

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-8-10-16

ЭФФЕКТ ЭРИТРОПОЭТИНА НА КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОМ, В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ L-АРГИНИНА И ГИДРОСУЛЬФИДА НАТРИЯ

В. В. Зинчук^{1,*}, М. Э. Фираго¹

Исследовали эффект эритропоэтина на кислородсвязывающие свойства крови при окислительном стрессе, индуцированном липополисахаридом (в дозе 5 мг/кг в течение 3 сут), в условиях введения L-аргинина и гидросульфида натрия. Введение эритропоэтина (1000 Ед/кг внутривенно трикратно с интервалом 24 ч) приводит к уменьшению прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса, вызванного введением липополисахарида, что подтверждается снижением содержания диеновых конъюгатов на 28,1 и 33,5 %, триеновых конъюгатов — на 29,8 и 26,7 %, малонового диальдегида — на 50,3 и 23,8 % в эритроцитах и в плазме, соответственно, а также повышением активности каталазы на 12,8 %, содержания восстановленного глутатиона на 32,4 % в эритроцитах, концентрации церулоплазмينا — на 40,5 %, α -токоферола — на 36,9 % и ретинола — на 36,4 % в плазме ($p < 0,01$). Введение эритропоэтина вызывает уменьшение показателя $p50_{\text{реал}}$ на 4,8 % ($p < 0,01$), что имеет значение для формирования кислородного обеспечения тканей и уменьшения окислительного стресса. Применение эритропоэтина в условиях введения липополисахарида приводит к уменьшению концентрации нитратов/нитритов и сероводорода в плазме на 52 и 30,3 % ($p < 0,01$) соответственно, по сравнению с животными, получавшими только липополисахарид. L-аргинин (исходный субстрат синтеза монооксида азота в дозе 100 мг/кг) или гидросульфида натрия (донора сероводорода в дозе 5 мг/кг) не изменяет эффект эритропоэтина на уменьшение степени окислительного стресса и исследуемые параметры кислородтранспортной функции крови.

Ключевые слова: липополисахарид; окислительный стресс; кровь; эритропоэтин; газозовые медиаторы; монооксид азота; сероводород; крсы.

ВВЕДЕНИЕ

Среди факторов повреждения, ведущих к развитию окислительного стресса (ОС), большое значение имеет липополисахарид (ЛПС), источником которого являются грамотрицательные бактерии. Данный эндотоксин индуцирует секрецию моноцитами, макрофагами и нейтрофилами провоспалительных цитокинов, образование эйкозаноидов, биогенных аминов, свободных радикалов, действие которых проявляется типичными признаками эндогенной интоксикации с возможным последующим развитием полиорганной недостаточности и окислительных повреждений [7]. В связи с этим существует необходимость в поиске фармакологических средств, корригирующих развитие ОС, индуцированного ЛПС.

Эритропоэтин (ЭПО) является цитопротекторным многофункциональным фактором. Наряду с регули-

ей эритропоэза, данная субстанция обладает и плеiotропными свойствами: противовоспалительным, антиоксидантным и противоапоптотическим [12]. ЭПО уменьшает окислительные повреждения тканей при ишемии/реперфузии, снижает концентрацию фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-6, уменьшает проницаемость микрососудов, а также улучшает процессы оксигенации в легких. Данный фактор играет важную роль в формировании механизмов транспорта кислорода кровью: образование большого количества эритроцитов, изменение сродства гемоглобина к кислороду (СГК). Введение эритропоэтина за 30 мин до введения ЛПС (однократно в дозе 500 мкг/кг) приводит к уменьшению прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса, а также улучшает показатели кислородтранспортной функции (КТФ) крови [2].

В поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия и регуляции кислородсвязывающих свойств крови важная роль отводится таким газовым медиаторам (ГМ), как монооксид азота (NO) и сероводород (H_2S), которые являются газообразными внут-

¹ Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь, 230009, Гродно, ул. Горького, 80.

* e-mail: zinchuk@grsmu.by

рикеточными сигнальными молекулами, выполняющими в клетке специфические регуляторные функции. Знание молекулярных мишеней действия ГМ, особенностей их действия может иметь существенное значение для разработки способов регуляции сигнальных систем при помощи фармакологических препаратов [1]. Показано участие ГМ в реализации плейотропных эффектов ЭПО, в частности, его защитное действие на печень при ее ишемии-реперфузии, которое осуществляется через увеличение эндогенного H_2S и улучшение прооксидантно-антиоксидантного состояния, а также стимулирование эндотелиальной NO-синтазы и повышение продукции NO во время гипоксии [8]. Однако роль данных соединений в реализации плейотропных эффектов ЭПО в условиях развития ОС, индуцированного длительным действием ЛПС, недостаточно изучена. Выяснение механизмов действия эндогенных регуляторов гомеостаза, в частности ЭПО, является актуальной задачей, решение которой позволит расширить спектр лекарственных средств, используемых для коррекции изменений гомеостаза при различной патологии [6].

