

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

КИСЛОРОД И СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

Сборник материалов
международной научно-практической конференции

15-16 мая 2018 года

Под редакцией профессора В. В. Зинчука

Гродно
ГрГМУ
2018

УДК 612.014.464:005.745(06)
ББК 28.707я431
К 44

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ
(протокол № 6 от 06.04.2018).

Редакционная коллегия: ректор ГрГМУ, член-корр. НАН Беларуси,
д-р мед. наук, проф. В. А. Снежицкий;
проректор по научной работе ГрГМУ, д-р мед. наук,
проф. С. Б. Вольф;
зав. каф. нормальной физиологии ГрГМУ, д-р мед. наук,
проф. В. В. Зинчук.

Рецензенты: зав. каф. биохимии ГрГУ им. Я. Купалы, д-р биолог. наук,
проф. И. Б. Заводник;
зав. каф. фармакологии ГрГМУ, д-р биолог. наук В. И. Козловский;
зав. каф. биологической химии ГрГМУ, д-р мед. наук,
проф. В. В. Лелевич;
зав. каф. патологической физиологии ГрГМУ, д-р мед. наук,
проф. Н. Е. Максимович.

К44 **Кислород** и свободные радикалы : сборник материалов международной
научно-практической конференции, 15-16 мая 2018 года [Электронный ресурс]
/ под ред. проф. В. В. Зинчука. – Электрон. текст. дан. и прогр. (объем 3,5 Мб). –
Гродно : ГрГМУ, 2018. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
ISBN 978-985-558-957-1.

В сборнике представлены работы сотрудников научных и учебных учреждений Республики Беларусь и стран зарубежья по проблемам экспериментальной и клинической медицины: коррекция гипоксических состояний; кислородное обеспечение организма и дисфункция эндотелия; системные механизмы транспорта кислорода и полиморфизм генов и др. Представленные работы будут полезны широкому кругу научных сотрудников и работников практического здравоохранения.

УДК 612.014.464:005.745(06)
ББК 28.707я431

ISBN 978-985-558-957-1

© ГрГМУ, 2018

Уважаемые коллеги!

В данном издании представлены материалы международной научно-практической конференции «Кислород и свободные радикалы» (15-16 мая 2018 г.), проведение которой стало уже доброй традицией. Тематика данного форума охватывает такие направления, как системные механизмы транспорта кислорода при гипоксических состояниях; пути коррекции этих состояний; кислородное обеспечение организма и дисфункция эндотелия; механизмы транспорта кислорода и L-аргинин-NO-система; кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное равновесие; развитие окислительного стресса в эксперименте и клинике; роль кислородсвязывающих свойств крови и газотрансммиттеров в развитии оксидативных повреждений; системные механизмы транспорта кислорода и полиморфизм генов.

Проведение конференции совпало с годом 60-летия нашего вуза. Это символично, так как тематика конференции отражает научные направления работы одной из активно развивающихся научных школ Беларуси, вносящей значительный вклад в научный имидж страны.

Хочется выразить надежду, что проведение данного научного форума будет полезно для представителей разных специальностей медико-биологических дисциплин.

Зинчук В. В.

ХРАНЕНИЕ КРОВИ СОПРОВОЖДАЕТСЯ ИЗМЕНЕНИЯМИ МОРФОДИФРАКТОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КРАСНЫХ КРОВЯНЫХ ТЕЛЕЦ И НАКОПЛЕНИЕМ NO В ЭРИТРОЦИТАХ

Акулич Н.В., Сяхович В.Э., Беляев С. А.

УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория», а. г. Лесной, Беларусь
n.akulich@antidoping.by

Для достижения высоких результатов спортсмены используют запрещенные соединения и методы, в том числе кровяной допинг [1]. К его разновидностям относится переливание крови, применение препаратов, стимулирующих эритропоэз, искусственные переносчики кислорода. Использование всех разновидностей кровяного допинга, включая аутогемотрансфузию, запрещено как в соревновательный, так и в несоревновательный периоды.

