

ЛЕЧЕНИЕ ИШЕМИИ МИОКАРДА МЕТОДОМ ВЛОК СОПРОВОЖДАЕТСЯ ЭРИПТОЗОМ И ПРОЛИФЕРАЦИЕЙ ЛИМФОЦИТОВ

Акулич Н.В.¹, Воропаева Д.И.², Марочков А.В.², Сорока А.В.²,
Тарасова Е.А.², Сяхович В.Э.¹, Беляев С.А.¹

¹ Национальная антидопинговая лаборатория,

² МГУ имени А.А. Кулешова, Могилев

akulich_n@antidoping.by

Распространение методики внутрисосудистого лазерного облучения крови (ВЛОК) за пределы стран бывшего СССР привлекло региональные, прежде всего азиатские медицинские и научные центры. Предметом исследования выступают не только спектральные, но и цитологические особенности крови. Установлено, что, с одной стороны, ВЛОК вызывает апоптоз лимфоцитов, снижение концентрации гемоглобина, увеличение сигнала бокового светорассеяния [1], что, согласно руководствам по гематологии, связано с увеличением концентрации гемоглобина в эритроците. С другой – облучение He-Ne лазером (длина волны 660 нм, 1,6 J/cm³) на 11, 14, 21 день хранения эритроцитов в консерванте SAGM приводило к снижению патологических форм красных кровяных телец, образующихся после 3-недельного хранения крови [2].

Таким образом, *цель исследования* – сравнительный анализ реакции эритроцитов и лимфоцитов периферической крови пациентов с ишемической болезнью сердца, курсовое применение внутрисосудистого лазерного облучения крови.

Исследования проведены на группе из 24 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС). Группа рандомизирована по возрасту, полу, диагнозу и лечению. В контрольную группу входили здоровые добровольцы мужского пола. Сеансы ВЛОК проводили в отделении детоксикации УЗ «Могилевская областная больница» при помощи прибора лазерной терапии ОК-1 (длина волны 632 нм). Экспозиция – 40-45 мин, курс лечения состоял из 5 ежедневных сеансов. Анализ эритроцитов и лейкоцитов реализован на микроскопе проходящего света (AxioImager A1, Германия), объектив Plan-Neofluar 100×1,3 Oil с видеокамерой «AxioCam Mrc5» (Германия), цитофлуориметре CellLab Quanta SC (Beckman Coulter, США) и сортере FacsAria (BD Bioscience, США) по протоколам фирм производителей. Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов.

У всех пациентов с ИБС до проводимого лечения выявлены признаки дыхательного ацидоза. После каждого из сеансов отмечалась нормализация кислотно-щелочного состояния как у пациентов с клинически значимым эффектом ВЛОК, так и у тех пациентов, у которых терапия

оказалась неэффективной. Рост рН ($p < 0,02$) коррелировал со снижением фракции ННб (с $53,62 \pm 19,53$ до $28,82 \pm 16,76$), ростом фракции $O_2Нб$ и снижением параметра p_{50} (с $29,69 \pm 3,36$ до $26,53 \pm 1,59$). Гематокрит (Ht) у пациентов с ИБС до лечения составлял 50,63%, а по окончании лечения – 46,8%. Снижение Ht сопровождалось снижением MCV, увеличением бокового светорассеяния у пациентов с клинически значимым эффектом ВЛОК, а у пациентов без такового – отсутствием статистически значимых изменений дифрактометрических характеристик эритроцитов на протяжении всего курса лечения.

Для более точной оценки субпопуляций эритроцитов была проведена их сортировка с последующим анализом при помощи проточной цитометрии и световой микроскопии. Установлено, что среди эритроцитов, имевших высокие значения бокового светорассеяния, преобладали (84%) сфероциты, имевшие экстернализацию фосфатидилсерина, что указывает на развитие запрограммированной гибели эритроцитов (эриптоз). На следующий день перед проведением сеанса доля Annexin V-позитивных сфероцитов находилась в пределах исходного (до лечения) уровня и составляла $6,15 \pm 0,21\%$.

Исследование спонтанного апоптоза лимфоцитов при воздействии ВЛОК выявило пятикратный рост процентного содержания лимфоцитов, имеющих признаки позднего апоптоза как у пациентов с клинически значимым эффектом ВЛОК, так и у тех пациентов, у которых терапия оказалась неэффективной.

До лечения лимфоциты пациентов ИБС не имели особенностей в содержании ДНК и большую часть популяции составили покоящиеся клетки.

В середине курса количество делящихся клеток, находящихся в S и G2 фазах, выросло и составляло $47,69 \pm 5,72$ и $2,84 \pm 1,19\%$, соответственно. Встречались моноклеары с гиподиплоидным количеством ДНК.

После окончания лечения пациентов с ишемической болезнью сердца методом внутривенного лазерного облучения крови количество лимфоцитов в S и G2 фазах составило $\approx 58\%$, а доля клеток, имевших разрывы ДНК, – $4,92 \pm 0,99\%$. Такая курсовая динамика количества ДНК лимфоцитов была характерна и для пациентов с клинически значимым эффектом ВЛОК, и пациентов, у которых терапия оказалась неэффективной.

Таким образом, курсовое применение внутрисосудистого лазерного облучения крови состоит в фазных изменениях как минимум в красном и белом кровяных ростках крови. Эффективность лечения ишемической болезни сердца методом ВЛОК прямо пропорционально зависит от количества сфероцитов, образующихся после сеанса.

В результате проведенного анализа установлено, что курсовое применение ВЛОК у пациентов с ИБС приводило к усилению пролиферации лимфоцитов в сочетании с незначительным ростом моноклеаров, имевших разрыв ДНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акулич Н. В. Эффективность терапевтического воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения у пациентов с ишемической болезнью сердца // Известия НАН Беларуси. – 2014. – № 1. – С. 57-62.
2. Dobre A. M., Mateescutusa I., Bratosin D., Siposan D. Flow cytometric evaluation of low intensity laser action on human red blood cells (RBCs) viability stored in SAGM medium for 3 weeks // Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. – 2010. – Vol. 10, № 1. – P. 231-241.

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА В СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ НАРАСТАЮЩЕЙ ГИПОКИНЕЗИИ И ПОСЛЕДУЮЩЕМ ВОССТАНОВЛЕНИИ: ЭПР ИССЛЕДОВАНИЕ

Андрианов В.В.^{1,2}, Зарипова Р.И.², Яфарова Г.Г.^{1,2,3},
Хабибрахманов И.И.², Ильясов А.В.¹, Июдин В.С.¹, Юртаева С.В.¹,
Ситдилов Ф.Г.², Зефилов Т.Л.², Гайнутдинов Х.Л.^{1,2}

¹ Казанский физико-технический институт КазНЦ РАН,

² Казанский (Приволжский) федеральный университет,

³ ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань, Россия

slava_snail@yahoo.com

Гипокинезия (ограничение двигательной активности) является одной из важнейших медико-социальных проблем, вызванных образом жизни, профессиональной деятельностью, длительным постельным режимом и т. д. О разрушительном действии, которое гипокинезия (ГК) оказывает практически на все органы и системы организма, свидетельствует обширный убедительный экспериментальный и клинический материал [1]. При ГК происходит уменьшение нагрузки на мышечный аппарат, что приводит к изменениям функциональных и морфологических свойств тканей, вплоть до патологических состояний в зависимости от продолжительности и степени ГК [2]. Снижение физической активности неизбежно ведет к детренированности скелетных мышц, уменьшению мышечной массы и снижению биосинтеза белков и энергетических процессов. Существенно уменьшаются потребление тканями кислорода и активность окислительных процессов. В результате изменяется обмен жиров и углеводов в крови. Продолжительное пребывание в условиях ГК вызывает разнообразные изменения водно-электролитного обмена и механизмов его регуляции: изменяется концентрационная способность почек, развивается отрицательный баланс калия и кальция. Развивается атрофия скелетных мышц с уменьшением мышечной силы. Отмечается перестройка нейрогуморальных регуляций вегетативно-висцеральных функций, особенно сердечно-сосудистой системы [1, 2]. Длительная ГК

вызывает существенные изменения сократительной функции мышцы сердца. При этом выявляется увеличение периода напряжения (в основном за счет нарастания фазы изометрического сокращения), уменьшение периода изгнания, т. е. появляются признаки фазового синдрома гиподинамии сердца. Все эти явления неминуемо ведут к серьезному ухудшению снабжения тканей кислородом, то есть к гипоксии [2].

На сегодняшний день значимым направлением физиологических исследований является изучение роли оксида азота (NO) в деятельности сердечно-сосудистой, нервной и других системах организма [3]. Эффекты NO в сердечно-сосудистой системе многогранны. Прежде всего NO – мощный сосудорасширяющий агент, а в миокарде NO модулирует пейсмекерные и кальциевые токи. В сердечно-сосудистой системе NO контролирует сосудистый тонус, артериальное давление, пролиферацию эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудистой стенки. Установлено, что NO ухудшает протекание инфаркта миокарда, кроме того, NO и пероксинитрит могут непосредственно повреждать ДНК [4]. В то же время есть и противоположная точка зрения, согласно которой избыток NO служит компенсаторным фактором [3]. Исходя из этого, целью исследования явилось изучение возможного изменения продукции NO в тканях сердца крыс, которые содержались в условиях нарастающей ГК в течение 60 суток.

Наш коллектив изучал содержание NO в тканях крыс методом ЭПР спектроскопии с применением методики спиновых ловушек. В качестве спиновой ловушки был применен комплекс Fe^{2+} с диэтилдитиокарбаматом $(\text{ДЭТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$. Этот комплекс характеризуется легко распознаваемым спектром ЭПР с триплетной сверхтонкой структурой [5]. Регистрация приготовленных образцов проводилась на спектрометре ЭПР EMX/plus X-диапазона фирмы "Брукер". Установлено, что ГК крыс в течение 60 суток приводит к увеличению содержания NO в тканях сердца (в 2 раза). Полученные результаты показывают, что ГК в течение длительного времени приводит к усилению продукции NO в тканях крыс. Поскольку наша модель состоит из двух компонент – непосредственно ГК и стресса от применяемых процедур, – это означает, что существуют NO-зависимые механизмы реакции организма к ГК и иммобилизационному стрессу. Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о наличии тесных связей уровня NO в организме с режимом двигательной активности. Поскольку рассмотрение данных литературы показывает, что ГК вызывает значительные изменения в сердечно-сосудистой системе, во внутренних органах, в системе кровотока и снабжения организма кислородом, можно предположить, что часть этих изменений вызвана стационарным увеличением продукции NO в ключевых для деятельности организма тканях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев А. И., Козловская И. Б., Шенкман Б. С. Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы // Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2004. – Т. 90, № 5. – С. 508-521.
2. Козловская И. Б., Киренская А. В. Механизмы нарушений характеристик точностных движений при длительной гипокинезии // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2003. – Т. 89, № 3. – С. 247-258.
3. Реутов В. П., Охотин В. Е., Шуклин А. В. и др. Оксид азота и цикл в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты // Успехи физиол. наук. – 2007. – Т. 38, № 4. – С. 39-58.
4. Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // Physiol. Rev. – 2007. – Vol. 87. – P. 315-427.
5. Vanin A. F., Huisman A., Van Faassen E. E. Iron dithiocarbamate as spin trap for nitric oxide detection: pitfalls and successes // Methods in Enzymology. – 2003. – Vol. 359. – P. 27-42.

ПАРАМЕТРЫ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ ОКСИ-ТЕСТА У СТУДЕНТОВ С РАЗНЫМ ХРОНОТИПОМ

Балбатун О.А., Емельянчик Ю.М.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

dpfizio@mail.ru

В доступной литературе имеются единичные работы, характеризующие околосуточную динамику дыхательной системы [2, 3]. Частота развития спонтанных нарушений дыхательного ритма не различается у представителей разного хронотипа [3]. Обструктивные нарушения дыхания во время ночного сна чаще возникают у представителей утреннего хронотипа [5]. Отсутствуют общепринятая характеристика параметров внешнего дыхания и данные об изменении насыщения гемоглобина кислородом при задержке дыхания у представителей разного хронотипа.

Цель работы: выявить различия в параметрах внешнего дыхания и гипоксической устойчивости, по данным окси-теста у студентов с разным хронотипом.

В исследовании приняли участие 47 практически здоровых студентов мужского пола 3 курса Гродненского государственного медицинского университета в возрасте от 19 до 24 лет. Тип хронотипа оценивали в баллах с помощью опросника Хорна-Остберга. По результатам тестирования испытуемых относили к утреннему хронотипу («жаворонки»), n=9; вечернему хронотипу («совы»), n=18 человек; асинхронному хронотипу («голуби»), n=20. При помощи полианализатора ПА 5.01 определяли параметры внешнего дыхания: минутный объем дыхания (МОД, л/мин), частоту дыхания (ЧД, дых/мин), дыхательный объем (ДО, л), продолжительность

фазы выдоха (Твыд, с), продолжительность фазы вдоха (Твд, с), жизненную ёмкость лёгких (ЖЕЛ, л), должную жизненную ёмкость лёгких (ДЖЕЛ, л), резервный объём вдоха (Ровд, л), резервный объём выдоха (Ровыд, л), форсированную жизненную ёмкость лёгких (ФЖЕЛ, л), объём форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1, л/с), максимальную объёмную скорость воздушного потока при форсированном выдохе (СКвыд, л/с). Рассчитывали отношение Твыд/Твд (ДКВ), ЖЕЛ/ДЖЕЛ*100% и коэффициент Тиффно (Т) по формуле: ОФВ1/ФЖЕЛ*100%. По результатам окси-теста изучали исходный уровень оксигемоглобина крови (Нач, %), уровень оксигемоглобина после 45 с задержки дыхания (Тек, %), минимальный уровень оксигемоглобина в результате задержки дыхания (Мин, %), время кровотока на участке легкие-ухо (Ткр, с) и время восстановления кровотока после задержки дыхания к исходному уровню (Твос, с). Выполняли пробы Штанге и Генча. Производили статистическую обработку результатов с использованием пакета STATISTICA.

Большинство параметров внешнего дыхания достоверно не различалось в группах с разным хронотипом, что свидетельствует об их значительной устойчивости у здоровых испытуемых. Обнаружено увеличение Ровд, ЖЕЛ и отношения ЖЕЛ/ДЖЕЛ*100% у студентов с утренним хронотипом по сравнению с вечерним хронотипом. При проведении корреляционного анализа выявлена достоверная взаимосвязь балла хронотипа по тесту Хорна-Остберга и ЖЕЛ (коэффициент корреляции Спирмена $R=-0,2912$, $p=0,0470$), балла хронотипа и отношения ЖЕЛ/ДЖЕЛ*100% ($R=-0,3282$, $p=0,0242$), балла хронотипа и Ровд ($R=-0,3567$, $p=0,0138$), балла хронотипа и ФЖЕЛ ($R=-0,2769$, $p=0,0494$).

Установлено значительное увеличение времени восстановления кровотока (достижение насыщения гемоглобина O_2 до уровня, зарегистрированного перед задержкой дыхания в течение 45 с) на участке легкие – ухо у утреннего хронотипа. Вероятно, увеличение Твос у жаворонков связано с высокой степенью напряженности функционирования кардиореспираторного аппарата в условиях гипоксической нагрузки. Эти данные согласуются с отмечаемой многими авторами большей вероятностью развития сердечно-сосудистой патологии у утреннего хронотипа [1, 4]. Выявлено достоверное увеличение длительности пробы Штанге у студентов с утренним хронотипом.

Результаты исследования позволяют предположить, что большинство параметров внешнего дыхания в покое достоверно не отличаются в группах с различным хронотипом. Обнаружено увеличение Ровд, ЖЕЛ у студентов с утренним хронотипом. Дыхательный паттерн (Твд, Твыд и ДКВ), а также объемная скорость воздушного потока при форсированном выдохе у испытуемых с разным хронотипом достоверно не различаются. По результатам окси-теста обнаружено значительное увеличение времени

восстановления кровотока на участке легкие – ухо у утреннего хронотипа после задержки дыхания в течение 45 с. Вероятно, увеличение Твос у жаворонков связано с высокой степенью напряженности функционирования кардиореспираторного аппарата в условиях гипоксической нагрузки. Таким образом, интенсивность (Ровд, ЖЕЛ) и напряженность (Твос) функционирования дыхательной системы выше у студентов с утренним хронотипом. Вечерний хронотип характеризуется низкими значениями Ровд, ЖЕЛ и большей гипоксической устойчивостью в условиях окси-теста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Путилов А. А. «Совы», «жаворонки» и другие люди. О влиянии наших внутренних часов на здоровье и характер. – Сибирское университетское издательство, 2003. – 608 с.
2. Рагозин О. Н., Балыкин М. В., Чарикова Е. И. Механизмы реагирования ритмической структуры внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой на прерывистую нормобарическую гипокситерапию // Пульмонология. – 2004. – № 2. – С. 64-67.
3. Montini L., Mercurio G., Pennisi M.A. et al. Diurnal and nocturnal shifts do not influence non-invasive ventilation outcome // Minerva Anesthesiol. – 2010. – Vol. 76, № 4. – P. 241-248.
4. Reutrakul S., Knutson KL. Consequences of Circadian Disruption on Cardiometabolic Health // Sleep Med Clin. – 2015. – Vol. 10, № 4. – P. 455-468.
5. Su M. C., Chin C. H., Chen Y. C. Diurnal change of respiratory muscle strength in patients with sleep-disordered breathing // Chang Gung Med J. – 2008. – Vol. 31, № 3. – P. 297-303.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ УРСОДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЁ C₂₃-ГОМОЛОГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ НЕАЛКОГОЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ У КРЫС

Белоновская Е.Б.

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,
Гродно

ms.belonovskaya@yandex.ru

Актуальность проблемы терапии неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) в настоящее время не вызывает сомнений в связи с его высокой распространенностью, ассоциацией с ожирением, сахарным диабетом 2 типа, а также прогрессирующим течением заболевания, что нередко приводит к развитию цирроза печени. Важная роль в развитии НАСГ принадлежит окислительному стрессу [2]. Избыточное накопление свободных жирных кислот в печени инициирует образование продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и реактивных форм кислорода,

поэтому целесообразным является назначение препаратов, обладающих антиоксидантной защитой. Особое место среди множества препаратов в терапии НАСГ занимает урсодезоксихолевая кислота (УДХК), давно применяемая для лечения заболеваний печени, сопровождающихся холестазом [1]. На сегодняшний день большой интерес привлекают синтетические производные УДХК, которые, в отличие от УДХК, имеют ещё более гидрофильные свойства, а, следовательно, меньшую токсичность. Один из них – C_{23} -гомолог УДХК (нор-УДХК) с укороченной боковой цепью.

Целью нашей работы явилось изучение антиоксидантного потенциала УДХК и его C_{23} -гомолога при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите у крыс.

Исследования проведены на крысах-самках линии Wistar с массой тела 180-200 г. Для моделирования НАСГ использовали жидкую высокожировую диету (ВЖД) Либера-ДеКарли в течение 16 недель опыта (71% жира от общего калоража) [3]. Диета была приготовлена на основе стандартной диеты Либера-Де Карли производства Ssniff Spezialdiäten GmbH (Германия). УДХК и C_{23} -гомолог УДХК вводились животным опытных групп внутривентрикулярно в дозах 40 мг/кг и 38,6 мг/кг, соответственно, в последние 4 недели эксперимента на 0,8% водном геле гидроксиметилпропилцеллюлозы. Этот же гель вводился крысам в контрольной группе в качестве плацебо. Материалом исследования были кровь и ткань печени. Проводили микроскопическое исследование, определяли активность сывороточных аланин- (АлАТ) и аспартатамино-трансфераз (АсАТ), содержание триглицеридов (ТГ) печени, оценивали интенсивность процессов ПОЛ по концентрации субстратов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), измеряли активность восстановленной формы глутатиона (GSH) и каталазы, определяли уровень наработки свободных кислородных радикалов по интенсивности хемилюминесценции в присутствии люминола (Люм-ХЛ) и люцигенина (Люц-ХЛ). Гистологическое исследование печени показало, что введение животным УДХК и C_{23} -гомолога УДХК приводило к снижению признаков стеатоза и степени воспаления в печени, что сопровождалось уменьшением относительной площади суданофильного окрашивания. УДХК и C_{23} -гомолог УДХК достоверно снижали уровень триглицеридов печени на 26,0% и 15,5%, соответственно. В группах, животные в которых получали препараты, отмечалась нормализация показателей АлАТ, в то время как на активность АсАТ они не оказывали заметного действия. Длительное потребление ВЖД приводило к изменениям, характерным для активизации процессов свободнорадикального окисления и снижения антиоксидантной защиты, доказательством чего было увеличение концентрации ТБКРС (на 44%), снижение уровня GSH (на 43%), активности каталазы (на 7%) по сравнению с показателями у животных

в контрольной группе. Введение нор-УДХК, как и УДХК, достоверно снижали уровень ТБКРС – на 41% и 31%, соответственно. Оба препарата, в большей степени нор-УДХК, достоверно снижали НАДФН-зависимую Люм-ХЛ и Люц-ХЛ. С₂₃-гомолог УДХК и УДХК повышали активность фермента антиоксидантной системы: причём нор-УДХК повышала активность каталазы в 2,6 раза, в то время как УДХК – в 1,5 раза. Концентрация GSH достоверно повышалась (в 1,1 раза) у животных, получавших нор-УДХК, в отличие от УДХК, которая не оказывала заметного действия на данный показатель.

Анализ полученных результатов позволяет сделать заключение о том, что С₂₃-гомолог УДХК в дозе, эквивалентной 40 мг/кг УДХК, так как и УДХК, оказывает положительное действие в условиях экспериментального НАСГ у крыс. В отличие от УДХК, он обладает более значительным антиоксидантным потенциалом, что указывает на целесообразность его дальнейшего изучения для использования в качестве гепатопротектора при заболеваниях печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьева И. Н. УДХК в лечении неалкогольной жировой болезни печени // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2011. – № 9. – С. 125-131.
2. Khedmat H., Taheri S. Non-alcoholic steatohepatitis: An update in pathophysiology, diagnosis and therapy // Hepatitis Monthly. – 2011. – Vol. 11, № 2. – P. 74-85.
3. Lieber C.S., DeCarli L. Animal models of chronic ethanol toxicity // Methods in Enzymology. – 1994. – Vol. 233. – P. 585-593.

ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПОЛОВОЗРЕЛОГО ПОТОМСТВА КРЫС, БЕРЕМЕННОСТЬ КОТОРЫХ ПРОТЕКАЛА В НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ

Беляева Л.Е., Федченко А.Н., Куликов В.А.

Витебский государственный медицинский университет, Витебск
lyudm.belyaeva2013@yandex.by

Увеличение образования активных форм кислорода (АФК) в материнском организме при физиологически развивающейся беременности [2] является биологически целесообразным, так как АФК посредством регуляции редокс-чувствительных генов участвуют в процессах оплодотворения, имплантации, ангиогенеза, плацентации, пролиферации и дифференцировки клеток эмбриона и плода, а также определяют время начала родов [3]. Осложненное развитие беременности характеризуется

развитием окислительного стресса в клетках и тканях не только матери, но и ее плода [4]. При этом актуально установить продолжительность периода времени, в течение которого сохраняются предпосылки для развития окислительного стресса у потомства, внутриутробное развитие которого протекало в неблагоприятных условиях.

Цель исследования – изучить интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови 3-месячных крыс, матери которых во время беременности подвергались действию экзогенной гипобарической гипоксии или хроническому непредсказуемому стрессу для последующего поиска способов коррекции выявленных нарушений в рамках темы ГПНИ РБ «Оценить отдаленные последствия пренатального стресса на тонус коронарных сосудов и обоснование способов предупреждения выявленных нарушений».