Целью данного исследования являлось изучение эффекта эритропоэтина на кислородсвязывающие свойства крови при окислительном стрессе, индуцированном липополисахаридом, в условиях введения L-аргинина и гидросульфида натрия.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на лабораторных крысах-самцах ($n = 60$) массой 200 – 250 г (виварий Гродненского государственного медицинского университета), которых содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и корму при искусственном освещении: 12 (день)/12 (ночь) ч. Исследования осуществляли с разрешения университетской комиссии по биомедицинской этике. При работе с животными соблюдали Правила Европейской конвенции по защите животных, используемых в научных целях.

Животные случайным образом были разделены на 6 экспериментальных групп. Животным 1-й (контрольной) группы вводили стерильный 0,9 % раствор NaCl в объеме 1 мл. 3-я группа животных получала только ЭПО. Во 2-й, 4-й, 5-й, 6-й группах моделировали ОС введением ЛПС *Escherichia coli* в дозе 5 мг/кг (внутрибрюшинно трехкратно с интервалом 24 ч). Коррекцию ОС в 4-й, 5-й, 6-й группах проводили ЭПО (внутрибрюшинно трехкратно в дозе 1000 Ед/кг — 8,5 мкг) через 15 мин после введения ЛПС. В 5-й группе дополнительно вводили исходный субстрат синтеза NO — L-аргинин в дозе 100 мг/кг, а в 6-й донор H_2S — гидросульфид натрия ($NaHS$) в дозе 5 мг/кг. Введение корректирующих веществ осуществляли через 15 мин после каждого применения ЛПС. В работе использовали эпоцим (РУП “Белмедпрепараты”, Беларусь), L-аргинин (“Sigma”, США), гидросульфид натрия (“Sigma”, США), ЛПС *Escherichia coli* (Serotype

0111:B4, “Sigma”, США). В условиях адекватной анальгезии (50 мг/кг тиопентала натрия внутривенно) через 12 ч после последнего введения ЛПС осуществляли забор крови из правого предсердия. Часть забранной крови использовали для оценки показателей КТФ, остальную центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин для разделения плазмы и эритроцитов с последующим определением показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса, концентрации нитратов/нитритов (NO_x) и содержания H_2S .

Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли в эритроцитарной массе и плазме крови. Содержание диеновых (ДК) и триеновых (ТК) конъюгатов оценивали по поглощению липидным экстрактом монохроматического светового потока в УФ-области спектра, характерного для конъюгированных структур гидроперекисей липидов при длине волны 233 и 278 нм, на спектрофлуориметре “Solar” CM2203 (Беларусь) [4]. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) изучали по интенсивности окраски триметинового комплекса, образованного в реакции с 2'-тиобарбитуровой кислотой, при температуре 100 °C на спектрофотометре “Solar” PV1251C (Беларусь) при длине волны 540 нм [4]. Активность каталазы в эритроцитарной массе регистрировали по количеству окрашенного продукта в реакции пероксида водорода с молибденово-кислым аммонием, имеющего наименьшее светопоглощение, при длине волны 410 нм на спектрофотометре “Solar” PV1251C (Беларусь) [5]. Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах определяли спектрофотометрически с добавлением реактива Элмана при длине волны 412 нм [10]. Концентрацию в плазме α -токоферола и ретинола оценивали по методу S. T. Taylor, основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта при длине волны 325 – 470 нм для α -токоферола и 286 – 380 нм для ретинола на спектрофлуориметре “Solar” CM2203 (Беларусь) [13]. Содержание церулоплазмينا в плазме крови определяли спектрофотометрически методом H. A. Ravin при длине волны 530 нм [4]. Образование NO оценивали спектрофотометрически по концентрации NO_x в плазме крови с использованием реактива Грисса на спектрофотометре при длине волны 540 нм. Концентрацию H_2S в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции между сульфид-анионом и кислым раствором п-фенилендиамина в присутствии хлорного железа при длине волны 670 нм.

