

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК [612.127.577.352.38.577.114]-092.9

ШУЛЬГА
Екатерина Владимировна

**РЕГУЛЯЦИЯ КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ КРОВИ И
ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА ТКАНЕЙ
АМИНОГУАНИДИНОМ, МЕЛАТОНИНОМ, ЭРИТРОПОЭТИНОМ И
1-МЕТИЛНИКОТИНАМИДОМ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 03.00.13 – физиология

Минск, 2010

Работа выполнена в УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Зинчук Виктор Владимирович**,
доктор медицинских наук, профессор,
проректор по научной работе
УО «Гродненский государственный
медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Переверзев Владимир Алексеевич**,
доктор медицинских наук, профессор
кафедры нормальной физиологии
УО «Белорусский государственный
медицинский университет»



Чумак Анатолий Георгиевич,
доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой физиологии
человека и животных УО «Белорусский
государственный университет»

Оппонирующая организация: УО «Гомельский государственный
медицинский университет»

Защита состоится «18» июня 2010 г. в 14.00 часов на заседании совета по
защите диссертаций Д 03.18.02 при УО «Белорусский государственный
медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83.
Телефон ученого секретаря: 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский
государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «17» мая 2010 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент

А.И. Герасимович

ВВЕДЕНИЕ

Липополисахарид (ЛПС), являющийся компонентом мембраны грамотрицательных бактерий [Sperandeo P. et al., 2009; Wang X., Quinn P.J., 2010], вызывает в эффекторных клетках усиленную экспрессию ряда цитокинов, молекул адгезии, оксигеназ, индуцибельной изоформы NO-синтазы [Рябиченко Е.В. и др., 2005; Neo S.K. et al., 2008], способствуя развитию нитрозильного и окислительного стресса [Санкидзе Т.В. и др., 2006; Рязанцева Н.В. и др., 2009]. Интерес исследователей к данному фактору обусловлен не только его уникальной структурой и весьма широким разнообразием вызываемых эффектов, но и тем, что организм человека постоянно контактирует с достаточно большим количеством этого токсина [Яковлев М.Ю., 2003], что обеспечивает поддержание гомеостаза и адаптацию организма к стрессовым воздействиям [Аниховская И.А. и др., 2006]. Окислительные повреждения, вызванные действием больших доз ЛПС, ухудшают процессы микроциркуляции, оксигенации тканей, обуславливают развитие гипоксии [Cadenas S., Cadenas A.M., 2002; Marechal X. et al., 2008]. В системных механизмах адаптации к изменяющимся условиям внутренней и внешней среды важная роль принадлежит механизмам транспорта O_2 кровью, и, в частности, средству гемоглобина к кислороду [Гацура С.В., Гацура В.В., 2005]. Процессы транспорта кислорода кровью играют ключевую роль в поддержании прооксидантно-антиоксидантного баланса, что обеспечивает развитие адекватных системных физиологических реакций в изменяющихся условиях внешней среды [Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1999]. Современные представления относительно механизмов действия ЛПС недостаточно полны, в связи с чем целесообразен поиск средств, оказывающих регуляторное воздействие на его эффекты [Лиходед В.Г. и др., 1996; Аниховская И.А. и др., 2006]. Различные аспекты действия ЛПС на кислородсвязывающие свойства крови, средство гемоглобина к кислороду, прооксидантно-антиоксидантный баланс и оценка вклада физиологически активных веществ, вырабатываемых в организме, на механизмы регуляции кислородтранспортной функции крови, свободнорадикальных процессов и антиоксидантной системы остаются до конца не изученными, что и предопределило интерес к данной проблеме.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Диссертация выполнена в рамках научно-исследовательской работы кафедры нормальной физиологии и Центральной научно-исследовательской лаборатории Гродненского государственного медицинского университета

«Изучение роли кислородсвязывающих свойств крови в развитии окислительного стресса, разработка на основе выявленных закономерностей путей его коррекции» (договор № 51-09/ФИ от 31.03.2009 в рамках ГКПНИ «Современные технологии в медицине», гос. регистрация № 20092483 от 28.09.2009).

Цель и задачи исследования

Цель исследования – на основе установления характера изменений кислородсвязывающих свойств крови, активности свободнорадикальных процессов и факторов антиоксидантной защиты в тканях кроликов после введения липополисахарида выявить возможность их регуляции с помощью амингуанидина, мелатонина, эритропоэтина и 1-метилникотинамида.

Задачи исследования:

1. Изучить кислородтранспортную функцию крови, прооксидантно-антиоксидантный баланс в тканях (аорта, сердце, легкие, печень, почки) и крови, уровень нитрат/нитритов и гомоцистеина в динамике через 12 часов, 1 и 5 суток после однократного введения липополисахарида.

2. Исследовать изменения кислородсвязывающих свойств крови, активность свободнорадикальных процессов в тканях кроликов через 12 часов после введения липополисахарида в условиях действия амингуанидина (селективного ингибитора индуцибельной изоформы NO-синтазы).

3. Выявить регуляторный эффект мелатонина на изменения показателей газового состава и кислотно-основного состояния крови, прооксидантно-антиоксидантного баланса, содержания нитрат/нитритов и гомоцистеина, индуцированные липополисахаридом, через 12 часов после его введения.

4. Определить влияние эритропоэтина на показатели транспорта кислорода кровью, уровень нитрат/нитритов, содержание диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, гомоцистеина, α -токоферола и активности каталазы у кроликов после введения липополисахарида.

5. Оценить эффект применения 1-метилникотинамида для регуляции кислородтранспортной функции крови, процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у кроликов после введения липополисахарида.

Объект и предмет исследования

Объект исследования: лабораторные животные (кролики-самцы), смешанная венозная кровь (эритроцитарная масса, плазма), ткани (аорта, сердце, лёгкие, печень, почки).

Предмет исследования: кислородтранспортная функция крови, нитрат/нитриты, гомоцистеин, процессы перекисного окисления липидов, антиоксидантная система.

Положения, выносимые на защиту

1. Введение липополисахарида в дозе 500 мкг/кг внутривенно приводит к развитию метаболического ацидоза, ухудшению кислородтранспортной функции крови, повышению уровня нитрат/нитритов и гомоцистеина в плазме, усилению процессов перекисного окисления липидов и снижению факторов антиоксидантной системы в тканях (аорта, сердце, легкие, печень, почки) и крови на протяжении первых пяти суток, наиболее выражено через 12 часов после его введения.

2. Применение аминогуанидина, мелатонина, эритропозтина и 1-метилникотинамида вызывает уменьшение дисбаланса прооксидантно-антиоксидантного равновесия, предупреждает развитие окислительных нарушений, индуцированных введением липополисахарида через 12 часов, учитывая содержание диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, концентрацию α -токоферола, активность каталазы в тканях (аорта, сердце, легкие, печень и почки) и крови, а также уровень гомоцистеина.

3. Установлено улучшение основных показателей кислородтранспортной функции крови, уменьшение развития метаболического ацидоза, смещение кривой диссоциации оксигемоглобина влево в условиях действия аминогуанидина, мелатонина, эритропозтина и 1-метилникотинамида через 12 часов после введения липополисахарида.