Для получения потомства в клетки были высажены по 30 беспородных 4-месячных самок и самцов крыс (1:1), находящихся в стандартных условиях вивария. После наступления беременности, о чем косвенно свидетельствовало обнаружение сперматозоидов во влагалищном мазке самки, из самок сформировали группы «контроль», «стресс» и «гипоксия» (по 10 крыс в каждой). Самок группы «стресс» во 2, 9 и 16-й дни беременности лишали пищи в течение суток, обеспечивая свободный доступ к воде; в 4-й и 11-й дни их фиксировали в вертикальном положении в пластиковом пенале, заполненном водой ($t=23\pm 2^{\circ}\text{C}$), до уровня шеи, в течение 20 мин; в 6-й и 13-й дни беременности имитировали присутствие хищника (контакт с экскрементами *Felis* в течение одних суток). Экзогенную гипобарическую гипоксию моделировали путем помещения крыс под колпак аппарата Комовского в течение 1 часа при снижении атмосферного давления до 405 мм рт. ст., что соответствовало 85 мм рт. ст. pO_2 во вдыхаемом воздухе (на 6-й и 18-й дни беременности). Интенсивность процессов ПОЛ сыворотки крови 3-месячного потомства ($n=81$) определяли посредством индукции ее хемилюминесценции (ХЛ) перекисью водорода с сульфатом железа [1]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Statistica 10.0». Характеристики частотных распределений представляли в виде M , Me (15%; 85%). Выборки с нормальным частотным распределением обрабатывали с использованием t -критерия Стьюдента; с частотным распределением, не соответствующим нормальному – с использованием U -критерия Манна-Уитни, считая различия статистически значимыми при $p<0,05$.

В сыворотке крови 3-месячных самцов, родившихся у крыс группы «стресс», светосумма вспышки ХЛ составляла 10,45; 10,38 (10,13; 10,71) мВ×с против 9,79; 9,97 (9,03; 10,32) мВ×с в сыворотке самцов, родившихся у крыс группы «контроль» ($p<0,05$). Светосумма вспышки

ХЛ сыворотки самок, перенесших пренатальный стресс, статистически значимо не отличалась от таковой сыворотки самок контрольного потомства. У потомства (самцов), родившихся у крыс группы «гипоксия», также было выявлено статистически значимое увеличение светосуммы вспышки ХЛ, интенсивности ее максимальной вспышки и тангенса угла падения кинетической кривой ХЛ, по сравнению с показателями, полученными при исследовании ХЛ сыворотки самцов, родившихся у крыс контрольной группы. У самок, матери которых перенесли гипоксию, эти показатели статистически значимо не отличались от значений, полученных у контрольного потомства аналогичного пола. Эти результаты указывают, во-первых, на наличие полового диморфизма интенсивности процессов ПОЛ, которая увеличивается у самцов, матери которых испытывали действие на организм неблагоприятных факторов во время беременности, и, во-вторых, на то, что повышенная интенсивность ПОЛ сыворотки крови у таких самцов отмечается даже в половозрелом возрасте. Повышение интенсивности ПОЛ косвенно подтверждает увеличение продукции АФК у таких организмов, что может изменять фенотипические свойства клеток благодаря появлению стойких «эпигенетических меток» [5] или способствовать повреждению клеток разных органов и тканей в результате окислительного стресса, с последующим программированием развития различных форм патологии у организмов, матери которых подвергались действию неблагоприятных факторов во время беременности.

Развитие беременности в неблагоприятных условиях способствует повышению интенсивности процессов ПОЛ в сыворотке крови их 3-месячных самцов, что может способствовать программированию развития разных форм патологии у такого потомства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Журавлев А. И. Биохемилюминесценция: сб. статей. – М. Наука, 1983.
2. Carone D., Loverro G., Greco P. et al. Lipid peroxidation products and antioxidant enzymes in red blood cells during normal and diabetic pregnancy // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1993. – Vol. 51, № 2. – P. 103-109.
3. Dennery P. A. Role of redox in fetal development and neonatal diseases // *Antioxid. Redox Signal.* – 2004. – Vol. 6, №1. – P. 147-153.
4. Miha D., Sabău L., Costin N. et al. Implications of maternal systemic oxidative stress in normal pregnancy and in pregnancy complicated by preeclampsia // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* – 2012. – Vol. 25, № 7. – P. 944-951.
5. Niu Y., DesMarais T.L., Tong Z. et al. Oxidative stress alters global histone modification and DNA methylation // *Free Radic. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 82. – P. 22-28.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА ПРИ ОСЛОЖНЕННОМ ТЕЧЕНИИ

Бердовская А.Н., Шалесная С.Я., Алещик А.Ю.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

annik0312@gmail.com

Врожденные пороки сердца (ВПС) – одна из самых частых форм пороков развития у детей. Сердечная недостаточность (СН) и легочная гипертензия (ЛГ) определяют продолжительность жизни ребенка и влияют на ее качество [1].

В норме антиоксидантная система, как правило, обеспечивает торможение свободнорадикальных процессов и инактивацию токсических продуктов окислительного стресса.

Цель исследования – оценка роли окислительного стресса в формировании дисфункции эндотелия у детей с ВПС при осложненном течении.

Наблюдались группа пациентов из 37 детей с естественным ВПС с обогащением малого круга кровообращения до оперативного вмешательства (основная группа) и 38 практически здоровых детей (группа сравнения).

Первую подгруппу основной группы составили дети с ВПС (2 – с дефектом межпредсердной перегородки (ДМПП), 1 – с дефектом межжелудочковой перегородки (ДМЖП), 2 детей с сочетанием ДМПП и ДМЖП и 2 с врожденной недостаточностью митрального клапана), имеющие признаки ЛГ и СН (n=7).

Во вторую подгруппу были объединены дети с ВПС (6 – с ДМЖП, 1 – с открытым артериальным протоком и 1 – с сочетанием ДМПП и ДМЖП), имеющие изолированную сердечную недостаточность (n=8). Третью подгруппу пациентов с ВПС (9 – с ДМПП, 9 – с ДМЖП, 4 детей с открытым артериальным протоком) составили дети, не имеющие признаков СН и ЛГ (n=22). Средний возраст детей основной группы составил $10,8 \pm 4,09$ года, (минимальный – 3,5 года и максимальный – 17 лет). Мальчики составили 35%, девочки 65%. Подгруппы детей не различались по возрасту, росту и массе тела ($p > 0,05$).

Диагноз ВПС устанавливался путем комплексного клинического обследования детей. Степень сердечной недостаточности оценивали клинически, согласно классификации Н. Д. Стражеско и В. Х. Василенко в модификации Института сердечно-сосудистой хирургии им А. Н. Бакулева АМН СССР, 1980 г. Диагноз легочной гипертензии устанавливался эхокардиографически при увеличении давления в легочной артерии выше 25 мм рт. ст.

Содержание диеновых конъюгатов (ДК) оценивали по интенсивности УФ-поглощения конъюгированными диеновыми структурами гидро-

перекисей липидов спектрофотометрически [2, 3]. Концентрацию оснований Шиффа (ОШ) определяли по интенсивности флуоресценции спектрофлуориметрически [4].

Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6,0 с использованием непараметрических методов. Для сравнения независимых выборок применяли тест Манна-Уитни. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

У детей, имеющих сочетанные ЛГ и СН, уровень ДК в плазме крови оказался выше ($5,6 \pm 0,75$ ЕД/мл, $p < 0,001$), чем в группе сравнения ($1,4 \pm 0,41$ ЕД/мл), и не имел различий относительно детей, имеющих изолированную СН ($4,8 \pm 0,89$ ЕД/мл, $p > 0,05$). У пациентов, не имеющих признаков ЛГ и СН, этот показатель ниже ($2,5 \pm 0,53$ ЕД/мл, $p < 0,001$), чем у здоровых детей и пациентов 1-й ($p < 0,001$) и 2-й ($p < 0,001$) подгрупп. Следовательно, наибольшая активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) происходит у детей, имеющих сочетанные СН и ЛГ, а также изолированную СН.

Данные закономерности подтверждаются исследованиями ДК в эритроцитах крови. Получены различия в содержании ДК у пациентов 1-й ($19,1 \pm 1,89$ ЕД/мл) и 2-й ($17,5 \pm 0,88$ ЕД/мл, $p < 0,01$) подгрупп. Кроме того, содержание ДК в группе детей без СН и ЛГ оказалось значительно ниже ($12,5 \pm 3,04$ ЕД/мл), чем у детей, имеющих сочетанные СН и ЛГ ($p < 0,001$) и изолированную СН ($p < 0,001$).

Уровень ОШ у детей группы сравнения был ниже, чем в 1-й ($283,6 \pm 37,41$ ЕД/мл, $p < 0,001$) и 2-й ($247,3 \pm 50,9$ ЕД/мл, $p < 0,001$) подгруппах, хотя значения ОШ в 1-й и 2-й подгруппах не различались. У пациентов 3-й подгруппы ($180,9 \pm 67,20$ ЕД/мл) уровень ОШ оказался ниже, чем в 1-й ($p < 0,001$) и 2-й ($p < 0,001$) подгруппах, но выше, чем в группе сравнения ($p < 0,001$).

Выявлено повышение уровня ОШ в эритроцитах у детей с ВПС по сравнению со здоровыми детьми ($120,0 \pm 15,68$ ЕД/мл, $p < 0,001$). Наиболее выраженное повышение данного показателя по сравнению со здоровыми детьми ($p < 0,001$) установлено в подгруппе детей с СН и ЛГ ($599,4 \pm 117,83$ ЕД/мл) и с изолированной СН ($466,2 \pm 125,50$ ЕД/мл). В подгруппе пациентов без СН и ЛГ наблюдали снижение данного показателя по сравнению с 1-й ($p < 0,001$) и 2-й ($p < 0,001$) подгруппами.

При врожденных пороках сердца у детей происходит повышение активности процессов ПОЛ, что подтверждается увеличением концентрации в плазме и эритроцитах ДК и ОШ. У детей с естественным течением ВПС с явлениями сердечной недостаточности и легочной гипертензии отмечается наибольшая активация процессов ПОЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Леонтьева И. В. Современные представления о лечении сердечной недостаточности у детей // Лечащий врач. – 2004. – № 6. – С. 40-46.
2. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов / В. А. Костюк [и др.] // Вопросы мед. химии. – 1984. – № 4. – С. 125-127.
3. Rice-Evans C. A. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research-Elsevier // Elsevier-Amsterdam-London-New York-Tokio. – 1991. – 291 p.
4. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues / B. L. Fletcher, A. L. Tappel // Anal. Biochem. – 1973. – Vol. 52, № 1. – P. 1-9.

МИКРОГЕМОЦИРКУЛЯТОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С НЕВРАЛГИЕЙ ТРОЙНИЧНОГО НЕРВА

Василевская Л.А., Нечипуренко А.Л., Танин А.Л., Змачинская О.Л.

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии,
Минск

luda_vass@mail.ru

У пациентов с невралгией тройничного нерва (НТН) наряду с возникновением пульсирующей, приступообразной, жгучей боли часто наблюдаются вегетативные расстройства в виде нарушения микрогемодинамики (МГД), гипер-, гипогидроза, усиления инфракрасного излучения в зонах распределения конечных ветвей тройничного нерва, что ведет к термоасимметрии лица и обусловлено развитием вегетативно-сосудистой ирритации [2]. Нарушения в системе тканевой микроциркуляции коррелируют с выраженностью клинических проявлений НТН [3], однако вопрос о роли этих изменений в формировании болевого синдрома у пациентов с НТН изучен недостаточно.

Цель – изучить микрогемодинамические нарушения в кожных покровах лица и оценить результат комплексного лечения пациентов с НТН.

Обследованы 27 пациентов с НТН (12 женщин и 15 мужчин) в возрасте от 36 до 82 лет, которые рандомизированно были разделены на основную (n=15) и контрольную (n=12) группы. Длительность заболевания составила от 1,5 до 29 лет. Всем пациентам была выполнена высокочастотная селективная ризотомия (ВЧСР) тройничного нерва. Пациенты основной группы дополнительно к стандартной терапии, включающей противоэpileптические средства и нестероидные противовоспалительные препараты, получали фенибут и курс внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК) полупроводниковым лазером «Люзар МП» с длиной волны 0,67 мкм и выходной мощностью 2,5-3 мВт. Курс лечения составлял 7-8 процедур продо-

жительностью 20 мин и начинался сразу после установления диагноза (2-3 сеанса до операции и 4-5 сеансов со 2-го дня после операции).

Для оценки интенсивности боли применяли визуально-аналоговую шкалу (ВАШ) и опросник Paindetect. Исследования функционального состояния кожного кровотока выполнены с использованием лазерной спекл-оптической системы контроля микроциркуляции крови «Speckle-SCAN» [1]. Расчет параметров проведен в диапазоне 40-1000 Гц. При статистической обработке полученных данных применяли программу Statistica 6.0.

Установленный паттерн спекл-оптических параметров кожного кровотока характеризует нарушения кожной МГД на стороне пораженного нерва с увеличением показателя емкости микрогемодициркуляторного русла (мощности спектра S) без изменения скорости кровотока (средней частоты спектра $\langle f \rangle$) в обеих группах пациентов НТН, что обусловлено вазодилатацией микрососудов кожных покровов и клинически сопровождалось ощущением жжения в области, иннервируемой поврежденными ветвями тройничного нерва.

Эффективность лечения с включением ВЛОК и фенибута проявилась снижением мощности спектра на стороне поражения нерва и возрастанием ее значений на здоровой стороне, что привело к уменьшению асимметрии S на контралатеральных сторонах у пациентов основной группы с 53,7% ($p=0,0003$) перед оперативным вмешательством до 11,1% ($p>0,05$) после комплексной терапии. При этом на фоне регресса болевого синдрома у большинства пациентов обеих групп в зонах иннервации оперированным нервом чувство жжения сменялось ощущением онемения.

После проведения ВЧСР у пациентов с НТН контрольной группы в зонах гипестезии зарегистрировано уменьшение мощности спектра и тенденция к снижению средней частоты спектра по сравнению со значениями показателей на этой же стороне до лечения. После оперативного вмешательства и стандартной терапии асимметрия S на контралатеральных сторонах лица снизилась с 48,5% ($p<0,018$) с преобладанием на больной стороне на момент госпитализации до 30% ($p>0,05$) с превышением значений показателя на интактной половине лица после лечения.

Выполнение ВЧСР тройничного нерва у пациентов основной и контрольной групп привело к существенному уменьшению выраженности болевого синдрома по субъективной оценке обследованных лиц с одновременной нормализацией микрогемодинамических процессов в кожных покровах, иннервируемых ветвями тройничного нерва. Клинические проявления синдрома вегетативно-сосудистой ирритации, сопровождавшиеся ощущением жжения в области иннервации поврежденными ветвями тройничного нерва, в послеоперационном периоде сменялись чувством онемения на оперированной стороне, что расценивалось как развитие синдрома вегетативно-сосудистого угнетения с уменьшением интен-

сивности кожного кровотока, по данным спекл-оптического исследования. У пациентов основной группы асимметрия мощности спектра на интактной и оперированной сторонах лица была менее выражена, чем в контрольной группе, что, очевидно, в значительной степени обусловлено влиянием лазерного излучения на функциональное состояние эндотелия кожных микрососудов.

Следовательно, проведение курса ВЛОК в сочетании с фенибутом способствует коррекции вегетативно-сосудистой дисфункции у пациентов с НТН, что подтверждает клиническую эффективность комплексной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дик С. К. Лазерно-оптические методы и технические средства контроля функционального состояния биообъектов. – Минск: БГУИР, 2014. – 235 с.
2. Колесов С. Н., Воловик М. Г., Прилучный М. А. Медицинское теплорадиовидение: современный методологический подход // Н. Новгород: ФГУ “ННИИТО Росмедтехнологий”, 2008. – 184 с.
3. Пузин М. Н., Куприянова О. Н., Михеев А. П., Штамм А. М. Роль сосудистой патологии в развитии тригеминальной невралгии у больных с дисплазией соединительной ткани // Российский стоматологический журнал. – 2007. – № 1. – С. 23-24.

МОНООКСИД АЗОТА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МЕХАНИЗМЕ АНТИПИРЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МОЧЕВИНЫ В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ

Висмонт А.Ф., Висмонт Ф.И.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

patfiz@bsmu.by

Ранее нами было показано, что введение в организм мочевины оказывает выраженный антипиретический эффект и что монооксид азота (NO) имеет важное значение в патогенезе эндотоксиновой лихорадки [1, 2]. Однако значимость NO и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в реализации антипиретического эффекта мочевины остается не выясненной.

Цель исследования заключалась в выяснении возможной значимости NO и ПОЛ в механизме антипиретического действия мочевины в условиях эндотоксиновой лихорадки.

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

Активность ПОЛ в крови и печени оценивали по содержанию в них таких продуктов, как малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ). Концентрацию МДА определяли спектрофотометрически методом М. Mihara, М. Uchiyama (1978). Определение концентрации ДК проводили спектрофотометрически по методу, предложенному В.А. Костюком и др. (1984). Для определения уровня ОШ использовали спектрофотометрический метод В. L. Fletcher et al. (1973).

Для выяснения значимости NO в исследуемых процессах использовался неселективный ингибитор NO-синтазы – метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME) фирмы ACROS ORGANICS (США). Раствор L-NAME, приготовленный на апириногенном физиологическом растворе, вводили крысам внутривентрально в дозе 25 мг/кг. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню нитрат/нитритов в плазме крови [3]. Концентрацию мочевины в крови определяли фотометрически.

Ректальную температуру у крыс и кроликов измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Полученные цифровые данные обработаны с помощью общепринятых методов вариационной статистики.

Внутривентральное введение крысам (n=12) ЛПС приводило к повышению температуры тела на 1,3°C и 1,2°C (p<0,001) через 120 и 180 мин после инъекции эндотоксина температура составляла 38,8±0,10 и 38,7±0,12°C. Температура тела у кроликов (n=9) через 30, 60 и 120 мин после введения в кровоток ЛПС возрастала на 0,6°C, 1,3°C и 1,6°C (p<0,001) и составляла, соответственно, 39,2±0,12; 39,9±0,10 и 40,2±0,11°C.

Действие ЛПС в организме у крыс сопровождалось активацией процессов ПОЛ. Так, количество ДК в печени увеличивалось на 25,6% (p<0,05, n=7) и 38,2% (p<0,05, n=7) через 120 и 180 мин после инъекции эндотоксина, а в плазме крови – на 14,5% (p<0,05, n=7) на 180 мин. лихорадки. Концентрация МДА в печени в этих условиях возрастала, соответственно, на 18,8% (p<0,05, n=7) и 32,2% (p<0,05, n=7), в плазме крови – на 70,8% (p<0,05, n=7) и 91,5% (p<0,05, n=6). Уровень ОШ повышался в плазме на 95,1% (p<0,05, n=6) и 128,1% (p<0,05, n=6).

Действие ЛПС у крыс (n=7) через 120 и 180 мин. после введения экзопирогена приводило к повышению уровня NO₃⁻/NO₂⁻ в плазме крови на 29,6% (p<0,05) и 60,7% (p<0,05) и составляло, соответственно, 7,0±0,40 и 9,8±1,30 мкмоль/л.

Как показали опыты, внутривентральное введение крысам и введение в кровоток кроликам раствора мочевины (Carl Roth GmbH+Co.KG) в дозе 0,1, 0,3 и 1,0 г/кг не влияет на температуру тела и только лишь в дозе 3,0 г/кг приводит к значительному снижению температуры тела через 15 и 30 мин. после инъекции. В условиях гипотермии, вызванной внутривентральным введением мочевины (через 60 мин. после инъекции), в плазме крови крыс (n=7) имело место снижение продуктов ПОЛ и возрастание содержания NO₃⁻/NO₂⁻.

В опытах на кроликах показано, что введение в кровоток мочевины (0,3 г/кг) на высоте подъема температуры тела при эндотоксической лихорадке (через 60 и 90 мин от момента инъекции ЛПС) приводит к ослаблению лихорадки. Так, через 15 и 30 мин после введения мочевины ректальная температура на пике лихорадки (60 мин.) снижалась по сравнению с контролем на $0,9 \pm 0,08^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$) и $0,8 \pm 0,10^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$).

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

Таким образом, есть основания полагать, что в механизмах антипиретического действия мочевины в условиях эндотоксической лихорадки важное значение имеет активность L-аргинин-NO системы и процессов ПОЛ, и что утечка аргинина из цикла мочевины в цикл NO имеют важное значение в механизмах эндогенного антипиреза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Висмонт А. Ф., Лобанок Л. М. Об участии мочевины и аргиназы печени в процессах терморегуляции при эндотоксической лихорадке // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. наук. – 2010. – № 4. – С. 20-24.
2. Висмонт А. Ф. Об участии мочевины и аргиназы печени в формировании сосудистых терморегуляторных реакций при бактериальной эндотоксемии // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: тр. VI Междунар. науч.-практ. конф., Витебск. 20-21 мая 2010 г. – Витебск: ВГМУ, 2010. – С. 135-139.
3. Moshage H., Kok B., Huizenga J. R., Jansen P. L. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, № 6. – P. 892-896.

ОБ УЧАСТИИ МОНООКСИДА АЗОТА В ПРОЦЕССАХ ДЕТОКСИКАЦИИ, ФОРМИРОВАНИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО СОСТОЯНИЯ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Висмонт Ф.И., Зенькович В.В., Глебов А.Н.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

patfiz@bsmu.by

Известно, что в условиях токсического поражения печени четыреххлористым углеродом (CCl_4) в крови повышается концентрация $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ – конечных продуктов деградации монооксида азота (NO) и активность в ней процессов свободнорадикального окисления [1, 2]. В то же время данные о характере изменений детоксикационной функции

печени, процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и печени, а также температуры тела у экспериментальных животных после интрагастрального введения CCl_4 в условиях депрессии синтеза NO в организме отсутствуют.

Целью исследования было выяснение значимости NO и ПОЛ в процессах детоксикации и теплообмена у крыс с острым токсическим поражением печени CCl_4 .

Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах-самцах массой 160-220 г. Острое токсическое поражение печени вызывали однократным интрагастральным введением животным четыреххлористого углерода (CCl_4), приготовленного на подсолнечном масле в соотношении 1:1 из расчета 5,0 мл/кг веса. Определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) в плазме крови проводили колориметрически динитрофенилгидразиновым методом.

О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию фракции средних молекул (СМ) в плазме крови и степени её токсичности (СТК). ПНС (гексенал 100 мг/кг внутривентриально) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку. Определение содержания в крови СМ проводили методом кислотнo-этанольного осаждения, разработанным В. М. Моиным и др. [1989], СТК способом, предложенным О. А. Радьковой и др. [1985]. Выраженность цитолиза в печени оценивали по активности АлАТ и АсАТ в плазме крови. Активность процессов ПОЛ в крови и печени оценивали по содержанию в них малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК), оснований Шиффа (ОШ), а состояние системы антиоксидантной защиты – по активности каталазы (КТ) и содержанию α -токоферола (α -ТФ). Для выяснения роли NO в исследуемых процессах использовали неселективный блокатор NO-синтазы N^G -нитро-L-аргинин (L-NNA, «Sigma», USA), который вводили крысам внутривентриально на апиногенном физ. растворе в дозе 20 мг/кг. Ректальную температуру у животных измеряли электротермометром ТПЭМ-1. Все полученные данные обработаны методами вариационной биологической статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Установлено, что в условиях поражения печени CCl_4 у крыс угнетаются процессы детоксикации, снижается температура тела, а также повышается активность процессов ПОЛ в крови и печени. Зatravka крыс CCl_4 , через 24 и 48 ч от момента введения гепатотропного яда, приводила к снижению температуры тела на $1,2 \pm 0,13^\circ\text{C}$ ($n=12$) и $1,5 \pm 0,13^\circ\text{C}$ ($n=10$), соответственно. Действие CCl_4 у животных сопровождалось повышением в плазме крови уровня СМ и СТК. Концентрация СМ через 12 и 24 ч от момента zatravki животных CCl_4 , повышалась на 25,0% ($p<0,05$, $n=7$) и 30,8% ($p<0,05$, $n=7$). В этих условиях СТК была выше у опытных крыс

по сравнению с таковыми в контроле на 33,5% ($p < 0,05$, $n=7$) и 51,4% ($p < 0,05$, $n=7$) соответственно. ПНС у крыс через 12 и 24 ч. после введения раствора CCl_4 возрастала по сравнению с животными, которым вводили интрагастрально подсолнечное масло, на 24,2% ($p < 0,05$, $n=6$) и 20,8% ($p < 0,05$, $n=6$), соответственно.

