

5. Научные школы Гродненского государственного медицинского университета: монография / под. ред. В.А. Снежицкого, В.В. Зинчука. – Гродно: ГрГМУ, 2013. 314 с.

УДК 612.128:577.114.7:577.121]-092.4

М.Э. Фираго

**ВКЛАД ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ В РАЗВИТИЕ
ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО
ВВЕДЕНИЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА**

Аннотация. Изучен эффект газотрансмиттеров на прооксидантно-антиоксидантное состояние и кислородсвязывающие свойства крови при трехкратном введении липополисахарида. Исходный субстрат синтеза NO (L-аргинин) и донор H₂S (NaHS) в условиях действия эндотоксина уменьшают активность свободнорадикального окисления, повышают антиоксидантный потенциал организма, увеличивают суммарное содержание нитрат/нитритов и концентрацию сероводорода, а также оказывают влияние на кислородсвязывающие свойства крови.

Ключевые слова: окислительный стресс, липополисахарид, газотрансмиттер, монооксид азота, сероводород.

М.Е. Firago

**THE CONTRIBUTION OF GASEOUS TRANSMITTERS TO THE
DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS CAUSED BY THE
INTRODUCTION OF LIPOPOLYSACCHARIDE**

Abstract. The effect of gaseous transmitters on the prooxidant-antioxidant state and oxygen-binding properties of blood was studied after a triple administration of lipopolysaccharide. The initial substrate for NO synthesis (L-arginine) and the H₂S donor (NaHS) under the conditions of endotoxin action reduce the activity of free radical oxidation, increase the antioxidant potential of the body, increase the total content of nitrate / nitrites and the concentration of hydrogen sulfide, and also affect the oxygen-binding properties of blood.

© Фираго М.Э., 2021

Key words: oxidative stress, lipopolysaccharide, gaseous transmitters, nitrogen monoxide, hydrogen sulfide.

Введение

В настоящее время окислительный стресс (ОС), возникающий в результате активации эндогенных механизмов генерации активных форм кислорода (АФК) и азота, ослабления антиоксидантной защиты организма, рассматривается в качестве важного патогенетического звена при возникновении и развитии многочисленных заболеваний [1]. ОС провоцируют многие факторы, одним из них является липополисахарид (ЛПС) – компонент наружной мембраны грамотрицательных бактерий [2]. Важный вклад в сложную иерархию защиты от АФК вносят газотрансмиттеры, такие как монооксид азота (NO) и сероводород (H₂S), которые обладают внутриклеточной сигнальной трансдукцией и играют важную роль в регуляции различных физиологических реакций [3]. Несмотря на наличие ряд работ, посвященных изучению эффектов и механизмов действия газотрансмиттеров на организм, вопрос об изменении прооксидантно-антиоксидантного состояния, а также кислородсвязывающих свойств крови в условиях ОС, вызванного многократным, а именно, трехкратным введением ЛПС, в достаточной степени не изучен, что и предопределило наш интерес к данной проблеме.

Цель данной работы – изучить эффект газотрансмиттеров (NO, H₂S) на прооксидантно-антиоксидантное состояние и кислородтранспортную функцию крови в условиях развития окислительного стресса, вызванного введением липополисахарида.

Методика

Эксперименты проводили на лабораторных крысах-самцах массой 200-250 г., которых содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, при искусственном освещении: 12 (день) / 12 (ночь) часов. Животные случайным образом были разделены на 12 экспериментальных групп: контрольная группа (n=7) – вводили 0,9% раствор NaCl; в опытных группах 2 (n=9), 4–12 осуществляли введение ЛПС в дозе 5 мг/кг интраперитонеально трехкратно с интервалом 24 ч. Коррекцию состояния, индуцированного введением ЛПС, реализовывали с помощью исходного субстрата

синтеза NO – L-аргинина в дозе 100 мг/кг (группа 4, n=11), неселективного ингибитора NOC (L-NAME) в дозе 20 мг/кг (группа 5, n=7), селективного ингибитора индуцибельной NOC (AG) в дозе 100 мг/кг (группа 6, n=8), донора H₂S (NaHS) в дозе 5 мг/кг (группа 7, n=11), PAG, ингибитора цистатионин-γ-лиазы, в дозе 50 мг/кг (группа 8, n=11), а также комбинаций данных соединений: L-аргинин и L-NAME (группа 9, n=8), L-аргинин и AG (группа 10, n=7), NaHS и L-аргинин (группа 11, n=11), PAG и L-аргинин (группа 12, n=9). Животные группы 3 (n=12) получали только инъекцию NaHS. Инъекции указанными соединениями (в объеме 1 мл) осуществляли интраперитонеально трехкратно через 15 минут после введения ЛПС, предварительно растворив в 0,9% NaCl.

В условиях адекватной анальгезии через 12 ч после последней инъекции ЛПС осуществляли забор крови из правого предсердия, а также ткани сердца, печени, почек и легких. Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали в эритроцитарной массе и плазме крови по содержанию диеновых (ДК) и триеновых (ТК) конъюгатов, концентрации малонового диальдегида (МДА). Состояние антиоксидантной системы определяли по активности каталазы, содержанию восстановленного глутатиона, концентрации в плазме - токоферола, ретинола и церулоплазмина. Продукцию NO оценивали спектрофотометрически по суммарному содержанию нитрат/нитритов, концентрацию H₂S в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 670 нм. Изучение параметров КТФ крови в исследуемых образцах крови проводили на микроанализаторе Syntesis-15 «Instrumentation Laboratory» (США).