Личный вклад соискателя

Автором совместно с научным руководителем сформулированы цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, разработана адекватная модель эксперимента. Лично соискателем проведен анализ научной литературы, поставлены эксперименты, осуществлен забор крови и тканей, выполнены биохимические, спектрофотометрические, флуориметрические и хроматографические исследования, статистическая обработка результатов, а также их изложение в виде научных работ и всех разделов диссертации. Исследования проведены на базе кафедры нормальной физиологии и исследовательской группы по изучению газотранспортной функции крови Центральной научно-исследовательской лаборатории Гродненского государственного медицинского университета с оказанием технической помощи научного сотрудника, к.б.н. И.Э. Гуляй, старшего научного сотрудника, к.б.н. Е.М. Дорошенко, лаборанта М.И. Тукиной.

Апробация результатов диссертации

Основные положения работы представлены на научных форумах: научно-практические конференции студентов и молодых ученых ГрГМУ, посвященные памяти профессора В.Ч. Бржеского (Гродно, 2008) и профессора Н.И. Аринчина

(Гродно, 2009); Fourth International Scientific Conference of Medical Students and Young Doctors (Bialystok, 2008); Международная научно-практическая конференция «Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования» (Витебск, 2008); Международный Евро-Азиатский конгресс по инфекционным болезням «Актуальные вопросы гепатологии» (Витебск, 2008); VII Международная конференция «Регионарная гемодинамика и микроциркуляция» (Ярославль, 2009); Научно-практическая конференция «Фундаментальные и прикладные аспекты физиологии», посвященная 50-летию кафедры нормальной физиологии (Гродно, 2009); Международная научно-практическая конференция «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека» (Смоленск, 2009); VII Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 160-летию со дня рождения И.П. Павлова «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2009); Международная научная конференция «Закономерности развития патологических состояний и их коррекция» (Минск, 2009); Научно-практическая конференция «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2009).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ (4 статьи в рецензируемых научных изданиях, 3 статьи в сборниках, 8 тезисов докладов на съездах, симпозиумах и конференциях).

Общий объем научных статей, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, составляет 1,9 авторских листа, в других публикациях – 1,4 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 140 страницах с 29 таблицами и 16 рисунками. Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, материалов и методов исследования, 5 глав собственных исследований и их обсуждения, списка использованных источников, списка опубликованных работ, 2 приложений. Список литературы включает 360 источников (78 – русскоязычных, 282 – иностранных).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Экспериментальная часть работы выполнена на 58 кроликах-самцах массой 2,5–3,5 кг, содержащихся в стандартных условиях вивария. Исследования на животных осуществляли на основании разрешения комитета

по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 30.03.2007).

ЛПС *Escherichia coli* (Serotype O111:B4, «Sigma» L-2630, Lot 034K4105) вводили однократно внутривенно в дозе 500 мкг/кг, широко используемой для изучения его действия [Wiel E. et al., 2000; Pu Q. et al., 2001; Wiel E. et al., 2004]. Забор венозной крови осуществляли в условиях адекватного обезболивания (30 мг/кг тиопентала натрия внутривенно), а затем проводили забор образцов тканей (аорта, сердце, легкие, печень и почки) через 12 часов (n=8), через одни (n=6) и пять суток (n=5) после инъекции ЛПС. В качестве факторов регуляции кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса у кроликов использовали аминоксидин (селективный ингибитор индуцибельной изоформы NO-синтазы) фирмы «Aldrich», который вводили кроликам подкожно в дозе 300 мг/кг за 1 час до инъекции ЛПС (n=9); мелатонин фирмы «Sigma», введение которого осуществляли внутрибрюшинно однократно в дозе 4 мг/кг/сут на протяжении трёх суток перед инъекцией ЛПС (n=7); рекомбинантный эритропоэтин- α (ЭПО) «Эпофит» фирмы «Intas Pharmaceuticals LTD», который вводили внутрибрюшинно в дозе 1000 ЕД/кг за 30 минут до использования ЛПС (n=9); 1-метилникотинамида хлорид (МНА), инъекцию которого осуществляли внутривенно за 5 минут до введения ЛПС в дозе 50 мг/кг (n=8). Объем вводимых растворов составлял 0,5 мл/кг.

Определение показателей кислородтранспортной функции (КТФ) крови, а именно, напряжение кислорода (pO_2), степень оксигенации (SO_2), содержание кислорода (C_{VO_2}), количество гемоглобина (Hb), метгемоглобина (MetHb), а также показателей кислотно-основного состояния крови, таких как напряжение углекислого газа (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), проводили при температуре 37 °С на микрогазоанализаторе «Syntesis-15» (Instrumentation Laboratory). Сродство гемоглобина к кислороду (СГК), положение кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) определяли по показателю $p50$ (pO_2 крови при 50% насыщении ее кислородом) методом «смешивания» равных объемов оксигенированной и деоксигенированной крови для получения образцов 50% степени насыщения при температуре 37 °С, pH 7,4, pCO_2 40 мм рт. ст. ($p50_{станд}$) [Scheid P., Meyer M., 1978], а затем рассчитывали $p50$ при реальных условиях этих показателей ($p50_{реал}$) по формуле J.W. Severinghaus [1966].

Уровень диеновых конъюгатов (ДК) определяли по интенсивности УФ-поглощения на спектрофотометре «СФ-46» в области 232–234 нм [Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И., 1983; Камышников В.С., 2002]. Содержание малонового диальдегида (МДА) измеряли спектрофотометрически по

насыщенности окраски триметинового комплекса розового цвета на «Solar» PV1251C при длине волны 535 нм [Камышников В.С., 2002; Bartosz G., 2003]. Уровень оснований Шиффа (ОШ) в крови и тканях определяли по интенсивности флуоресценции хлороформного экстракта [Fletcher B.L. et al., 1973; Rice-Evans C.A. et al., 1991] на спектрофлуориметре F-4010 «Hitachi» (при длине волн возбуждения и эмиссии 340 и 440 нм, соответственно).

Содержание факторов антиоксидантной защиты оценивали по концентрации α -токоферола в гексановой фракции на спектрофлуориметре «F-4010» при длине волны возбуждения 295 нм и эмиссии 326 нм [Taylor S.L., 1976; Рагино Ю.И. и др., 2005], а также по активности каталазы на спектрофотометре «Solar» PV1251C при длине волны 410 нм [Королюк М.А. и др., 1988; Aguoma O.I., Cuppett S.L., 1997].

Продукцию монооксида азота (NO) определяли по суммарному содержанию нитрат/нитритов в плазме крови спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса (при длине волны 540 нм) [Guevara I. et al., 1998; Bryan N.S., Grisham M.B., 2007]. Измерение уровня гомоцистеина в плазме крови осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентной детекцией на аппарате «Agilent 1100» [Gilfix V.M. et al., 1997; Плоцкий А.Р., 2007].