Изучение параметров КТФ крови и кислотно-основного состояния в исследуемых образцах крови проводили при температуре 37 °C на микроанализаторе Syntesis-15 “Instrumentation Laboratory” (США). Определяли парциальное напряжение кислорода (pO_2), степень оксигенации (SO_2), уровень метгемоглобина (MetHb). Оценивали параметры кислотно-основного состояния: pH крови, парциальное напряжение угле-

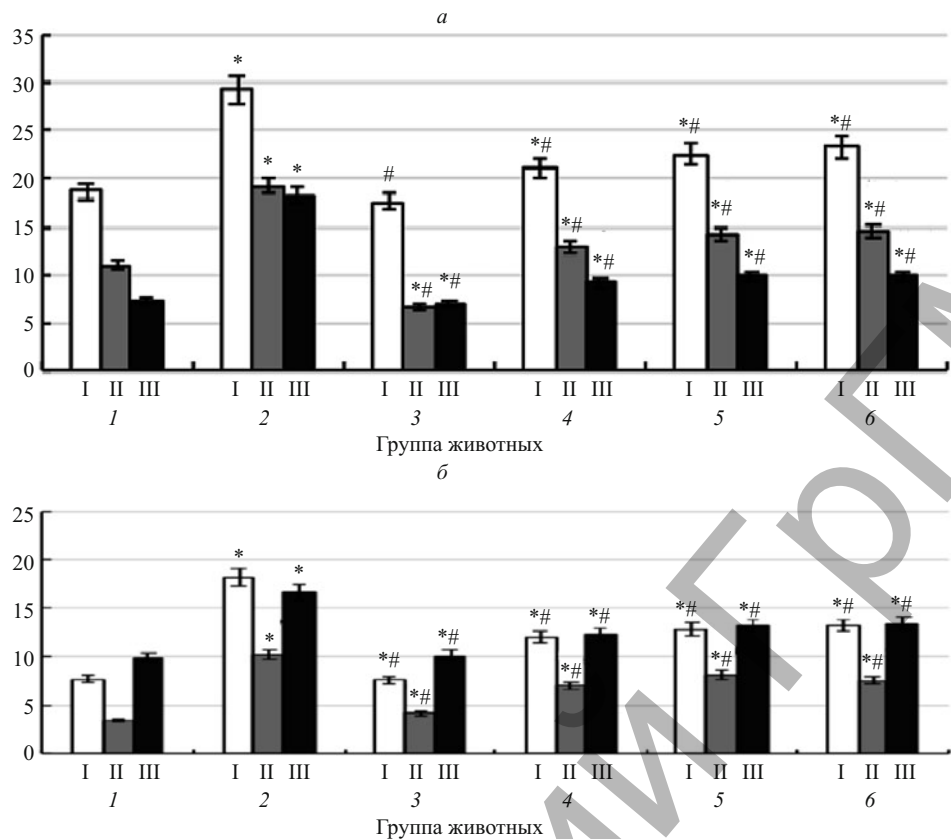


Рис. 1. Активность процессов ПОЛ в эритроцитарной массе (а) и плазме крови (б) при ОС, индуцированном ЛПС, после введения эритропоэтина и коррекции системы газовых медиаторов.

I – Диеновые конъюгаты (ΔD_{233} /мл); II – триеновые конъюгаты (ΔD_{278} /мл); III – малоновый диальдегид (мкмоль/л).
1 – контроль; 2 – ЛПС; 3 – эритропоэтин; 4 – ЛПС + эритропоэтин; 5 – ЛПС + эритропоэтин + L-аргинин; 6 – ЛПС + эритропоэтин + гидрокортизон.
* ($p < 0,01$), по сравнению с контрольной группой животных; # ($p < 0,01$), по сравнению с группой крыс, получавших только ЛПС.

кислого газа (pCO_2), концентрацию бикарбоната (HCO_3^-) и общей углекислоты плазмы (TCO_2), реальный недостаток/избыток буферных оснований (ABE), стандартный бикарбонат (SBC). По показателю $p50$ (pO_2 крови для 50 % насыщения гемоглобина кислородом) определяли СГК при температуре 37 °С, pH 7,4,

pCO_2 40 мм рт. ст. ($p50_{станд}$), а затем по формуле J. W. Severinghaus рассчитывали $p50$ при реальных значениях этих показателей ($p50_{реал}$) [11]. На основании полученных данных по уравнению Хилла определяли положение кривой диссоциации оксигемоглобина. Полученные результаты обрабатывали с применением пакетов прикладных программ MS Excel и

Таблица 1. Показатели антиоксидантной системы в крови крыс при окислительном стрессе, индуцированном ЛПС, после введения эритропоэтина и коррекции системы газовых медиаторов (Ме (25 – 75 %о))

