и МАБТИ-3. Указанное действие проявлялось в дозах 0,5 и 1 мг/кг и составило 14–24% в сравнении с контролем. В указанных условиях опыта наиболее эффективный из препаратов сравнения амтизола сукцинат оказывал положительное действие в трех дозах, наибольший эффект составил 33%.

В отличие от предыдущих моделей острой гипоксии на модели острой гистотоксической гипоксии под влиянием производных бензотиазола ГАБТИ-1, ГАБТИ-2, ГАБТИ-3, ЭАБТИ-1, ЭАБТИ-А1, ЭАБТИ-ШЗ, ЭАБТИ-Ш7, МАБТИ и МАБТИ-3 наблюдался наибольший эффект (на 14–75% больше контрольных значений) при максимальном числе действующих доз (до 4 доз). В этих же условиях мексидол был неактивен, а амтизола сукцинат повышал продолжительность жизни животных в дозе 50 мг/кг на 28%, а в дозе 100 мг/кг на 43% в сравнении с контролем.

**Выводы.** Таким образом, можно утверждать, что среди новых производных аминобензотиазола имеются вещества, проявляющие противогипоксические свойства в условиях острой гипоксии

различного генеза. Положительный эффект некоторых из них сопоставим или даже превышает действие препаратов сравнения мексидола и амтизола сукцината. Учитывая спектр антиоксидантной активности исследованных соединений, можно предположить, что механизм антигипоксического действия указанных веществ может быть обусловлен их способностью связывать свободные радикалы, образующиеся в клетке при острой гипоксии, и частично устранять негативные последствия их действия.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: Пособие для врачей. Справочник. – М.: Новая Волна, 2005. – 1164 с.
2. Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств /Под ред. Л.Д.Лукьяновой. –М., 1990. –18 с.
3. Смирнов Л.Д., Кузнецов Ю.В., Носко Т.Н. и др. NO-модулирующая и антирадикальная активность гидроксипроизводных бензимидазола и бензотиазола // Тез. докл. 5 МНПК «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека». – Смоленск, 2007. – С. 66-68.
4. Ребров В.Г., Громова О.А. Витамины, макро- и микроэлементы. – М., ГэотарМед. – 2008. – 957 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева – М., 2007. – С. 15.
6. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система) / под. ред. А.Г. Чучалина. –М., 2013. – Вып. 14. – 960 с.

## ОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

*Чубуков Ж.А., Угольник Т.С., Литвиненко А.Н.*

Гомельский государственный медицинский университет,  
Гомель

**Введение.** В настоящее время известно, что существует взаимосвязь между изменением оксидантного статуса сыворотки крови и течением патологических процессов в органах и тканях организма [1, 2]. При этом внимание исследователей сосредоточено на явлении окислительного стресса как универсального механизма реагирования на уровне клетки [3, 4]. Изменение же оксидантного статуса сыворотки крови из-за генерализованной

реакции организма на воздействие стрессоров описано не в полной мере.

**Цель.** Изучить состояние оксидантного статуса сыворотки крови крыс при хроническом стрессе

**Методы исследования.** У 19 самцов беспородных белых крыс проведено моделирование хронического стресса [5], сформирована контрольная группа (n=44). После завершения эксперимента все крысы декапитированы, произведен забор материала. Для каждого образца проведено определение оксидантного статуса сыворотки крови [6, 7]. Полученные данные обработаны статистически с использованием пакета «Statsoft Statistica v.10.0». Анализ различий по количественным показателям проводили с использованием критерия Манна-Уитни (U), по качественным – с использованием точного двустороннего критерия Фишера. Показатели описательной статистики приведены в виде медианы и квартилей – Me(Q<sub>25%</sub>;Q<sub>75%</sub>). Нулевую гипотезу отклоняли при уровне статистической значимости  $p < 0,05$  [8]. Исследование выполнено в рамках гранта БРФФИ (№ гос. регистрации 20131662 от 30.07.2013).

**Результаты и обсуждение.** По выборке экспериментальных животных в целом преобладал антиоксидантный статус. В опытной группе он наблюдался у 84% крыс, в контрольной – у 74%. При проведении частотного анализа между опытной и контрольной группами статистически значимых различий по количеству животных с про- и антиоксидантным статусом сыворотки крови не выявлено ( $p = 0,485$ ). При проведении анализа различий по способности сыворотки крови крыс ингибировать/активировать процесс аутоокисления адреналина гидрохлорида между опытной и контрольной группами выявлены статистически значимые различия (U=223;  $p = 0,003$ ). Медиана показателя активации/ингибирования аутоокисления адреналина в опытной группе составила 9,782(-0,004; 24,315), в группе контроля – 34,239 (11,454; 59,748).

#### **Выводы:**

1. Сыворотка крови животных опытной и контрольной групп имеет антиоксидантный статус ( $p > 0,05$ ).