Результаты были представлены в виде $\bar{x} \pm S_x$, где \bar{x} – среднее значение, S_x – ошибка среднего значения. При описании данных, распределение которых отличалось от нормального (критерия Шапиро-Уилка), рассчитывали медиану (Me) и интерквартильный размах (25–75%). Статистическую значимость результатов оценивали методами непараметрической статистики для независимых выборок – критерий Манна-Уитни, критерий Краскела-Уоллиса. За достоверный принимали уровень статистической значимости $p < 0,05$ (при парном анализе) и $p < 0,008$ (при сравнении более трех групп).

Основные результаты исследования и их обсуждение

Кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние организма кроликов в течение первых 5 суток после введения липополисахарида

Через 12 часов после введения ЛПС наблюдается смещение рН крови в кислую сторону: значение этого показателя снижается на 1,85% ($p < 0,008$), а затем, через пять суток, его величина приближается к значению данного показателя в контрольной группе. Параметры pCO_2 , SBC, SBE, ABE, TCO_2 и HCO_3^- снижаются через 12 часов после введения ЛПС, через сутки отмечается их улучшение, достигающее уровня в контрольной группе через пять суток. Показатель SO_2 после снижения через 12 часов ($p < 0,008$) увеличивается через

одни сутки ($p=0,025$) и снижается через пять суток ($p<0,008$) после введения ЛПС. Значение $p50_{\text{станд}}$ в сравнении с контролем уменьшается через одни сутки на 4,9% ($p<0,008$) после введения ЛПС, а через пять суток наблюдается приближение его к контролю. Показатель $p50_{\text{реал}}$ через 12 часов после инъекции ЛПС возрастает на 18,0% ($p<0,008$), что характеризует смещение КДО вправо при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры, а затем, в течение пяти суток, значение $p50$ снижается, приближаясь к контролю.

Суммарное содержание нитрат/нитритов увеличивается через 12 часов после введения ЛПС на 7,3 мкмоль/л ($p<0,008$), через одни сутки – на 15,5 мкмоль/л ($p<0,008$), а через пять суток этот параметр снижается и приближается к значению такового в контрольной группе.

Через 12 часов после введения ЛПС наблюдается увеличение уровня ДК, ОШ в тканях и крови, но уже через сутки отмечается снижение активности свободнорадикальных процессов, а через 5 суток значения ДК и ОШ в тканях и крови приближаются к контролю. Так, через 12 часов уровень ДК повышается на 55,1% ($p<0,008$) в аорте, на 34,1% ($p<0,008$) в легких и на 45,3% ($p<0,008$) в почках, а также на 97,3% ($p<0,008$) в плазме и на 16,7% ($p<0,008$) в эритроцитах по отношению к контрольным величинам. Увеличение значений ОШ происходит во всех исследуемых тканях и крови через 12 часов после введения ЛПС. При этом данный показатель повышается в сердце, легких и почках на 33,9%, 87,9%, и 18,8% ($p<0,008$), соответственно, а также в эритроцитах на 102,6% ($p<0,008$) в сравнении с контролем.

Одновременно с процессами активации ПОЛ наблюдается угнетение АОС в тканях и крови. В частности, через 12 часов после введения ЛПС концентрация α -токоферола снижается на 28,8% ($p<0,008$) в аорте и на 42,8% ($p<0,008$) в сердце, также на 48,5% ($p<0,008$) в плазме в сравнении с контролем. Через сутки отмечается увеличение уровня α -токоферола в исследуемых тканях и крови по отношению к контрольной группе, но значения остаются сниженными. Через пять суток они приближаются к контролю. Во всех тканях активность каталазы уменьшается уже через 12 часов после введения ЛПС: в аорте на 74,0% ($p<0,008$), в сердце на 58,3% ($p<0,008$), в легких на 77,1% ($p<0,008$), в печени на 67,7% ($p<0,008$) и в почках на 52,1% ($p<0,008$). Через сутки после введения ЛПС наблюдается её дальнейшее снижение в сердце, а в других тканях показатель повышается или остается на том же уровне в сравнении с контролем. Через пять суток активность каталазы увеличивается и приближается к значению её в контрольной группе. Однако в эритроцитах через 12 часов после введения ЛПС отмечается повышение активности каталазы на 24,8% ($p<0,008$), а затем, на протяжении 5 суток, – снижение.

Установлено, что через 12 часов после введения ЛПС содержание гомоцистеина повышается с $6,30\pm 0,36$ до $10,97\pm 0,89$ мкмоль/л ($p<0,008$), а в

дальнейшем наблюдается снижение, и через 5 суток его значение приближается к контролю.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что введение ЛПС в организм приводит к ухудшению КТФ крови, повышению уровня нитрат/нитритов и гомоцистеина, активации свободнорадикальных процессов и к снижению показателей антиоксидантной системы на протяжении первых пяти суток. Наиболее выраженные нарушения наблюдаются через 12 часов после введения ЛПС, исходя из чего направленное воздействие на выявленные изменения в последующем осуществлялось нами в данный временной промежуток.

Кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние организма кроликов в условиях действия аминуганидина через 12 часов после введения липополисахарида

Применение аминуганидина способствует уменьшению изменений кислородсвязывающих свойств крови, индуцированных ЛПС через 12 часов после его введения. Использование данного селективного ингибитора индуцибельной изоформы NO-синтазы приводит к повышению рН на 0,62% ($p < 0,05$), а также АВЕ на 35,3% ($p < 0,05$), pCO_2 на 23,8% ($p < 0,05$). В таких условиях увеличиваются CvO_2 , SO_2 и pO_2 на 22,2% ($p < 0,05$), 12,6% ($p < 0,05$) и 12,0% ($p < 0,05$), соответственно, в сравнении с группой животных, получавших только ЛПС.

Инъекция аминуганидина перед введением ЛПС вызывает снижение показателя $p50$ при реальных значениях рН, pCO_2 и температуры на 6,2% ($p < 0,05$) в сравнении с группой кроликов, получавших только ЛПС, что соответствует отклонению положения КДО влево. В этих условиях отмечается уменьшение уровня нитрат/нитритов в плазме крови с $22,28 \pm 1,32$ до $6,34 \pm 0,51$ мкмоль/л ($p < 0,05$) по отношению к группе животных, получавших только ЛПС.

Введение данного селективного ингибитора NO-синтазы перед инъекцией ЛПС способствует снижению прироста уровня ДК в аорте, сердце, печени и почках. При этом отмечается уменьшение этого параметра на 14,8% ($p < 0,05$) в сердце и на 16,7% ($p < 0,05$) в почках. Также показано снижение содержания МДА во всех исследуемых тканях ($p < 0,05$), в частности, уменьшение на 20,3% ($p < 0,05$) в сердце и на 16,3% ($p < 0,05$) в печени в сравнении с группой животных, получавших только ЛПС. Уровень продуктов ПОЛ снижается также и в крови. Содержание ДК уменьшается в плазме на 44,6% ($p < 0,05$) и в эритроцитах на 8,9% ($p < 0,05$), а МДА – на 52,0% ($p < 0,05$) в плазме по отношению к группе кроликов, которым вводили лишь ЛПС.