Считается, что конечным результатом трансфузии предварительно отобранной крови является повышение содержания гемоглобина, увеличение кислородной емкости и улучшение снабжения мышечной ткани кислородом, что в итоге приводит к повышению выносливости спортсмена. Существует и другая точка зрения, согласно которой особых преимуществ спортсменам переливание крови (с целью роста уровня гемоглобина) предоставлять не должно, поскольку такая манипуляция приводит к росту вязкости крови. Поскольку факт многолетнего использования гемотрансфузии – косвенное доказательство ее эффективности, нами выдвинуто предположение, согласно которому достижение допингового преимущества, обусловленного переливанием крови, вероятно, связано с процессами, происходящими при ее хранении.

В доступной нам литературе приводятся сведения, согласно которым хранение эритроцитов сопровождается различными изменениями (снижение ζ -потенциала, сферо- и нарастающий микроцитоз, образование шизоцитов и другие), которые, на первый взгляд, не могут оказать позитивного влияния на кислородтранспортные функции крови. С другой стороны, в последние годы все больше внимания обращается на NO-синтазную активность эритроцитов, роль которой обсуждается в связи с различными физиологическими функциями организма. Поскольку NO-синтазная активность эритроцитов может оказать влияние на адаптацию к спортивным нагрузкам, то целью исследования является оценка структурно-функциональных параметров и содержание NO в эритроцитах при хранении крови.

Материалы и методы. Забор крови производился у добровольцев, антикоагулянт – ЭДТА К2. Мазки крови фиксировались метанолом и окрашивались по Романовскому. Пробы крови окрашивались моноклональными антителами к гликофору А (CD 235 а) и реагентом для выявления внутриклеточного NO (DAF-FM Diacetate). Для хранения крови использовался консервант глюгицир, пробы крови анализировались еженедельно в течение 42 дней.

Световая микроскопия. При исследовании препарата мазка крови использовался микроскоп Olympus IX 71 (Olympus, Япония). Для анализа

каждого препарата создавали архив изображений эритроцитов с разных (случайных) участков мазка, содержащих монослой эритроцитов.

Проточная цитометрия. Определяли параметры прямого и бокового светорассеяния, интенсивность флуоресценции CD 235 а и DAF-FM на приборе FACS ARIA, (BD Bioscience, США). Для пробоподготовки использовали фосфатный буфер, эритроциты на гистограммах гейтировали по CD 235а. Для статистического анализа использовались непараметрические методы. Изменения считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Общеизвестно, что кровь, помещенная в искусственную среду гемоконсерванта, претерпевает целый ряд биохимических, морфологических, физико-химических и реологических изменений, связанных в основном с обменными процессами, происходящими в клетках.

На основании данных световой микроскопии фиксированных и окрашенных препаратов крови установлена следующая закономерность: по мере хранения происходит постепенное уменьшение размеров эритроцитов, нарастание сфероцитоза, снижение оптической плотности клеток с выходом гемоглобина в плазму крови [2]. Дальнейший анализ проводился методом проточной цитометрии.

Для ограничения области анализа эритроцитами использовали CD 235 а, а по параметрам прямого и бокового светорассеяния в свежей крови можно было корректно выделить не менее двух популяций эритроцитов, различающихся в основном своими размерами. Для клеток с большими размерами (дискоцитов) характерно небольшое значение величины бокового светорассеяния; часть клеток (менее 20%) представлена сфероцитами, имеющими меньшие линейные размеры, более высокие значения бокового светорассеяния и повышенный уровень внутриклеточного NO.

При хранении крови статистически значимые изменения обнаруживаются после 3 недель. В частности, клетки с небольшими значениями прямого светорассеяния (микроциты) не детектировались, и для большинства клеток был характерен макроцитоз. Дальнейшее хранение (4-я неделя) приводит к появлению популяции эритроцитов, имеющей сниженные значения бокового светорассеяния и признаки анизоцитоза. В этот период наблюдения в эритроцитах нарастала интенсивность флуоресценции DAF-FM, что свидетельствует о росте монооксида азота в клетках. Увеличение экспозиции приводит к снижению этого показателя. В интервале 5-6 недель хранения крови анизоцитоз практически нивелируется, постепенно снижается как среднее значение, так и мода бокового светорассеяния, а к концу наблюдения остаются только «тени» эритроцитов.

