

ВЛИЯНИЕ ОЗОНА НА КОНЦЕНТРАЦИЮ СЕРОВОДОРОДА И МОНООКСИДА АЗОТА В ПЛАЗМЕ КРОВИ В ОПЫТАХ IN VITRO В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ L-АРГИНИН-НО СИСТЕМЫ

Билецкая Е.С., Богданович Е.Р., Гуляй И.Э., Зинчук В.В., Рыбаков Р.В.

Гродненский государственный медицинский университет

Актуальность. В клинической практике широко используют методы терапии, основанные на использовании озона. Данный фактор обладает широким спектром физиологических эффектов, в частности улучшает реологические свойства крови и оказывает влияние на кислородзависимые процессы. Ранее нами было показано, что инкубация крови с озонированным физиологическим раствором в диапазоне концентраций от 2 до 10 мг/л обуславливает изменение кислородтранспортной функции крови, проявляющееся в увеличении pO_2 , SO_2 и уменьшении сродства гемоглобина к кислороду, выраженная которых усиливается с увеличением концентрации озона и сопровождается ростом концентрации нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови. Известно, что газотрансмиттеры защищают организм от окислительного стресса, вызванного активными формами кислорода и азота [1], также монооксид азота (NO) и сероводород (H_2S) выполняют роль аллостерического эффектора функциональных свойств гемоглобина, который изменяет его сродство к кислороду и таким образом влияет на транспорт O_2 . NO через изменение различных механизмов формирования функционального статуса эритроцитов, обеспечивает адаптацию организма к гипоксии. Однако участие данных сигнальных молекул в реализации эффектов озона недостаточно изучены.

Цель. Исследовать действие озона на концентрацию сероводорода и монооксида азота в плазме крови в опытах *in vitro* в условиях изменения активности L-аргинин-NO системы.

Методы исследования. Опыты выполнялись на 20-ти белых крысах-самцах массой 250-300 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария. Под адекватным наркозом (50 мг/кг тиопентала натрия интраперitoneально) проводили забор смешанной венозной крови из правого предсердия в объеме 8 мл в предварительно подготовленный шприц с гепарином из расчета 50 ЕД на 1 мл крови. Манипуляции на животных выполнялись в соответствии с рекомендациями и разрешением региональной комиссии по биомедицинской этике.

Образцы крови были разделены на 6 экспериментальных групп. Во всех группах к 3 мл крови добавляли 1 мл озонированного изотонического раствора хлорида натрия (в контроль – без озонирования) и 0,1 мл растворов, содержащих препараты, изменяющие активность L-аргинин-NO системы (в 2-ю группу – изотонический раствор хлорида натрия): 3-ю – нитроглицерин в конечной

концентрации 0,2 ммоль (SchwarzPharma AG), 4-ю – L-аргинин 3 ммоль (Sigma-Aldrich), 5-ю – N(ω)-nitro-L-arginine methyl ester 1,25 ммоль (L-NAME, Sigma-Aldrich), 6-ю – комбинацию L-NAME и L-аргинин, после чего пробы перемешивались. Время инкубации составило 60 мин. Изотонический раствор хлорида натрия барбатировался озоно-кислородной смесью при помощи озонотерапевтической установки УОТА-60-01-Медозон (Россия), в которой предусмотрено измерение концентрации озона оптическим методом в ультрафиолетовом диапазоне.

Продукцию NO определяли по суммарному количеству нитрат/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) с помощью реактива Грисса [2]. Интенсивность окраски оценивали на спектрофотометре PV1251C «SOLAR» (Беларусь) при длине волны 540 нм против контрольной пробы. Концентрацию сероводорода (H_2S) в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции между сульфид-анионом и кислым раствором р-фенилендиамина в присутствии хлорного железа [3].

Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом этого были использованы методы непараметрической статистики с применением программы “Statistica 10.0”. Сравнение трех и более независимых групп проводили с помощью рангового дисперсионного анализа Крускала-Уоллиса. Достоверность полученных данных, с учетом размеров малой выборки, множественных сравнений, оценивалась с использованием U-критерия Манна-Уитни. Результаты представлены как медиана (Me), 25-й и 75-й процентили. Уровень статистической значимости принимали за $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение. Суммарное содержание $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме крови под действием O_3 возрастает (на 39,2%). При введении нитроглицерина в этих условиях концентрация $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ существенно увеличивается (на 183,5%, $p<0,05$; в сравнении с группой в которую вводили только озон). Содержание другого газотрансмиттера H_2S под действием озона также изменяется в сторону увеличения (на 44,8%; $p<0,05$). При действии нитроглицерина или L-аргинина в этих условиях этот параметр повышается (на 35,3% и на 41,6%, $p<0,05$; в сравнении с группой в которую вводили только озон). При введении L-NAME или его комбинаций с L-аргинином увеличение содержания данных газотрансмиттеров не отмечается.

Озон может оказывать влияние на синтез оксида азота через различные механизмы, в частности, за счёт усиления экспрессии белков теплового шока [4]. Следует отметить, что при действии O_3 отмечается рост газотрансмиттера H_2S , который усиливается при добавлении нитроглицерина и L-аргинина. Наблюдаемый рост газотрансмиттеров (NO, H_2S), отмечаемый в наших опытах, вносит вклад в изменение кислородтранспортной функции крови. Озон улучшает доставку кислорода в ткани за счет уменьшения сродства гемоглобина к кислороду, реализуя свое действие через участие газотрансмиттеров NO и H_2S (повышение концентрации нитрат/нитритов и сероводорода).

Выводы. Таким образом, результаты, проведённых нами исследований свидетельствуют о том, что увеличение уровня нитрат/нитритов и сероводорода при действии озона, в условиях введения нитроглицерина имеет значение для проявления физиологических эффектов данного фактора, в частности изменение кислородсвязывающих свойств крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shefa, U. Role of Gasotransmitters in Oxidative Stresses, Neuroinflammation, and Neuronal Repair / U. Shefa [et al.] // Biomed Research International. -2017. – Mode of access: <http://dx.doi.org/10.1155/2017/1689341/>. – Date of access: 12.12.2019.
2. Bryan, N. S. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples / N. S. Bryan, M. B. Grisham // Free Radical Biology and Medicine. – 2007. – Vol. 43, № 5. – P. 645–657.
3. The liver as central regulator of hydrogen sulfide / E. J. Norris [et al.] // Shock. – 2011. – Vol. 36, № 3. – P.242– 250.
4. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders / O. Seyam [et al.] // Medical Gas Research. – 2018. – Vol. 8, № 3. – P. 103–110.

РИСК ПЕРЕЛОМОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ ГЛИФЛОЗИНОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СКОРОСТИ КЛУБОЧКОВОЙ ФИЛЬТРАЦИИ

Бобро Л.Н., Коряк В.В.

Харьковский национальный медицинский университет

Актуальность. В настоящее время как один из факторов остеодеструкции, изучается побочный эффект длительного применения нового класса сахароснижающих средств – глифлозинов. Ингибиторы натрий-глюкозного ко-транспортера 2-го типа в почках (НГЛТ-2), глифлозины снижают уровень глюкозы в плазме за счет снижения ее реабсорбции в проксимальных почечных канальцах. Снижение глюкозы в крови происходит независимо от инсулина и функции бета-клеток поджелудочной железы [3, 4, 5]. В Украине зарегистрированы дапаглифлозин, эмпаглифлозин и канаглифлозин. Клинические исследования этих препаратов показали их эффективность в снижении гликемии и гликированного гемоглобина у больных сахарным диабетом 2-го типа. К тому же глифлозины показали ряд положительных негликемических эффектов: снижение массы тела, риска сердечно-сосудистых осложнений у больных сахарным диабетом 2-го типа. Глифлозины хорошо переносятся больными, редко вызывают гипогликемические состояния. Но ингибиторы НГЛТ-2 могут отрицательно влиять на минеральный обмен костной ткани за счёт увеличения канальцевой реабсорбции фосфатов и повышения секреции паратормона, а также за счёт уменьшения количества витамина 1,25(OH)D в крови [3,6]. Может