Одновременно со снижением активности свободнорадикальных процессов отмечается повышение уровня α -токоферола во всех тканях после

введения амингуанидина и ЛПС. Концентрация данного антиоксиданта увеличивается на 14,6% ($p < 0,05$) в аорте, на 57,7% ($p < 0,05$) в сердце, на 12,2% ($p < 0,05$) в легких и на 16,6% ($p < 0,05$) в почках в сравнении с группой животных, получавших только ЛПС. В таких условиях отмечается повышение активности каталазы с $1,6 \pm 0,15$ до $3,5 \pm 0,21$ ммоль H_2O_2 /мин/г белка ($p < 0,05$) в аорте, с $2,3 \pm 0,33$ до $3,0 \pm 0,16$ ммоль H_2O_2 /мин/г белка ($p < 0,05$) в сердце, с $1,2 \pm 0,23$ до $2,7 \pm 0,17$ ммоль H_2O_2 /мин/г белка ($p < 0,05$) в легких, с $1,9 \pm 0,25$ до $2,8 \pm 0,19$ ммоль H_2O_2 /мин/г белка ($p < 0,05$) в печени, с $3,0 \pm 0,19$ до $3,9 \pm 0,13$ ммоль H_2O_2 /мин/г белка ($p < 0,05$) в почках по отношению к группе животных, получавших только ЛПС. После введения и амингуанидина, и ЛПС также увеличивается содержание α -токоферола в плазме на 77,9% ($p < 0,05$), однако в эритроцитах активность каталазы уменьшается на 23,9% ($p < 0,05$). В условиях направленной коррекции L-аргинин-NO системы уровень гомоцистеина снижается на 29,8% ($p < 0,05$) в сравнении с группой кроликов, которым вводили только ЛПС.

Таким образом, амингуанидин уменьшает нарушения кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного состояния через 12 часов после введения ЛПС.

Регуляция мелатонином кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного состояния у кроликов через 12 часов после введения липополисахарида

Введение мелатонина приводит к уменьшению изменений кислотно-основного и газового состава крови через 12 часов после инъекции ЛПС. У животных, получавших мелатонин перед введением ЛПС, отмечается повышение pH на 0,77% ($p < 0,05$), а также увеличение значений SBC на 16,7% ($p < 0,05$), SBE на 28,0% ($p < 0,05$), ABE на 23,5% ($p < 0,05$), TCO_2 на 21,6% ($p < 0,05$) и HCO_3^- на 22,0% ($p < 0,05$) по отношению к группе животных, получавших только ЛПС. В данных условиях увеличиваются показатели C_vO_2 и pO_2 на 41,2% ($p < 0,05$) и 9,5% ($p < 0,05$), соответственно, в сравнении с группой кроликов, получавших только ЛПС. Применение мелатонина перед введением ЛПС снижает значение $p50$ при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры на 13,1% ($p < 0,05$), повышает СГК, что соответствует сдвигу КДО влево (рисунок).

После введения мелатонина и ЛПС наблюдается снижение содержания нитрат/нитритов на 50,7% ($p < 0,05$) по отношению к группе животных, получавших только ЛПС.

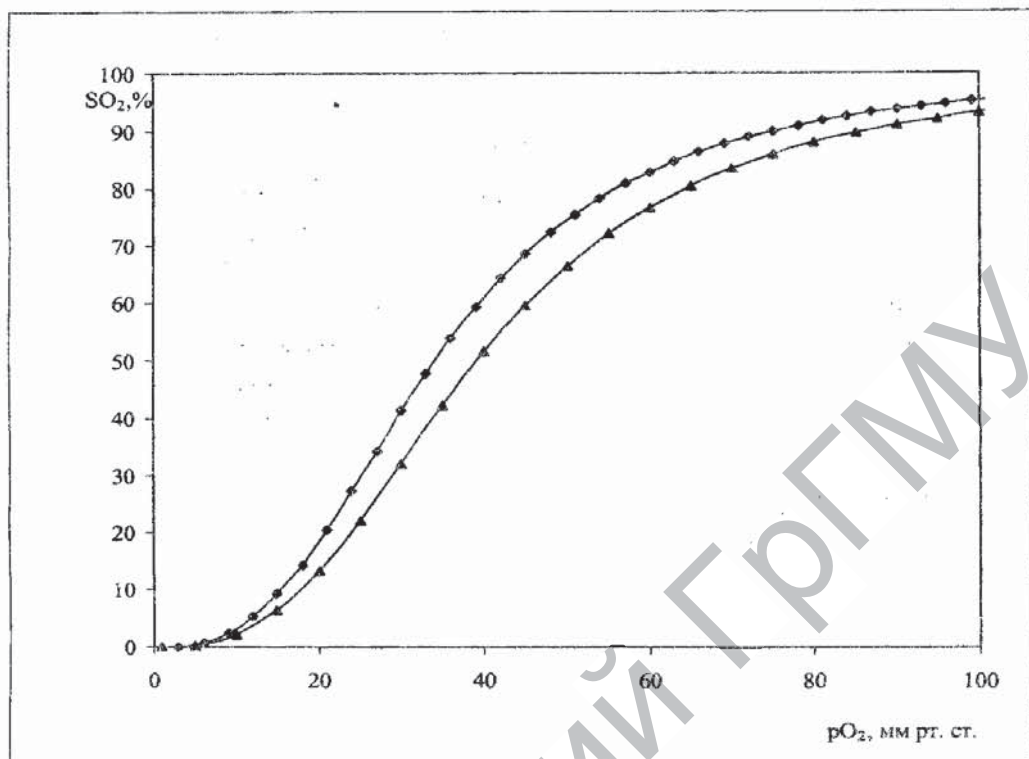


Рисунок – Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH, pCO₂ и температуры у кроликов в условиях действия липополисахарида (▲) и мелатонина + липополисахарида (◆)

Использование мелатонина в этих условиях снижает прирост уровня ДК во всех тканях, в частности, в аорте на 32,4% ($p < 0,05$), в легких на 16,4% ($p < 0,05$) и в почках на 25,8% ($p < 0,05$) в сравнении с группой кроликов, которым вводили только ЛПС. Наблюдается также уменьшение содержания МДА в аорте на 11,9% ($p < 0,05$), в сердце на 6,7% ($p < 0,05$), в печени на 15,4% ($p < 0,05$). Уменьшение активности свободнорадикальных процессов прослеживается и в крови: уровень ДК снижается на 40,4% ($p < 0,05$) в эритроцитах, а МДА – на 46,4% ($p < 0,05$) после введения мелатонина и ЛПС.