2. Сыворотка крови крыс, перенесших хронический стресс, содержит больше свободных радикалов ( $p < 0,05$ ).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Wu W., Li W., Chen B. Reconstructing a Network of Stress-Response Regulators via Dynamic System Modeling of Gene Regulation // *Gene Regulation and Systems Biology*. – 2008. – № 2. – P. 53-62
2. Duerrschmidt N., et al. NO-mediated regulation of NAD(P)H oxidase by laminar shear stress in human endothelial cells // *J. Physiol.* – 2006. – Vol. 2, № 576. – P. 557-567.
3. Figueroa X.F. et al. NO production and eNOS phosphorylation induced by epinephrine through the activation of beta-adrenoceptors // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2009. – № 297. – P. 134-143
4. Таганович А.Д., Олецкий Э.И., Котович И.Л. Патологическая биохимия / под общ. ред. Тагановича А.Д. – М.: БИНОМ, 2013. – 448 с.
5. Ortiz J. et al. Effect of stress in the mesolimbic dopamine system // *Neuropsychopharmacology*. – 1996. – Vol. 14, № 6 – P. 443-452.
6. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // *Вопросы медицинской химии*. – 1998. – Т. 45, № 3. – С. 263-272.
7. Грицук А.И. и др. Оценка состояния антиоксидантной активности слезной жидкости // *Биомедицинская химия*. – 2006. – Т. 52, вып. 6. – С. 601-607.
8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. – М.: МедиаСфера, 2003. – 312 с.

## СЕГМЕНТАРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У КРЫС

*Чумак А.Г., Руткевич С.А., Полюхович Г.С.,  
Маньчик Е.Н., Люзина К.М.*

Белорусский государственный университет,  
Минск

**Введение.** Исследования нейрохимических механизмов функционирования нервных центров в норме и в условиях патологии позволили установить, что при возбуждении глутаматных рецепторов NMDA-подтипа и проникновении в клетку ионов  $\text{Ca}^{++}$  происходит связывание последнего с кальмодулином и активация нейрональной NO-синтазы. При этом в клетках увеличивается выработка и выход монооксида азота (NO) в межклеточное пространство [2]. В ряде работ сообщалось о возрастании в ликворе концентрации глутамата, аспартата, глицина, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и монооксида азота при воспа-

лительных, травматических, ишемических заболеваниях [5, 6]. Имеются данные о солокализации NO-синтазы с ГАМК в части окончаний первичных афферентов и нейронов желатинозной субстанции спинного мозга, что предполагает участие NO совместно с ГАМК в процессах пресинаптического и постсинаптического торможения активности первичных афферентов и спинальных интернейронов [1, 4]. Установлено, что в реализации тормозных влияний к симпатическим преганглионарным нейронам задействованы глицинергические механизмы [7].

**Цель работы** состоит в выявлении сигнальной роли нейроактивных аминокислот и монооксида азота в модуляции активности симпатических преганглионарных нейронов, контролирующей сердечный ритм у крыс.

**Материал и методы исследования.** Острые опыты выполнены на 32 белых беспородных крысах обоего пола массой 150–250 г, находящихся под уретановым наркозом (1 г/кг внутривенно). ЭКГ регистрировали игольчатыми электродами в I стандартном отведении. Для исследования влияния нейроактивных аминокислот и препаратов группы монооксида азота на процессы сегментарной регуляции ритма сердца крыс выполняли введение препаратов под оболочки спинного мозга к 1-2 грудному сегменту. Все препараты растворяли в изотоническом растворе NaCl. Для инъекции брали объем не более 20 мкл. Раствор нитропруссид натрия вводили в концентрации  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л, L-NAME вводили в дозе 80 мкг/20 мкл, глутамат натрия, глицин и ГАМК – 180 мкг/20 мкл. Интратекальные инъекции выполняли по описанной в [3] методике. После окончания эксперимента и выполнения процедуры эвтаназии (введение экстрадозы наркотизирующего препарата) выполнялась верификация местоположения катетера. Инъекции растворов осуществляли с помощью микрошприца (0,5 мл, «Hamilton», США).

Комплекс приборов включал усилители переменного и постоянного тока, компьютер Pentium-III. Использована программа Inputwin, разработанная в Институте физиологии НАН Беларуси. Данные обработаны статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента для малых выборок и однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считались достоверными при  $P \leq 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** Интратекальная инъекция изотонического раствора хлорида натрия (n=5) не сопровождалась изменением сердечного ритма, который был стабильным в течение 60 мин. регистрации ( $346 \pm 16$  систол/мин).

Инфузия нитропруссиды натрия под оболочки спинного мозга к верхним грудным сегментам спинного мозга крыс (n=5) не сопровождалась изменениями ритма ЭКГ в течение 20 минут регистрации по сравнению с исходным уровнем. Введение ингибитора синтазы NO (n=6) вызывало увеличение R-R интервалов) через 50 минут после инъекции. ЧСС составила  $258 \pm 21$  систол/мин ( $P < 0,05$ ).