Установлено, что через 24 ч после введения крысам ($n=7$) CCl_4 , в условиях предварительного (за 30 мин. до затравки) внутрибрюшинного введения L-NNA, уровень основных продуктов ПОЛ в плазме крови и печени у животных был ниже, чем у животных в контрольной группе (физиологический раствор внутрибрюшинно и масляный раствор CCl_4 интрагастрально). Так, содержание ДК, МДА и ОШ в плазме крови опытных крыс было ниже, по сравнению с животными в контроле, на 28,0% ($p < 0,05$), 48,2% ($p < 0,05$) и 41,8% ($p < 0,05$), а в печени – на 21,5% ($p < 0,05$), 16,2% ($p < 0,05$) и 25,3% ($p < 0,05$), соответственно. Содержание основных компонентов системы антиоксидантной защиты α -ТФ и КТ в плазме крови опытных крыс было ниже, по сравнению с животными в контроле, на 34,1% ($p < 0,05$) и 48,0% ($p < 0,05$), а в печени на 21,2% ($p < 0,05$) и 20,0% ($p < 0,05$), соответственно. Действие CCl_4 у животных, предварительно получивших L-NNA, сопровождалось менее выраженным снижением температуры тела и детоксикационной функции печени. Так, через 24 ч после введения CCl_4 , в условиях депрессии NO-синтазы L-NNA, содержание СМ в плазме крови было ниже на 22,3% ($p < 0,05$, $n=8$), а СТК снижалась на 17,6% ($p < 0,05$, $n=8$) по сравнению с соответствующим контролем (действие только CCl_4). ПНС у крыс, получивших CCl_4 в условиях действия L-NNA, через 24 ч после введения гепатотропного яда уменьшалась на 29,0% ($p < 0,05$, $n=10$).

Через 24 часа после инъекции CCl_4 у крыс, предварительно получивших L-NNA, имело место и менее значительное повышение активности АЛАТ и АсАТ в плазме крови - на 26,7%, ($p < 0,05$) и 24,0% ($p < 0,05$).

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что активность образования NO имеет важное значение в регуляции процессов детоксикации и ПОЛ при действии CCl_4 в организме у крыс. По-видимому, интенсивность образования NO, оказывая влияние на процессы ПОЛ и антиоксидантной защиты клеток печени, является одним из факторов регуляции функции гепатоцитов и их устойчивости к повреждающему действию четыреххлористого углерода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коваленко О. А., Тарасова Н. И., Микоян В. Д., Ванин А. Ф. CCl_4 как индуктор L-аргинин зависимого синтеза NO // БЭБ и М. – 1996. – № 4. – С. 414-416.
2. Li J., Billiar T.R. Nitric Oxide. IV. Determinations of nitric oxide protection and toxicity in liver // Am. J. Physiol. – 1999. – Vol. 276, № 5. – P.1069-1073.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ МОНООКСИДА АЗОТА В ТКАНЯХ ГИППОКАМПА КРЫС В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

**Гайнутдинов Х.Л.^{1,2}, Досина М.О.³, Андрианов В.В.^{1,2},
Пашкевич С.Г.³, Яфарова Г.Г.^{1,2}, Стукач Ю.П.³, Июдин В.С.²,
Arman Nama-Murad⁴, Кульчицкий В.А.³**

¹Казанский федеральный университет, Казань, Россия,

²ФГБУН Казанский физико-технический институт КазНЦ РАН, Казань, Россия,

³Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, ⁴Orsa clinic Dalarna,
Sweden

vladi@fizio.bas-net.by

Нарушения церебрального кровотока ишемического или геморрагического характера являются основной причиной смерти и тяжелой инвалидизации неврологических пациентов. Летальность особенно высока в остром периоде развития заболевания, что является постоянным аргументом для поиска специалистами ключевых звеньев фатальной патологической цепочки [1, 2]. При развитии геморрагического инсульта возникают гипоксия и ишемия тканей, что сопровождается нарастанием свободных радикалов в поврежденных участках мозга, инициацией апоптоза и некроза. Результаты исследований свидетельствуют также об активации синтеза газообразных молекул в участках кровоизлияния, в частности монооксида азота (NO), который является в условиях нормы одной из естественных регуляторных молекул [2]. Повышенное образование NO в остром периоде геморрагического инсульта мозга рассматривается специалистами противоречиво. С одной стороны, увеличение NO способствует вазодилатации [1], что сопровождается возрастанием кровотока, который может привести к развитию отека мозга. С другой стороны, избыток NO и иных молекул, к примеру пероксинитрита, усиливает сдвиг редокс-потенциала, что грозит повреждением клеток мозга, нарушением микроциркуляции и усилением гипоксии тканей [2].

Целью исследования являлся прецизионный анализ уровня NO в гиппокампе в остром периоде экспериментального геморрагического инсульта, что оказалось возможным благодаря применению метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), которым профессионально владеют ученые Казанского университета и Казанского физико-технического института.

Опыты проведены на половозрелых беспородных белых крысах-самцах массой тела 190-230 граммов. Животных содержали в стандартных условиях вивария (с поддержанием 12/12-часового ритма освещения и темноты, температуры воздуха на уровне $23 \pm 1^\circ\text{C}$ и вентиляционного режима в пределах 30 мин/ч) при свободном доступе к воде и пище

(ad libitum) и соблюдении одинакового рациона в соответствии с нормами содержания лабораторных животных. За три дня до оперативного вмешательства крыс адаптировали к экспериментальным условиям.

Операционные процедуры проводили после внутрибрюшинной инъекции смеси кетамин-хлоралоза-ацепромазин (55,6, 5,5 и 1,1 мг/кг, соответственно). Однократно внутримышечно вводили антибактериальный препарат (Enrofloxacin – 0,1 мкг/кг). После обработки кожных покровов 5% раствором йода и подкожной инъекции 2% раствора новокаина рассекали мягкие ткани свода черепа, удаляли надкостницу, тщательно проводили гемостаз. При помощи микродрели в костях черепа в соответствии со стереотаксическими координатами с правой стороны каудальнее брегмы на 5,0 мм и латеральнее средней линии на 5,0 мм просверливали отверстие диаметром 2,5-2,8 мм. Вскрывали твердую мозговую оболочку, аутологичную кровь собирали микропипеткой (объем 40 мкл), и сразу же через трепанационное отверстие с помощью микроманипулятора вводили на глубину 4,5-5,0 мм в ткань мозга (координаты соответствуют расположению CA1 области гиппокампа), осуществляли гемостаз. Через 72 ч осуществляли забор гиппокампа у крыс ($m_{\text{навески}}=200$ мг), которым вводили в мозг аутологичную кровь ($n=30$) и у тех, которым осуществляли только трепанацию черепа ($n=10$).

Изучали содержание NO в гиппокампе крыс методом ЭПР спектроскопии с применением методики спиновых ловушек. В качестве спиновой ловушки был применен комплекс Fe^{2+} с диэтилдитиокарбаматом (ДЭТК) – $(\text{ДЭТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$. Этот комплекс характеризуется легко распознаваемым спектром ЭПР со значением g-фактора $g=2,035$ и триплетной сверхтонкой структурой. Регистрацию приготовленных образцов проводили на спектрометрах ЭПР EMX/plus X-диапазона фирмы Bruker Corporation (USA) и спектрометре ER 200E SRC также фирмы Bruker Corporation в X диапазоне (9,50 GHz) с модуляцией магнитного поля 100 kHz, амплитудой модуляции 2 Гс, мощностью СВЧ излучения 30 mW и с временной константой 200 ms; ранее была осуществлена также проверка регистрации ЭПР спектра от донора монооксида азота – нитропруссид натрия.

Через 72 ч после моделирования локального геморрагического инсульта в CA1 области гиппокампа у крыс наблюдается снижение продукции NO в 3-4 раза только в том участке гиппокампа, в который осуществляли введение аутологичной крови. Снижение содержания NO отмечено при сравнении данных ЭПР, полученных при определении NO в гиппокампе крыс с экспериментальным геморрагическим инсультом, и у крыс, которым осуществляли под наркозом только трепанацию черепа. Данный результат можно рассматривать как один из механизмов, направленных на предотвращение побочных эффектов NO в остром периоде геморрагического инсульта, что подтверждается выводами группы

Lapchak P.A и др. [2]. Однако данное предположение противоречит мнению других ученых [1], которые не выявили конкретный вклад NO в развитие протекторных эффектов при геморрагическом инсульте.

С помощью ЭПР установлено снижение содержания NO в зоне кровоизлияния в мозг (гиппокамп) при моделировании локального геморрагического инсульта. На данном этапе исследований полученные факты отражают развитие в гиппокампе процессов, сопровождающихся ослаблением синтеза NO. К сожалению, эти данные не позволяют однозначно трактовать направленность этих изменений в позитивном или негативном направлениях, что, кстати, подтверждается сведениями научной литературы [1, 2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Koizumi H., Fujisawa H., Suehiro E., Shirao S., Suzuki M. Neuroprotective effects of ebselen following forebrain ischemia: involvement of glutamate and nitric oxide // *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*. – 2011. – Vol. 51, № 5. – P. 337-343.
2. Lapchak P A., Daley J. T., Boitano P. D. A blinded, randomized study of L-arginine in small clot embolized rabbits // *Exp. Neurol.* – 2015. – Vol. 266. – P. 143-146.

ВЛИЯНИЕ ЭМОКСИПИНА НА УРОВЕНЬ НИТРАТ/НИТРИТОВ ПРИ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ КОЖИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Глуткин А.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно
glutkinaalex@mail.ru

По данным Всемирной организации здравоохранения, ожоги в Европе являются одиннадцатой по значимости причиной смерти детей в возрасте от 1 до 9 лет, а среди детей всех возрастов ожоги – третья по частоте причина смерти от травм. Летальность от данной патологии среди данного возрастного контингента колеблется в пределах 1,2-10% [3Ошибка! Источник ссылки не найден.]. В качестве ведущего звена патогенеза системной органной недостаточности при термических ожогах выделяют несостоятельность механизмов транспорта кислорода, связанную прежде всего с гиповолемией, нарушением микроциркуляции и сопутствующей ей системной гипоперфузией [2].

Несмотря на то, что инфузионная терапия способствует значительному уменьшению гипоксии тканей, нарушению микроциркуляции, данные сдвиги длительно сохраняются, что определяет необходимость разработки комплекса дополнительных мероприятий, направленных на коррекцию этой патологии [6]. Вышеизложенное указывает на необходи-

мость дальнейшей детализации изучения механизмов развития гипоксии на молекулярно-клеточном, органном, системном уровнях, а также патогенетического обоснования новых принципов медикаментозной коррекции и других ее вариантов метаболических и функциональных сдвигов при указанном типовом патологическом процессе. В этом аспекте в ряде работ предложено использование эмоксипина.

Изучить влияние эмоксипина на содержание нитрат/нитритов при термических ожогах кожи у экспериментальных животных.

Исследование выполнено на беспородных белых крысах массой 55-65 г в возрасте 30 суток, $n=81$. После введения внутривентриально тиопентала натрия производили удаление шерсти в области спины крысы (выстригание с последующим выбриванием). Термический ожог кожи моделировали путём воздействия горячей жидкостью (вода) температурой 99-100°C с помощью специально разработанного устройства в течение 10 сек., площадью травмы около 8-9% от всей поверхности тела. Для расчета её величины у крысы использовали формулу, предложенную Meeh в модификации Gilpin D.A. [1996]. Были сформированы следующие группы: 1-я группа интактных животных. Во 2-й группе (контрольная) проводилось однократное введение внутривентриально 0,9% раствора натрия хлорида через 1 час после получения термического ожога. В 3-й группе выполнялось однократное введение внутривентриально 0,9% раствора натрия хлорида и 2,5 мг/кг 1% раствора эмоксипина (Беларусь) через 1 час после получения термического ожога. Эмоксипин вводился ежедневно однократно в течение 10 суток. На 1-е, 3-е, 7-е, 14-е, 21-е сутки после моделирования термического ожога осуществляли забор крови для изучения уровня нитрат/нитритов. Определение количества нитрат/нитритов в плазме крови проводили с помощью реактива Грисса (1% сульфаниламид, 0,1% нафтилендиамид, разведённые в 12% уксусной кислоте) [5]. Полученные данные статистически обрабатывались с помощью программы «Statistica 6.0» (Statsoft Inc, US).

Наиболее выраженный рост концентрации нитрат/нитритов отмечается во 2-й группе по отношению к интактной группе на 3-и сутки (134,3%, $p<0,01$) и сохраняется увеличенным на 7-е (101,2%, $p<0,01$), 14-е (58,5%, $p<0,01$) и 21-е сутки (23,5%, $p<0,01$), что свидетельствует о росте активности L-аргинин-NO системы. Известно, что повышенное образование NO при умеренном росте кислородных радикалов оказывает защитный эффект, а при высоком уровне их образования вызывают повреждающие эффекты [4]. Очевидно, чрезмерное образование NO при термическом воздействии участвует в изменениях кислородтранспортной функции крови, приводя, в конечном итоге, к развитию окислительного стресса, важнейшего компонента в патогенезе термической травмы.

Введение эмоксипина уменьшает данный параметр в 3-й группе по отношению ко 2-й группе на 3-и (29,0%, $p<0,01$), 7-е (18,5%, $p<0,01$),

14-е сутки (15,4%, $p < 0,01$), соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о снижении активности L-аргинин-NO системы. Как было показано ранее в наших исследованиях, в группе животных с моделированным термическим ожогом кожи, которым вводили эмоксипин, заметно повышается плотность новообразованных сосудов, ориентированных перпендикулярно поверхности раны, обеспечивающих кровоснабжение поверхностных слоев грануляций [1].

Таким образом, в наших опытах у крысят при использовании эмоксипина отмечаются изменения NO-образующей функции организма, что, очевидно, влияет на механизмы транспорта кислорода и, возможно, его долю, расходуемую в свободнорадикальных процессах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глуткин А. В., Ковальчук В. И., Островская О. Б. Морфологические изменения кожи при термическом ожоге у крысят в условиях коррекции внутривенным лазерным облучением крови и эмоксипином // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2013. – № 3. – С. 87–91.
2. Крылов К. М., Орлова О. В., Шлык И. В. Алгоритм действий по оказанию медицинской помощи пострадавшим с ожогами на догоспитальном этапе // Скорая медицинская помощь. – 2010. – № 2. – С. 55–59.
3. Arslan H. Epidemiology of pediatric burn injuries in Istanbul // Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. – 2013. – Vol. 19, № 2. – P. 123–126.
4. Berges A. Role of nitric oxide and oxidative stress in ischaemic myocardial injury and preconditioning // Acta. Cardiol. – 2003. – Vol. 58, № 2. – P. 119–132.
5. Bryan N. S., Grisham Bryan M. B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples // Free Radic. Biol. Med. – 2007. – Vol. 43, № 5. – P. 645–657.
6. Huan J. N. Advances in the research of fluid resuscitation for burn shock // Zhonghua Shao Shang ZaZhi. – 2013 – Vol. 29, № 3. – P. 285–288.

ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ И МЕХАНИЗМЫ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА КРОВЬЮ ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА И САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА

Глуткина Н.В., Пырочкин В.М.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

glutkina@mail.ru

С увеличением длительности срока сахарного диабета существенно ухудшается способность гемоглобина связывать кислород, что отражает его роль в оксигенации тканей [3]. У пациентов с инфарктом миокарда, протекающим на фоне нарушений углеводного обмена, наблюдаются изменения реологических свойств крови и усиление свободнорадикальных процессов, что сопровождается повышением выработки оксида азота [3].

При гипергликемии на поверхности эндотелиоцитов происходит скопление активированных лейкоцитов, продуцирующих свободные радикалы, что вызывает нарушение микроциркуляции и может стать причиной расширения зоны некроза у пациентов с инфарктом миокарда [2]. Эндогенно H_2S синтезируется в тканях из L-цистеина за счет специальных цитозольных пиридоксаль-5'-фосфат-зависимых ферментов: цистотионин- β -синтаза и цистотионин- γ -лиаза, а также зависимо от Zn^{2+} фермента, локализованного как в цитоплазме, так и в митохондриях – 3-меркаптопируват-сульфуртрансфераза [5]. Сероводород может осуществлять кардиопротективный эффект через различные механизмы, в том числе и через активацию эндотелиальной NO-синтазы и изменение биоактивности. Взаимодействие NO и H_2S может иметь значение для формирования кислородного обеспечения организма [4].

Цель исследования: оценить содержание таких газотрансмиттеров, как NO, H_2S и состояние механизмов транспорта кислорода кровью у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа в период 25-60-е сутки.

Обследованы 25 пациентов женского и мужского пола, средний возраст 58,0 (53,0; 63,0) лет, перенесших Q-инфаркт миокарда (на 25-е и 60-е сутки от начала заболевания) в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени риском 4 (по классификации ВОЗ), сердечной недостаточностью, функциональный класс 1-2-й степени (NYHA), и сахарным диабетом 2-го типа, которые получали стандартную терапию. Величины pO_2 , pCO_2 , pH, содержание метгемоглобинов и степень насыщения крови кислородом определяли с помощью микрогазоанализатора «Synthesis-15» фирмы «Instrumentation Laboratory». Сродство гемоглобина к кислороду оценивали по показателю p50 (pO_2 , соответствующее 50% насыщению гемоглобина кислородом), спектрофотометрическим методом при температуре 37°C, pH=7,4 и $\text{pCO}_2=40$ мм рт. ст. ($\text{p50}_{\text{станд}}$). Затем рассчитывался p50 при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры ($\text{p50}_{\text{реал}}$) по соответствующим формулам. Кислотно-основное состояние крови определяли по показателям: реальный и стандартный избыток буферных оснований, стандартный бикарбонат, концентрация гидрокарбоната, общей углекислоты, стандартного бикарбоната. Количество нитрат/нитритов в плазме крови оценивали с помощью реактива Грисса. Уровень эндогенного сероводорода определяли спектрофотометрическим методом, основанным на реакции между сульфид-анионом и кислым раствором реактива N, N-диметил-парафенилендиамина солянокислого. Полученные данные статистически обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики.

У пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в сочетании с сахарным диабетом на 25-е сутки pO_2 составил $33,6 \pm 3,22$ мм рт. ст., степень насыщения крови кислородом $-55,14 \pm 5,67$ %, а к концу 60-х суток

pO_2 увеличился до 37,0 (33,0; 41,0) мм рт.ст. ($p<0,05$), степень насыщения крови кислородом до $60,37\pm 5,21\%$ ($p<0,05$). Исходно $p50_{\text{реал}}$ у исследуемых пациентов составило 29,3 (28,2; 31,2) мм рт.ст. Данный показатель к концу исследуемого периода составлял 29,9 (28,6; 30,3) мм рт.ст., что свидетельствует о том, что положения кривой диссоциации оксигемоглобина до и после проведенной терапии не различались, но она была смещена вправо в сравнении со здоровыми. Величина $p50_{\text{станд}}$ также существенно не менялась в условиях проводимого лечения. Концентрация нитритов/нитратов в плазме крови на 25-е сутки у данных пациентов была $11,65\pm 2,15$ мкмоль/л, а на 60-е сутки отмечалось увеличение до 13,27 (11,27; 13,8) ($p<0,05$) мкмоль/л. Уровень сероводорода в плазме крови на 25-е сутки и 60-е сутки у данных пациентов – 12,96 (9,16; 14,23) и 17,60 (12,96; 21,4) ($p<0,05$) мкмоль/л, соответственно.

Увеличение концентрации нитритов/нитратов у данных пациентов отражает восстановление NO-образующей функции эндотелия. Физиологические механизмы изменения биоактивности NO имеют важное значение для формирования газотранспортной функции крови и регуляции регионарного кровотока, что может быть основой новой парадигмы терапии разных форм гипоксий. Сероводород также является важным регулятором тонуса кровеносных сосудов. При назначении H_2S пациентам с артериальной гипертензией давление у них снижалось [5]. Регуляция H_2S сосудистого тонуса осуществляется через эндотелий-зависимые и эндотелий-независимые механизмы.

Таким образом, у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в сочетании с сахарным диабетом на 25-е и 60-е сутки от начала заболевания на фоне проводимой терапии отмечаются изменения кислородтранспортной функции крови, направленные на компенсацию недостаточности кровообращения, реализуемые через газотрансмиттерные механизмы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кудряшова М. В., Довгальчук Ю. В., Мишина И. Е. и др. Возможности коррекции нарушений реологических свойств крови свободнорадикальных процессов у больных острым инфарктом миокарда в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа // Кардиология. – 2010. – № 5. – С. 9-12.
2. Кремнева Л. В., Шалаев С. В. Острый коронарный синдром у больных с нарушениями углеводного обмена // Терапевтический архив. – 2009. – № 10. – С. 27-34.
3. Митянина В. А., Паршина Е. Ю., Юсипович А. И. и др. Исследование кислородсвязывающих свойств эритроцитов у детей с разными сроками заболевания сахарным диабетом 1-го типа // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2012. – Т. 153, № 4. – С. 499-503.
4. Kolluru G.K., Prasai P.K., Kaskas A.M. et al. Oxygen tension, H_2S , and NO bioavailability: is there an interaction? // J. Appl. Physiol. – 2016. – Vol. 120, № 2. – P. 263-270.
5. Wang R., Szabo C., Ichinose F., Ahmed A. et al. The role of H_2S bioavailability in endothelial dysfunction // Trends. Pharmacol. Sci. – 2015. – Vol. 36, № 9. – P. 568-578.

ЭФФЕКТЫ ФЛАВОНОИДОВ КЛЮКВЫ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Головач Н.Г.

Гродненский государственный университет имени Я. Купалы, Гродно

nina8@inbox.ru

Флавоноиды характеризуются целым рядом положительных биологических эффектов при действии на клетки и ткани человека в норме и при разных патологических состояниях [5]. Среди основных механизмов биологического действия флавоноидов выделяют их способность непосредственно воздействовать на функциональное состояние митохондрий. Митохондрии играют ключевую роль в регуляции важнейших клеточных функций: обеспечивают энергетику клетки, участвуют в клеточной сигнализации, регуляции кальциевого гомеостаза и жизнедеятельности клетки [3]. Флавоноиды способны стимулировать биоэнергетику митохондрий, увеличивая активность ферментов цикла трикарбоновых кислот и общий уровень АТФ в тканях [4].

Целью настоящей работы было выяснение механизмов действия флавоноидов плодов клюквы на функциональную активность электрон-транспортной цепи митохондрий печени крыс.

Мембранный потенциал митохондрий определяли спектрофлуориметрически с использованием катионного липофильного зонда сафранина О ($\lambda_{ex}=495$ нм, $\lambda_{em}=586$ нм; Solar 2305, Беларусь). Концентрация белка митохондрий в пробе – 0,3 мг/мл. Ca^{2+} -индуцируемое набухание митохондрий печени крыс, характеризующее формирование пор высокой проницаемости, измеряли спектрофотометрически по изменению оптической плотности суспензии митохондрий во времени ($\lambda=540$ нм). Концентрация белка митохондрий в пробе – 0,5 мг/мл. Определение активности сукцинатдегидрогеназы осуществляли спектрофотометрически с использованием дихлорфенолиндифенола, кинетика снижения оптической плотности которого характеризует окисление сукцината под действием фермента ($\lambda=610$ нм, $\epsilon_{610}=21000$ М⁻¹см⁻¹). Концентрация белка митохондрий в пробе – 0,05 мг/мл [1, 2].