В данных условиях наблюдается увеличение уровня антиоксидантных факторов защиты в исследуемых тканях. Так, повышается концентрация α -токоферола на 14,9% ($p < 0,05$) в аорте, на 53,0% ($p < 0,05$) в сердце, на 11,1% ($p < 0,05$) в легких и на 18,2% ($p < 0,05$) в почках, а также активность каталазы в аорте на 47,5% ($p < 0,05$), в сердце на 34,8% ($p < 0,05$), в легких на 119,0% ($p < 0,05$), в печени на 42,9% ($p < 0,05$) и в почках на 31,1% ($p < 0,05$) по отношению к группе животных, получавших только ЛПС. Одновременно увеличивается концентрация α -токоферола в плазме на 81,9% ($p < 0,05$), в то

время как активность каталазы в эритроцитах уменьшается на 13,5% ($p < 0,05$). После введения мелатонина также отмечается снижение уровня гомоцистеина в плазме крови на 40,9% ($p < 0,05$) в сравнении с группой кроликов, получавших лишь ЛПС.

Результаты наших исследований показывают, что мелатонин влияет на кислородсвязывающие свойства крови (повышает СГК), снижает образование NO (судя по уровню нитрат/нитритов) и уменьшает дисбаланс прооксидантно-антиоксидантного состояния, подавляя окислительные нарушения, возникающие через 12 часов после введения ЛПС.

Влияние эритропоэтина на кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние у кроликов через 12 часов после введения липополисахарида

Использование ЭПО уменьшает нарушения кислотно-основного состояния, повышая pH на 1,14% ($p < 0,05$), а также увеличивая значения HCO_3^- на 19,8% ($p < 0,05$), TCO_2 на 18,8% ($p < 0,05$), ABE на 32,2% ($p < 0,05$), SBE на 29,2% ($p < 0,05$), SBC на 18,7% ($p < 0,05$) по отношению к группе животных, получавших только ЛПС. Инъекция ЭПО перед ЛПС улучшает показатели КТФ крови, увеличивая значения CvO_2 на 30,6% ($p < 0,05$), SO_2 на 21,6% ($p < 0,05$) и pO_2 на 22,4% ($p < 0,05$). После введения ЭПО параметр $\text{p50}_{\text{реал}}$ снижается на 7,2% ($p < 0,05$), что отражает повышение СГК и, соответственно, отклонение КДО при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры, в то время как показатель $\text{p50}_{\text{станд}}$ повышается на 5,6% ($p < 0,05$) в сравнении с группой кроликов, получавших только ЛПС. Введение ЭПО и ЛПС приводит к снижению содержания нитрат/нитритов на 37,6% ($p < 0,05$).

Использование ЭПО перед ЛПС уменьшает содержание продуктов ПОЛ в исследуемых тканях. В частности, отмечается снижение уровня ДК на 16,6% ($p < 0,05$) в аорте, на 15,1% ($p < 0,05$) в сердце, на 20,4% ($p < 0,05$) в легких, а также МДА на 17,7% ($p < 0,05$) в сердце в сравнении с группой животных, получавших лишь ЛПС. Введение ЭПО снижает также активность свободнорадикальных процессов в крови. Так, уровень ДК уменьшается в плазме на 41,3% ($p < 0,05$) и в эритроцитах на 9,1% ($p < 0,05$), а МДА – на 26,1% ($p < 0,05$) в плазме по отношению к группе животных, получавших только ЛПС.

Одновременно наблюдается повышение уровня факторов антиоксидантной защиты в аорте, сердце, легких, печени и почках. После введения ЭПО и ЛПС увеличивается концентрация α -токоферола в аорте на 14,5% ($p < 0,05$), в сердце на 54,4% ($p < 0,05$), в легких на 12,0% ($p < 0,05$) и в почках на 15,2% ($p < 0,05$) по отношению к группе кроликов, которым вводили только ЛПС. Активность каталазы в данных условиях повышается в аорте с $1,6 \pm 0,15$ до $2,7 \pm 0,11$ ммоль H_2O_2 /мин/г белка ($p < 0,05$), в сердце с $2,3 \pm 0,33$ до

3,1±0,13 ммоль H₂O₂/мин/г белка (p<0,05), в легких с 1,2±0,23 до 2,7±0,15 ммоль H₂O₂/мин/г белка (p<0,05), в печени с 1,9±0,25 до 2,7±0,13 ммоль H₂O₂/мин/г белка (p<0,05) и в почках с 3,0±0,19 до 3,8±0,18 ммоль H₂O₂/мин/г белка (p<0,05) в сравнении с группой животных, получавших только ЛПС. Наблюдается также увеличение содержания α-токоферола в плазме на 86,5% (p<0,05), тогда как в эритроцитах происходит уменьшение активности каталазы.

После введения ЭПО и ЛПС выявлено снижение уровня гомоцистеина в плазме крови с 10,97±0,89 до 6,59±0,64 мкмоль/л (p<0,05) по отношению к группе кроликов, которым вводили лишь ЛПС.

Таким образом, введение ЭПО за 30 минут до инъекции ЛПС предупреждает развитие признаков метаболического ацидоза, улучшает показатели КТФ крови, повышает СГК, снижает активность свободнорадикальных процессов, увеличивает содержание антиоксидантных факторов защиты, уменьшает прирост нитрат/нитритов и гомоцистеина через 12 часов после введения ЛПС.

Эффект 1-метилникотинамида на кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние у кроликов через 12 часов после введения липополисахарида

Использование МНА уменьшает нарушения кислородсвязывающих свойств крови, вызванные введением ЛПС. При этом наблюдается повышение рН на 0,76% (p<0,05), рСО₂ на 14,4% (p<0,05), НСО₃⁻ на 29,7% (p<0,05), ТСО₂ на 29,1% (p<0,05), АВЕ на 39,2% (p<0,05), SBE на 35,8% (p<0,05), SBC на 21,3% (p<0,05) по отношению к группе животных, получавших только ЛПС. Применение МНА перед инъекцией ЛПС также способствует увеличению SO₂ на 14,5% (p<0,05), рO₂ на 14,0% (p<0,05). Введение МНА приводит к снижению р50_{реал} на 7,9% (p<0,05) в сравнении с группой кроликов, получавших только ЛПС, повышению СГК и, соответственно, отклонению КДО при реальных рН, рСО₂ и температуры. Использование МНА снижает уровень нитрат/нитритов на 45,4% (p<0,05) по отношению к группе животных, которым вводили лишь ЛПС.

После введения МНА содержание ДК и концентрация МДА уменьшаются в аорте, сердце, легких, печени и почках (таблица). При этом уровень первичных продуктов ПОЛ снижается в легких на 18,1% (p<0,05) и в почках на 18,8% (p<0,05), а содержание МДА – в сердце на 35,9% (p<0,05) и в печени на 16,2% (p<0,05) в сравнении с группой животных, получавших только ЛПС.

В крови отмечается также уменьшение активности процессов ПОЛ после введения МНА по отношению к группе кроликов, получавших только ЛПС.