Полученные результаты обрабатывали с применением пакетов прикладных программ MS Excel и «Statistica». С учетом малых размеров выборки, а также отсутствия нормального распределения в группах, статистическую значимость результатов оценивали методом непараметрической статистики для независимых выборок – критерий 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 L-аргинина, AG, NaHS в условиях действия ЛПС сопровождается уменьшением активности свободнорадикальных

процессов – снижением концентрации ДК, ТК и МДА как в крови, так и в тканях сердца, печени, почек и легких; повышением активности каталазы, содержания восстановленного глутатиона, α -токоферола и ретинола в крови и тканях исследуемых органов; увеличением содержания церулоплазмينا в плазме крови. Схожая динамика наблюдается и у крыс после инъекции ЛПС, L-аргинина в комбинации с АГ, L-аргинина в сочетании с донором H_2S . Использование неселективного ингибитора NO-синтазы (L-NAME) существенно не меняет степень окислительных повреждений, вызванных действием ЛПС, и не усиливает антиоксидантный потенциал. Применение ингибитора синтеза H_2S (PAG), а также комбинация его с L-аргинином в некоторых тканях приводит к увеличению активности свободнорадикальных процессов. Так, применение PAG повышает в сердце и легких содержание ДК, ТК и МДА, в печени ТК, в почках МДА. Использование сочетанного введения PAG с L-аргинином характеризуется повышением в печени содержания ТК и МДА. Данный эффект H_2S , возможно, реализуется как непосредственно через его антиоксидантное действие, так и через вклад в функционирование L-аргинин-NO-системы и КТФ крови.

Введение L-аргинина, АГ, NaHS в условиях развития ОС, вызванного введением ЛПС, сопровождается изменением КТФ крови – увеличение SO_2 и снижение показателя $p50_{реал}$, что отражает повышение СГК и имеет значение для формирования кислородного обеспечения тканей, способствует уменьшению нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса. Применение L-NAME не приводит к существенным изменениям КТФ по сравнению с животными, получавшими лишь эндотоксин. При введении PAG наблюдается тенденция развития метаболического ацидоза и более существенный сдвиг КДО влево. L-аргинин, АГ и донор H_2S как отдельно, так и сочетано вызывает снижение суммарного содержания нитрат/нитритов и концентрации H_2S . Следует отметить в нашем исследовании парадоксальный факт: снижение концентрации H_2S в крови после введения NaHS. Возможно, это связано, с одной стороны, с краткосрочным повышением его содержания в организме, а с другой – с иницированием механизмов его утилизации при взаимодействии с NO (с образованием S-нитротиола), пероксинитритом (с образованием тионитрата) и окислением цистеина в цистеинсульфинат [4].

Таким образом, L-аргинин, АГ и NaHS как изолированно, так и сочетано уменьшают нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса, вызванные действием ЛПС. Введение же РАГ как самостоятельно, так и в комбинации с L-аргинином характеризуется противоположным эффектом – снижает АОЗ и усиливает свободнорадикальное окисление. Газотрансмиттеры NO и H₂S оказывают влияние на кислородсвязывающие свойства крови, в частности повышают СГК. Модификация кислородсвязывающих свойств крови, осуществляемая через различные механизмы при участии NO и H₂S, имеет значение для кислородного обеспечения организма и механизмов формирования прооксидантно-антиоксидантного состояния при введении ЛПС.

Библиографический список

1. T. Tofas, D. Draganidis, Ch.K. Deli, K. Georgakouli, I.G. Fatouros, A.Z. Jamurtas. Exercise-Induced Regulation of Redox Status in Cardiovascular Diseases: The Role of Exercise Training and Detraining // *Antioxidants* (Basel). 2020. Vol. 9, № 1.
2. M. Védrine, C. Berthault, C. Leroux, M. Répérant-Ferter, Ch. Gitton, S. Barbey, P. Rainard, F. B. Gilbert, P. Germon. Sensing of Escherichia coli and LPS by mammary epithelial cells is modulated by O-antigen chain and CD14 // *PLoS One*. 2018. Vol. 13, № 8.
3. M. Zhang, R. Qiao, J. Hu. Engineering metal-organic frameworks (MOFs) for controlled delivery of physiological gaseous transmitters // *Nanomaterials* (Basel). 2020. Vol. 10, № 6.
4. K. R. Olson. Hydrogen sulfide as an oxygen sensor // *Antioxidants and redox signaling*. 2015. Vol. 22, № 2. P. 377-397.

УДК 616.36-008.6-002-092:612.014.464

М.Н. Ходосовский, В.В. Зинчук

УЧАСТИЕ ЭРИТРОПОЭТИНА В КОРРЕКЦИИ NO-СИНТАЗНОЙ ФУНКЦИИ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ

Аннотация. Изучен механизм защитного действия эритропоэтина при ишемии-реперфузии печени. Установлено,