Таким образом, в ходе проведенного исследования установлено, что хранение крови приводит к изменению структурно-функциональных параметров эритроцитов, которые сопровождаются фазными колебаниями уровня внутриклеточного монооксида азота красных кровяных телец.

Литература

1. Giraud S. Scientific and forensic standards for homologous blood transfusion antidoping analyses // Forensic Science International. – 2008. – Vol. 179. – P. 23-33.
2. Акулич Н.В. и др. Морфологические маркеры старения эритроцитов донорской крови // Вестник МГУ им. А.А. Кулешова. – 2017. – № 1. – С. 75-83.

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ БАЛАНС В ЭРИТРОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПА

Алнури Али Салман Шабиб¹, И. В. Буко²,
Мохаммед Мустафа Луай Мохаммед¹, Канунникова Н. П.¹

¹Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно

²РУП «Научно-практический центр гигиены», Минск

n.kanunnikova@grsu.by

Развитие окислительного стресса определяется не только усиленным образованием свободных радикалов, но и снижением активности систем антиоксидантной защиты, важнейшим элементом которой является система глутатиона [5]. Сдвиги окислительно-восстановительного баланса наблюдаются при многих заболеваниях, связанных с нарушениями метаболических процессов [6].

Нами проведено определение интенсивности процессов ПОЛ по измерению уровня субстратов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), в плазме крови и эритроцитах [2], а также изучение системы глутатиона эритроцитов как интегральных маркеров окислительно-восстановительного баланса всего организма у пациентов с сахарным диабетом первого и второго типа. Были исследованы уровни окисленного (GSSG) и восстановленного (GSH) глутатиона [3], а также активность глутатионпероксидазы [1] и глутатионредуктазы [4]. Образцы крови были получены в клинике диабетологии Медицинского университета (Лодзь, Польша) (диабет первого типа) и Республиканском научно-практическом центре «Кардиология» (Минск, Беларусь) (диабет второго типа).

Установлено, что у пациентов с сахарным диабетом второго типа наблюдаются явления окислительного стресса, характеризующиеся более высоким уровнем ТБКРС, чем в контрольной группе ($p < 0,05$) (табл.1). Содержание GSSG, но не GSH, у них также выше, а соотношение GSH/GSSG, активность ГПО и ГР ниже, чем в контрольной группе, что можно расценить как следствие снижения редокс-потенциала эритроцитов на фоне метаболического дисбаланса.

Таблица 1. – Показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса крови пациентов с сахарным диабетом второго типа

Показатель	СД2 (n=19)	Контроль (n=89)
ТБКРС, нмоль/мл	3,95* (3,26; 4,50)	3,63 (3,22; 4,05)
GSSG, ммоль/л	0,36* (0,31; 0,38)	0,31 (0,27; 0,36)
GSH, ммоль/л	2,86 (0,86; 5,14)	2,64 (1,53; 4,06)
GSH/GSSG	5,95* (2,18; 15,40)	9,82 (5,07; 14,91)
ГПО, ммоль GSH/мин/л эритроцитарной массы	50,61*** (34,46; 81,56)	80,28 (59,26; 100,35)
ГР, ммоль НАДФН/мин/л эритроцитарной массы	0,81* (0,78; 1,25)	0,97 (0,74; 1,11)

Примечания – * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Изучение крови пациентов с сахарным диабетом первого типа и здоровых доноров показало, что и в этом случае сахарный диабет характеризуется более высокой активностью процессов ПОЛ (табл. 2). Уровень GSH, однако, достоверно не различается, а активность ГПО, в отличие от сахарного диабета второго типа, у пациентов с сахарным диабетом первого типа выше, чем в контрольной группе.