Таблица – Характер изменений показателей перекисного окисления липидов в тканях кроликов после введения 1-метилникотинамида и липополисахарида

Показатель		Липополисахарид	1-Метилникотинамид +липополисахарид	Критерий Манна- Уитни
n		8	8	
Диеновые конъюгаты, $\Delta D_{233}/\Gamma$	Аорта	3,2±0,13	2,3 (2,2-2,3) [#]	p<0,001
	Сердце	2,9±0,13	2,2 (2,2-2,8) [#]	p=0,021
	Легкие	2,8±0,17	2,3±0,09 [#]	p=0,031
	Печень	3,4 (3,1-4,4)	2,8±0,05 [#]	p=0,001
	Почки	3,8±0,19	3,0±0,12 [#]	p=0,012
Малоновый диальдегид, мкмоль/г	Аорта	4,0±0,11	2,6 (2,2-2,9) [#]	p<0,001
	Сердце	2,6±0,11	2,2±0,07 [#]	p=0,021
	Легкие	4,2 (3,8-4,3)	2,9±0,20 [#]	p<0,001
	Печень	1,7±0,08	1,4±0,08 [#]	p=0,041
	Почки	4,2 (4,0-4,3)	2,4±0,12 [#]	p<0,001

Примечание – Данные представлены в виде $\bar{x} \pm S_x$ при нормальном и Me (25–75%) при непараметрическом распределении; изменения статистически значимы по отношению к группе животных, получавших только липополисахарид (p<0,05) – [#] (критерий Манна-Уитни)

Так, концентрация ДК снижается на 33,2% (p<0,05) в плазме и на 8,9% (p<0,05) в эритроцитах.

Повышение уровня факторов антиоксидантной защиты отмечается во всех тканях после введения МНА перед инъекцией ЛПС, что выражается в увеличении концентрации α -токоферола в аорте на 23,1% (p<0,05) и в сердце на 57,2% (p<0,05), а также в повышении активности каталазы на 45,6% (p<0,05) в сердце, на 104,5% (p<0,05) в легких, на 49,9% (p<0,05) в печени и на 43,1% (p<0,05) в почках. Отмечается повышение содержания α -токоферола в плазме на 20,9% (p<0,05), но снижение активности каталазы в эритроцитах на 22,9% (p<0,05) по отношению к группе животных, получавших только ЛПС.

При исследовании концентрации гомоцистеина в плазме крови установлено, что введение МНА снижает его уровень на 44,3% (p<0,05) в сравнении с группой кроликов, получавших лишь ЛПС.

Таким образом, введение МНА уменьшает нарушения, индуцированные ЛПС. Его применение улучшает показатели КТФ крови, снижает активность процессов ПОЛ, содержание гомоцистеина и нитрат/нитритов, повышает уровень факторов антиоксидантной защиты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Введение липополисахарида кроликам внутривенно в дозе 500 мкг/кг приводит через 12 часов после инъекции к развитию метаболического ацидоза, уменьшению сродства гемоглобина к кислороду при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры ($p50_{\text{реал}}$ возрастает на 18,0%, $p < 0,008$), увеличению уровня гомоцистеина в плазме крови, а также активации свободнорадикальных процессов (повышение содержания диеновых конъюгатов наиболее значительно в печени, оснований Шиффа – аорте) и снижению показателей антиоксидантной системы в плазме крови и тканях (аорта, сердце, легкие, печень, почки), а также к повышению активности каталазы в эритроцитах; через 1 и 5 суток отмечается улучшение основных показателей кислородтранспортной функции крови и снижение активности свободнорадикальных процессов [2, 5, 8, 10].

2. Введение липополисахарида (500 мкг/кг, внутривенно) кроликам в условиях действия селективного ингибитора индуцибельной изоформы NO-синтазы (аминогуанидина в дозе 300 мг/кг, подкожно) сопровождается уменьшением нарушений кислотно-основного состояния (предупреждает развитие метаболического ацидоза) и сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина влево (снижение $p50$ на 6,2%, $p < 0,05$), а также снижением прироста концентрации гомоцистеина в плазме на 29,8% ($p < 0,05$), уровня диеновых конъюгатов и малонового диальдегида (наиболее выражено в печени и почках), повышением концентрации α -токоферола и активности каталазы (наиболее значимо в сердце и легких) [1, 6].

3. Мелатонин, вводимый внутрибрюшинно в дозе 4 мг/кг/сут на протяжении 3 суток перед инъекцией липополисахарида, улучшает кислородсвязывающие свойства крови, повышает сродство гемоглобина к кислороду (уменьшает $p50_{\text{реал}}$ на 13,1%, $p < 0,05$), снижает уровень гомоцистеина, а также уменьшает содержание продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов и малонового диальдегида) наиболее существенно в аорте и легких, соответственно, повышает антиоксидантные факторы (уровень α -токоферола, активность каталазы) наиболее выражено в сердце и легких, соответственно, через 12 часов после инъекции липополисахарида [6, 7, 9, 15].

4. Однократное введение эритропоэтина (1000 ЕД/кг внутрибрюшинно) через 12 часов после инъекции липополисахарида улучшает показатели транспорта кислорода кровью, повышает сродство гемоглобина к кислороду (снижает $p50_{\text{реал}}$ на 7,2%, $p < 0,05$) при реальных значениях pH, pCO_2 и

температуры, а также уменьшает уровень гомоцистеина и активность свободнорадикальных процессов в тканях и крови, в частности, содержание диеновых конъюгатов снижает наиболее значительно в печени, малонового диальдегида – в аорте, повышает содержание α -токоферола наиболее выражено в печени, активность каталазы – в легких [4, 6, 11, 12].

5. Внутривенное введение 1-метилникотинамида в дозе 50 мг/кг улучшает показатели кислотно-основного состояния крови, повышает сродство гемоглобина к кислороду ($p50_{\text{реал}}$ снижается на 7,9%, $p < 0,05$), уменьшает активность процессов перекисного окисления липидов (наиболее существенно в аорте – содержание диеновых конъюгатов, в почках – малонового диальдегида), увеличивает уровень факторов антиоксидантной защиты (наиболее значимо в сердце концентрацию α -токоферола на 57,2% ($p < 0,05$) и в легких активность каталазы на 104,5% ($p < 0,05$)), а также снижает содержание гомоцистеина в плазме крови на 44,3% ($p < 0,05$) через 12 часов после инъекции липополисахарида [3, 13, 14].

6. Аминогуанидин, мелатонин, эритропозтин и 1-метилникотинамид, повышая сродство гемоглобина к кислороду и уменьшая, тем самым, поток кислорода в ткани, снижает сдвиг прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону активации свободнорадикальных процессов и предупреждает окислительные повреждения различных тканей, вызываемые липополисахаридом, что может быть основой для коррекции его эффектов [1, 2, 3, 6].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Полученные результаты являются научной предпосылкой для разработки новых способов регуляции кислородтранспортной функции крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса организма в условиях действия липополисахарида.

Выявленные эффекты аминогуанидина, мелатонина, эритропозтина и 1-метилникотинамида обосновывают новые пути коррекции состояний, сопровождающихся нарушением кислородсвязывающих свойств крови, процессов перекисного окисления липидов и факторов антиоксидантной системы (рац. предложение «Способ защиты от развития окислительного стресса» рег. № 1530 от 04.09.2009, рац. предложение «Способ уменьшения окислительных повреждений, вызванных действием липополисахарида» рег. № 1529 от 04.09.2009, заявка на изобретение № а 20091181 от 03.08.2009 «Средство для уменьшения окислительных повреждений»).