Исследования влияний нейроактивных аминокислот на функционирование преганглионарных нейронов, регулирующих деятельность сердца, позволили установить, что у всех животных в сериях опытов сердечный ритм изменялся с 3-4 по 20-25 минуты после введения влиятелей. Максимальным эффект был через 5-8 минут после инъекции. Увеличение концентрации глутамата натрия (n=5) в ликворе вызывало через 5 минут увеличение ЧСС на  $18 \pm 5$  систол/мин ( $P < 0,05$ ), а введение глицина (n=5) и ГАМК (n=6) сопровождалось урежением ритма на  $22 \pm 8$  ( $P < 0,05$ ) и  $17 \pm 5$  ( $P < 0,05$ ) систол/мин, соответственно.

**Заключение.** Таким образом, интратекальное введение L-NAME и тормозных аминокислот (глицин и ГАМК) в ликвороносное пространство спинного мозга приводило к развитию отрицательного хронотропного эффекта, а введение глутамата сопровождалось увеличением ЧСС. Полученные результаты свидетельствуют о наличии сегментарных глутамат-, глицин-, ГАМК- и NO-ергических механизмов, контролирующих деятельность сердечно-сосудистой системы.

Работа выполнена по гранту БРФФИ № Б12ОБ-040.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Deuchars S.A., Milligan C.J., Stornetta R.L., Deuchars J. GABAergic neurons in the central region of the spinal cord: A novel substrate for sympathetic inhibition // J. Neuroscience. – 2005. – Vol. 25. – P.1063-1070.
2. Laird J.M., Rubia P.J., Cervero F. Excitability changes of somatic and viscerosomatic nociceptive reflexes in the decerebrate-spinal rabbit: role of NMDA receptors // J. Physiol. (Lond.). – 1995. – Vol.489, № 2. – P.545-555.
3. Lee S.B., Koh Y.C., Kim O.N., Sung K.W. S.Y. Intrathecal administration of sodium nitroprusside, a nitric oxide donor, increases blood pressure in anesthetized rats // Neurosci. Lett. – 1996. – Vol. 203, № 1. – P. 53-56.

4. Llewellyn-Smith I.J. GABA in the control of sympathetic preganglionic neurons // *J. Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 2002. – Vol. 29, № 5. – P. 507-513.
5. Moncada S., Bolanos J.P. Nitric oxide, cell bioenergetics and neurodegeneration // *J. Neurochem.* – 2006. – Vol. 97, № 6. – P. 1676-1689.
6. Rivot J., Sousa A., Montagne-Clavel J., Besson J. Nitric oxide (NO) release by glutamate and NMDA in the dorsal horn of the spinal cord: an in vivo electrochemical approach in the rat // *J. Brain Res.* – 1999. – Vol. 821, № 1. – P. 101-110.
7. Spanswick D., Pickering A.E., Gibson I.C., Logan S.D. Inhibition of sympathetic preganglionic neurons by spinal glycinergic interneurons // *Neuroscience.* – 1994 – Vol. 62 – P. 205-216.

## НАУЧЕНИЕ ПОВЫШАЕТ СУПЕРОКСИДИСМУТАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS*

*Эль Рахал А., Маслова Г.Т., Сидоров А.В.*

Белорусский государственный университет,  
Минск

**Введение.** Супероксиддисмутаза (СОД) является одним из ключевых ферментов антиокислительной защиты клетки, отвечающим за элиминацию побочного продукта, связанного с работой электронтранспортной цепи митохондрий – супероксид аниона ( $O_2^-$ ). Данная молекула относится к активным формам кислорода (АФК), которые в последние годы рассматриваются в качестве агентов, способных модулировать процессы межнейронных взаимодействий. Инструментальный условный рефлекс (Э. Торндайк, 1898) представляет собой один из видов ассоциативного поведения, клеточные основы которого интенсивно исследуются, в том числе и с использованием различных модельных объектов, включая моллюсков. Изменение уровня антиокислительной защиты нейронов и способность животных к научению была продемонстрирована в ряде работ, однако эти данные зачастую носят противоречивый характер [1]. Исследования, выполненные на позвоночных организмах, не позволяют провести детальный анализ клеточных механизмов реализации когнитивных функций мозга. С другой стороны, нервная система беспозвоночных (моллюсков) практически идеальна для про-

ведения комплекса электрофизиологических исследований, однако данные по её биохимическим особенностям крайне редки в научной литературе.

В связи с вышеизложенным **целью** данной работы было проанализировать изменение активности СОД в центральных нервных ганглиях моллюска *Lymnaea stagnalis* при выработке у животных инструментального условного рефлекса.