Показатель	Контроль	ЛПС	ЭПО	ЛПС + ЭПО	ЛПС + ЭПО + L-аргинин	ЛПС + ЭПО + NaHS
n	10	10	10	10	10	10
Каталаза, ммоль H_2O_2 /мин/г Нв	18,1 (17,9 – 18,2)	13,3 (13,2 – 13,5)*	16,8 (15,6 – 17,8)*#	15,0 (14,6 – 16,0)**#	14,7 (14,4 – 15,6)*#	15,1 (14,8 – 15,4)*#
Восстановленный глутатион, мкмоль/г Нв	63,2 (62,3 – 63,8)	43,6 (43,1 – 44,1)*	63,8 (62,0 – 64,9)#	56,4 (54,8 – 56,7)*#	54,4 (53,9 – 55,0)*#	53,5 (53,1 – 55,5)*#
α -Токоферол, мкмоль/л	20,6 (19,2 – 21,3)	11,1 (10 – 11,7)*	23,1 (22,0 – 25,4)*#	15,2 (13,7 – 16,2)*#	13,5 (10,6 – 15,0)**#	14,5 (11,9 – 15,1)*#
Ретинол, мкмоль/л	2,0 (2,0 – 2,2)	1,1 (0,9 – 1,1)*	2,1 (1,9 – 2,1)#	1,5 (1,4 – 1,5)*#	1,3 (1,3 – 1,4)*#	1,4 (1,3 – 1,4)*#
Церулоплазмин, мг/л	393 (355 – 412)	220 (197 – 249)*	370 (345 – 375)#	309 (282 – 336)*#	283 (258 – 298)*#	267 (258 – 279)*#

* ($p < 0,01$), ** ($p < 0,05$), по сравнению с контрольной группой животных;
($p < 0,01$), ## ($p < 0,05$), по сравнению с группой крыс, получавших только ЛПС.

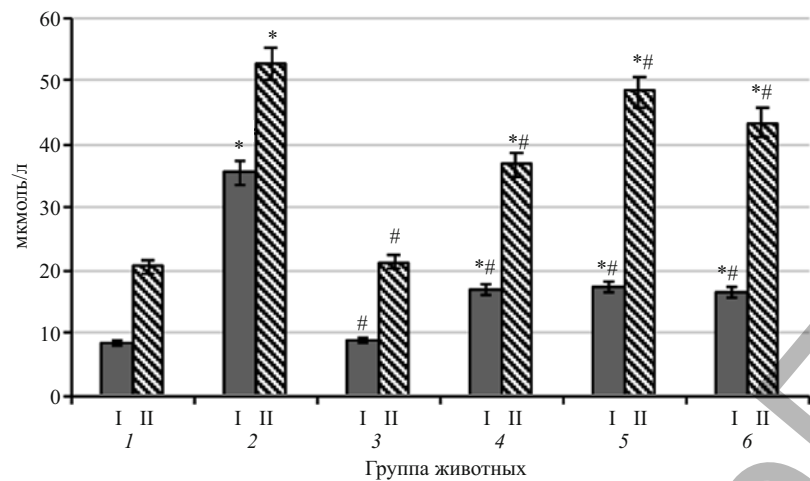


Рис. 2. Концентрация нитратов/нитритов (I) и сероводорода (II) в крови у крыс при ОС, индуцированном ЛПС, в условиях введения эритропоэтина и коррекции системы газовых медиаторов:
I — контроль; 2 — ЛПС; 3 — эритропоэтин; 4 — ЛПС + эритропоэтин; 5 — ЛПС + эритропоэтин + L-аргинин; 6 — ЛПС + эритропоэтин + гидросульфид натрия.
* ($p < 0,01$), по сравнению с контрольной группой животных; # ($p < 0,01$), ## ($p < 0,05$), по сравнению с группой крыс, получавших только ЛПС.

“Statistica”. С учетом малых размеров выборки, а также отсутствия нормального распределения в группах статистическую значимость результатов оценивали методом непараметрической статистики для независимых выборок — по критерию Манна — Уитни. Результаты представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25 – 75 %). Различия считали достоверными при уровне значимости ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение ЛПС в течение 3 сут вызывает у крыс активацию процессов ПОЛ (рис. 1). В эритроцитах и плазме крови наблюдается увеличение концентрации МДА на 154,2 % ($p < 0,01$) и 67,3 % ($p < 0,01$), повышение уровня ДК — на 60,3 % ($p < 0,01$) и 137,0 % ($p < 0,01$), ТК — на 77,4 % ($p < 0,01$) и 197,1 % ($p < 0,01$), соответственно, в сравнении с контролем.

Таблица 2. Показатели кислородтранспортной функции крови крыс при ОС, индуцированном ЛПС, после введения эритропоэтина и коррекции системы газовых медиаторов (Ме (25 – 75 %))