Инкубация эритроцитов пациентов с сахарным диабетом первого типа и здоровых доноров *in vitro* в присутствии разных концентраций окислителя терт-бутилгидропероксида (tBHP), аналога гидроперекисей липидов при pH 7,4, 25°C (10% гематокрит, 1 час) выявила некоторые особенности изменений окислительно-восстановительного баланса в зависимости от повышения концентрации tBHP в среде инкубации (табл. 2). Так, содержание ТБКРС в группе с сахарным диабетом выше контрольных значений в присутствии всех использованных концентраций tBHP. Активность ГПО также выше значений в контрольной группе во всех случаях присутствия окислителя, тогда как уровень GSH снижен только в присутствии 0,1-0,25 мкМ tBHP.

Таблица 2. – Показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса крови у пациентов с сахарным диабетом первого типа

Конц. tBHP, мкМ	Группы	Показатели		
		ТБКРС, нмоль/мл упак. клеток	GSH, мМ	ГПО, мкмоль/мл упак. клеток
0	контроль	1,4±0,3	1,7±0,4	148±17
	диабет 1 типа	2,3±0,3*	2,1±0,3	186±14*
0,1	контроль	3,8±0,5	0,6±0,2	164±17
	диабет 1 типа	6,2±0,8*	0,2±0,1*	224±21*
0,25	контроль	6,4±0,6	0,2±0,05	187±20
	диабет 1 типа	9,1±0,7*	0,1±0,05*	241±22*
0,5	контроль	10,3±1,2	0,1±0,03	211±24
	диабет 1 типа	15,6±1,6*	0,06±0,02	267±32*
1,0	контроль	17,6±2,1	0,05±0,02	237±28
	диабет 1 типа	24,8±3,0*	0,04±0,02	271±32

Примечание – * – p<0,05 по сравнению с контролем

Таким образом, сдвиги окислительно-восстановительного баланса характерны для обоих типов сахарного диабета, однако механизмы развития отклонений редокс баланса, по-видимому, различаются при первом и втором типах заболевания.

Литература

1. Гаврилова А. Р., Хмара Н. Ф. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов при насыщающих концентрациях субстрата // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 721-723.

2. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. – 1989. – № 7. – С. 8-9.
3. Akerboom T.P.M., Sies H. Assay for glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples // Methods Enzymol. – 1981. – Vol. 77. – P. 373-382.
4. Beutler C. Effect of flavin compounds on glutathione reductase activity, in vivo and in vitro studies // J. Clin. Invest. – 1969. – Vol. 48. – P. 1957.
5. Jones D.P. Radical-free biology of oxidative stress // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2008. – Vol. 295. – P. C849-C868.
6. Watson J.D. Type 2 diabetes as a redox disease // The Lancet. – 2014. – Vol. 383, Is. 9919. – P. 841-843.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ОГРАНИЧЕНИИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

**Андрианов В. В.^{1,2}, Зефирова Т. Л.¹, Зарипова Р. И.¹, Зиятдинова Н. И.¹,
Яфарова Г. Г.^{1,2,3}, Ягудин Р. Х.³, Шайхутдинов И. И.³,
Ситдиков Ф. Г.¹, Гайнутдинов Х. Л.^{1,2}**

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²Казанский физико-технический институт КазНЦ РАН,

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

slava_snail@yahoo.com

Двигательная деятельность (ДА) является одним из необходимых условий поддержания нормального функционального состояния человека, его естественная биологическая потребность [1]. Нормальная жизнедеятельность практически всех систем и функций человека возможна лишь при определенном уровне ДА. В одних условиях, например, при интенсивной физической работе, а также при различных спортивных нагрузках (соревнования и тренировки) ДА значительно повышается, что требует повышения эффективности работы сердечно-сосудистой системы, активации обменных процессов в скелетных мышцах и других тканях [1; 2]. В других условиях, например, при травме спинного мозга (СМ), наоборот, происходит ограничение ДА – режим гипокинезии (ГК) [2; 3]. Проблема ограничения ДА в настоящее время чрезвычайно актуальна [4; 5]. 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; 4]. На сегодняшний день значимое направление физиологических исследований – изучение роли оксида азота (NO) в деятельности сердечно-сосудистой, нервной и других системах организма [6]. Эффекты NO в сердечно-сосудистой системе многогранны. 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 [7]. В то же время есть и противоположная точка зрения, согласно которой избыток NO служит компенсаторным фактором [6].