**Методы исследования.** Моллюски (*Lymnaea stagnalis*) содержались в аквариумах при температуре воды 20°C и свободном доступе к пище. Выработку инструментального условного рефлекса лёгочного дыхания в опытной группе ( $n=16$ ) проводили по модифицированной методике К. Lukowiak и соавт. [3]. Животных с нанесёнными на раковину индивидуальными метками помещали в 1 л аквариумы, наполненные 0,5 л отстоявшейся водопроводной воды, и оставляли в покое на 15 мин. для акклиматизации. Затем в течение 45 мин. проводили тренировочную сессию. Как только моллюск достигал поверхности воды и приступал к дыханию атмосферным воздухом (открывал дыхательное отверстие, пневмостом), при помощи заострённого аппликатора проводили тактильное раздражение области пневмостома, что приводило к прекращению лёгочной респирации. После тренировочной сессии моллюсков перемещали в аквариумы, в которых они содержались постоянно. В 1-й день проводили три тренировочные сессии (1–3), разделённые часовым перерывом. Тренировочные сессии во 2-й (4–6) и 3-й (7–9) дни эксперимента осуществляли по схеме для первого дня. Регистрировали количество попыток лёгочного дыхания в каждой тренировочной сессии, рассчитывая их среднее число в тренировочный день по каждому из моллюсков. Особей контрольной группы ( $n=28$ ) не подвергали тактильной стимуляции в области пневмостома при дыхательных попытках.

Забор ЦНС для биохимического исследования проводили индивидуально от каждого моллюска на следующий день после окончания тренировочных сессий 7–9 (4-й день эксперимента). Активность супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1) определяли спектрофотометрическим методом, основанным на оценке скорости аутоокисления флавоноида кверцетина [2] при помощи

спектрофотометра Cary 50 (Variant Inc., Австралия). Определение количества белка проводили по методу Бредфорд.

**Результаты и их обсуждение.** Инструментальный условный рефлекс вырабатывается уже ко 2-му тренировочному дню (после 1–3 тренировочных сессий). Об этом свидетельствует статистически достоверное ( $P < 0,05$ ) снижение в 1,3 раза среднего количества попыток осуществления лёгочного дыхания с  $11,2 \pm 1,1$  (в первый тренировочный день) до  $8,4 \pm 0,8$  (во второй тренировочный день). Выработанный навык сохранялся и на 3-й день эксперимента, когда среднее число попыток дыхания составило  $8,2 \pm 0,8$ , статистически достоверно ( $P < 0,05$ ) отличаясь от такового только в сравнении с 1-м тренировочным днём. Представленные данные позволяют говорить о сохранности приобретённого навыка в течение, по меньшей мере, 24 ч после окончания последней тренировочной сессии, что вполне согласуется с имеющимися литературными данными [3].

В отношении СОД было установлено 2-кратное увеличение ( $P < 0,05$ ) её активности у животных опытной группы по сравнению с контролем:  $31,2 \pm 3,6$  U/мл ( $n=16$ , опыт) и  $15,4 \pm 1,7$  U/мл ( $n=24$ , контроль). При этом различий в содержании общего белка в препарате изолированной ЦНС выявлено не было:  $45,9 \pm 2,2$  мг/мл ( $n=16$ , опыт) и  $47,7 \pm 2,3$  мг/мл ( $n=24$ , контроль). Как следствие, активность СОД в пересчёте на мг белка, также статистически достоверно ( $P < 0,05$ ) различалась в обеих экспериментальных группах:  $0,69 \pm 0,07$  U/мг ( $n=16$ , опыт) и  $0,34 \pm 0,03$  U/мг ( $n=24$ , контроль).

Наблюдаемое усиление активности СОД может быть следствием снижения потребления кислорода и последующего уменьшения продукции АФК в митохондриях. Однако падение дыхательной активности моллюсков относительно невелико – около 30% от контрольного значения. Возможно, наблюдаемый эффект связан и обусловлен перестройкой на уровне нейронных сетей мозга, вызываемых формированием инструментального навыка. Это позволяет рассматривать СОД в качестве регулятора функциональной активности нейронных сетей и подтверждает идею о нейромодуляторном действии АФК.

**Вывод.** Состояние антиокислительного баланса в нервной ткани является одним из факторов, определяющих реализацию

КОГНИТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В НЕЙРОННЫХ СЕТЯХ МОЗГА МОЛЛЮСКОВ.

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Конвергенция» (задание 3.3.03.4).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Hidalgo C., Carrasco M.A., Muñoz P. et al. A role for reactive oxygen/nitrogen species and iron on neuronal synaptic plasticity // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2007. – Vol. 9. – P. 245–255.

2. Kostyuk V.A., Potapovich A.I. Superoxide-driven oxidation of quercetin and a simple assay for determination of superoxide dismutase // *Biochem. Int.* – 1989. – Vol. 19. – P. 1117-1124.