Нами продемонстрирована двухфазность действия флавоноидов клюквы на Ca^{2+} -индуцируемое формирование пор высокой проницаемости: при низких концентрациях (0,3–1,25 мкг/мл) флавоноиды клюквы стимулировали формирование пор высокой проницаемости, а при высоких концентрациях (2,5–25 мкг/мл) вызвали полное ингибирование (рис. 1).

Флавоноиды клюквы оказывали действие и на мембранный потенциал митохондрий. С возрастанием концентрации флавоноидов (0,3–25 мкг/мл) увеличивалась степень деполяризации митохондрий (рис. 2 А). Эффект флавоноидов клюквы на мембранный потенциал митохондрий

зависел от вида используемого субстрата. Деполяризующий эффект флавоноидов более выражен при энергизации митохондрий субстратом 2-го комплекса дыхательной цепи по сравнению с субстратами 1-го комплекса.

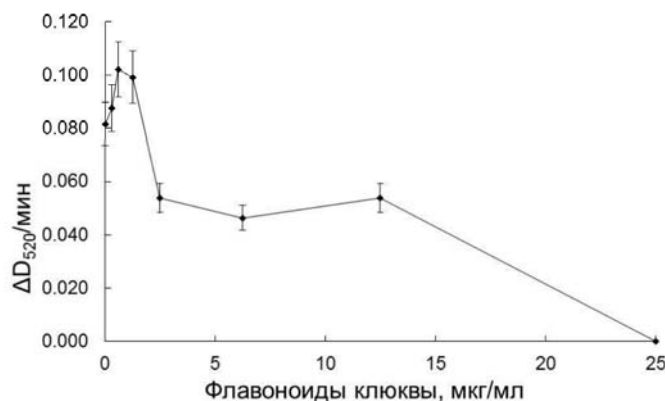


Рисунок 1. – Ca^{2+} -индуцируемое набухание митохондрий печени крыс при действии экстракта флавоноидов клюквы

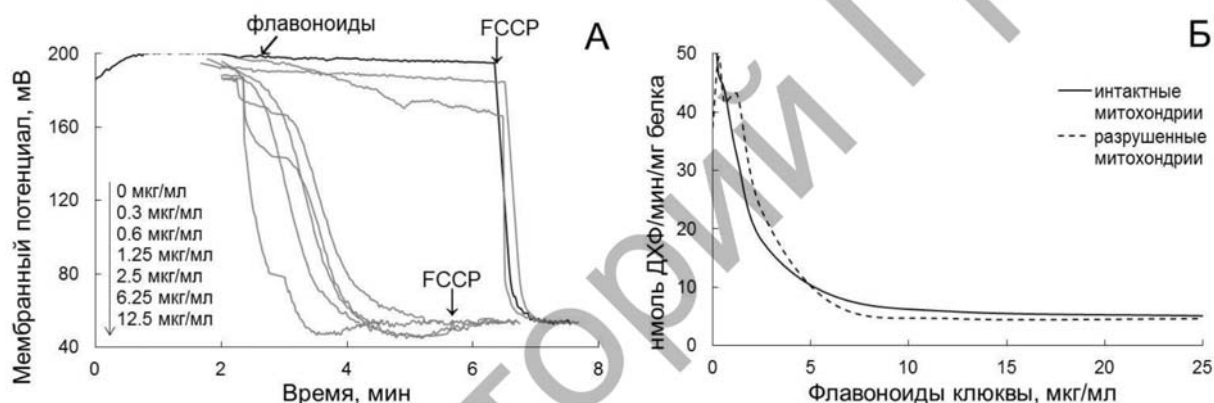


Рисунок 2. – Мембранный потенциал и активность сукцинатдегидрогеназы митохондрий печени крыс при действии экстракта флавоноидов клюквы

Кроме того, флавоноиды клюквы ингибировали активность фермента сукцинатдегидрогеназы (2-й комплекс электронтранспортной цепи митохондрий) (рис. 2 Б). Эффективность ингибирования фермента была одинакова при инкубации флавоноидов клюквы как с разрушенными, так и с интактными митохондриями, что демонстрирует способность флавоноидов клюквы беспрепятственно проникать через митохондриальные мембраны.

Таким образом, ингибирующее влияние высоких концентраций флавоноидов клюквы на формирование пор высокой проницаемости обусловлено значительным снижением мембранного потенциала митохондрий, который необходим для аккумуляции ионов кальция внутри митохондрий. В то же время, как известно, частичная деполяризация митохондрий, продемонстрированная нами при низких концентрациях флавоноидов, наоборот, стимулирует формирование пор высокой прони-

цаемости. В свою очередь снижение мембранного потенциала митохондрий обусловлена непосредственным ингибирующим воздействием флавоноидов клюквы на активность фермента сукцинатдегидрогеназы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Akerman K. E. O. Wikström M.K.F. Safranine as a probe of the mitochondrial membrane potential // FEBS Lett. – 1976. – Vol. 6, № 2. – P. 191–197.
2. Baranov S. V. [et al.] Kinetic model for Ca^{2+} -induced permeability transition in energized liver mitochondria discriminates between inhibitor mechanisms // J. Biol. Chem. – 2008. – Vol. 283, № 2. – P. 665–676.
3. Duchon M. R. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology // Mol Aspects Med. – 2004. – Vol. 25, № 4. – P. 365–451.
4. Havsteen B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids // Pharmacol Ther. – 2002. – Vol. 96, № 2. – P. 67–202.
5. Nandakumar N., Balasubramanian M.P. Hesperidin protects renal and hepatic tissues against free radical-mediated oxidative stress during DMBA-induced experimental breast cancer // J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. – 2011. – Vol. 30. – P. 283–300.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТЕРВАЛЬНЫХ ГИПОКСИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ СТРЕССОРНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ МИОКАРДА

Гончар О.А., Розова Е.В., Маньковская И.Н.

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев
ogonchar@yandex.ru, erozova@ukr.net

В последние десятилетия в мире все чаще возникают чрезвычайные ситуации природного, техногенного или антропогенного характера. Это диктует необходимость изучения влияния стресса (С) на физиологические функции организма и формирование при этом нарушений, часто сопровождающихся гипоксическими состояниями (ГС). При С в развитии ГС принимает участие ряд факторов (респираторные и циркуляторные нарушения, регионарная ишемия, катехоламинзависимые процессы и т. п.) (2, 4). В литературе крайне мало сведений о взаимосвязи указанных механизмов, что затрудняет поиск эффективных путей борьбы с последствиями стресса. В то же время известно корректирующее влияние интервальной гипоксии на оксидативные повреждения разных тканей.

Изучить влияние интервальных гипоксических тренировок на морфофункциональное состояние миокарда и его про- и антиоксидантный баланс при иммобилизационном стрессе.

Исследования проведены на половозрелых крысах-самцах, разделенных на группы: 1 – интервальные гипоксические тренировки (животные дышали газовой смесью, содержащей 12% O_2 в N_2 , 5 мин. с 15-ми-

нутными нормоксическими интервалами 65 мин ежедневно 3 недели (ИГТ); 2 – 6-часовой иммобилизационный стресс (ИС); 3 – ИС после окончания ИГТ; 4 – контрольные животные. Образцы миокарда (М) анализировали на электронном микроскопе ПЕМ-125К (Украина). Морфо- и стереометрические исследования проводили с помощью компьютерной программы Image Tool Version 3 (США) на 130-150 полях в контрольной и опытных группах. Для анализа прооксидантной системы в гомогенатах миокарда исследовали содержание малонового диальдегида и перекиси водорода, антиоксидантной системы – содержание восстановленного и окисленного глутатиона, активность глутатион-зависимых ферментов. Результаты исследований обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Стрессорное воздействие сопровождалось краевым отеком и деструкцией кардиомиоцитов, увеличением проницаемости цитоплазматических мембран с гипергидратацией гистогематического барьера (ГГБ) в М: (увеличение его средней арифметической толщины в 2,6 раза и средней гармонической – в 2,8 раза). Характер нарушений ультраструктуры ГГБ дает основания предположить развитие в ответ на С эндотелиальной дисфункции (1). При С возрастало общее количество митохондрий (МХ) на единице площади М: субсарколеммальных (СС) МХ – на 32,0%, а интрамиофибриллярных (ИМФ) МХ – на 40,5%. При этом более 1/3 СС МХ и практически половина ИМФ МХ являлись структурно нарушенными: регистрировали деструктивные изменения, что, несомненно, ухудшало биоэнергетику клеток.

При ИГТ изменения морфофункционального состояния М в значительной степени носили компенсаторно-приспособительный характер. Данное заключение базировалось на том, что при слабых проявлениях гипоксического отека ГГБ (увеличение толщины на 23-29 %) существенно активировался морфогенез МХ – общее количество МХ возрастало на 45-52% в зависимости от субпопуляции. 25-30% МХ оказывались структурно измененными, однако эти изменения часто указывали на повышение их энергетической мощности – просветление матрикса, продолжную ассоциацию, умеренное набухание (3).

При стрессе на фоне ИГТ нарушения ультраструктуры М были значительно менее выраженными, и часть из них носила компенсаторный характер, чего не наблюдалось при остром ИС: в ГГБ отсутствовала выраженная эндотелиальная дисфункция; толщина барьера была меньшей в 2-2,5 раза; общее количество МХ достоверно не отличалось от выявленного при ИГТ без иммобилизации; 30-40% МХ были структурно измененными, причем, если часть нарушений ультраструктуры можно было рассматривать как «очаговую дегенерацию» или «парциальный некроз» кардиомиоцита, протекающий по пути митофагии, то остальные изменения указывали на формирование компенсаторных механизмов, направ-

ленных на оптимизацию энергетического метаболизма.

Острый 6-часовой стресс у животных, адаптированных к гипоксии в режиме ИГТ, приводил к снижению в ткани миокарда содержания вторичных продуктов перекисного окисления липидов на 24% ($P<0,05$), перекиси водорода на 12% ($P<0,05$), окисленного глутатиона на 20% ($P<0,05$), к увеличению восстановленного глутатиона на 18% ($P<0,05$) по сравнению с иммобилизацией. Наблюдаемый рост активности глутатионредуктазы (на 27%, $P<0,05$), вероятно, был обусловлен достаточным количеством внутриклеточных запасов НАДФН, о чем свидетельствует сохранение в стрессорных условиях активности НАДФН-изоцитрат-дегидрогеназы на уровне контроля. Некоторое снижение в данных условиях активности глутатионпероксидазы можно объяснить активным функционированием фермента и ослаблением интенсивности перекисных процессов в миокарде животных. Таким образом, периодически действующая умеренная гипоксия в ходе адаптационных тренировок способствовала сохранению глутатионового пула, тем самым повышая устойчивость миокарда к стрессорным воздействиям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васюк Ю. А., Куликов К. Г., Кудряков О. Н. и др. Вторичная митохондриальная дисфункция при остром коронарном синдроме // РФК. – 2007. – № 1. – С. 41-47.
2. Меерсон Ф. З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. - М.: Медицина, 1993. – 331 с.
3. Судакова Ю. В., Бакеева Л. Е., Цыпленкова В. Г. Энергозависимые изменения ультраструктуры митохондрий кардиомиоцитов человека при алкогольном поражении сердца // Архив патологии. – 1999. - № 2. – С.15-20.
4. Şahin E., Gümüşlü S. Immobilization stress in rat tissues: Alteration in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system // Comp. Biochem. Physiol. – 2007. – Vol. 144, Part C. – P. 342-347.

ВЛИЯНИЕ ГИПОФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В СЛЮНЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ КАРИОЗНОГО ПРОЦЕССА ПРИ СТРЕССЕ

Городецкая И.В., Масюк Н.Ю.

Витебский государственный медицинский университет, Витебск

Установлена роль активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в развитии повреждений твердых тканей зуба при стрессе [1, 2]. Значение функции щитовидной железы в реализации этого механизма до сих пор не установлено.

Цель – изучить влияние снижения функции щитовидной железы на активность ПОЛ в слюне крыс в условиях развития кариеса на фоне стресса.

Работа выполнена на 63 беспородных белых крысах-самцах. В опыт животных брали, начиная с 21-дневного возраста. Крысы были разделены на 9 групп: 1 – интактная, 2 – контрольная (введение внутрижелудочно крахмального клейстера), 3 – диета, 4 – стресс, 5 – диета + стресс, 6 – мерказолил, 7 – мерказолил + диета, 8 – мерказолил + стресс, 9 – мерказолил + диета + стресс. Стрессовым фактором являлось скученное содержание животных по 40 особей в течение 1-го месяца, по 30 – в течение 2-го месяца. Для моделирования кариеса применяли кариесогенную диету (КГД) Стефана в течение 60-ти дней. С целью формирования гипотиреоза экспериментальным животным вводили мерказолил (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина) в 1% крахмальном клейстере в дозе 25 мг/кг в течение 30-ти дней, затем до окончания эксперимента в половинной дозе. Уровень перекисного окисления липидов в слюне определяли с помощью индукции хемилюминесценции (ХЛ) перекисью водорода. Интенсивность ХЛ определяли по светосумме (S), максимальному значению сигнала (I max), тангенсу угла, характеризующего его убывание после достижения максимума (tg α 2). Полученные данные обработаны с помощью программы Statistica 6.0.

У интактных животных показатели ХЛ имели следующие значения: I max – 0,41 (0,37; 0,47) мВ, S – 4,17 (4,05; 4,26) мВ*с, tg α 2 составил - 0,141 (-0,152; -0,128). Введение контрольным животным крахмального клейстера не повлияло на указанные параметры.

Содержание крыс на КГД привело к активации ПОЛ, о чем свидетельствует повышение S на 41% ($p < 0,01$), I max – на 36% ($p < 0,01$). Интенсификация ПОЛ в данных условиях была связана с угнетением антиоксидантной активности (АОА) слюны: снижением tg α 2 на 33% ($p < 0,01$).

Скученное содержание животных вызвало более существенную активацию процессов ПОЛ: увеличение S на 50% ($p < 0,01$), I max – на 52% ($p < 0,01$), обусловленную более глубокой депрессией АОА: падением tg α 2 на 49% ($p < 0,01$). По сравнению с этими параметрами у крыс, получавших КГД, показатель S вырос на 9% ($p < 0,01$), I max – на 16% ($p < 0,01$) больше, tg α 2 упал на 16% ($p < 0,05$) больше.

Нахождение животных на КГД и их одновременное скученное содержание характеризовалось наиболее значительной интенсификацией ПОЛ: повышением S на 77% ($p < 0,01$), I max – на 71% ($p < 0,01$), в результате наибольшего снижения tg α 2 – на 62% ($p < 0,01$).

У гипотиреоидных крыс наблюдалось незначительное угнетение процессов ПОЛ: показатель S упал на 20% ($p < 0,01$), I max – на 13% ($p < 0,05$). Вместе с тем происходило снижение АОА слюны, на что указывает падение tg α 2 на 15% ($p < 0,051$). Содержание крыс на КГД на фоне

введения мерказолила привело к более значительной по сравнению с таковой у эутиреоидных животных стимуляции ПОЛ: повышению S на 69% ($p < 0,01$), $I_{\max}$ – на 56% ($p < 0,01$). Большая активация ПОЛ в данных условиях была связана с существенной депрессией АОА в слюне: снижением $\text{tg } \alpha_2$ на 45% ($p < 0,01$). По сравнению с экспериментальными животными, находившимися на КГД без введения мерказолила, показатель S был на 8% ($p < 0,05$), $I_{\max}$ – на 7% ($p < 0,05$) больше. Параметр, характеризующий состояние АОА ($\text{tg } \alpha_2$), был, напротив, меньше – на 27% ($p < 0,01$). У крыс, подвергнутых стрессу на фоне гипотериоза, наблюдалась ещё более выраженная по сравнению с таковой после КГД активация ПОЛ: показатель S увеличился на 84% ($p < 0,01$), $I_{\max}$ – на 77% ($p < 0,01$). Это определялось более существенным снижением АОА: уменьшением $\text{tg } \alpha_2$ на 59% ($p < 0,05$). По отношению к этим параметрам в группе стрессированных эутиреоидных крыс показатель S был на 14% ($p < 0,01$), $I_{\max}$ – на 12% ($p < 0,05$) больше, тогда как $\text{tg } \alpha_2$ на 25% ($p < 0,01$) меньше.

При сочетанном воздействии стресса и КГД у гипотиреоидных животных происходила наиболее значительная интенсификация ПОЛ: показатель S увеличился на 106% ($p < 0,01$), $I_{\max}$ – на 104% ($p < 0,01$), за счет наиболее существенного падения АОА слюны: $\text{tg } \alpha_2$ снизился на 84% ($p < 0,05$). По отношению к таковым у стрессированных эутиреоидных крыс, содержащихся на КГД, показатель S был на 9% ($p < 0,05$), $I_{\max}$ – на 18% ($p < 0,05$) больше, $\text{tg } \alpha_2$ – на 37% ($p < 0,01$) меньше.

Содержание животных на КГД сопровождается стимуляцией ПОЛ в слюне за счет снижения её АОА. Краудинг-стресс вызывает более выраженную активацию ПОЛ в результате более глубокого угнетения антиоксидантного потенциала слюны. Одновременное влияние указанных факторов характеризуется наиболее значительной стимуляцией ПОЛ и наибольшим падением АОА слюны. Мерказолил приводит одновременно к незначительному снижению интенсивности процессов ПОЛ и падению АОА слюны. И раздельное, и сочетанное воздействие КГД и стресса на фоне гипотиреоза определяет наибольшую интенсификацию ПОЛ. Результаты работы обосновывают важность контроля, при необходимости – коррекции тиреоидного статуса у пациентов с высокой интенсивностью кариозного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова А. А., Рябцева Е. Г., Рябкова В. А. Активность кариеса, показатели перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной защиты у детей Хабаровского края // Дальневосточный медицинский журнал. – 2006. – № 2. – С. 62-65.
2. Демидчик Ю. Е., Луцкая И. К., Демьяненко Е.А. Изучение воздействия стресс-факторов на организм в эксперименте // Вести НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2013. – № 4. – С. 46-51.

ВЛИЯНИЕ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В ПЕЧЕНИ И КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

Гусакова Е.А., Городецкая И.В.

Витебский государственный медицинский университет, Витебск
elena-gusakova83@mail.ru

Нарушение регуляции реакций биологического окисления, происходящее при воздействии экстремальных раздражителей, способствует повышенному образованию свободных радикалов. Они активируют перекисное окисление липидов (ПОЛ) в биологических мембранах, что приводит к повреждению клеток и тканей. Доказано, что одним из факторов антистресс-системы организма являются йодсодержащие тиреоидные гормоны (ЙТГ). Вместе с тем влияние тиреоидного статуса на интенсивность ПОЛ в условиях эмоционального стресса остается недостаточно исследованным.

Цель – изучить влияние ЙТГ на интенсивность перекисного окисления липидов в печени и крови крыс при эмоциональном стрессе.

Опыты поставлены на беспородных крысах-самцах (91 особь) массой 220-250 г. Тиреоидный статус изменяли внутрижелудочным введением мерказолила (25 мг/кг, 20 суток) или L-тироксина (от 1,5 до 3,0 мкг/кг, 28 суток). Эмоциональный стресс моделировали по методике «свободного плавания крыс в клетке» [1] в течение 1 часа. Концентрацию ЙТГ (общих трийодтиронина (T_3) и тироксина (T_4), их свободных фракций ($T_{3св}$ и $T_{4св}$)) определяли радиоиммунологически. Интенсивность липопероксидации в печени и крови оценивали по содержанию диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) [2]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «Статистика 6.0».

У интактных животных содержание T_3 в крови составило 1,651 (1,574; 1,689) нмоль/л, T_4 67,097 (62,367; 73,592) нмоль/л, $T_{3св}$ 3,717 (3,582; 4,145) пмоль/л, $T_{4св}$ 13,869 (13,099; 14,815) пмоль/л. Концентрация ДК в печени составила 3,254 (3,127; 3,287) нмоль/мг липидов, МДА – 2,376 (2,287; 3,294) нмоль/мг белка, уровень ДК в крови был равен 0,585 (0,542; 0,609) нмоль/мг липидов, МДА – 0,0537 (0,0521; 0,0563) нмоль/мг белка.

Через 1 час после стресса (стадия тревоги) концентрация ЙТГ в крови увеличивалась: T_3 на 26%, T_4 на 28%, $T_{3св}$ на 64%, $T_{4св}$ на 54% ($p < 0,01$). Уровень ДК в печени повышался на 35%, МДА на 37% ($p < 0,01$). Содержание ДК и МДА в крови увеличивалось менее существенно – на 27 и 30% ($p < 0,01$). Через 48 часов после стресса (стадия устойчивости) сывороточный уровень ЙТГ и концентрация ДК в крови возвращались к исходной величине. Уровень МДА в крови был повышен на 7% ($p < 0,05$).

Содержание ДК и МДА в печени начинало возвращаться к контрольному значению, но все же незначительно превышало его – на 6 и 9% ($p < 0,01$). Через 10 дней стресса по 1 часу (стадия истощения) происходило снижение сывороточного уровня ЙТГ (T_3 на 20%, T_4 на 24%, $T_{3св}$ на 27%, $T_{4св}$ на 35% ($p < 0,01$)) и была обнаружена наиболее значительная активация ПОЛ в печени и крови. В печени уровень ДК и МДА возрастал на 59 и 49% ($p < 0,01$), в крови – на 49 и 42% ($p < 0,01$).

Введение мерказолила вызывало уменьшение сывороточной концентрации ЙТГ на 18-31% ($p < 0,01$). В условиях экспериментального гипотиреоза в крови и печени концентрация ДК падала на 12 и 14% ($p < 0,01$), МДА – на 22 и 26% ($p < 0,01$). На всех стадиях стресс-реакции введение мерказолила определяло снижение содержания ЙТГ (на 7-51%, $p < 0,05$) и провоцировало более выраженное, чем у эутиреоидных животных, увеличение содержания МДА (на 12-58%, $p < 0,05$) и ДК (на 16-75%, $p < 0,05$) в печени и крови.

Введение L-тироксина в малых дозах не оказало влияния на изученные показатели ($p > 0,05$). Вместе с тем, L-тироксин на стадиях тревоги и истощения лимитировал изменение сывороточной концентрации общих и свободных фракций T_3 и T_4 (на 5-27%, $p < 0,01$) и ограничивал увеличение содержания МДА (на 7-9%, $p < 0,05$) и ДК (на 6-19%, $p < 0,05$) в печени и крови, а на стадии устойчивости L-тироксин определял нормализацию уровня ЙТГ и предупреждение активации ПОЛ в печени и крови.

Стресс вызывает интенсификацию ПОЛ, выраженность которой зависит от стадии стресс-реакции. Стадия тревоги характеризуется повышением содержания начальных и конечных продуктов ПОЛ, стадия устойчивости – тенденцией к его нормализации, стадия истощения – его наиболее выраженным ростом.

Интенсивность ПОЛ зависит и от тиреоидного статуса организма. Нами было установлено, что гипотиреоз сопровождается снижением уровня продуктов ПОЛ в крови и в печени, что связано: 1) с падением концентрации основных субстратов ПОЛ – ненасыщенных жирных кислот; 2) с метаболической депрессией – снижением скорости обменных процессов; 3) с уменьшением индекса ненасыщенности мембранных фосфолипидов в печени у тиреоидэктомированных животных. Экспериментальный гипотиреоз способствует большей активации ПОЛ в печени и крови на стадиях тревоги и истощения стресс-реакции и устраняет ее нивелирование на стадии, соответствующей стадии устойчивости у эутиреоидных животных. Кроме того, следует обратить внимание на факт преобладания накопления ДК в печени и крови над таковым МДА, которое у гипотиреоидных животных развивалось на всем протяжении эксперимента, тогда как у эутиреоидных крыс наблюдалось только на стадии истощения. Это указывает на преобладание деструктивных процессов в

клеточных мембранах, что означает более выраженный дисбаланс механизмов, поддерживающих свободнорадикальный гомеостаз, у гипотиреоидных животных, подвергнутых стрессу.