Показатель	Контроль	ЛПС	ЭПО	ЛПС + ЭПО	ЛПС + ЭПО + L-аргинин	ЛПС + ЭПО + гидросульфид натрия
<i>n</i>	10	10	10	10	10	10
p50 _{реал} , мм рт. ст.	39,2 (38,7 – 39,5)	37,7 (37,4 – 38,0)*	38,8 (38,3 – 39,7)#	35,9 (35,5 – 36,2)*#	34,4 (34,1 – 34,9)*#	35,4 (35 – 36,4)*#
p50 _{станд} , мм рт. ст.	38,3 (37,6 – 39,2)	35,6 (35,0 – 36,8)*	39,2 (37,9 – 41,0)#	34,7 (34,5 – 35,6)*	34,8 (34,1 – 35,8)*	36,5 (35,1 – 36,8)*
SO ₂ , %	37,2 (36,5 – 38,9)	33,0 (31,7 – 33,6)*	36,8 (36,3 – 37,5)#	36,1 (35,5 – 36,2)*#	34,1 (33,6 – 35)*##	35,5 (34,8 – 36,3)*#
MetHb, %	0,3 (0,2 – 0,3)	1,3 (1,2 – 1,4)*	1,4 (1,3 – 1,5)	2,7 (2,6 – 3,1)*#	2,4 (2,2 – 2,6)*#	2,3 (2,1 – 2,4)*#
pO ₂ , мм	31,5 (31 – 32)	29,0 (28 – 30)*	36 (35 – 37)*#	31 (30 – 32)#	32,0 (31 – 32)#	32 (31 – 33)#
pH, ед.	7,352 (7,348 – 7,360)	7,347 (7,332 – 7,364)	7,369 (7,362 – 7,410)*##	7,361 (7,346 – 7,376)	7,382 (7,375 – 7,408)*#	7,394 (7,368 – 7,407)*#
pCO ₂ , мм рт. ст.	43,24 (41,7 – 49,2)	49,3 (46,9 – 50,7)	45,9 (43,9 – 47)#	44,3 (40,9 – 46,7)#	43,9 (43,1 – 44,1)#	45,9 (44,9 – 46,7)##
HCO ₃ [–] , ммоль/л	25,3 (24,3 – 26,5)	27,6 (26,8 – 28,4)*	27,3 (26,9 – 27,7)*	26,0 (24,7 – 26,4) #	26,2 (25,3 – 26,9) ##	27,3 (26,6 – 27,8)*
TCO ₂ , ммоль/л	27,4 (26,5 – 27,8)	28,8 (28,1 – 30,2)*	28,9 (27,4 – 29,4)**	26,9 (26,0 – 27,1) #	27,3 (26,8 – 28,5) ##	29,2 (28,0 – 29,6)*
ABE, ммоль/л	3,2 (3,1 – 4,0)	1,6 (1,5 – 1,7)*	1,7 (1,6 – 1,9)*	– 0,6 (– 0,7 – (– 0,5))*#	1,2 (0,9 – 1,4)*#	2,0 (1,9 – 2,1)*#
SBC, ммоль/л	28,1 (27,5 – 28,6)	27,9 (26,4 – 29,6)	29,9 (28,8 – 30,2)*##	31,0 (28,8 – 31,3)*##	29,5 (28,5 – 30,9)*	27,8 (27,3 – 28,4)

* ($p < 0,01$), ** ($p < 0,05$), по сравнению с контрольной группой животных;
($p < 0,01$), ## ($p < 0,05$), по сравнению с группой крыс, получавших только ЛПС.

Одновременно с увеличением активности свободнорадикальных процессов отмечается снижение уровня ферментативного и неферментативного компонентов антиоксидантной системы (табл. 1). В эритроцитарной массе уменьшается активность каталазы на 26,5 % ($p < 0,01$) и концентрация восстановленного глутатиона — на 31,1 % ($p < 0,01$). В плазме снижается содержание церулоплазмينا на 44,0 % ($p < 0,01$), α -токоферола — на 46,1 % ($p < 0,01$) и ретинола — на 45,0 % ($p < 0,01$).

При введении ЭПО в данной модели ОС уменьшаются проявления прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса в крови, по сравнению с животными, получавшими только эндотоксин (рис. 1). Так применение ЭПО после введения ЛПС приводит к уменьшению уровня ДК и ТК в эритроцитах на 28,1 % ($p < 0,01$) и 29,8 % ($p < 0,01$), а в плазме — на 33,5 % ($p < 0,01$) и 26,7 % ($p < 0,01$), соответственно. Также наблюдается снижение концентрации МДА на 50,3 % ($p < 0,01$) в эритроцитах и на 23,8 % ($p < 0,01$) в плазме. При этом повышается активность каталазы в эритроцитах на 12,8 % ($p \leq 0,01$), а содержание восстановленного глутатиона — на 29,5 % ($p < 0,01$) (табл. 1). В плазме увеличивается концентрация церулоплазмينا на 40,5 % ($p < 0,01$), α -токоферола — на 36,9 % ($p < 0,01$) и ретинола — на 36,4 % ($p < 0,01$).