3. Lukowiak K., Ringseis E., Spencer G. et al. Operant conditioning of aerial respiratory behaviour in *Lymnaea stagnalis* // *J. Exp. Biol.* – 1996. – Vol. 199. – P. 683–691.

## СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА РОЗАЦЕА

*Ярмолик Е.С., Хворик Д.Ф., Гуляй И.Э.*

Гродненский государственный медицинский университет,  
Гродно

**Введение.** По современным представлениям розацеа – полиэтиологический дерматоз с генетической предрасположенностью и мультифакториальным патогенезом, в котором участвует множество универсальных патологических реакций. Реализации генетической перестройки способствуют различные экзогенные и эндогенные триггеры, в первую очередь чрезмерная инсоляция. Одним из основных патофизиологических механизмов повреждающего действия фотодинамических реакций в коже является активация свободнорадикального окисления.

**Цель:** исследовать показатели системы «перекисное окисление липидов (ПОЛ) – антиоксидантная защита (АОЗ)» и установить их роль в патогенезе розацеа.

**Материалы и методы исследования.** Обследованы 63 женщины с папуло-пустулезной формой розацеа в возрасте от 18 до 65 лет. В зависимости от выраженности кожного процесса пациенты были разделены на две группы: первую группу состав-

вили 37 чел. с преобладанием в клинической картине папулезных морфологических элементов над пустулезными; во вторую группу вошли 26 чел. с преобладанием пустулезных высыпаний над папулезными. У всех пациентов на момент включения в исследование наблюдалось обострение патологического процесса. Наиболее частой, провоцирующей обострение причиной являлась длительная инсоляция. Следует отметить, что у многих пациентов имело место сочетание нескольких триггерных факторов. Активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных (диеновые конъюгаты – ДК) и промежуточных (малоновый диальдегид – МДА) продуктов ПОЛ. Уровень ДК в эритроцитарной массе определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 233 нм по отношению к контролю. Содержание МДА оценивали по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически на «Solar» PV1251С при длине волны 540 нм по отношению к контролю. Концентрацию МДА выражали в мкмоль/л. Активность супероксиддизмутазы (СОД) в эритроцитах определяли по способности ингибировать реакцию аутоокисления адреналина в щелочной среде. Скорость реакции оценивали спектрофотометрически по величине оптической плотности накапливающегося продукта аутоокисления адреналина, имеющего поглощение при длине волны 347 нм относительно контрольной пробы. Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0, Microsoft Excel.

**Результаты и их обсуждение.** Проведенное исследование выявило существенные нарушения в системе «ПОЛ–АОЗ», характеризующие наличие окислительного стресса у пациентов с розацеа. Выраженность активизации процессов накопления свободных радикалов у пациентов второй группы была значительно выше, чем в первой. На это указывает достоверное повышение концентрации как первичных (ДК), так и промежуточных (МДА) продуктов ПОЛ (соответственно, в 2,75 раза;  $p < 0,001$  и в 1,2 раза;  $p < 0,01$ ).

У пациентов второй группы отмечалось увеличение показателей, характеризующих активность ПОЛ, за счет достоверного повышения концентрации ДК (соответственно,  $13,7 \pm 1,0$  ед/мл и  $6,4 \pm 1,0$  ед/мл;  $p < 0,001$ ) и МДА (соответственно,  $12,1 \pm 0,7$  мкмоль/л и  $9,3 \pm 0,8$  мкмоль/л;  $p < 0,05$ ) в эритроцитарной массе по сравнению с контрольной группой. При изучении аналогичных показателей у пациентов первой группы достоверных различий значений между уровнями продуктов ПОЛ в сравнении с контрольной не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

Определение активности СОД показало достоверное снижение данного фермента у пациентов первой и второй групп по сравнению с контрольной (соответственно,  $27,5 \pm 2,62\%$  ингиб. и  $25,9 \pm 3,73\%$  ингиб.;  $p < 0,05$ ). У пациентов первой и второй групп существенных различий в показателях СОД не отмечено.

Таким образом, основной патофизиологический механизм повреждающего действия ультрафиолетового излучения заключается в генерации активных форм кислорода и активации ПОЛ, в результате чего нарушается структура и функциональная активность клеточных и субклеточных мембран, приводя к выходу протеолитических ферментов в цитоплазму клеток и кровяное русло, нарушениям пролиферации лимфоидных клеток и «запуску» иммунопатологических механизмов с последующим накоплением провоспалительных цитокинов, что способствует расширению сосудов и развитию воспалительной реакции кожи лица с формированием морфологических элементов сыпи при розацеа [1, 2, 3]. Активированные рядом факторов нейтрофилы способны высвобождать активные формы кислорода, поддерживая патологический замкнутый круг.