Введение L-тироксина в малых дозах, не вызывающее изменение интенсивности ПОЛ в печени и крови само по себе, ограничивает активацию этого процесса на стадиях тревоги и истощения стресс-реакции и обеспечивает его полную нормализацию на стадии устойчивости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко С. Н., Бондаренко Н. А., Манухина Е. Б. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс // Бюл. exper. биол. и мед. – 1999. – Т. 128, № 8. – С. 157-160.
2. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.

ПРЕКРАЩЕНИЕ КРОВОТОКА В ОДНОЙ ОБЩЕЙ СОННОЙ АРТЕРИИ УМЕНЬШАЕТ ВКЛАД КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ В NO-ИНДУЦИРОВАННОЕ РАССЛАБЛЕНИЕ ЛЕГОЧНЫХ АРТЕРИЙ

Давыдова М.П., Марков М.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
mari-ja@mail.ru

В опытах на изолированных внутрилегочных артериях (ЛА) второго порядка нами было показано, что в норме при низких концентрациях донора NO расслабление ЛА может осуществляться через каналы семейств Kir и Kv без вовлечения пути, опосредованного растворимой гуанилатциклазой (pGC). При моделировании односторонней полной окклюзии общей сонной артерии взаимодействие NO-индуцированных pGC-зависимых и pGC-независимых механизмов вазодилатации изменялось – ингибитор pGC приводил к большему подавлению NO-индуцированного расслабления. Это указывает на увеличение роли пути, зависящего от pGC при прекращении кровотока по одной общей сонной артерии, что может быть следствием снижения вклада pGC-независимого NO-индуцируемого пути, то есть активации калиевых каналов напрямую NO. Мы предположили, что отсутствие кровоснабжения хеморецепторов каротидных телец сонной артерии, по аналогии с реакцией на альвеолярную гипоксию, приводит к уменьшению плотности K^+ -каналов на клеточной мембране гладкомышечных клеток ЛА.

Цель исследования – выявить вклад pGC-зависимого и pGC-независимого путей NO-индуцированного расслабления для ЛА при моделиро-

вании односторонней полной окклюзии общей сонной артерии и оценить изменение параметров, которые могут указывать на развитие легочной гипертензии – относительный вес правого желудочка сердца, систолическое давление в правом желудочке сердца (СПЖД), толщину медики ЛА второго порядка.

У самцов белых беспородных крыс в возрасте 2 месяцев перевязывали и пересекали левую общую сонную артерию. Через 1 месяц после операции крыс наркотизировали и измеряли СПЖД; извлекали сердце для измерения отношения массы правого желудочка к общей массе желудочков и межжелудочковой перегородки, долю правого легкого для гистологического исследования и левое легкое для проведения эксперимента на изолированных ЛА второго порядка. Контрольная группа состояла из интактных крыс того же возраста. Изолированные ЛА перфузировали в режиме постоянного потока. Дилатацию при перфузии донором NO-нитропруссидом натрия (SNP, 10^{-11} – 10^{-7} М) тестировали на фоне тонического сокращения в ответ на перфузию раствором серотонина (5×10^{-6} М). Степень расслабления оценивали на фоне ингибитора рГЦ – 1Н-[1,2,4,oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ, 10^{-6} М) и блокаторов калиевых каналов – глибенкламида для АТР-чувствительных K^{+} -каналов (5×10^{-6} М) и тетраэтиламмония (ТЕА, 5 мМ) для потенциал-зависимых K^{+} -каналов. Для анализа состояния механизмов вазодилатации, зависящих от цГМФ, оценивали дилатацию при перфузии блокатором фосфодиэстеразы V (Zaprinast) на фоне сократительного ответа на перфузию раствором серотонина.

В контрольной группе при применении блокатора рГЦ статистически значимое подавление расслабления наблюдали в диапазоне концентраций SNP от 10^{-8} до 10^{-7} М, значимое подавление расслабления при применении антагониста АТР-чувствительных K^{+} -каналов было выявлено в диапазоне концентраций SNP от 10^{-10} до 10^{-8} М, а ТЕА подавлял вазодилатацию в ответ на SNP в диапазоне концентраций от 10^{-9} до 10^{-7} М. То есть в норме рГЦ-опосредованный путь приобретает значение для легочных артерий только при достаточно высоком уровне NO. Реализация NO-зависимого расслабления при более низких концентрациях SNP зависит от блокады АТР-чувствительных K^{+} -каналов: значимое подавление расслабления под действием глибенкламида проявлялось с концентрации SNP 10^{-10} М.

В опытной группе, наоборот, глибенкламид практически не влиял на эффективность NO-индуцируемого расслабления, но было получено более выраженное снижение ответа на SNP под действием ODQ – подавление расслабления в ответ на донор NO наблюдали во всем диапазоне исследуемых концентраций ($p < 0,05$). Это свидетельствует о возрастании роли пути, зависящего от рГЦ при прекращении кровотока по общей

сонной артерии. Этот результат может быть объяснен снижением вклада NO-индуцируемого, но не независимого от рГЦ пути – то есть активации калиевых каналов напрямую NO. У крыс с пересеченной общей сонной артерией было отмечено статистически значимое снижение ответа на SNP в опытах с ТЭА в значительном диапазоне концентраций – от 10^{-10} до 10^{-7} М. С другой стороны, расслабление ЛА в ответ на селективный блокатор фосфодиэстеразы V не различалось у крыс в опытной и контрольной группах. Наблюдаемые изменения указывают на перераспределение вклада калиевых каналов цитоплазматической мембраны в NO-индуцированную дилатацию, но не на снижение эффективности внутриклеточных процессов, зависимых от протеинкиназы G.

Таким образом, отсутствие перфузии хеморецепторов каротидных телец сонной артерии может привести к последствиям, сходным с реакцией на экзогенную (или альвеолярную) гипоксию – снижению экспрессии K^+ -каналов, участвующих как в рГЦ-зависимом, так и рГЦ-независимом пути дилатации в ответ на NO. Уменьшение плотности K^+ -каналов может способствовать деполяризации и входу Ca^{2+} в клетку, что в свою очередь может вести к развитию легочной гипертензии. В наших экспериментах не было получено доказательств гипертрофии правого желудочка сердца, однако выявлено повышение СПЖД (медианы равны, соответственно, 30,0 и 35,9 мм рт. ст., $p < 0,05$) и увеличение площади меди ЛА второго порядка – в среднем на 65%, $p < 0,05$. В связи с этим мы предполагаем наличие механизма, опосредованного нервной системой, который реализуется через хеморецепторы сонных артерий, реагирующие на гипоксию, и приводит к эффекту, сходному с прямым действием альвеолярной гипоксии на гладкие мышцы легочных артерий.

ИНДУЦИРОВАННЫЙ СИГАРЕТНЫМ ДЫМОМ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГАХ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ПРИРОДНЫМИ АНТИОКСИДАНТАМИ

Девина Е.А., Таганович А.Д.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

devinal@mail.ru

Известно, что сигаретный дым (СД) инициирует генерацию активных форм кислорода (АФК) альвеолярными макрофагами (АМ) и нейтрофилами в альвеолярном пространстве. Изменение баланса в системе оксиданты/антиоксиданты может быть обусловлено не только возросшим образованием оксидантов, но и угнетением антиоксидантной системы (АОС), что может играть ключевую роль в развитии патологиче-

ского процесса в легочной ткани. Есть сведения, что повышенный уровень АФК формирует воспалительную реакцию в легких за счет активации таких факторов транскрипции, как ядерный фактор-kB (NF-kB) и активаторный белок-1 (AP-1), экспрессии генов, кодирующих структуру провоспалительных медиаторов [3].

Обсуждается целесообразность использования природных полифенольных соединений, в частности, ресвератрола и эпигаллокатехин галлата (ЭГКГ) в коррекции окислительного стресса и воспалительной реакции в клетках легких [4]. Показано, что ресвератрол и ЭГКГ обладают антиоксидантной активностью *in vitro* и *in vivo* [2, 5] и уменьшают продукцию провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и ИЛ-8) в эпителиальных клетках легких человека, инкубировавшихся в присутствии твердой фазы СД [1].

Цель исследования – изучить эффект ресвератрола и ЭГКГ на показатели оксидантно/антиоксидантного состояния АМ в норме и в условиях воздействия экстракта сигаретного дыма (ЭСД), и на этой основе оценить эффективность использования данных соединений для предотвращения изменений, вызванных СД в клетках легких.

АМ получали из БАЛЖ крыс. АМ выделяли путем адгезии к пластике в концентрации $2,0 \times 10^6$ на чашку Петри и инкубировали с ресвератролом (10 мкмоль) или ЭГКГ (10 мкмоль) в CO_2 -инкубаторе 120 минут. После чего АМ инкубировали в ДМЕМ, обогащенной сигаретным дымом (0,7 и 2,1 г/л смол) в течение 1 и 20 часов. Определяли в АМ содержание небелковых SH-соединений, оценивали окислительную модификацию белков (ОМБ), активность супероксиддисмутазы (СОД) глутатионпероксидазы (ГПО), каталазы. Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 6.0 для непараметрических выборок. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Известно, что в результате окислительной модификации белков наблюдается образование карбонильных производных. Было установлено, что через 1 ч увеличивается содержание карбонильных производных белков в 2 раза в АМ, контактировавших с ЭСД (0,7 г/л) и в 2,5 раза – при концентрации ЭСД 2,1 г/л. Удлинение инкубации увеличивало этот показатель в 7 раз (независимо от концентрации ЭСД). Прединкубация АМ с ресвератролом и ЭГКГ уменьшала количество продуктов окисления белков на 32,1 и 43,7%, соответственно, в АМ, контактировавших с ЭСД в течение 1 часа. При 20 ч инкубации АМ с ЭСД в присутствии ресвератрола содержание карбонильных производных не только не снижалось, а увеличивалось на 18,8% по сравнению с АМ, которые инкубировались без ресвератрола, но контактировали с ЭСД. В то же время ЭГКГ достоверно уменьшал окисление белков в АМ, длительно контактировавших с ЭСД.

Нами установлено, что ЭСД вызывает угнетение АОС. Обнаружено, что ЭСД снижает уровень небелковых SH-соединений как при кратковременном (1ч), так и длительном (20 ч) контакте с АМ. Различие

заключается в том, что снижение содержания SH-соединений при 20 ч инкубации не зависит от концентрации ЭСД. В АМ после инкубации как с ресвератролом, так и с ЭГКГ повышается уровень небелковых SH-соединений на 18,7% и 23,1%, соответственно, по сравнению с контролем. ЭГКГ и ресвератрол препятствуют снижению небелковых SH-соединений в АМ, контактировавших с ЭСД, как кратковременно, так и длительно (до 20 ч). ЭСД оказывал выраженное ингибирующее влияние на активность каталазы и ГПО. Уже через 1 ч активность каталазы была значительно снижена по сравнению с контролем. При длительной инкубации особенность заключалась в том, что снижение активности ГПО имело зависимость от концентрации ЭСД, а более выраженное снижение активности каталазы и СОД происходило под влиянием минимальной (0,7 г/л) концентрации ЭСД и в дальнейшем не имело развития. В интактных АМ в присутствии ЭГКГ и ресвератрола увеличивалась активность СОД, каталазы и ГПО. В АМ, контактировавших с ЭСД (0,7 г/л и 2,1 г/л) в течение 1 ч, ресвератрол и ЭГКГ препятствовали снижению активности каталазы и ГПО. Через 20 ч в АМ присутствие ЭГКГ не изменяло активность каталазы, а в клетках, обработанных ресвератролом, отмечалось снижение активности каталазы и СОД.

Таким образом, показано, что эпигаллокатехин галат и ресвератрол оказывают выраженное влияние на состояние окислительного метаболизма альвеолярных макрофагов, обеспечивая эффективную защиту путем поддержания активности ферментов антиоксидантной системы при непродолжительном контакте клеток с сигаретным дымом. Длительное взаимодействие клеток с сигаретным дымом ограничивает протекторное действие ЭГКГ и изменяет действие ресвератрола на прооксидантное.

ЛИТЕРАТУРА

1. Culpitt S. V., Rogers D. F. Inhibition by red wine extract, resveratrol, of cytokine release by alveolar macrophages in COPD // *Thorax*. – 2003. – Vol. 58. – P. 942-946.
2. Donnelly L. E., Newton R. Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular mechanisms // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – L. 774-783.
3. Hoffmann A. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling // *Immunol. Rev.* – 2006. – Vol. 210. – P. 171-186.
4. Rahman I. Antioxidant therapeutic advances in COPD // *Ther. Adv. Respir. Dis.* – 2008. – Vol. 2, № 6. – P. 351-374.
5. Syed D., Afaq F. Green tea polyphenol EGCG suppresses cigarette smoke condensate-induced NF-kappaB activation in normal human bronchial epithelial cells // *Oncogene*. – 2007. – Vol. 26, № 5. – P. 673-682.

КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Добродей М.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

proped@grsmu.by

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется прогрессирующей обструкцией бронхиального дерева, обратимой лишь частично [2]. Некоторые патогенетические звенья формирования ХОБЛ изучены недостаточно, в частности, – сродство гемоглобина к кислороду (СГК). *Целью исследования* явилось определение показателей кислородтранспортной функции крови, уровня газотрансмиттеров при ХОБЛ и в процессе стандартного ее лечения.

Обследованы 17 пациентов с ХОБЛ и 11 здоровых лиц в качестве контроля. Возраст пациентов колебался от 52 до 80 лет. Средний возраст составил $64,3 \pm 2,7$ лет. Среди пациентов было 5 женщин и 12 мужчин. Все они находились на стационарном лечении в пульмонологическом отделении. Пациенты мужского пола были курящими: индекс курильщика, выраженный в пачках/лет, более 15. Заболевание было средней степени тяжести, смешанного фенотипа, его давность составляла более 10 лет. Пациенты с тяжелым течением, когда объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) был менее 40% от должностного, в исследование не включались.

Диагноз ХОБЛ был верифицирован клинически и с помощью дополнительных методов исследования. Всем пациентам выполнялось обследование и проводилось лечение согласно клиническому протоколу. При поступлении в стационар и в конце лечения из локтевой вены на фоне восстановленного оттока забирали кровь, в которой определяли напряжение кислорода (pO_2), степень оксигенации (SO_2) и такие параметры кислотно-основного состояния, как pCO_2 , стандартный бикарбонат (SBC), реальный/стандартный недостаток (избыток) буферных оснований (ABE/SBE), гидрокарбонат (HCO_3^-), концентрация водородных ионов (pH), общая углекислота плазмы крови (TCO_2) с помощью микрогазоанализатора «Syntesis-15». По показателю $p50$ (pO_2 крови при 50% насыщении ее кислородом) определяли СГК при температуре $37^\circ C$, pH=7,4, $pCO_2=40$ мм рт. ст. ($p50$ станд.), а затем рассчитывали $p50$ при реальных условиях этих параметров по формулам Severinghaus J. W. ($p50$ реал) [5]. На основании полученных данных по уравнению Хилла определялось положение кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО).

Продукцию NO оценивали по суммарному содержанию нитрат/нитритов (NO_3^-/NO_2^-) в плазме крови спектрофотометрическим методом, основанным на цветной реакции с использованием реактива Грис-

са при длине волны 540 нм. Уровень эндогенного сероводорода оценивали спектрофотометрическим методом, основанным на реакции между сульфид-анионом и кислым раствором реактива N, N-диметил-парафенилендиамина солянокислого [3].

Полученные данные статистически обрабатывались на персональном компьютере с помощью методов статистического пакета «STATGRAPHICS».

У пациентов с ХОБЛ наблюдалось снижение SvO₂, pO₂ и увеличение показателя p50реал ($28,3 \pm 0,34$, $p < 0,05$), по сравнению со здоровыми лицами ($26,5 \pm 0,28$ мм рт. ст.). Это является типичной реакцией на гипоксию в тканях, возникшую из-за недостаточности функции внешнего дыхания, о чем свидетельствуют параметры спирометрии и клиническая картина обследуемых. Как известно, увеличение p50 на 1 мм рт. ст. повышает артериовенозную разницу pO₂ на 3,2 мм рт. ст., что увеличивает оксигенацию тканей, а сердечный выброс при этой неизменной доставке O₂ снижается на 5,8% на единицу изменения p50 [4].

Характер изменения кислородсвязывающих свойств крови при ХОБЛ является адаптивным, направленным на улучшение кислородного гомеостаза. Снижение СГК у пациентов с ХОБЛ следует расценивать как компенсаторную реакцию на гипоксию в тканях, возникшую из-за недостаточности функционирования механизмов, обеспечивающих поддержание постоянства альвеолярного воздуха. После лечения наблюдалось увеличение p50 реал ($29,4 \pm 0,33$ мм рт. ст.), при этом увеличились и показатели pO₂, SO₂.

У пациентов с ХОБЛ наблюдались и более высокие значения концентрации общих нитратов и сероводорода, их значение было $10,68 \pm 0,79$ ($p < 0,05$) и $26,98 \pm 2,97$ ($p < 0,05$) мкмоль/л, соответственно, а у здоровых – $8,08 \pm 0,21$ и $10,48 \pm 0,43$ мкмоль/л, соответственно. Оксид азота и сероводород, относящиеся к классу газотрансмиттеров, участвуют в формировании кислородного режима и кислородтранспортной функции крови [1]. В процессе проводимого лечения концентрация данных факторов снижалась. В результате проводимого лечения состояние пациентов улучшалось клинически, повышались и показатели функции внешнего дыхания. Значение ОФВ₁ возрастало с $53,3 \pm 1,23$ до $60,83 \pm 1,18\%$, а индекс Тиффо – с $55,31 \pm 1,10$ до $60,96 \pm 0,99\%$. При этом отмечалось уменьшение интенсивности и частоты кашля, количество мокроты, одышки, общей слабости, то есть улучшалось качество жизни пациентов.

Таким образом, у пациентов с ХОБЛ изменения СГК отражают их участие в формировании кислородного снабжения организма, которые направлены на улучшение оксигенации тканей. Установлено влияние газотрансмиттеров на развитие гипоксических состояний и оксидативных повреждений при дисфункции эндотелия, реализующих свое действие че-

рез модификацию кислородсвязывающих свойств крови. Очевидно, оценка содержания газотрансммиттеров может быть одним из критериев адекватности проводимой терапии, направленной на уменьшение проявления окислительного стресса и дисфункции эндотелия при данной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зинчук В. В., Глуткина Н. В. Кислородсвязывающие свойства крови и монооксид азота // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2013. – Т. 99, № 5. – С. 537-554.
2. Чучалин А. Г. Респираторная медицина: руководство. – ГЭОТАР-Медиа, 2007. – Т. 1. – 626 с.
3. The Liver as a Central Regulator of Hydrogen Sulfide / E. J. Norris [et al.] // Shock. – 2011. – Vol. 36, № 3. – P. 242-250.
4. Oxygen transport in blood at high altitude: role of the hemoglobin-oxygen affinity and impact of the phenomena related to hemoglobin allosterism and red cell function / M. Samaja [et al.] // Eur. J. Appl. Physiol. – 2003. – Vol. 90. – P. 351-359.
5. Severinghaus J.W. Blood gas calculator // Journal of Applied Physiology. – 1966. – Vol. 21, № 5. – P. 1108-1116.

РЕАКЦИЯ АСТРОГЛИИ ПРИ ИШЕМИИ СЕРДЦА

Довбань Е.А., Ушакова Г.А.

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара,
Днепропетровск, Украина
dovbanelena@gmail.com

Ишемия головного мозга – нарушение, которое возникает в результате снижения мозгового кровотока и ограничения поступления кислорода и глюкозы в нервную ткань [5]. На ишемические нарушения головного мозга одними из первых реагируют астроциты. Под влиянием патогенных факторов они могут менять строение и биохимические свойства. Одним из ключевых белков, характеризующих поведение астроцитов, является глиальный фибриллярный кислый белок.

Глиальный фибриллярный кислый белок (ГФКБ) – гистоспецифический компонент промежуточных филаментов (ПФ) цитоскелета астроцитов [4]. ГФКБ в составе ПФ играет важную роль в модуляции движения астроцитов и обеспечении стабильной морфологии их отростков при развитии реактивного астроцитоза [6]. Глиальный фибриллярный кислый белок – это белок с М 50 кД, имеет две иммунологически идентичные формы: водорастворимую и филаментную [4]. ГФКБ распределен по разным отделам головного мозга неравномерно: его содержание максимально в продолговатом мозге и минимально – в коре головного мозга.

ГФКБ принимает участие в молекулярных механизмах нейрон-астроцитарных взаимодействий [3].

Целью данной работы было определить реакцию астроглии в разных отделах мозга и исследовать нейропротекторное действие альфа-кетоглутарата и препарата «Корвитин» в условиях ишемического повреждения мозга при экспериментальной изадрин-питуитриновой модели у крыс линии Вистар.

В работе использовался мозг 24 крыс, которые были разделены на четыре группы ($n=6$). У крыс моделировали ишемическое состояние путем комбинированного введения изадрина и питуитрина [1]. 1 группа – контрольная, 2 группа – крысы с изадриновой ишемией; животные 3 группы получали Корвитин (Борщаговский хим-фарм. завод, Украина) после приобретенной ишемии по схеме, рекомендованной производителем, в течение 5 суток; 4 группа – после индукции ишемии в течение 6 дней животные получали с питьевой водой 1% альфа-кетоглутарата. По окончании эксперимента животных декапитировали под слабым наркозом, из мозга выделяли четыре отдела: мозжечок, кору больших полушарий, таламус и гиппокамп, которые в дальнейшем использовали для получения цитозольной и цитоскелетной фракций белков. Количественное определение ГФКБ в полученных фракциях определяли по методике конкурентного ИФА [2]. Полученные результаты измеряли с помощью ИФА-ридера Anthos 2010 (Финляндия) при 492 нм. Статистическая обработка результатов была проведена с использованием программы Excel по t-критерию Стьюдента. Достоверными считали данные при $P<0,05$.

В условиях развития ишемии сердца, что подтверждалось электрокардиологическим обследованием животных, в мозжечке было зарегистрировано увеличение уровня растворимой формы ГФКБ с $32,6\pm 0,9$ до $41,2\pm 0,5$ мкг/100 мг ткани. В случае применения препарата Корвитин или питьевого раствора, содержащего альфа-кетоглутарат, в течение недели после развития симптома ишемии в мозжечке исследуемых животных уровень растворимой формы ГФКБ снижался на 34-36%, приближаясь к показателям нормы, по сравнению с ишемическими животными. В коре больших полушарий исследуемых животных отмечена схожая тенденция: концентрация рГФКБ также увеличивалась у животных с ишемией с $24,2\pm 0,9$ до $34,09\pm 1,8$ мкг/100 мг ткани. В других анализируемых отделах мозга достоверных изменений уровня рГФКБ не зарегистрировано.

При экспериментальной изадрин-питуитрин модели ишемии в мозге крыс определено также повышение уровня и филаментной формы ГФКБ, причем во всех исследуемых отделах мозга. На ишемическое повреждение мозга в данной модели астроциты отреагировали началом развития астроглиоза, что подтверждается увеличением концентрации как растворимого (мозжечок, кора больших полушарий), так и филаментного ГФКБ (во всех исследуемых отделах мозга). Применение в ка-

честве терапии Корвитина после приобретенной ишемии привело к снижению уровня фГФКБ во всех отделах (почти к контрольным значениям). При терапии 1% раствором альфа-кетоглутарата наблюдалась тенденция к снижению уровня фГФКБ по сравнению 3 группой животных с ишемией, без достижения нормальных показателей.