Сходные по направленности изменений прооксидантно-антиоксидантного баланса процессы, вызванные введением ЛПС, наблюдаются после сочетанного применения ЭПО с L-аргинином и ЭПО с NaHS, что подтверждается снижением содержания ДК: в эритроцитах — на 23,1 % ($p < 0,01$) и на 21,0 % ($p < 0,01$); в плазме — на 29,1 % ($p < 0,01$) и на 25,8 % ($p < 0,01$), соответственно; содержания ТК в эритроцитах — на 23,9 % ($p < 0,01$) и на 22,3 % ($p < 0,01$), в плазме — на 21,8 % ($p < 0,01$) и на 24,7 % ($p < 0,01$), соответственно; содержания МДА в эритроцитах — на 46,4 % ($p < 0,01$) и на 47,0 % ($p < 0,01$), в плазме — на 19,5 % ($p < 0,01$) и на 17,1 % ($p < 0,01$), соответственно, а также повышением факторов антиоксидантной системы (каталаза, восстановленный глутатион, церулоплазмин, α -токоферол, ретинол). Однако следует отметить, что L-аргинин (исходный субстрат синтеза NO) и донор H_2S (NaHS) не усиливают влияние ЭПО на содержание продуктов ПОЛ, а также на показатели антиоксидантной защиты.

При введении ЛПС прослеживается изменение КТФ крови (табл. 2), характеризующееся снижением SO_2 на 11,3 % ($p < 0,01$), pO_2 — на 7,9 % ($p < 0,01$), по сравнению с контрольной группой животных. В то время как применение ЭПО после введения ЛПС увеличивает данные значения: SO_2 с 33 (31,7 – 33,6) до 36,1 (35,5 – 36,2); pO_2 с 29 (28 – 30) до 31 (30 – 32) мм рт. ст., по сравнению с животными, получавшими только ЛПС. Сочетанное введение ЭПО с L-аргинином или с NaHS на фоне применения ЛПС также со-

провождалось повышением данных показателей. При этом существенных изменений основных показателей кислотно-основного состояния крови в экспериментальных группах не наблюдается (табл. 2).

Развитие ОС характеризуется снижением параметра $p50_{\text{реал}}$ до 37,7 (37,4 – 38,0), $p < 0,01$, по сравнению с контрольной группой ($p50_{\text{реал}}$ 39,2 (38,7 – 39,5) мм рт. ст.), что свидетельствует об увеличении СГК. Введение ЭПО на фоне ЛПС приводит к уменьшению показателя $p50_{\text{реал}}$ (35,9 (35,5 – 36,2) мм рт. ст., $p < 0,01$), что вызывает повышение СГК и, соответственно, сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных условиях циркуляции влево. Также выявлено уменьшение показателя $p50_{\text{реал}}$ при сочетанном применении ЭПО с L-аргинином (до 34,4 (34,1 – 34,9) мм рт. ст., $p < 0,01$) и ЭПО с NaHS (до 35,4 (35,0 – 36,4) мм рт. ст., $p < 0,01$), по сравнению с группой животных, получавших только ЛПС (37,7 (37,4 – 38,0) мм рт. ст., $p < 0,01$). Эти показатели в сравнении с изолированным введением ЭПО на фоне ЛПС достоверно не различались.

При данном варианте ОС отмечается увеличение в плазме крыс концентрации NO_x на 322 % ($p < 0,01$) и H_2S на 158,8 % ($p < 0,01$), по сравнению с контрольной группой животных (рис. 2). ЭПО в условиях введения ЛПС приводит к снижению концентрации NO_x и H_2S в плазме с 35,6 (34,6 – 36,3) до 17,1 (16,1 – 17,7) мкмоль/л, $p < 0,01$, и с 52,8 (50,6 – 55,4) до 36,8 (35,6 – 37,2) мкмоль/л, $p < 0,01$, соответственно, по сравнению с животными, получавшими только ЛПС. Инъекция ЭПО в комбинации с L-аргинином или с NaHS в условиях введения эндотоксина сопровождается ростом концентрации NO_x и H_2S соответственно в плазме крови, не превышая значения этих параметров у крыс, получавших только ЛПС и ЭПО. Сходная динамика показателей выявлена нами ранее при изучении участия мелатонина в регуляции КТФ крови при ОС, вызванном введением ЛПС [3].

Результаты нашей работы показывают, что введение ЭПО в условиях развития ОС снижает активность свободнорадикальных процессов и повышает содержание ферментного и неферментного компонентов антиоксидантной защиты. Данное вещество может непосредственно взаимодействовать со свободными радикалами и нейтрализовать их действие, выступая в качестве “ловушки” [2]. Кроме того, ЭПО активирует внутриклеточные антиоксидантные механизмы, такие как гемоксигеназа-1, глутатионпероксидаза. Он может оказывать антиоксидантный эффект за счёт снижения внутриклеточного содержания железа, участвующего в образовании реактогенного гидроксильного радикала в реакции Фентона и посредством активации антиоксидантного транскрипционного ядерного фактора-2 [15].