Новые диагностические, терапевтические и профилактические подходы в будущем могут быть направлены на изучаемые на данном этапе процессы патогенеза розацеа.

#### **Выводы:**

1. У пациентов с папуло-пустулезной формой розацеа выявлено повышение активности свободнорадикального ПОЛ на фоне дефицита АОЗ.

2. Чем тяжелее дерматоз, тем более высокий уровень продуктов ПОЛ обуславливает повышение интенсивности оксидативного стресса.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Биткина О.А., Применение медицинской озono-кислородной смеси в практике дерматолога / Медицинский альманах. – 2010. – № 2. – С. 317-321.
2. Сайдалиева В.Ш. Эффективность низких доз изотретиноина при лечении больных папуло-пустулезным подтипом розацеа / В.Ш Сайдалиева // Лечебное дело. – 2012. – № 2. – С. 88-92.
3. Crawford G.N., Pelle M.T., James W.D. Rosacea: Etiology, pathogenesis, and subtype classification // J. Am. Acad. Dermatol. – 2004. – Vol. 51. – P. 327-341.

## АКТИВНОСТЬ СИМПАТИЧЕСКИХ ЭФФЕРЕНТНЫХ ВОЛОКОН ПРИ ГИПОКСИЧЕСКОМ И МЕХАНИЧЕСКОМ РАЗДРАЖЕНИИ ПОЧЕЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

*Ясюченя, Р. Н<sup>1</sup>, Чумак А. Г.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup> Институт физиологии НАН Беларуси, Минск;

<sup>2</sup> Белорусский государственный университет, Минск

**Введение.** Литература располагает множеством публикаций, характеризующих свойства эфферентных волокон в составе почечного нерва, включая способность демонстрировать рефлекторные реакции на возбуждение многочисленных афферентных проводников. Среди них можно найти и работы сотрудников Института физиологии НАН Беларуси [1, 2]. Исследование роли афферентных систем почки также ведется довольно давно, и к сегодняшнему дню известны многие функциональные свойства чувствительных волокон, следующих от этого парного органа в спинной мозг в составе почечных ветвей чревного сплетения. Модальность сенсорных рецепторов почки постоянно расширяется, и среди центростремительных проводников в составе почечных нервов называют механо-, хемо- и ишемически-чувствительные. В ряде публикаций указывается на функциональную близость или даже идентичность механорецепторов и чувствительных к гипоксии сенсорных нейронов в разных внутренних органах [2, 3]. Эти заключения сделаны на основании анализа реакций афферентов на предъявление соответствующих адекватных стимулов. Наряду с этим опытов,

связанных с паспортизацией рефлекторных реакций, вызываемых разномодальными афферентными проводниками почки, предпринято не было.

**Цель работы** – анализ рефлекторных реакций симпатических эфферентных волокон почечных нервов, вызванных ишемией тканей или повышением давления в почечной лоханке.

**Материал и методы исследования.** Эксперименты выполнены в острых опытах на 30 наркотизированных (500 мг/кг уретана и 30 мг/кг нембутала, внутрибрюшинно) крысах массой 270-300 г, с применением подходов и принципов, предусмотренных представлениями о гуманном отношении к лабораторным животным. Крыса фиксировалась на препаровальном столике, помещалась в термостабильную камеру, температура которой поддерживалась на уровне +25°C. Проводилась трахеостомия для освобождения дыхательных путей от слизи. Вскрывалась брюшная полость с последующим препарированием нервов. Эфферентную импульсацию в волокнах почечного нерва регистрировали с помощью подвешенного биполярного хлорсеребряного электрода под слоем вазелинового масла. После катетеризации левого мочеточника в его просвет вводили 0,3 мл теплого (37°C) физиологического раствора.

Регистрация афферентной или эфферентной импульсации в почечном нерве и обработка всех данных выполнялась на компьютеризированной электрофизиологической установке с использованием программы, разработанной в Институте физиологии НАН Беларуси [4]. Необходимые расчеты и представление полученных результатов в виде графиков осуществлялось с помощью программы «Excel, 2007» и «Origin 7». Для оценки достоверности обнаруженных эффектов использован парный t-критерий сравнения средних Стьюдента. Проверка массивов импульсов на соответствие нормальному распределению позволила применять параметрические методы статистического анализа.

**Результаты и их обсуждение.** В экспериментах первой серии было установлено, что окклюзия почечной артерии и гипоксия тканей почки приводила к интенсификации центробежной импульсации в чревных нервах. Увеличение частоты и амплитуды импульсов развивалось постепенно и достигало миниму-

ма уже в ходе первой минуты после остановки кровотока в бассейне почечной артерии. Частота импульсации при этом в фоне составляла  $60,2 \pm 0,8$  имп/с, а при циркуляторной гипоксии тканей почки возросла до  $79,2 \pm 0,9$  имп/с. В следующей серии была зарегистрирована реакция сосудодвигательных волокон почки при обструкции мочеточника и внутрипросветном введении в него физиологического раствора. Обнаружено угнетение разрядов эфферентной активности в волокнах почечного нерва. Как оказалось, угнетение активности происходило уже в первые минуты воздействия. Частота импульсации в фоне при этом составила  $59,5 \pm 0,7$  имп/с, а при обструкции мочеточника и введении в него изотонического раствора уменьшилась до  $37,7 \pm 0,2$  имп/с. Восстановление активности до уровня фона произошло в течение 30-40 мин.