Полученные результаты свидетельствуют о первичном ответе астроглиальных клеток мозга на дефицит кислорода в условиях развития ишемии сердца и замедления обеспечения мозга. Пролонгированная ситуация с дефицитом поступления кислорода в мозг может провоцировать усиление развития реактивного астроглиза на фоне активации гибели нейронов.

Быстрое восстановление кровотока и поддерживающая терапия с применением антиоксидантов и энерготоников, нацеленная на противодействие накопления окислительных продуктов и, соответственно, снижение интоксикации организма, достоверно предотвращает развитие астроглиоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И., Волчик Ю. А. и др. Некоторые аспекты кардиопротекторного действия нового β -адреноблокатора с NO-миметическим эффектом «Гипертрил» на модели инфаркта миокарда // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 40. – С. 11-16.
2. Нго Т.Т. Иммуноферментный анализ – М.: Мир. – 1998. – 444 с.
3. Brenner M. Role of GFAP in CNS injuries // Neuroscience letters. – 2014. – № 565. – P. 7-13.
4. Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial Fibrillary Acidic Protein: GFAP-Thirty-One Years (1969–2000) // Neurochemical Research – 2000. – Vol. 25. – № 9. – P. 1439-1451.
5. Kalogeris T., Baines C.P., Krenz M., et. al. Cell biology of ischemia/reperfusion injury // International Review of Cell and Molecular Biology. – 2012. – № 298. – P. 229-317.
6. Lepekhin E. A., Eliasson C., Berthold C. H. et. al. Intermediate filaments regulate astrocyte motility // Journal of Neurochemistry. – 2001. – Vol. 79, № 3. – P. 617-625.

УЧАСТИЕ СРОДСТВА ГЕМОГЛОБИНА К КИСЛОРОДУ В КОРРЕКЦИИ ГИПОКСИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

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

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

dpfizio@mail.ru

Интерес к изучению кислородного статуса организма продиктован сложностью механизмов, обеспечивающих участие кислорода в жизнедеятельности клетки. В развитии многих острых и хронических заболеваний ведущую роль играют процессы, связанные с дефицитом кислорода в организме [2]. Независимо от вида гипоксии в основе характерных

для нее нарушений лежит снижение синтеза АТФ. Дефицит энергии, в свою очередь, активирует свободнорадикальное окисление в клетке и ряд других метаболических нарушений. В связи с этим представляется актуальным изучение адаптивных механизмов при гипоксии, создание новых методов коррекции, в том числе с использованием препаратов, модифицирующих сродство гемоглобина к кислороду (СГК).

Нами были проведены эксперименты по изучению механизмов регулирования кислородного статуса в условиях гипоксий разного генеза. Нормобарическая гипоксическая гипоксия крыс моделировалась снижением концентрации кислорода в воздухе до 10,55%. Гипотермическое состояние у крыс создавалось холодовым воздействием в течение 120 мин. и последующим отогреванием (120 мин. при средней скорости отогревания 0,6°C/10 минут). Транспорт кислорода кровью оценивали по показателям кислородтранспортной функции (КТФ) крови и положению кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО).

В условиях однокласовой нормобарической гипоксической гипоксии происходит снижение pO_2 21,0 [18,0-24,0] мм рт. ст. (в контроле 29,0 [26,0-32,0] мм рт. ст., $p<0,05$), SO_2 16,4 [14,1-20,2]% (в контроле 34,1 [26,8-40,2] %, $p<0,05$), SvO_2 3,2 [2,9-3,9] об.% O_2 (в контроле 5,7 [4,4-7,0] об.% O_2 , $p<0,05$). $P50_{\text{станд}}$ уменьшается и составляет 32,3 [29,6-33,9] мм рт. ст. (в контроле 39,8 [38,6-40,7] мм рт. ст., $p<0,005$), что характеризует повышение СГК. Однократное предварительное введение L-аргинина крысам не улучшает показатели КТФ крови, не оказывает влияния на уровень нитрат/нитритов и сероводорода в условиях однокласовой нормобарической гипоксической гипоксии. В условиях гипоксии в формировании КТФ участвуют газотрансмиттеры: сероводород формирует отдельный независимый фактор, а монооксид азота влияет на образование NO-производных гемоглобина и изменение СГК.

Известно, что глубокая гипотермия также сопровождается снижением pO_2 , развитием гиперкапнии и метаболического ацидоза, активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ) – повышением содержания диеновых конъюгатов и оснований Шиффа, ослаблением антиоксидантной защиты (снижение уровней ретинола, α -токоферола и активности каталазы). При проведении экспериментов мы целенаправленно изменяли СГК: смещение КДО влево (введение цианата натрия) в условиях действия холода сопровождается сдвигом прооксидатно-антиоксидантного равновесия в сторону активации ПОЛ и ослабления антиоксидантной системы, а сдвиг вправо (введение йодобензоата натрия, L-аргинина) – минимальными нарушениями кислотно-основного состояния и кислородного обеспечения, повышением устойчивости крыс к гипотермии [1].

Вероятно, снижение СГК при гипотермии содействует уменьшению дисбаланса между донорами и акцепторами электронов, что приводит к

ингибированию процессов перекисидации. При гипотермии наблюдается угнетение антиоксидантной системы. В наших экспериментах показано, что одним из эффективных способов коррекции является введение L-карнитина. Его действие определяется способностью транспортировать высокомолекулярные жирные кислоты в митохондрии для бета-окисления и синтеза АТФ, замедлять процессы ПОЛ, активировать синтез ненасыщенных жирных кислот. Таким образом, L-карнитин сохраняет стабильность жидкокристаллического состояния липидов при гипотермии, что способствует нормальному функционированию мембран клеток [3].

Умеренная гипотермия может быть полезной при гипоксических состояниях, так как при этом уменьшается потребление кислорода тканями, снижается энергетическая стоимость функционирования всех систем организма, а умеренный сдвиг КДО влево улучшает оксигенацию крови в легких [5]. У крыс, подвергнутых холодовому воздействию, наблюдается рост концентрации нитрат/нитритов в плазме после гипотермии на 34,7% ($p < 0,001$) и снижение после отогревания – на 18,5% ($p < 0,001$). Предварительное введение L-аргинина при гипотермии с последующим отогреванием приводит к повышению $p50_{\text{реал.}}$ на 8,1% ($p < 0,01$) и сдвигу КДО вправо. Тогда как коррекция L-аргинин-NO системы донором NO (нитропруссид натрия) и неселективным ингибитором NO-синтазы (метилвый эфир N^w -нитро-L-аргинин) не оказывает существенного эффекта на кислородтранспортную функцию крови [4].

Полученные данные позволяют обосновать роль SGK в коррекции нарушений КТФ крови. Несмотря на общие механизмы патогенеза гипоксических состояний, компенсаторные процессы зависят от специфических условий их формирования и могут реализовываться как L-аргинин NO системой, так и газотрансммитерами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зинчук В. В., Дорохина Л. В., Глуткин С. В. Кислородзависимые процессы при гипотермии и отогревании: монография. – Гродно, 2010. – 192 с.
2. Евсеев А. В., Шабанов П. Д., Парфенов Э. А., Правдивцев В. А. Острая гипоксия: механизмы развития и коррекция антиоксидантами. – СПб.: Элби-СПб, 2008. – 224 с.
3. Stefanutti G., Vejchapipat P., Williams S. R. et al. Heart energy metabolism after intestinal ischaemia and reperfusion. // J. Pediatr. Surg. - 2004. - Vol. 39, № 2. – P. 179-183.
4. Zinchuk V., Hlutkin S. Blood oxygen transport and prooxidant-antioxidant balance in rats under hypothermia and rewarming combined with a modification of L-arginine-NO pathway // Asian J. of Pharmacy, Nursing and Med. Sciences. – 2015. – Vol. 3, № 2. – P. 55-63.
5. Wood S. C. Interrelationships between hypoxia and thermoregulation in vertebrates // Advances in comparative and environmental physiol. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. – 1995. - Vol. 22. - P. 209-231.

ИССЛЕДОВАНИЕ HIF-ЗАВИСИМЫХ ПРОЦЕССОВ В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ НЕОНАТАЛЬНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС

Древицкая Т.И., Линник О.А., Досенко В.Е., Маньковская И.Н.

Институт физиологии им. А.А.Богомольца, НАНУ, г. Киев, Украина

drevitskaya@biph.kiev.ua

В настоящее время понимание молекулярно-генетических механизмов ответа на оксидативный стресс различного генеза составляет фундаментальный аспект физиологии. Известно, что транскрипционный фактор HIF играет важную роль в регуляции продукции ROS (активные формы кислорода) в митохондриях благодаря разным механизмам: прямым – регуляция биогенеза и аутофагии митохондрий, перестройка паттерна экспрессии субъединиц цитохром с оксидазы, а также косвенным – регуляция экспрессии PDK-1, которая фосфорилирует и инактивирует пируватдегидрогеназу. В частности, при индуцированной гипоксией аутофагии именно HIF-1 регулирует экспрессию протеина Bnip3, потенциального индуктора митофагии. При исследовании HIF-опосредованной регуляции митохондриального метаболизма показано, что при гипоксии и, соответственно, при увеличении продукции ROS митохондриями повышается экспрессия HIF-1 α и его генов-мишеней. Так, Lee и др. считают, что доксорубин обладает способностью ингибировать HIF-1 из-за блокирования его связывания с ДНК [1]. Итак, с одной стороны, HIF-1 приводит к развитию клеточного ответа на гипоксию путем активного снижения потребления кислорода в митохондриях, при гипоксических условиях стимулирует гликолитические процессы в клетке и запускает процесс аутофагии через BNIP3. С другой стороны, HIF-1 влияет на экспрессию miR-210, которая способна снижать уровень апоптоза и регулировать экспрессию субъединицы COX-4, которая связана с активностью цитохром с-оксидазы, продукцией АТФ и образованием ROS в митохондриях, то есть HIF-1 регулирует гомеостатический ответ, оптимизирует функцию митохондриального дыхания при снижении PO₂ и повышает генерацию ROS в клетках [2].

Целью данной работы было исследование эффектов активации и подавления системы HIF и его генов-мишеней на функцию митохондрий, распределение разных видов клеточной смерти и про-/антиоксидантный баланс неонатальных кардиомиоцитов.

Исследование проведено на изолированных кардиомиоцитах двухдневных неонатальных крысах линии Вистар. Выделение и культивирование неонатальных кардиомиоцитов осуществляли в соответствии с модифицированной методикой [3]. Распределение видов клеточной смерти в условиях активации HIF и при его инактивации оценивалось при

моделировании оксидативного повреждения с помощью аноксии-реоксигенации. Для подсчета количества живых, некротических и апоптотических клеток использовали методы окраски бис-бензими́дом (Hoechst 33342) и пропидиум йодидом в концентрации 8,75 мкмоль/л и флуоресцентной микроскопии (NikonEclipse E200, фильтр D/PI, длина волны возбуждения 330-380 и 510-560 нм для Hoechst и пропидиум йодида, соответственно). Митохондриальный потенциал определяли с помощью окраски MitoTracker®Deep Red FM (Invitrogen, USA). Профиль экспрессии субъединиц HIF и ряда HIF-зависимых генов изучали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Анализ полученных результатов экспрессии генов проводили с помощью программного обеспечения 7500 FastReal-time PCR Software.

При использовании доксорубициновой модели подавления HIF показано, что количество живых клеток снизилось на $20,8 \pm 4,3\%$ по сравнению с контролем, соответственно, количество кардиомиоцитов, погибших путем некроза, увеличилось на $20,7 \pm 4$, уровень апоптотических клеток не изменился. При оценке изменений экспрессии ряда генов после инкубации с доксорубицином в дозе 0,5 мкмоль установлено, что уровень экспрессии мРНК HIF-1 α составил $2,9 \pm 0,8$ у.е., в контроле – $3,6 \pm 0,7$ у.е. Уровень экспрессии генов-мишеней HIF (TERT и PDK-1) достоверно ($p < 0,05$) уменьшился (в 4,9 и 4 раза, соответственно) по сравнению с контролем.

Показано, что ингибитор HIF-пролилгидроксилаз, который использовали для активации системы HIF, который вносился в среду для культивирования в конечной концентрации 2,5 мкМ за 24 часа до аноксии-реоксигенации, уменьшал количество кардиомиоцитов, погибших путем некроза, на 13,1%, и увеличивал количество живых клеток на 14%. Также определяли изменения профиля экспрессии мРНК субъединиц HIF и ряда HIF-зависимых генов: содержание мРНК субъединиц HIF-1 α , HIF-2 α и HIF-3 α увеличилось, соответственно, в 3,07; 3,9 и 4,7 раза ($P < 0,05$) по сравнению с контролем; уровень экспрессии мРНК гена эритропоэтина и его рецептора увеличился в 4,1 и в 4,5 раза ($P < 0,05$), соответственно; уровень экспрессии матричной РНК гена IGF-1 увеличился в 5,2 раза, Glut-1 в 10 раз, Glut-4 в 6 раз при использовании ингибитора ($P < 0,05$). Кроме того, исследовали изменения экспрессии HIF-зависимой гистона-деацетилазы HDAC7: при действии ингибитора пролил-гидроксилазы ее экспрессия в культуре неонатальных кардиомиоцитов увеличилась в 4 раза.

Таким образом, установлены возможные молекулярно-генетические механизмы кардиопротекции, которые обусловлены изменением профиля экспрессии HIF-зависимых генов, в том числе цитопротекторных факторов (EPO и EpoR), белков энергетического обмена (IGF-1, Glut-1, Glut-4) и фермента, который ограничивает экспрессию других генов в условиях недостатка кислорода, окислительного стресса и энергодефицита путем деацетилирования гистонов в промоторных участках

(HDAC7), что, несомненно, является компенсаторной реакцией в ответ на аноксию-реоксигенацию *in vitro*. Активация системы транскрипционного фактора HIF с помощью ингибитора пролилгидроксилаз (PHD) приводила к уменьшению некротической гибели клеток, скорее всего, из-за снижения уровня продукции свободных радикалов, что открывает перспективы использования его активаторов для коррекции состояний, связанных с повышением свободнорадикального окисления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lee K., Qian D., Rey S., Wei H., Liu J., Semenza G. Anthracycline chemotherapy inhibits HIF-1 transcriptional activity and tumor-induced mobilization of circulating angiogenic cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A.* – 2009. – Vol. 106, № 7. – P. 2353-2358.
2. Линник О. А., Древицкая Т. И., Чорный С. А., Досенко В. Е., Маньковская И. Н. Влияние доксорубина на культуру изолированных кардиомиоцитов крыс // *Вісник морфології.* – 2014. – Т. 18, № 2. – С. 383-387.
3. Surova O., Nagibin V., Tumanovskaya L., Dosenko V., Moibenko A. Effect of a low dose of proteasome inhibitor on cell death and gene expression in neonatal rat cardiomyocyte cultures exposed to anoxia-reoxygenation // *Exp. Clin. Cardiol.* – 2009. – Vol. 14, № 2. – P. 57-61.

ЙОДСОДЕРЖАЩИЕ ТИРЕОИДНЫЕ ГОРМОНЫ ПОВЫШАЮТ АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА ЗА СЧЕТ СТИМУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ РАННИХ ГЕНОВ

Евдокимова О.В., Городецкая И.В.

Витебский государственный медицинский университет, Витебск
gorodecka-iv@mail.ru

Установлено, что близкие к физиологическим дозы йодсодержащих тиреоидных гормонов (ЙТГ) способны оказывать стресс-протекторное действие за счет ограничения интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сердце при долговременном действии стрессоров. Указанное лимитирование липопероксидации обусловлено повышением активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ). Однако механизм влияния ЙТГ на состояние про-/антиоксидантного баланса организма до сих пор не изучен. Учитывая возможность геномного действия ЙТГ, предположено, что их антистрессорный эффект связан со стимуляцией синтеза некоторых генов, в частности генов раннего ответа *c-fos* и *c-jun*, экспрессия которых является незамедлительным и неспецифическим ответом организма на действие разных стрессоров.

Изучить взаимосвязь концентрации ЙТГ в крови, уровня мРНК *c-fos* и *c-jun* в миокарде с показателями, характеризующими активность ПОЛ и состояние антиоксидантной системы миокарда при стрессе.

Работа выполнена на 78 беспородных крысах-самцах массой 200–250 г. Химический стресс (ХС) – введение этанола (внутрижелудочно 25% раствор в дозе 3,5 г/кг массы тела), эмоциональный – «свободное плавание животных в клетке» (СПК). L-тироксин (L-T4) вводили в дозе от 1,5 до 3,0 мкг/кг в течение 28 суток. Состояние ПОЛ в сердце оценивали по концентрации диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), а также по скорости процесса. Активность СОД в сердце определяли по Fried, КАТ – по Баху. Неферментативный компонент антиоксидантной системы оценивали по содержанию восстановленного глутатиона (GSH) в миокарде (методом Sedlak) и по уровню витаминов-антиоксидантов А, Е и С в плазме (флюорометрически), а также по показателям, отражающим состояние «структурного» антиоксиданта – активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), а также гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ) (с помощью кинетического метода на автоматическом анализаторе «Eyorolaser»).

Экспрессию генов *c-fos* и *c-jun* в миокарде изучали с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Концентрацию ЙТГ в крови изучали радиоиммунологически. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Статистика 6.0».

Оба примененных стрессора активировали ПОЛ в миокарде, однако в разной степени: концентрация ДК, МДА и скорость ПОЛ повышались на 24, 20 и 29% ($p<0,01$) после ХС; на 32, 37 и 42% ($p<0,01$) после ЭС. Прямая связь показателей, характеризующих процессы ПОЛ, с уровнем мРНК ранних генов в миокарде установлена после всех воздействий ($R=0,61-0,95$, $p<0,05$), содержания ДК и МДА с концентрацией Т3 св в крови – после ХС ($R=0,83$ и $0,60$, $p<0,05$); обратная – между скоростью ПОЛ и сывороточным уровнем ЙТГ после ЭС ($R=-0,74$ для Т4 св и $-0,76$ для Т3 и Т4 ($p<0,05$)). Активность СОД и КАТ в миокарде, а также АЛТ и ГГТ в плазме крови увеличивалась после всех стрессов: на 10%, 15% ($p<0,05$), 28% ($p<0,001$) и на 176% ($p<0,01$) после ХС; на 12%, 18% ($p<0,01$), 44% ($p<0,001$) и на 98% ($p<0,01$) после ЭС. Уровень GSH в миокарде и содержание витамина Е снижались также после воздействия и ХС, и ЭС: на 31 и 23% ($p<0,01$) и на 43% ($p<0,001$) и 38% ($p<0,05$). Кроме того, после ЭС повышалась активность АСТ и уменьшалась концентрация витаминов А и С в крови: на 128% ($p<0,001$), 41% ($p<0,01$) и 7% ($p<0,001$). Величина коэффициента парциальной корреляции в группах «Контроль» и «ХС» указывает на взаимосвязь активности СОД, КАТ в миокарде с содержанием ЙТГ в крови ($R=0,61-0,79$, $p<0,05$) и уровнем мРНК *c-fos*, *c-jun* в миокарде ($R=0,80-0,93$, $p<0,01$). После ЭС активность

указанных ферментов коррелировала лишь с уровнем мРНК генов раннего ответа ($R=0,62-0,82$, $p<0,05$). Концентрация GSH сильно прямо коррелировала с содержанием ЙТГ после всех воздействий ($R=0,83-0,99$, $p<0,001$), а также с уровнем мРНК c-fos и c-jun в миокарде после ЭС ($R=0,79-0,87$, $p<0,01$). Концентрация витаминов прямо, а активность АСТ, АЛТ и ГГТ, напротив, обратно коррелировали с содержанием большинства форм ЙТГ в крови (после ХС $r=0,62-0,72$ ($p<0,05$) для витамина Е и $r=-0,64 - -0,73$ для АЛТ ($p<0,05$); после ЭС $r=0,60-0,73$ ($p<0,05$) для витамина А и С и $r=-0,58 - -0,79$ ($p<0,05$) для АСТ, АЛТ и ГГТ). Введение L-T4 незначительно снизило скорость ПОЛ (на 14%, $p<0,05$) и, напротив, повысило активность СОД, КАТ и уровень GSH в миокарде (на 9% ($p<0,05$), 12% ($p<0,05$) и 10% ($p<0,01$)). L-T4 ограничил интенсификацию ПОЛ после ХС и ЭС, в условиях которых содержание ДК увеличивалось лишь на 10 и 16% ($p<0,01$ в обоих случаях), МДА на 17% ($p<0,05$) и 22% ($p<0,01$), скорость ПОЛ на 12 и 26% ($p<0,01$ в обоих случаях). Данный эффект был связан со стимуляцией антиоксидантной системы (по отношению к их значениям у подвергнутых стрессу эутиреоидных крыс были большими: активность СОД после ХС и ЭС (на 9 и 8% ($p<0,01$), КАТ, концентрация витаминов А и С после ЭС (на 7% ($p<0,05$), 44 и 11% ($p<0,001$)), уровень витамина Е после ХС (на 20%, $p<0,001$), содержание GSH после ХС и ЭС (на 25 и 24% ($p<0,01$ в обоих случаях)) и, напротив, меньшими активность АСТ после ЭС (на 92%, $p<0,01$), АЛТ и ГГТ после ХС и ЭС (на 16 и 34% и на 104 и 49% ($p<0,05$)). В группах «L-T4» и «L-T4+стресс» между показателями интенсивности ПОЛ, а также активностью СОД, КАТ и концентрацией GSH в миокарде, с одной стороны, и содержанием большинства форм ЙТГ и уровнем мРНК ранних генов в миокарде, с другой, установлена взаимосвязь, более выраженная после ЭС (18 корреляций) ($R=0,59-0,99$, $p<0,05$). После ХС количество корреляционных связей – 7 ($R=0,65-0,98$, $p<0,05$). Уровень витамина Е в указанных группах прямо коррелировал с ТЗ св ($r=0,71$, $p<0,01$), а активность АСТ в крови обратно с содержанием общих форм ЙТГ и ТЗ св ($r=-0,60 - -0,68$, $p<0,05$), как и плазменная активность АЛТ с уровнем Т4 и ТЗ св в крови ($r=-0,62$ и $-0,67$, $p<0,05$). Таким образом, наличие сильной корреляционной связи между сывороточным содержанием ЙТГ, уровнем мРНК c-fos и c-jun и активностью большинства показателей про-/антиоксидантного баланса свидетельствует об активации антиоксидантной системы под влиянием ЙТГ вследствие индукции ими ответа ранних генов.

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА T786C ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА У МУЖЧИН

Жадько Д.Д.¹, Степура Т.Л.¹, Бардин А.Р.²

¹Гродненский государственный медицинский университет,

²Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Гродно, Беларусь

zhadzko@mail.ru

Развитие и проявление физических качеств человека подчинено сложной цепи взаимодействия генетических факторов и внешнего влияния окружающей среды, при этом по мере углубления знаний об организации генома человека появляется все больше данных о механизмах работы генов, ответственных за проявление физиологических и метаболических функций [3]. Следует отметить, что ряд важнейших функций в организме осуществляет монооксид азота (NO), который, являясь сигнальной молекулой, обеспечивает регуляцию ряда физиологических функций, в том числе протекания кислородзависимых процессов в организме [2]. Ген эндотелиальной синтазы оксида азота локализован в хромосоме 7q35-36, состоит из 26 экзонов с общим размером 21 кб, при этом ряд его полиморфных вариантов, обуславливающих уменьшение концентрации NO в плазме крови, имеют существенное функциональное значение [5]. В частности, вызывает интерес изучение полиморфизма T786C, в котором происходит замена тимина на цитозин в позиции 786, что обуславливает изменение синтеза эндотелиального NO [6]. В связи с изложенным, целью исследования явилась оценка распределения частот аллелей и генотипов полиморфизма T786C у мужчин.