В ряде работ на различных экспериментальных моделях наблюдали антиоксидантный эффект ЭПО. Применение данного вещества при экспериментальной

хронической почечной недостаточности приводит к снижению уровня первичных и конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фракции липидного экстракта плазмы и лимфоцитов периферической крови, а также к повышению активности каталазы и супероксиддисмутазы в плазме [6]. При облучении мозга крыс введение данного фактора сопровождается уменьшением концентрации NO_x и МДА, а также увеличением активности супероксиддисмутазы [14]. ЭПО на фоне действия ЛПС приводит к снижению уровня МДА, а также увеличению активности глутатионпероксидазы [16]. Данный эффект ЭПО реализуется за счет гликополипептидов, которые являются “ловушкой” гидроксильных радикалов, а также за счет усиления экспрессии ингибитора апоптоза Bcl-2, что указывает на способность данного фактора проявлять прямое антиоксидантное действие [15].

Выявленное снижение активности процессов ПОЛ, индуцированных введением ЛПС, может быть обусловлено и вкладом кислородсвязывающих свойств крови. В наших исследованиях при введении данной субстанции в условиях развития ОС в течение 3 сут, индуцированного эндотоксином, наблюдается ее сдвиг влево, что в условиях неэффективного использования кислорода способствует уменьшению образования свободных радикалов [2]. Модификация СГК, вызванная применением ЭПО, за счет регуляции кислородсвязывающих свойств крови может быть дополнительным механизмом формирования прооксидантно-антиоксидантного равновесия.

ЭПО может влиять на КТФ крови не только через увеличение концентрации гемоглобина и фракции молодых эритроцитов, но и через модуляторы СГК, в частности, NO и H_2S . ГМ могут непосредственно взаимодействовать с гемоглобином с образованием метгемоглобина, нитрозилгемоглобина, нитрозогемоглобина (для NO) и сульфгемоглобина (для H_2S), с последующим изменением кислородсвязывающих свойств крови [2].

При ОС, индуцированном ЛПС, в формировании КТФ крови участвует L-аргинин — NO система. Эндотоксин индуцирует экспрессию индуцибельной изоформы NO -синтазы, повышая продукцию NO . В наших исследованиях применение ЭПО приводит к снижению концентрации NO_x , возможно, через механизм ингибирования экспрессии индуцированной изоформы NO -синтазы, что уменьшает образование пероксинитрита и его негативное действие. Введение ЭПО за 30 мин до введения ЛПС улучшает процессы оксигенации тканей и прооксидантно-антиоксидантное состояние организма, действуя через NO -зависимые механизмы [2]. В то же время ЭПО может повышать экспрессию эндотелиальной изоформы NO -синтазы и выработку NO . Также H_2S вносит вклад в функционирование L-аргинин — NO системы через активацию эндотелиальной и ингибирование индуцированной изоформ NO -синтаз. ГМ, модулируя функциональные

свойства гемоглобина, оказывают влияние на активность свободнорадикальных процессов и, в целом, на антиоксидантный потенциал организма. Однако в нашем эксперименте не было выявлено усиление действия ЭПО при его введении совместно с L-аргинином и NaHS, что предполагает сложный механизм участия данных веществ в модифицировании КТФ крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса при ОС.

ВЫВОДЫ

1. ЭПО (1000 Ед/кг внутривенно) в условиях развития ОС, индуцированного ЛПС у крыс, уменьшает активность свободнорадикальных процессов через 1 сут после последней инъекции ЛПС: снижает уровень диеновых конъюгатов на 28,1 и 33,5 %, триеновых конъюгатов — на 29,8 и 26,7 %, малонового диальдегида — на 50,3 и 23,8 % ($p < 0,01$) в эритроцитах и в плазме крови, соответственно, и повышает активность каталазы на 12,8 % и содержание восстановленного глутатиона на 32,4 % в эритроцитах, концентрацию церулоплазмينا — на 40,5 %, α -токоферола — на 36,9 % и ретинола — на 36,4 % в плазме крови ($p < 0,01$).