Регистрация и анализ импульсов в афферентных волокнах почечного нерва показал, что в обеих сериях опытов происходила их активация. Как при гипоксии тканей почки, так и при росте давления в просвете мочеточника возбуждались сенсорные рецепторы, которые следует отнести к ноцицепторам. Однако реакции при их возбуждении оказались совершенно противоположными. Как можно полагать, активация механорецепторов направлена на торможение деятельности сосудодвигательных волокон для снижения давления в мочевыводящих путях. При гипоксии же тканей почки рост активности сенсоров адресован в соответствующие ядра центральной нервной системы для подъема артериального давления и улучшения кровотока в периферических сосудистых бассейнах. Функциональная направленность interoцептивных реакций обуславливает «знак» их реализации (симпатингибирование или симпатоактивация), несмотря на однотипное функционирование сенсорных систем на периферии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Чумак А.Г., Солтанов В.В., Реутов В.П., Эфферентная импульсация почечного нерва при перегревании животных в условиях блокады синтеза монооксида азота // Функциональная роль монооксида азота и пуринов. Сб.ст. Ред. В.Н.Гурин и др. Мн.: Бизнесофсет. – 2001. – С. 196-198.
2. Mizutani A, Okajima K, Murakami K, Mizutani S, Kudo K, Uchino T, Kadoi Y, Noguchi T. Activation of sensory neurons reduces ischemia/reperfusion-induced acute renal injury in rats // Anesthesiology. – 2009. – Vol. 110, № 2. – P. 361-369.

3. Longhurst J.C. Ischaemia - sensitive sympathetic afferent innervating the gastrointestinal tract function as nociceptors in cat // *J. of Physiol.* – 1996. – Vol. 492, № 3. – P. 841-850.

4. Солтанов В.В., Бурко В.Е. Компьютерные программы обработки электрофизиологических данных // *Новости медико-биологических наук.* – 2005. – № 1. – С. 90-96.

## **OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE BLOOD OF WELL-TRAINED HORSES UNDER EXERCISE**

*Andriichuk A.V.<sup>1</sup>, Tkachenko H.M.<sup>2</sup>,  
Kurhaluk N.M.<sup>2</sup>, Tkachova I.V.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Animal Breeding of National Academy of Agricultural Sciences,  
Kharkiv;

<sup>2</sup> Institute of Biology and Environment Protection, Pomeranian University,  
Ślupsk

There is both direct and indirect evidence that heavy physical exercise enhances reactive oxygen species (ROS) production in skeletal muscle and other tissues. The elevated metabolic rate associated with physical exercises can increase mitochondrial O<sub>2</sub> consumption in muscle tissue and, consequently, mitochondrial ROS generation (Deaton and Marlin, 2003). There are numerous reports that provide reasonable support to the notion that exercise increases the ROS production and that mitochondria are important sources of these oxidants (Deaton and Marlin, 2003; Kirschvink et al., 2008). ROS lead to lipid peroxidation (LPO), which induces adverse effects on the health status and performance of horses. Intense or moderate exercise in horses may increase ROS production exceeding the capacity of antioxidant defenses (Deaton and Marlin, 2003; Kirschvink et al., 2008). However, the cell conserves highly specific (e.g., superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase and glutathione peroxidase etc.) and less specific (e.g., vitamins C and E, glutathione etc.) antioxidant mechanisms to counteract the effects of free radicals and/or oxidants. The main goal of the present study was to investigate the effect of regular exercise on oxidative stress biomarkers and antioxidant enzymes activity in well-trained Ukrainian warmblood horses (UWB).

Twenty three UWB horses (9 females and 14 males), involved in jumping, eventing and dressage were used. Since all horses used in various kinds of equestrian sport, to assess the effect of training on oxidative stress biomarkers level and antioxidant defense, was proposed common to all horses the exercises of average intensity: walk – 5 min; trot – 10 min; walk – 5 min; trot – 10 min; walk – 10 min; gallop – 10 min; walk – 10 min. Duration of training was 1 hour. Blood samples were collected from the jugular vein of each horse into ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes at two points: baseline at rest (in the morning 90 minutes after feeding) and immediately after exercises. Oxidative stress biomarkers (2-thiobarbituric acid reactive substrates level, the carbonyl derivatives content of protein oxidative modification) and antioxidant defenses (superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, glutathione peroxidase, ceruloplasmin activity and total antioxidant capacity) were assessed. All statistical analyses were performed using Statistica 8.0 software (StatSoft, Poland).