Полученные результаты данного исследования используются в учебном процессе на кафедрах нормальной физиологии Гродненского государственного

медицинского университета и Белорусского государственного медицинского университета, кафедре зоологии и физиологии Гродненского государственного университета им. Я. Купалы, внедрены в научную работу ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» и ГУ НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси».

Список публикаций соискателя по теме диссертации

Статьи в научных журналах

1. Шульга, Е.В. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние организма в условиях коррекции L-аргинин-NO системы / Е.В. Шульга // Журнал ГрГМУ. – 2009. – № 2. – С. 49–51.

2. Шульга, Е.В. Кислородтранспортная функция крови и свободнорадикальные процессы у кроликов после введения липополисахарида / Е.В. Шульга, В.В. Зинчук // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2009. – № 4. – С. 38–43.

3. Шульга, Е.В. Эффект 1-метилникотинамида на кислородтранспортную функцию крови и свободнорадикальные процессы при введении липополисахарида / Е.В. Шульга, В.В. Зинчук // Новости медико-биологических наук. – 2009. – № 3. – С. 17–22.

4. Зинчук, В.В. Влияние эритропоэтина на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние у кроликов при введении липополисахарида / В.В. Зинчук, Е.В. Шульга, И.Э. Гуляй // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2010. – Т. 96, № 1. – С. 43–49.

Статьи в сборниках и материалах конференций

5. Шульга, Е.В. Механизм транспорта кислорода кровью в течение 5 суток после введения липополисахарида / Е.В. Шульга, М.В. Щербачевич // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: материалы V международной научно-практической конференции, Витебск, 22–23 мая 2008 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: Сидоренко Г.И. [и др.]. – Витебск, 2008. – С. 107–110.

6. Зинчук, В.В. Коррекция гипоксических состояний, вызванных действием липополисахарида / В.В. Зинчук, Е.В. Шульга, И.Э. Гуляй // Закономерности развития патологических состояний и их коррекция: материалы междунар. конф., Минск, 27–28 окт. 2009 г. / Ин-т физиологии НАН Беларуси ; под ред. проф. В.С. Улащика, В.А. Кульчицкого. – Минск: Бизнесофсет, 2009. – С. 82–85.

7. Мелатонин как модификатор кислородтранспортной функции крови / В.В. Зинчук, С.С. Глуткин, Е.В. Шульга, И.Э. Гуляй // Актуальные проблемы медицины: материалы междунар. конф., Гродно, 17 дек. 2009 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В.М. Шейбак (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2009. – С. 291–294.

8. Шульга, Е.В. Характер изменений свободнорадикальных процессов в течение первых пяти суток после введения липополисахарида / Е.В. Шульга, М.В. Щербачевич // Научно-практическая конференция студентов и молодых ученых, посвященная памяти профессора В.Ч. Бржеского: материалы конф., Гродно, 10–11 апр. 2008 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: П.В. Гарелик [и др.]. – Гродно, 2008. – С. 219–220.

9. Shulha, K.V. Effects of melatonin on blood oxygen transport mechanism after injection of lipopolysaccharide / K.V. Shulha, M.V. Shcherbachevich // Fourth international scientific students' conference of medical students and young doctors: abstracts, Bialystok, 15–16 May 2008 / Acad. Med. in Bialystok ; chairs J. Gorski [et al.]. – Bialystok, 2008. – P. 58.

10. Шульга, Е.В. Изменение активности свободнорадикальных процессов в печени на протяжении первых пяти суток после введения липополисахарида / Е.В. Шульга, И.Э. Гуляй, М.В. Щербачевич // «Актуальные вопросы гепатологии»: материалы 7-го международного симпозиума гепатологов Беларуси, Витебск, 5–6 июня 2008 г. : в 2 т. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В.М. Цыркунов (отв. ред.) [и др.]. – Гродно: ГрГМУ, 2008. – 2 т. – С. 227–228.

11. Шульга, Е.В. Эффект эпофита на содержание нитрат/нитритов при введении липополисахарида / Е.В. Шульга, М.В. Щербачевич // Научно-практическая конференция студентов и молодых ученых ГрГМУ, посвященная памяти профессора Н.И. Аринчина: материалы конф., Гродно, 16–17 апр. 2009 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: П.В. Гарелик [и др.]. – Гродно, 2009. – С. 351–352.

12. Шульга, Е.В. Влияние эритропоэтина на кислородтранспортную функцию крови при окислительном стрессе / Е.В. Шульга, И.Э. Гуляй // Гемореология и микроциркуляция (от функциональных механизмов в клинику): материалы межд. научн. конф., Ярославль, 12–15 июня 2009 г. / ГОУ ВПО «Яросл. гос. пед. ун-т им. К.Д. Ушинского»; орг. ком. А.В. Муравьев [и др.]. – Ярославль, 2009. – С. 155.

13. Влияние мелатонина и 1-метилникотинамида на кислородтранспортную функцию крови при окислительном стрессе / В.В. Зинчук, Е.В. Шульга, Е.М. Дорошенко, А.В. Наумов // Механизмы функционирования висцеральных систем: материалы VII Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 160-летию со дня рождения И.П. Павлова, Санкт-Петербург, 29 сент.–02 окт. 2009 г. / Спб.: Ин-т физиологии им. И.П. Павлова РАН ; отв. редакторы: А.Д. Ноздрачев, Е.Л. Поляков. – Санкт-Петербург, 2009. – С. 171.

14. Zinchuk, V.V. Correction of blood oxygen transport mechanisms during

oxidative stress / V.V. Zinchuk, K.V. Shulha // Reactive oxygen species, nitric oxide, antioxidants and human health: Conference book of 6-th National Scientific Practical Conference with international Participation, Smolensk, 14–18 September 2009 / Smolensk State Med. Academy. – Smolensk: Smolenskooblgaz, 2009. – P. 85–86.

15. Шульга, Е.В. Влияние мелатонина на прооксидантно-антиоксидантный баланс в печени через 12 часов после введения липополисахарида / Е.В. Шульга, И.Э. Гуляй, В.В. Зинчук // Актуальные вопросы гепатологии: эксперим. гепатология. Терапевт. гепатология. Хирург. гепатология: материалы 8-го международного симпозиума гепатологов Беларуси, Могилев, 1–2 окт. 2009 г. / редкол.: В.М. Цыркунов (отв. ред.) [и др.]. – Минск: Тесей, 2009. – С. 128–130.



РЭЗІЮМЭ

Шульга Кацярына Уладзіміраўна

Рэгуляцыя кіслародзвязываючых ўласцівасцей крыві і прааксідантна-антыаксідантнага балансу тканак амінагуанідынам, мелатанінам, эрытрапаэтынам і 1-метылнікатынамідам ва ўмовах дзеяння ліпаполісахарыду

Ключавыя словы: кроў, монааксід азоту, вольнарадыкальныя працэсы, ліпаполісахарыд, амінагуанідын, мелатанін, эрытрапаэтын, 1-метылнікатынамід.