Объект исследования – здоровые молодые мужчины 18-24 лет (n=79), уроженцы Гродненской области. Добровольность участия подтверждалась письменным информированным согласием. Забирали кровь минимум через 12 ч после последнего приема пищи из локтевой вены в состоянии покоя в шприц 5 мл, содержащий 0,5 мл антикоагулянта (3,8% раствора цитрата натрия). Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике УО «Гродненский государственный медицинский университет». Определение полиморфного варианта гена NO-синтазы по локусу T786C проводили методом полимеразной цепной реакции с детекцией результата в режиме реального времени. Амплификацию исследуемого локуса ДНК проводили на амплификаторе Rotor Gene-Q («Qiagen», Германия). Распределение частот генотипов исследуемых полиморфных локусов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 Пирсона. Статистический анализ проводили общепринятыми методами с помощью программного обеспечения Statistica, Microsoft Excel.

Нами проведена оценка распределения частот аллелей полиморфизма T786C гена эндотелиальной синтазы оксида азота у мужчин, проживающих в Гродненском регионе. Результаты свидетельствуют о том, что распределение полиморфных вариантов изучаемого гена в данной выборке не отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга ($\chi^2=0,006$, $p=0,938$).

Оценка распределения частот аллелей полиморфизма T786C гена эNOC у данной категории испытуемых показала, что у 84,8% добровольцев в генотипе имеется аллель T, в то время как аллель C был найден в генотипе 63,3% испытуемых.

Встречаемость генотипов полиморфизма T786C гена эндотелиальной синтазы оксида азота у лиц, участвовавших в исследовании, показала, что гомозиготный генотип, включающий два доминантных аллеля T, присутствует у 36,7% обследуемых. Гетерозиготный генотип полиморфизма T786C у данного контингента встречается в 48,1% от всех изучаемых образцов крови, а генотип, имеющий два рецессивных аллеля C – всего у 15,2% выборки. Следует отметить, что у изучаемой когорты испытуемых количество генотипов, имеющих аллель T (TT, TC), в 5,6 раза больше, чем генотипа CC. В свою очередь гомозиготный доминантный генотип TT наблюдается в 1,7 раза реже, чем генотипы, имеющие аллель C. В целом гетерозиготный генотип полиморфизма T786C у обследуемых встречается в 1,3 раза чаще, чем гомозиготный доминантный генотип, и в 3,2 раза чаще, чем гомозиготный рецессивный генотип.

Регуляция гена эндотелиальной синтазы оксида азота представляет собой сложный процесс, в результате которого конечная концентрация этого фермента является следствием действия многих факторов, включая активность промоторного ответа, действие факторов, обеспечивающих разный период полужизни мРНК, регуляцию экспрессии в ответ на различные физиологические стимулы [4].

Аэробные возможности организма определяются функциональными возможностями ряда механизмов, обеспечивающих перенос O_2 к тканям. Доставка кислорода является результатом тесной интеграции кислородсвязывающих свойств крови и кровообращения, деятельность которых координируется большим числом генов, вовлеченных в адаптацию организма к физическим нагрузкам [1]. Состояние L-аргинин-NO системы может определять функциональные свойства гемоглобина путем модификации его сродства к кислороду через внутриэритроцитарные механизмы регуляции, кислородзависимый характер образования NO, регуляцию сосудистого тонуса, действие пероксинитрита [2].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта T786C гена эндотелиальной NO-синтазы в исследуемой популяции имеет свои особенности. Дальнейшее исследование генетических факторов важно для понимания механизмов, формирующих аэробный метаболизм организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глазачев О. С., Дудник Е. И. Особенности реактивности сосудов // Физиология человека. – 2013. – № 4. – С. 74-81.
2. Зинчук В. В. Дисфункция эндотелия и кислородсвязывающие свойства гемоглобина // Кардиология. – 2009. – № 7-8. – С. 81-91.
3. Ильютик А. В. и др. Алгоритм определения спортивной специализации конькобежцев // Мир спорта. – 2015. – № 4. – С. 49-55.
4. Кравченко Н. А., Ярмыш Н. В. Регуляция экспрессии эндотелиальной NO-синтазы и дисфункция сосудистого эндотелия при сердечно-сосудистой патологии // Цитолог. и генетика. – 2008. – Т. 42, № 4. – С. 69-80.
5. Marsden P. A. et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene // J. Biol. Chem. – 1993. – Vol. 268. – P. 17478-17488.
6. Nakayama M. et al. T786C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm // Circulation. – 1999. – Vol. 99. – P. 2864-2870.

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН С НОРМАЛЬНОЙ БЕРЕМЕННОСТЬЮ И ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

¹Жив А.Ю., ¹Буланова К.Я., ²Лобанок Л.М.

¹«Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова» Белорусского государственного университета,

²Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск
az.starlight@gmail.com

Преэклампсия (ПЭ) у беременных до сих пор является одной из главных причин гибели матери и плода практически во всех странах, включая высокоразвитые [1]. Оксидативный стресс, истощение антиоксидантной системы организма, по мнению некоторых исследователей, составляют триггерный механизм для активации симптоматики пре-эклампсии [2].

Целью настоящего исследования явилось изучение антиоксидантной активности плазмы крови (АОА) у практически здоровых людей (контроль), а также женщин с нормальной беременностью, группы риска развития преэклампсии, преэклампсией средней и тяжелой степени. Определение АОА плазмы крови проводилось по методу [3].

Результаты и их обсуждение. В крови здоровых небеременных доноров общая АОА плазмы составила $65,7 \pm 5,1\%$, неферментативная – $35,6 \pm 2,0\%$, ферментативная – $30,9 \pm 2,7\%$. В плазме крови женщин с нормальной беременностью выявлено увеличение общей антиоксидантной активности примерно в 1,7 раза, при этом неферментативная АОА возросла в 2,4 раза, ферментативная АОА, напротив, снизилась в 1,24 раза относительно контроля (таблица). В плазме крови беременных женщин группы риска развития ПЭ не происходит изменений в системе АОА

в сравнении с нормальной беременностью. Однако уровень общей антиоксидантной защиты превышает примерно в 2 раза контроль (группа небеременных). Показатели неферментативной АОА ($85,71 \pm 1,23\%$) и ферментативной АОА ($31,43 \pm 3,99$) были равнозначны таковым при нормальной беременности. Таким образом, в группе риска развития преэклампсии не наблюдается дисбаланса окислительно-восстановительных процессов в плазме крови беременных.

Таблица – Общая, ферментативная и неферментативная АОА плазмы крови у здоровых небеременных доноров, женщин с нормальной беременностью, группы риска развития преэклампсии, преэклампсии средней и тяжелой степени

Группы	Общая АОА, %	Неферментативная АОА, %	Ферментативная АОА, %
Контроль (n=16)	$65,7 \pm 5,1$	$35,6 \pm 2,0$	$30,9 \pm 2,7$
Нормальная беременность (n=31)	$111,11 \pm 2,31^*$	$86,27 \pm 1,38^*$	$24,84 \pm 1,82^*$
Группа риска развития преэклампсии (n=24)	$111,72 \pm 4,29^*$	$85,71 \pm 1,23^*$	$31,43 \pm 3,99$
Преэклампсия средней степени (n=3)	$120,53 \pm 4,29^* \#$	$83,91 \pm 2,62^*$	$42,07 \pm 7,09^* \#$
Преэклампсия тяжелой степени (n=3)	$96,78 \pm 5,77^* \#$	$87,41 \pm 1,36^*$	$9,37 \pm 4,64^* \#$

Примечание – * – различия достоверны по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$); # – различия достоверны по сравнению с нормальной беременностью ($p \leq 0,05$).

Прогрессирование ПЭ сопровождается ростом показателей ферментативной АОА плазмы крови, увеличиваясь в группе женщин с ПЭ средней степени в 1,7 раза по сравнению с показателями при нормальной беременности. Вследствие роста ферментативной активности общая АОА плазмы крови у беременных женщин с ПЭ средней степени также увеличилась в сравнении с нормальной беременностью. Без изменений остались показатели неферментативной АОА. Не исключено, что система АО защиты в этот период испытывает состояние напряжения, поскольку при переходе преэклампсии в тяжелую форму происходит резкое снижение ферментативной АОА (более чем на 65% в сравнении с нормальной беременностью), что влечет за собой и уменьшение общей АОА, превышающей, тем не менее, этот показатель у небеременных. Показатель ферментативной активности у женщин с тяжелой степенью преэклампсии уменьшился в 3,3 раза по сравнению с контролем (небеременными) и в 2,7 раза – относительно показателя при нормальной беременности. Изменений в показателях неферментативной АОА не наблюдалось.

В организме женщин с нормальной беременностью в сравнении с небеременными наблюдается повышение общей АОА плазмы крови,

в основном вследствие увеличения неферментативной АОА, так как ферментативная АОА несколько снижается. Изменения носят адаптивный характер, соответствуя интенсификации окислительных процессов у беременных при развитии плода.

В группе риска развития ПЭ параметры общей, ферментативной и неферментативной АОА плазмы крови сохраняются на уровне таковых при нормальной беременности. Очевидно, оксидативный стресс не является ведущим фактором развития преэклампсии.

У беременных с ПЭ средней степени отмечается повышение уровня ферментативной защиты, влекущее за собой рост общей АОА плазмы крови, что свидетельствует о возросшей оксидативной нагрузке на организм женщин и о важной роли ферментативной антиокислительной защиты в запуске адаптивных механизмов.

Тяжелая степень ПЭ характеризуется резким падением ферментативной АОА плазмы крови до уровня более низкого, чем у женщин с нормальной беременностью и небеременных, что указывает на истощение адаптивных ресурсов этого компонента антиокислительной системы. Снижение общей АОА крови является следствием изменений, произошедших в системе ферментативной защиты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лучко С. А. Гестоз как причина материнской смертности в Республике Беларусь за период с 1990 по 2002 гг. // Мед. панорама. - 2004. - № 3. - С. 54-56.
2. Hayashi M., Inoue T., Hoshimoto K. et al. The levels of five markers of hemostasis and endothelial status at different stages of normotensive pregnancy // Acta Obstet. Gynecol. Scand. - 2002. - Vol. 81, № 3. - P. 208-213.
3. Левин Г. Я., Неделева А. В., Сидоркин В. Г. Способ определения антиоксидантной активности плазмы крови // Патент РФ № RU 2102757, 20.01.1998.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИФЕНОЛЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ КЛЕТОК: ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Заводник И.Б.¹, Чещевик В.Т.¹, Лапшина Е.А.¹, Дремза И.К.²,
Головач Н.Г.¹, Лучиц Т.В.¹, Коваленя Т.А.¹, Кравчук Р.И.², Курбат М.Н.²

¹Гродненский государственный университет им. Янки Купалы,

²Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
zavodnik_il@mail.ru

Одной из наиболее острых проблем современной медицины представляется потребность в особом классе фармакологических средств – «био корректоров», способных препятствовать развитию неблагоприятной динамики патогенетических процессов. Основные требования

к таким средствам – наличие широкого спектра фармакологического действия в сочетании со специфичностью, безопасность, высокая эффективность. Указанным требованиям отвечают препараты, созданные на основе растительных полифенолов. Определяющую роль в патогенезе многих заболеваний – атеросклероза, диабета, нейродегенеративных заболеваний (болезни Паркинсона, Альцгеймера) – старения, как доказано, играют дефекты окислительного фосфорилирования в митохондриях.

Целью настоящей работы является дальнейшее выяснение механизмов регуляции полифенолами биоэнергетической функции клеток, исследование их мембраностабилизирующего, антиоксидантного и цитопротекторного эффектов, разработка способов коррекции полифенолами ряда патологических состояний.

Как предполагают, основной механизм действия полифенолов заключается в инактивации свободных радикалов (радикал-скэвенджерная активность) и хелатировании ионов редокс-активных металлов. В последние годы появляются новые данные об участии полифенолов в регуляции процессов клеточной сигнализации.

В настоящей работе, используя экспериментальные модели ряда патологических состояний *in vivo*, мы провели скрининг анти- и прооксидантной активности полифенолсодержащих комплексов, выделенных из краснокочанной капусты и клюквы. В модельных системах нами выяснены специфичность взаимодействия растительных полифенолов с реактивными формами кислорода и азота, механизм(ы) антиоксидантного действия, а также последствия их фармакологического введения на животных. Нами проведен структурно-функциональный анализ анти- и прооксидантной активности представителей полифенолов (катехина) и продуктов их окислительной трансформации.

Введение крысам на фоне хронической интоксикации тетрахлорметаном флавоноидов клюквы (7 мг/кг массы, 30 дней) приводит к выраженным гепатопротекторным эффектам: флавоноиды предотвращают токсическое повреждение митохондрий, их фрагментацию, разрывы и локальную потерю мембран. В модельных радикал-генерирующих системах флавоноиды клюквы эффективно взаимодействовали с оксидом азота ($IC_{50}=4,4\pm0,4\text{ }\mu\text{g/ml}$), супероксид-анион-радикалом ($IC_{50}=53\pm4\text{ }\mu\text{g/ml}$), эффективно восстанавливали стабильный радикал DPPH ($IC_{50}=2,2\pm0,3\text{ }\mu\text{g/ml}$). Флавоноиды предотвращали пероксидацию липидов и окисление глутатиона в эритроцитах при окислительном воздействии, изменяли микровязкость внешнего монослоя липосомальных мембран. Мы предполагаем, что гепатопротекторный потенциал флавоноидов связан с их антиоксидантной активностью и способностью предотвращать митохондриальные повреждения.

Можно выделить следующие механизмы регуляции растительными полифенолами респираторной и фосфорилирующей функции митохон-

дрий, митохондриального редокс-баланса и антиоксидантной активности:

а) растительные полифенолы, обладая определенной липофильностью, непосредственно взаимодействуют с внутренней митохондриальной мембраной, специфически регулируя ее протонную проводимость, препятствуют ее повреждению, модулируют процесс формирования пор высокой проницаемости;

б) полифенолы способны регулировать активность комплексов электрон-транспортной цепи, выступать донорами (акцепторами) электронов для комплексов цепи и шунтировать отдельные участки цепи; этот процесс определяется липофильностью полифенола и его окислительно-восстановительным потенциалом;

в) полифенолы изменяют редокс-баланс митохондрий (и клетки), влияя на уровень восстановленного глутатиона, содержание сульфгидрильных групп митохондриальных белков, смешанных дисульфидов глутатиона с белками;

г) полифенолы регулируют активность ферментов митохондриального матрикса, в первую очередь ферментов цикла Кребса: оксоглутаратдегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы.

Выясненные нами механизмы регулирования функциональной активности митохондрий в норме и при патологии растительными полифенолами позволили нам предложить композицию, в основе которой лежит экстракт флавоноидов плодов клюквы, для коррекции нарушений структуры и функции митохондрий и ткани печени при токсическом поражении.

РОЛЬ КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ КРОВИ И ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ В РАЗВИТИИ ОКСИДАТИВНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

Зинчук В.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

zinchuk@grsmu.by

Газотрансмиттеры представляют собой особую группу газообразных молекул, осуществляющих межклеточную и внутриклеточную организацию разных функций организма [2]. К данным газообразным трансммиттерам относят монооксид азота, монооксид углерода и сероводород. В отличие от классических мессенджеров, передающих сигнал по каскадному принципу, газотрансмиттеры осуществляют модификацию внутриклеточных протеинов. Их физиологическое значение не ограничивается регуляцией функций сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, но и распространяется также на другие системы, составляя

единый комплекс газовых посредников, легко проникающих через мембрану и регулирующих многочисленные реакции клетки [1].

Эндогенно H_2S синтезируется в тканях из L-цистеина. Известны ферментативный и неферментативный пути синтеза H_2S . Первый осуществляется за счет специальных цитозольных пиридоксаль-5'-фосфат-зависимых ферментов: цистотионин- β -синтаза и цистотионин- γ -лиаза, а также зависимо от Zn^{2+} фермента, локализованного как в цитоплазме, так и в митохондриях, 3-меркаптопируват-сульфуртрансфераза. Эти ферменты выявлены в клетках печени, почек, поджелудочной железы. В клетках нервной системы обнаружен только фермент цистотионин- β -синтаза, а в кровеносных сосудах синтез H_2S осуществляет цистотионин- γ -лиаза. Катаболизм сероводорода достаточно сложен. В митохондриях он окисляется в тиосульфат, далее превращается в сульфат, а затем в сульфит (конечный продукт его утилизации). Сероводород может непосредственно связываться с метгемоглобином, образуя сульфгемоглобин.

Предполагается, что метаболизм H_2S является частью кислородсенсорного механизма: в обычных условиях H_2S окисляется в митохондриях до сульфита, при гипоксии его утилизация уменьшается, в связи с чем возрастает вклад в гипоксический ответ [4].

Одной из мишеней действия данных газообразных посредников является гемоглобин. По мнению Kolluru G.K. et al. [3], гемоглобин, содержащий в геминовой группе железо, является «идеальным кандидатом» для изучения H_2S/NO взаимодействия. Среди разных факторов внутри-эритроцитарной системы регуляции кислородсвязывающих свойств крови наряду с pH, 2,3-ДФГ модулятором свойств гемоглобина является и H_2S . В эритроците эта молекула взаимодействует с гемоглобином, образуя сульфгемоглобин, который уменьшает сродство гемоглобина к кислороду.

В наших исследованиях показано, что L-аргинин-NO система оказывает модулирующее действие на кислородтранспортную функцию крови при разных состояниях, сопровождающихся развитием гипоксии. Этот эффект реализуется через различные кратко- и долгосрочные механизмы эритроцитарных и системных уровней регуляции. В их обеспечении также участвуют и H_2S - и CO-продуцирующие структуры. Так, увеличение сродства гемоглобина к кислороду при действии магнитного поля на организм сопровождается изменением уровня NO, H_2S в крови, а введение ингибитора синтеза NO вызывает противоположное изменение кислородсвязывающих свойств крови. Важно, что как NO, так и H_2S оказывает однонаправленный эффект на положение кривой диссоциации оксигемоглобина в этих условиях. Моделирование окислительного стресса, индуцированного введением липополисахарида, изменение синтеза NO, H_2S и CO обуславливает изменения функциональных свойств гемоглоби-

на. При ишемии-реперфузии печени введение донаторов монооксида углерода и эритропоэтина способствует улучшению параметров кислородтранспортной функции крови, L-аргинин-NO системы, прооксидантно-антиоксидантного и морфофункционального состояния, что опосредуется сероводородом.

Результаты изменений кислородсвязывающих свойств крови, а именно, сродства гемоглобина к кислороду при окислительном стрессе разной природы, а также данные о влиянии модуляции системы газотрансмиттеров на тяжесть развивающихся при этом нарушений расширяют и углубляют существующие представления о роли данных факторов в патогенезе окислительного повреждения организма.

В отличие от NO и сероводорода, вклад CO во внутриэритроцитарные механизмы регуляции сродства гемоглобина к кислороду изучен недостаточно. Участие газотрансмиттеров в формировании кислородтранспортной функции крови важно не только для обеспечения тканей кислородом, но и для поддержания прооксидантно-антиоксидантного баланса. Приведенные выше данные дают основание полагать, что во всех этих процессах принимает участие новый класс клеточных регуляторов – газообразные посредники (NO, H₂S и CO). Однако наши знания о роли этих веществ и кислородсвязывающих свойств крови в развитии оксидативных повреждений пока еще фрагментарны. Приходится констатировать, что до сих пор не сложилось целостного представления о клеточных механизмах, при участии которых газотрансмиттеры оказывают регулирующее влияние на отдельные компоненты различных функциональных систем, в частности кислородтранспортной функции крови в обычных условиях жизнедеятельности организма и при развитии оксидативных повреждений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусакова С. В., Ковалев И. В., Смаглий Л. В. и др. Газовая сигнализация в клетках млекопитающих // Успехи физиологических наук. – 2015. – Т. 46, № 4. – С. 53-73.
2. Черток В. М., Зенкина В. Г. Регуляция функций яичников: участие газовых трансммиттеров NO, CO, H₂S // Успехи физиологических наук. – 2015. – Т. 46, № 4. – С. 74-89.
3. Kolluru G. K., Prasai P. K., Kaskas A. M. et al. Oxygen tension, H₂S, and NO bioavailability: is there an interaction? // J. Appl. Physiol. – 2016. – Vol. 120, № 2. – P. 263-270.
4. Olson K. R. Hydrogen sulfide and oxygen sensing: implications in cardiorespiratory control // J. Exp. Biol. – 2008. – Vol. 211, Pt 17. – P. 2727-2734.

ПОКАЗАТЕЛИ БАЛАНСА ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОЙ ТРАВМЕ

**Зыблев С.Л.¹, Петренко Т.С.¹, Новикова И.А.¹, Величко А.В.²,
Дундаров З.А.¹, Зыблева С.В.²**

¹Гомельский государственный медицинский университет,

²Республиканский научно-практический центр радиационной медицины
и экологии человека, Гомель

s.zyblev@yandex.by

Ишемически-реперфузионное повреждение является многофакторной патологией, влияющей на раннюю и отдаленную функцию аллотрансплантата. Своевременная диагностика и адекватная коррекция нарушений гомеостаза при трансплантации почки во многом определяют конечный успех хирургического вмешательства [1]. Особое значение принадлежит улучшению методов диагностики нарушений в про-антиоксидантной системе организма. Хемилюминесцентный метод определения про-/антиоксидантного баланса относится к интенсивно разрабатываемым способам. Показатели люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) определяются образованием свободных радикалов (СР), а также зависят от наличия антиоксидантов (АО) в системе [2].

Изучить изменения баланса про-/антиоксидантной системы организма после включения почечного трансплантата в кровоток.

В исследовании участвовали 43 пациента с хронической болезнью почек (ХБП) 5 стадии, которым выполнили трансплантацию почки в хирургическом отделении (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (ГУ «РНПЦРМиЭЧ», г. Гомель). Возраст пациентов составлял от 21 до 63 лет, мужчин было 23 (53%), женщин – 20 (47%).

Лабораторные исследования проводили на базе лаборатории клеточных технологий ГУ «РНПЦРМиЭЧ». Состояние про-/антиоксидантного баланса оценивали методом люминолзависимой хемилюминесценции – ЛЗХЛ плазмы крови до трансплантации почки и через 24 часа после операции [3]. Регистрацию результатов ЛЗХЛ осуществляли на флюориметре/спектрофотометре Cary Eclipse FL1002M003 (Variant, USA) с автоматическим определением максимальной интенсивности свечения ($I_{\max}$), светосуммы хемилюминесценции (S), времени достижения пика ЛЗХЛ (t).

Полученные данные обработаны с помощью программы «Statistica 6.1» (StatSoft, GS-35F-5899H). Нормальность полученных данных определяли, используя тест Shapiro-Wilk's. Количественные параметры представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха

(25-й (LQ) – нижний квартиль и 75-й (UQ) – верхний квартиль). Был использован непараметрический метод статистического исследования: критерий Wilcoxon (для анализа различий двух зависимых групп по количественному признаку). Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали равным и менее 0,05.

Устойчивость баланса про-/антиоксидантов в плазме крови у реципиентов почечного трансплантата до операции равнялась 49,3 [31; 54,5]%, мощность антиоксидантной системы составляла 49,4 [18,7; 53,7]%, исходная антирадикальная активность равнялась 0,66 [0,41; 1,38] минут. Трансплантация почки вызвала значимое смещение баланса про-/антиоксидантов до 10,0 [6,0; 31,3]% (Wilcoxon test, $p=0,022$, $z=2,29$), значимое снижение мощности антирадикальной системы до 21,6 [6,1; 38,1]% (Wilcoxon test, $p=0,036$, $z=2,2$), а также наблюдалась тенденция в снижении антирадикальной активности до 0,45 [0,38; 1,09] мин (Wilcoxon test, $p=0,068$, $z=1,83$).