Our results suggest that exercise training session caused different consequences of oxidative stress biomarkers in the blood, plasma, and erythrocytes of horses. Training session results in decrease level of Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) byproduct of lipid peroxidation in erythrocytes by 14,3 % ( $p < 0.05$ ), while in blood and plasma does not. This difference in TBARS level between rest and training periods most likely is a consequence of differing levels of oxidative stress occurring in the tissues and erythrocytes. Reduced of aldehyde (by 42%,  $p > 0.05$ ) and ketonic derivatives level (by 27%,  $p > 0.05$ ) of proteins destruction in the erythrocytes after exercise indicates about exercise-induced adaptation. Exercise can induce the activity of the proteasome complex involved in the degradation of oxidatively modified proteins (Radak et al., 2008). The results of present study also showed an increase of superoxide dismutase by 34.4% ( $p < 0.05$ ) and glutathione reductase by 60.4% ( $p < 0.05$ ) in the blood of UWB horses after exercise. Increased level of antioxidant defenses after exercise session may indicate about protective response of antioxidant enzymes against exercise-induced oxidative stress in sport horses.

The positive correlation between aldehyde derivatives of protein oxidation in plasma and ceruloplasmin content ( $R = 0.543$ ,  $p < 0.05$ ) in

the blood of UWB horses at the rest period was noted. There was a negative correlation between erythrocytes' TBARS level and ceruloplasmin content ( $R=-0.518$ ,  $p<0.05$ ), in the blood of horses at the rest period. At the same time, erythrocytes' TBARS level correlated negatively with aldehyde derivatives of protein oxidation in plasma ( $R=-0.761$ ,  $p<0.05$ ) after training session. Blood TBARS level correlated positively with aldehyde derivatives of protein oxidation in erythrocytes' suspension ( $R=0.602$ ,  $p<0.05$ ) in the UWB horses. Significant correlation between glutathione reductase activity and total antioxidant capacity ( $R=-0.534$ ,  $p<0.05$ ) as well as plasma TBARS level ( $R=-0.523$ ,  $p<0.05$ ) after training was noted.

In conclusion, the results of present study showed an increase of antioxidant enzyme activity (superoxide dismutase and glutathione reductase) and attenuate of exercise-induced oxidative stress in the blood of horses after training session. In the present study the significant decrease in erythrocytes' TBARS level in horses after training session could be attributed as adaptation to training which accompanied activation the antioxidant defenses and changes in antioxidant enzyme activity in erythrocytes. The exercise-induced adaptation involves the process of antioxidant system activation, interferes with the oxidative damage repair/eliminating systems. The stimulating effect during exercise is ROS formation, which evokes specific adaptation, such as increased antioxidant/oxidative damage-repairing enzyme activity, increased resistance to oxidative stress, and lower levels of oxidative damage. The correlation analysis between markers of lipid peroxidation (blood and erythrocytes TBARS levels) and carbonyl derivatives contents of protein oxidative modification indicate about close relationship between lipid and protein oxidation under the influence of physical activity in sport horses. Moreover, correlative analysis between the oxidative stress biomarkers and antioxidant defenses in the horses after training session may indicate a protective response of glutathione reductase and ceruloplasmin activities against exercise-induced oxidative stress.

#### REFERENCES

1. Deaton C.M., Marlin D.J. Exercise-associated oxidative stress // *Clinical Techniques in Equine Practice*. – 2003. – Vol. 2. – 278-291.
2. Kirschvink N., de Moffarts B., Lekeux B. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses // *The Veterinary Journal*. – 2008. – Vol. 177. –P. 178-191.

3. Radak Z., Chung H.Y., Goto S. Systemic adaptation to oxidation challenge induced by regular exercise // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2008. – Vol. 44. – P. 153-159.

4. Vina J., Sanchis-Gomar F., Martinez-Bello V., Gomez-Cabrera M. Exercise acts as a drug; the pharmacological benefits of exercise // *British Journal of Pharmacology*. – 2012. – Vol. 167, №1. – P. 1-12.

Для заметок

Научное издание

## КИСЛОРОД И СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

Материалы Республиканской  
научно-практической конференции

Под редакцией  
доктора медицинских наук, профессора В.В. Зинчука

Ответственный за выпуск В.В. Зинчук

Компьютерная верстка М.Я. Милевской  
Корректор Л.С. Засельская

Подписано в печать 12.05.2014.  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура Times New Roman. Ризография.  
Усл. печ. л. 13,25. Уч.-изд. л. 10,70. Тираж 60 экз. Заказ 70.

Издатель и полиграфическое исполнение  
учреждение образования  
«Гродненский государственный медицинский университет».  
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.  
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.