Мэта працы: на аснове ўстанаўлення характару змянення кіслародзвязываючых ўласцівасцей крыві, актыўнасці вольнарадыкальных працэсаў і фактараў антыаксідантнай аховы ў тканках трусаў пасля ўвядзення ліпаполісахарыду выявіць магчымасць іх рэгуляцыі пры даламозе амінагуанідыну, мелатаніну, эрытрапаэтыну і 1-метылнікатынаміду.

Метады даследавання: фізіялагічныя, спектрафотаметрычныя, флуарыметрычныя, храматаграфічныя.

Выкарыстаная апаратура: мікрагазааналізатар «Syntesis-15», спектрафотометр «СФ-46», спектрафотометр «Solar» PV1251C, спектрафлуарыметр F-4010 «Hitachi», храматограф «Agilent 1100».

Атрыманыя вынікі і іх навізна: ліпаполісахарыд, уводзімы ўнутрывенна ў дозе 500 мкг/кг, прыводзіць праз 12 гадз. пасля ін'екцыі да развіцця метабалічнага ацыдозу, зніжэння роднасці гемаглабіну да кіслароду пры рэальных значэннях рН, рСО₂ і тэмпературы, павышэння ўзроўню нітрат/нітрытаў і гомацыстэіну ў плазме крыві, а таксама дысбалансу прааксідантна-антыаксідантнай раўнавагі ў крыві і тканках (аорце, сэрцы, легкіх, печані, нырках). Выяўлены новыя рэгуляторныя эфекты амінагуанідыну, мелатаніну, эрытрапаэтыну і 1-метылнікатынаміду, якія праяўляюцца ў паляпшэнні паказчыкаў кіслотна-асноўнага стану і транспарту кіслароду крывею, змяшчэнні крывой дысацыяцыі аксігемаглабіну ўлева, павышэнні антыаксідантнай аховы і зніжэнні актыўнасці працэсаў перакіснага акіслення ліпідаў, акісляльных парушэнняў праз 12 гадз. пасля ўвядзення ліпаполісахарыду.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: вынікі працы дазваляюць выкарыстоўваць амінагуанідын, мелатанін, эрытрапаэтын і 1-метылнікатынамід для рэгуляцыі кіслародзвязываючых ўласцівасцей крыві і прааксідантна-антыаксідантнага балансу ва ўмовах дзеяння ліпаполісахарыду.

Галіна выкарыстання: кафедры нармальнай і паталагічнай фізіялогіі, біяхіміі; навукова-даследчыя ўстановы.

РЕЗЮМЕ

Шульга Екатерина Владимировна

Регуляция кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса тканей аминокуанидином, мелатонином, эритропозтином и 1-метилникотинамидом в условиях действия липополисахарида

Ключевые слова: кровь, монооксид азота, свободнорадикальные процессы, липополисахарид, аминокуанидин, мелатонин, эритропозтин, 1-метилникотинамид.

Цель работы: на основе установления характера изменений кислородсвязывающих свойств крови, активности свободнорадикальных процессов и факторов антиоксидантной защиты в тканях кроликов после введения липополисахарида выявить возможность их регуляции с помощью аминокуанидина, мелатонина, эритропозтина и 1-метилникотинамида.

Методы исследования: физиологические, спектрофотометрические, флуориметрические, хроматографические.

Использованная аппаратура: микрогазоанализатор «Syntesis-15», спектрофотометр «СФ-46», спектрофотометр «Solar» PV1251C, спектрофлуориметр F-4010 «Hitachi», хроматограф «Agilent 1100».

Полученные результаты и их новизна: липополисахарид, вводимый внутривенно в дозе 500 мкг/кг, приводит через 12 ч после инъекции к развитию метаболического ацидоза, уменьшению сродства гемоглобина к кислороду при реальных значениях рН, рСО₂ и температуры, увеличению уровня нитрат/нитритов и гомоцистеина в плазме крови, а также дисбалансу прооксидантно-антиоксидантного равновесия в крови и тканях (аорте, сердце, легких, печени, почках). Выявлены новые регуляторные эффекты аминокуанидина, мелатонина, эритропозтина и 1-метилникотинамида, проявляющиеся в улучшении показателей кислотно-основного состояния и транспорта кислорода кровью, смещении кривой диссоциации оксигемоглобина влево, повышении антиоксидантной защиты и уменьшении активности процессов перекисного окисления липидов, окислительных нарушений через 12 ч после введения липополисахарида.

Рекомендации по использованию: результаты работы позволяют использовать аминокуанидин, мелатонин, эритропозтин и 1-метилникотинамид для регуляции кислородсвязывающих свойств крови, прооксидантно-антиоксидантного баланса в условиях действия липополисахарида.

Область применения: кафедры нормальной и патологической физиологии, биохимии; научно-исследовательские учреждения.

SUMMARY

Shulga Katerina Vladimirovna

Regulation of oxygen-carrying properties of blood and prooxidant-antioxidant balance of tissues by aminoguanidine, melatonin, erythropoietin and 1-methylnicotinamide during the action of lipopolysaccharide

Key words: blood, nitric oxide, free radical processes, lipopolysaccharide, aminoguanidine, melatonin, erythropoietin, 1-methylnicotinamide.

Purpose of the research: on the basis of the determined character of changes of oxygen-carrying properties of blood, free radical processes activity and factors of antioxidant protection in tissues of rabbits after lipopolysaccharide injection to reveal a possibility of their regulation by means of aminoguanidine, melatonin, erythropoietin and 1-methylnicotinamide.

Methods of investigation: physiological, spectrophotometric, fluorimetric, chromatographic.

Equipment used: microgasanalyzer «Syntesis-15», spectrophotometer "SF-46", spectrophotometer «Solar» PV1251C, spectrofluorimeter F-4010 «Hitachi», chromatograph «Agilent 1100».

Obtained results and their novelty: lipopolysaccharide administered intravenously in a dose 500 mkg/kg results in the development of metabolic acidosis, the reduction of hemoglobin-oxygen affinity at real values pH, pCO₂ and temperature, the increase of nitrate/nitrite and homocysteine levels in blood plasma, as well as the disturbance of prooxidant-antioxidant balance in blood and tissues (aorta, heart, lungs, liver, kidneys) 12 hr after an injection. New regulated effects of aminoguanidine, melatonin, erythropoietin and 1-methylnicotinamide have been revealed. The effects are manifested in improved parameters of the acid-basic state and blood oxygen transport, oxyhemoglobin dissociation curve shift to the left, increase of antioxidant protection and reduction of lipid peroxidation processes activity, oxidative disturbances in 12 hr after lipopolysaccharide injection.

Proposal on application: the results of study allow to use aminoguanidine, melatonin, erythropoietin and 1-methylnicotinamide for regulation of oxygen-carrying properties of blood, prooxidant-antioxidant balance during the action of lipopolysaccharide.

Area of application: the department of normal physiology, the department of pathophysiology, the department of biochemistry; scientific research establishments.