Реперфузия донорской почки активирует каскад свободно-радикальных процессов в связи с увеличением в крови недоокисленных продуктов метаболизма, которые накопились в ишемизированном аллотрансплантате. Данные процессы вызывают снижение I_{max} и S в раннем посттрансплантационном периоде, что указывает на преобладание прооксидантов и истощение компонентов антиоксидантной защиты организма с развитием окислительного стресса. В течение 24 часов после операции на фоне роста уровня первичных радикалов отмечается истощение в организме реципиента антирадикалов, блокирующих их. Это подтверждается снижением t у пациентов в ранний посттрансплантационный период.

Таким образом, хемилюминесцентный метод позволяет оценить состояние про-/антиоксидантного баланса организма у пациентов в раннем посттрансплантационном периоде. Ишемически-реперфузионное повреждение уже в течение первых суток вызывает истощение компонентов антиоксидантной защиты организма с развитием окислительного стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ватазин А. В., Нестеренко И. В., Зулькарнаев А. Б. и др. Патогенетические механизмы развития ишемического и реперфузионного повреждения почки как перспективные мишени специфической терапии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – №1. – С. 147-156.
2. Владимиров Ю. А. Активированная хемилюминесценция и биолуминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7, № 1. – С. 16-23.
3. Петренко Т. С., Новикова И. А., Гомоляко А. В. Методологические подходы к оценке хемилюминесценции плазмы крови // Чернобыльские чтения. – 2012: материалы Междунар. науч.- практ. конф., Гомель, 19-20 апреля 2012 г. / ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»; под общ. ред. канд. мед. наук, доц. А. В. Рожко. – Гомель, 2012. – С. 214-217.

МЕЛАТОНИН АКТИВИРУЕТ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ У МЫШЕЙ

Ибрахим М.А., Казакевич В.Б.

Белорусский государственный университет, Минск

niltherm@bsu.by

Каждую ночь в желудочковую систему головного мозга из эпифиза выделяется гормон мелатонин, достигая в ликворе весьма высокой концентрации [1]. Этот гормон оказывает регуляторное влияние на функции нервных клеток, действуя через G-связанные рецепторы плазмалеммы и ядерные рецепторы. Большинство нейронных структур ЦНС реагирует на появление мелатонина снижением своей активности [2]. Только нейроны гиппокампа в присутствии мелатонина значительно увеличивают частоту генерируемых спайков [3]. Известно, что гиппокамп отвечает за такие когнитивные функции, как исследовательское поведение и консолидацию следов памяти [4], а его нейроны весьма чувствительны к окислительным повреждениям. Мелатонин, помимо своей нейрогормональной роли, действует в ЦНС как антиоксидант, поскольку обладает способностью перехватывать свободные радикалы, тем самым защищает нейроны от окислительного стресса [5]. У разных линий мышей с врожденной и индуцированной патологией, для которых характерна повышенная продукция активных форм кислорода в тканях, был выявлен нейропротекторный эффект мелатонина [6-8]. Когнитивные функции у этих животных при введении мелатонина в значительной степени восстанавливаются.

Цель работы – исследование влияния мелатонина на показатели исследовательского поведения мышей без врожденной патологии.

Эксперименты выполнены на молодых лабораторных мышах весом 27-31 г. Исследовательское поведение мышей оценивали в тесте «открытое поле», по площади которого были равномерно расположены 16 отверстий, предназначенных для выявления специфического компонента исследовательской активности грызунов (норковый рефлекс). Время наблюдения – 3 мин.

Когнитивные способности мышей оценивали по времени прохождения ими «водного лабиринта Морриса» в упрощенном варианте [9]. Для этого использовали небольшой прямоугольный бассейн (50×40×15 см), заполненный забеленной молоком водой с погруженной в нее невидимой платформой (6×7 см), которую помещали стационарно в одном из углов. Мышь выпускали плавать (6 попыток) из центра бассейна и регистрировали время отыскания платформы. Мелатонин вводили внутривентрикулярно в дозе 10 мг/кг.

Наблюдения за поведением мышей в «открытом поле» на 10-20 мин после введения мелатонина показали, что у них не изменяется двигательная активность, но достоверно увеличивается число обследо-

ванных отверстий ($25,6 \pm 4$ в опыте против $14,8 \pm 3$ в контроле, $n=14$, $p<0,05$). Следовательно, у них возрастает исследовательская мотивация. Этот вывод подтверждается результатами, полученными при испытании мышей в «водном лабиринте Морриса». В большинстве попыток (в 5 из 6) животные, подвергнутые воздействию гормона ($n=8$), значительно быстрее находили скрытую платформу.

Вероятно, мелатонин не является гипногенным гормоном для таких животных, как крысы и мыши, а стимулирует их познавательную деятельность [10]. Ранее нами было показано, что мелатонин вызывает эпизоды высокой тета-активности в коре головного мозга крыс [11] и мышей (не опубликовано), а тета-ритм, как известно, является индикатором когнитивных гиппокамп-зависимых процессов в головном мозге [12].

Мелатонин стимулирует исследовательское поведение и способствует пространственному обучению у мышей без свободно-радикальной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Skinner D. C., Malpoux B. High melatonin concentrations in third ventricular cerebrospinal fluid are not due to Galen vein blood recirculating through the choroid plexus // *Endocrinology*. – 1999. – Vol. 140. – P. 4399-4405.
2. Naranjo-Rodríguez E. B., Prieto-Gómez B., Reyes-Vázquez C. Melatonin modifies the spontaneous multiunit activity recorded in several brain nuclei of freely behaving rats // *Brain Res. Bull.* – 1991. – Vol. 27. – P. 595-600.
3. Musshoff U., Riewenherm D. et al. Melatonin receptors in rat hippocampus: molecular and functional investigations // *Hippocampus*. – 2002. – Vol. 12 – P. 165-173.
4. Clark R. E., Zola S. M., Squire L. R. Impaired recognition memory in rats after damage to the hippocampus // *J. Neurosci.* – 2000. – Vol. 20. – P. 8853-8860.
5. Reiter R. J., Tan D. X., Fuentes-Broto L. Melatonin: a multitasking molecule // *Prog. Brain Res.* – 2010. – Vol. 181. – P. 127-151.
6. Cheng S., et al. Differential effects of melatonin on hippocampal neurodegeneration in different aged accelerated senescence prone mouse-8 // *Neuro. Endocrinol. Lett.* – 2008. – Vol. 29. – P. 91-99.
7. Silva R. H., Abílio V. C. et al. Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice // *Neuropharmacology*. – 2004. – Vol. 46. – P. 895-903.
8. O'Neal-Moffitt G. et al. Prophylactic melatonin significantly reduces Alzheimer's neuropathology and associated cognitive deficits independent of antioxidant pathways in AβPP(swe)/PS1 mice // *Mol. Neurodegener.* – 2015. – Vol. 10. – P. 27.
9. Лильп И.Г. и др. Межлинейные различия в способности к обучению мышей линий 101/HY и СВА в водном лабиринте (модифицированный тест Морриса) // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* – 1997. – Т. 124. – С. 666-668.
10. Fisher S. P., Sugden D. Endogenous melatonin is not obligatory for the regulation of the rat sleep-wake cycle // *Sleep*. – 2010. – Vol. 33. – P. 833-840.
11. Young C. K., McNaughton N. Coupling of theta oscillations between anterior and posterior midline cortex and with the hippocampus in freely behaving rats // *Cereb. Cortex*. – 2009. – Vol. 19. – P. 24-40.
12. Ибрахим М. А., Казакевич В. Б. Мелатонин вызывает изменения ЭКоГ наркотизированных уретаном крыс, сходные с проявлениями парадоксального сна // *Труды БГУ*. – 2012. – Том 7, Ч.1. – С. 150-154.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СПИРОМЕТРИИ У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ

Карпович Ю.И., Буэль А.И.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

poluhovich1@gmail.com

Спирометрия широко применяется в клинической практике, однако в ряде случаев к ее проведению следует относиться с осторожностью. Функциональное исследование лёгких выполняет ряд задач, поставленных клиницистом: диагностика и дифференцированный подход в лечении заболеваний лёгких, оценка тяжести вентиляционных нарушений, контроль эффективности терапии и оптимизация приверженности к лечению пациентов.

Исследование дыхательной функции при ожирении – важный метод для диагностики заболеваний дыхательной системы, но техника и интерпретация ее результатов имеет ряд сложностей.

Нарушения со стороны системы дыхания у пациентов с выраженным ожирением без выявленной бронхолегочной патологии могут быть обусловлены ригидностью грудной клетки, увеличением кифоза грудного отдела позвоночника, ограниченной подвижностью диафрагмы в связи с высоким внутрибрюшным давлением. Повышение последнего ведет к снижению дыхательных объемов и коллабированию альвеол базальных отделов легких. В то же время развивается усиление работы дыхания, что ведет к нарушениям вентиляционно-перфузионных отношений, с высокой частотой регистрируется синдром сонного апноэ [1, 2].

Целью нашего исследования стало изучение особенностей показателей спирометрии у пациентов с артериальной гипертензией и ожирением.

Были обследованы 45 человек, из них 20 пациентов с ожирением (10 мужчин и 10 женщин) и 20 практически здоровых (контрольная группа) без отягощенной наследственности по кардиальной, легочной и эндокринной патологии. Медиана возраста пациентов составила 42,7 лет [36; 45].

Из исследования исключались пациенты с бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких, анемией, имеющие в анамнезе эндокринную патологию (в виде сахарного диабета), инфаркт миокарда, миокардиты, инсульт, системные заболевания, онкопатологию.

Лабораторное обследование включало оценку липидного профиля крови глюкозы – общий холестерин (ХС), ХС липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП), ХС ЛП высокой плотности (ХС ЛПВП) и триглицериды (ТГ). Определение степени ожирения проводили согласно рассчитанному индексу массы тела. В проведенном клиническом исследовании измерение параметров функции внешнего дыхания проводилось

с помощью автоматизированного спирометра «МАС-1-А» (Республика Беларусь), оценивали объем форсированного выдоха (ОФВ), жизненную емкость легких (ЖЕЛ), индекс Тиффно.

Статистический анализ полученных результатов выполнен с использованием пакета программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel 2002, применялись непараметрические методы.

Полученные результаты описаны в таблице.

Таблица – Основная характеристика обследованных пациентов

Показатель	Пациенты с ожирением	Практически здоровые лица
Глюкоза	5,8 [5,3; 5,9]	4,6 [3,8; 4,8]
Общий холестерин	6,3 [5,9; 7,5]	4,5 [4,1; 5,0]
ХС ЛПНП	4,6 [3,1; 4,8]	1,9 [1,8; 2,2]
ХС ЛПВП	0,9 [0,7; 1,3]	1,4 [1,1; 1,5]
ТГ	2,1 [1,8; 2,6]	1,1 [0,8; 1,3]
ОФВ1	61 [60; 68]	76 [71; 78]
Индекс Тиффно	67 [63; 70]	88 [81; 89]
ЖЕЛ	65 [61; 69]	85 [80; 90]
ИМТ	37,1 [34,4; 38,8]	22,9 [21,8; 24,9]

В группе пациентов с ожирением (вторая степень у всех обследованных) выявлен ряд нарушений:

- метаболические нарушения (дислипидемия у 60% пациентов);
- у всех пациентов одной из типичных жалоб была одышка – обнаружена клинически у всех пациентов;
- артериальная гипертензия, 11 стадия, у 100% и снижение показателей спирометрии (ОФВ1 – у 46%, ЖЕЛ – 58%, индекса Тиффно – у 59%).

Выводы. Таким образом, анализ функции внешнего дыхания у пациентов с ожирением и артериальной гипертензией выявил следующие патологические изменения:

1. Снижение ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОФВ1.
2. Исследование функции легких у пациентов с ожирением и артериальной гипертензией является необходимым перед началом терапии артериальной гипертензии, особенно с включением бета-блокаторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Somers, V. K., White, D. P., Amin R. Sleep apnea and cardiovascular disease // Circulation. - 2008. – № 118. – P. 1080-1111.
2. Alvarez A. Morbid obesity // 2nd ed. – 2010. – P. 246.

АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПОЛ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В 12-ПЕРСТНОЙ КИШКЕ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОБТУРАЦИОННОМ ПОДПЕЧЕНОЧНОМ ХОЛЕСТАЗЕ

**Кизюкевич Л.С., Дричиц О.А., Амбрушкевич Ю.Г., Левз О.И.,
Кизюкевич И.Л., Кизюкевич Д.Л., Кулеша К.В., Аверук П.Ю.**

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

kizyukevichl@mail.ru

Свободнорадикальное окисление липидов сопровождает многие жизненно важные процессы, протекающие в организме: от регуляции активности внутриклеточных ферментов до регуляции нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной системы, скорости апоптоза и экспрессии разных генов, ответственных за синтез белков, необходимых для нормальных физиологических процессов, а также участвующих в развитии патологически измененных структур тканей и органов, что вызывает нарушение их функции.

Цель исследования – изучить состояние процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты в 12-перстной кишке крыс в динамике экспериментального обтурационного подпеченочного холестаза.

Все эксперименты выполнены в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном отношении к животным. В работе использован материал от 66 беспородных белых крыс-самцов массой 250 ± 30 г. Всего было поставлено 4 серии опытов, при этом задействованных в эксперименте животных разделили на четыре группы. У опытных животных 1-й (10 крыс), 2-й (10 крыс), 3-й (9 крыс) и 4-й (7 крыс) групп под эфирным наркозом обтурационный подпеченочный холестаз, продолжительностью 1-, 3-, 10- и 30 суток, соответственно, моделировали путем перевязки общего желчного протока (ОЖП) в его проксимальной части, области впадения в последний долевых печеночных протоков. У крыс контрольной группы ($n=40$) производилась ложная операция (ОЖП оставался интактным). По окончании эксперимента в гомогенатах 12-перстной кишки определяли содержание первичных – диеновые конъюгаты [3], и вторичных – малоновый диальдегид [1] – продуктов ПОЛ, а также факторы антиоксидантной защиты: активность фермента антиоксидантной защиты – каталазы [2] и концентрацию основного природного антиоксиданта – α -токоферола [5]. Статистическую обработку результатов экспериментальных исследований проводили с помощью пакета прикладных программ «Microsoft Excel» и «Statistica 6.0» для Windows («StatSoft. Inc»). Сравнительный анализ произведен с помощью критерия Манна-Уитни. Для всех проведенных измерений различия между контрольной и опытной группами считались достоверными при двустороннем уровне значимости $p < 0,05$, когда вероятность различий была больше или равна 95%.

Проведенные исследования показали, что через 24 часа холестаза в гомогенатах 12-перстной кишки опытных животных значительно возрастает уровень диеновых конъюгатов ($p < 0,05$) и уменьшается активность каталазы ($p < 0,01$), при этом содержание малонового диальдегида и концентрация α -токоферола не отличается от контрольных величин.

Спустя 72 ч подпеченочного холестаза у выживших опытных крыс (89,5%) содержание в гомогенатах 12-перстной кишки первичных (диеновые конъюгаты) и вторичных (малоновый диальдегид) продуктов ПОЛ, а также концентрация каталазы колеблется в пределах контрольных величин, при этом значительно уменьшается концентрация α -токоферола ($p < 0,05$).

Через 10 суток эксперимента в гомогенатах 12-перстной кишки опытных крыс продолжается некоторая стабилизация свободнорадикальных процессов – содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ колеблется в пределах контрольных величин, что сопровождается значительным снижением активности каталазы ($p < 0,05$).

В гомогенатах 12-перстной кишки оставшихся в живых (51%) опытных животных с 30-суточным холестазом наблюдаются наиболее выраженные изменения прооксидантно-антиоксидантных процессов: почти в два раза ($p < 0,05$) возрастает уровень малонового диальдегида (мощного ангиотоксина) на фоне значительного уменьшения активности как каталазы ($p < 0,05$), так и концентрации основного природного антиоксиданта α -токоферола ($p < 0,01$).

Таким образом, результаты исследований показали, что по мере увеличения продолжительности холестаза происходят глубокие, идущие в направлении стадии декомпенсации, нарушения процессов метаболизма в оболочках начального отдела тонкого кишечника, потенцирующие формирование полиорганной недостаточности. Активация свободнорадикальных процессов характеризует срыв адаптивных механизмов и опосредует различные проявления повреждающего действия экстремальных факторов [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. – 2-е изд. – Мн.: Беларусь, 2002.
2. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк и [др.] // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
3. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот // Современные методы в биохимии / Под. ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина. – 1977. – С. 63-69.
4. Антиоксиданты в комплексном лечении острого холецистита у больных пожилого и старческого возраста / Г. Л. Феофилов [и др.] // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 1992. – Т. 148, № 1. – С. 16-21.
5. Taylor S. L., Lamden M. P., Tappel A. L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis // Lipids. – 1976. – Vol. 11, № 7. – P. 530-538.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ АНТОЦИАНОВ КАПУСТЫ КРАСНОКОЧАННОЙ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫМ ДИАБЕТОМ У КРЫС

Кирко С.Н.¹, Кузьмицкая И.А.¹, Жук О.Н.¹, Канюка О.П.², Буко В.У.¹

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно

²Львовский национальный университет им. И. Франко, Украина

hepatology@bioch.basnet.by

Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе диабета 1 и 2-го типов и его осложнений [1, 2]. Основной источник свободных радикалов – окисляемая глюкоза в ее энедиольной форме. Неферментативное гликозилирование белков и аутоокисление глюкозы приводят к появлению супероксид-аниона и гидроксильного радикала, обуславливающих развитие окислительного стресса. Стратегия угнетения этого процесса предполагает применение ингибиторов гликозилирования, хелаторов и антиоксидантов. Среди последних субстанции растительного происхождения (флавоноиды, антоцианы (АЦ) и др.) обладают наиболее мощным антиоксидантным действием. Повреждение панкреатических β -клеток, вызванное аллоксаном или стрептозотоцином, мощными генераторами свободных кислородных радикалов, широко используемых для моделирования инсулинзависимого диабета, может быть предотвращено экзогенными антиоксидантами. Кроме того, антиоксидантные свойства играют существенную роль в предупреждении сосудистых нарушений и стабильности эритроцитов при диабете.

Цель работы – изучить антиоксидантное действие АЦ капусты краснокочанной.

В опыте использовались белые крысы-самки Вистар с массой 230-250 г. Диабет вызывали путём внутрибрюшинного однократного введения стрептозотоцина в дозе 45 мг/кг массы. Оценка интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и белков в крови крыс с диабетом проводилась по содержанию конечных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) и карбонильных групп белков, а также по времени гемолиза максимального количества эритроцитов, уровню гликозилирования внутриэритроцитарного гемоглобина и содержания щелочнотойкого гемоглобина.

Результаты свидетельствуют о повышении содержания ТБКРС в гемолизатах и лейкоцитах диабетических крыс, соответственно, в 1,8 и 2,6 раза, что указывает на активацию процессов ПОЛ. Время гемолиза максимального количества эритроцитов резко снижалось у диабетических крыс, однако введение АЦ не влияло на этот показатель. В то же время максимальное количество гемолизированных эритроцитов за 0,5 мин снижалось со статистической достоверностью почти в 2 раза только у диабе-

тических крыс, получавших АЦ. При введении экстракта антоцианидинов капусты краснокочанной интенсивность содержания ТБКРС в гемолизатах крови снижается на 82% по отношению к диабетным животным. Показано, что при диабете увеличивается содержание карбонильных групп как основного ($E=430$ нм), так и нейтрального ($E=370$ нм) характера в гемолизатах эритроцитов (в 2,9 и 2,6 раза, соответственно) и в лейкоцитах (в 3,4 и 2,3 раза, соответственно) крови крыс по сравнению с контролем. Введение АЦ сопровождалось снижением количества карбонильных групп как основного, так и нейтрального характера в гемолизатах крови, соответственно, на 35% и 36% по сравнению с диабетической группой. Снижение стабильности эритроцитов при диабете связано с гликозилированием внутриэритроцитарного гемоглобина, а также мембранных белков и липидов, что коррелирует с падением уровня гликозилированного гемоглобина, а также со снижением содержания щелочностойкого гемоглобина у диабетических крыс, получавших тестируемую субстанцию, в то время как у крыс с сахарным диабетом его значение резко повышалось (почти в 1,9 раза).

Накопление продуктов ПОЛ приводит к ускорению старения эритроцитов, увеличивает вязкость крови, что в совокупности способствует утолщению базальной мембраны сосудистой стенки, замедлению кровотока в мелких и средних сосудах, нарушению реологических свойств крови, ухудшению микроциркуляции. Некоторые авторы допускают, что липоперекиси участвуют в развитии сосудистых повреждений уже на ранних стадиях развития диабета [3, 4]. По-видимому, продукты ПОЛ тормозят синтез простациклина и способствуют развитию гиперкоагуляции, что ускоряет развитие сосудистых повреждений [4]. Конечные продукты ПОЛ приводят к деструктивным изменениям в клетке и накоплению в сосудистой стенке атерогенных липоротейдов [3]. Такие изменения обуславливают хронические осложнения диабета, в частности диабетические ангиопатии. Диабет приводит к выраженному снижению устойчивости эритроцитов к литическому воздействию, что проявляется сдвигом гистограммы процесса гемолиза в сторону коротких промежутков времени. Применение АЦ приводит к существенному повышению стабильности эритроцитарных мембран, при этом наблюдается появление двух популяций эритроцитов: первая популяция обладает устойчивостью, превосходящую устойчивость у диабетических животных, но меньше по сравнению с контрольными животными. Вторая популяция превышает по своей устойчивости стабильность эритроцитов у контрольных животных, что можно объяснить разным уровнем антиоксидантной защиты под воздействием различных компонентов смеси антоцианидинов капусты краснокочанной.

Полученные данные свидетельствуют как о выраженной антиоксидантной активности АЦ, снижающих содержание конечных продуктов перекисного окисления липидов и белков у диабетических животных, так и о способности АЦ предупреждать некоторые сосудистые осложне-

ния диабета, связанные с изменениями структурно-функционального состояния форменных элементов крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буко В. У., Лапшина Е. А., Лукивская О. Я. и др. Коррекция диабета и его осложнений // Наука и инновации. – 2011. – № 5. – С. 17-19.
2. Занозина О. В., Боровков Н. Н., Щербатюк Т. Г. Свободно-радикальное окисление при сахарном диабете 2-го типа: источники образования, составляющие, патогенетические механизмы токсичности // Современные технологии в медицине. – 2010. – № 3. – С. 104-112.
3. Смирнова О. М., Горелышева В. А. Показатели перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов в лимфоцитах периферической крови в дебюте ИЗСД // Сахарный диабет. – 1999. – № 2. – С. 22-28.
4. Соколов Е. И. Диабетическое сердце. – М.: Медицина, 2002. – 416 с.

ТЕЛЕМЕТРИЧЕСКАЯ АНАЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АЭРОБНОГО ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА

Кисляков Ю.Я., Кислякова Л.П., Гуляев В.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт аналитического приборостроения Российской академии наук,
Санкт-Петербург
yukisl@rambler.ru

Энергетический метаболизм биологических объектов в значительной степени характеризуется динамическими процессами потребления O_2 и выделения CO_2 . Для контроля этих процессов разрабатываются специализированные измерительные устройства, в основу которых положены аналитические методы регистрации парциальных давлений этих газов непосредственно в выдыхаемом воздухе в процессе дыхания или в замкнутом пространстве камеры. Эффективность их использования в значительной степени определяется быстродействием сенсорных устройств и возможностью использования беспроводных способов передачи регистрируемой информации в центр ее обработки. Для решения этой проблемы была разработана универсальная измерительная система с телеметрической связью с компьютером, позволяющая одновременно регистрировать парциальные давления O_2 и CO_2 в выдыхаемом воздухе в процессе дыхательного цикла или контролировать динамику содержания этих газов в замкнутом пространстве метаболической камеры для оценки динамики энергетических процессов в организме исследуемого объекта при его свободном поведении, изменениях газовой среды, нагрузках, экстремальных воздействиях и патологических состояниях.