2. Эритропоэтин уменьшает концентрацию нитрат/нитритов на 52 % и сероводорода — на 30,3 % ($p < 0,01$) в плазме крови крыс в условиях развития ОС, индуцированного ЛПС, L-аргинин или гидросульфид натрия не влияют на этот эффект.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. В. Гусакова, Л. В. Смаглий, Ю. Г. Бирulina и др., *Успехи физиол. наук*, **48**(1), 24 – 52 (2017).
2. В. В. Зинчук, С. В. Глуткин, Е. В. Шульга, *Экспер. и клин. фармакол.*, **75**(1), 39 – 42 (2012); doi: 10.30906/0869-2092-2012-75-1-39-42.
3. В. В. Зинчук, М. Э. Фираго, *Биомед. химия*, **63**(6), 520 – 526 (2017); doi: 10.18097 / PVMC20176306520.
4. В. С. Камышников, *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике*, МЕДпресс-информ, Москва (2009).
5. М. А. Королюк, Л. И. Иванов, И. Г. Масторова, *Лаб. дело*, № 1, 16 – 19 (1988).
6. М. В. Осиков, Л. Ф. Телешева, Ю. И. Агеев, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **160**(8), 162 – 165 (2015).
7. О. А. Терещенко, А. А. Боташев, Ю. В. Помещик и др., *Вестник эксперим. и клин. хирургии*, **5**(4), 722 – 726 (2012); doi: 10.18499/2070-478X-2012-5-4-722-726.
8. B. B. Cokic, V. P. Cokic, S. Suresh, et al., *Microvasc. Res.*, № 92, 34 – 40 (2014); doi: 10.1016/j.mvr.2014.01.009.
9. J. P. Minei, J. G. Williams, S. J. Hill, et al., *Arch Surg.*, **129**(11), 1198 – 1203 (1994); doi: 10.1001/archsurg.1994.01420350096013.
10. J. Sedlak, R. H. Lindsay, *Anal. Biochem.*, **25**(1), 192 – 205 (1968); doi: 10.1016/0003-2697(68)90092-4.
11. J. W. Severinghaus, *J. Appl. Physiol.*, **21**(3), 1108 – 1116 (1966); doi: 10.1152/jappl.1966.21.3.1108.
12. T. R. Stoyanoff, J. S. Todaro, M. V. Aguirre, et al., *Toxicology*, № 318, 13 – 21 (2014); doi: 10.1016/j.tox.2014.01.011.
13. S. L. Taylor, M. P. Lamden, A. L. Tappel, *Lipids*, **11**(7), 530 – 538 (1976); doi: 10.1007/BF02532898.

14. G. Ugurluer, A. Cebi, H. Mert, et al., *Arch. Med. Sci.*, **12**(6), 1348 – 1353 (2016); doi: 10.5114/aoms.2016.58622.
15. H. Volker, V. H. Haase, *Hemodial Int.*, **21**(1), 110 – 124 (2017); doi: 10.1111 / hdi.12567.
16. X. F. Yang, Y. He, H. Y. Li, et al., *Mol. Med. Rep.*, **10**(1), 555 – 559 (2014); doi: 10.3892 / mmr.2014.2164.

Поступила 20.12.19

ERYTHROPOIETIN EFFECT ON OXYGEN-BINDING PROPERTIES OF BLOOD IN OXIDATIVE STRESS, INDUCED BY LIPOPOLYSACCHARIDE UNDER CONDITIONS OF L-ARGININE AND SODIUM HYDROSULFIDE INTRODUCTION

V. V. Zinchuk^{1*} and M. E. Firago¹

¹ Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, ul. Gorkogo 80, Grodno, 230009 Belarus;

* e-mail: zinchuk@grsmu.by

Effect of erythropoietin (EPO) on the oxygen-binding properties of blood under oxidative stress induced by lipopolysaccharide (at a dose of 5 mg/kg, for three days) was investigated under conditions of administering L-arginine and sodium hydrosulfide. Injection of EPO (1000 U/kg i.p. three times at 24 h interval) reduces the prooxidant-antioxidant imbalance caused by the administration of lipopolysaccharide, which is confirmed by decrease in the content of diene conjugates by 28.1 and 33.5%, triene conjugates by 29.8 and 26.7%, malonic dialdehyde by 50.3 and 23.8% in erythrocytes and plasma, respectively, as well as by increase in catalase activity by 12.8 %, reduced glutathione content by 32.4 % in red blood cells, concentration of ceruloplasmin by 40.5%, α -tocopherol by 36.9% and retinol by 36.4% ($p < 0.01$) in the blood plasma. The introduction of EPO causes a decrease in p50 by 4.8 % ($p < 0.01$), which is important for the formation of oxygen supply to tissues and a reduction in oxidative stress. Use of EPO under conditions of lipopolysaccharide introduction of leads to decrease in the concentration of nitrate/nitrite and hydrogen sulfide in plasma by 52 and 30% ($p < 0.01$), respectively, in comparison to animals that received only lipopolysaccharide. The introduction of L-arginine (initial substrate for the synthesis of nitrogen monoxide) at a dose of 100 mg/kg or sodium hydrosulfide (hydrogen sulfide donor) at a dose of 5 mg/kg does not alter the effect of EPO on reducing the degree of oxidative stress and the studied parameters of oxygen transport function of the blood.

Keywords: lipopolysaccharide; oxidative stress; blood; erythropoietin; gasotransmitter; nitrogen monoxide; hydrogen sulfide; rats.