Цель. Исходя из этого, целью исследования стало изучение возможного изменения продукции NO в тканях сердца и СМ крыс, которые содержались в условиях нарастающей ГК, а также у крыс после травмы СМ.

Материалы и методы. Для экспериментов использовали белых беспородных крыс разного возраста. Ограничения ДА растущих крысят добивались помещением их в клетки-пеналы на 30 суток. В другой серии экспериментов производилась экспериментальная модель травмы СМ. Изучали содержание NO в тканях сердца, СМ и печени крыс с использованием метода спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). При подготовке образцов для измерения ЭПР спектров мы опирались на методику спиновых ловушек, предложенную проф. А. Ф. Ваниным с сотрудниками, которая позволяет детектировать NO в малых концентрациях [8]. В качестве спиновой ловушки применен комплекс Fe^{2+} с диэтилдитиокарбаматом $(ДЭТК)_2-Fe^{2+}-NO$. Этот комплекс характеризуется легко распознаваемым спектром ЭПР с триплетной сверхтонкой структурой [8]. Регистрация приготовленных образцов проводилась на спектрометре ЭПР ER 200 SRC X-диапазона фирмы «Брукер». Подробности использования метода ЭПР спектроскопии для детекции NO описаны нами ранее [9].

Результаты и их обсуждение. Было показано, что ограничение ДА крыс в течение 30 суток приводит к увеличению содержания NO в тканях сердца в 3 раза, а в тканях СМ и печени – 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. Известно, что система NO играет важную роль при адаптации организма к различным изменениям внешней среды и внешних условий, ведущих к стрессу. Многочисленные экспериментальные факты свидетельствуют о том, что ограничение ДА для теплокровных животных и человека является стрессорным агентом.

Выводы. Полученные результаты по динамике NO после травмы СМ показывают, что уровень продукции NO в тканях СМ в разные времена то увеличивается, то уменьшается. Таким образом, показано, что при рассмотрении последствий травмы СМ необходимо учитывать компонент ограничения ДА.

Литература

1. Чинкин А.С. Двигательная активность и сердце. – Казань: КГУ. – 1995. – 195 с.
2. Чинкин А.С. Механизмы саморегуляции сократительной функции миокарда при гипокинезии и мышечной тренировке // Успехи физиол. наук. – 2012. – Т. 43, № 2. – С. 72-82.

3. Гайнутдинов Х.Л., Андрианов В.В., Июдин В.С. Исследование методом ЭПР-спектроскопии интенсивности продукции оксида азота в тканях сердца крыс при гипокинезии // *Биофизика*. – 2013. – Т. 58, № 2. – С. 276-280.
4. Козловская И.Б., Киренская А.В. Механизмы нарушений характеристик точностных движений при длительной гипокинезии // *Рос. физиол. журнал и м. И.М. Сеченова*. – 2003. – Т. 89, № 3. – С. 247-258.
5. Ling H., Massey L.A., Lees A.J. et al. Hypokinesia without decrement distinguishes progressive supranuclear palsy from Parkinson's disease // *Brain*. – 2012. – Vol. 135, № 4. – P. 1141-1153.
6. Steinert J.R., Chernova T., Forsythe I.D. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia // *Neuroscientist*. – 2010. – Vol. 16, № 4. – P. 435-452.
7. Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 315-427.
8. 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.
9. Gainutdinov Kh.L., Gavrilova S.A., Iyudin V.S. et al. EPR study of the intensity of the nitric oxide production in rat brain after ischemic stroke // *Appl. Magn. Res.* – 2011. – Vol. 40, № 3. – P. 267-278.

РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИЕ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НАНОКОМПЛЕКСА КВЕРЦЕТИНА С ГИДРОКСИПРОПИЛ-В-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

Бакунович А. А., Островский А. А., Мороз В. Л., Буко В. У.

ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»,
Гродно, Беларусь, ale.alexei@mail.ru

Проблема регенерации полнослойных кожных ран, включая возможность ускорения данного процесса, предупреждение развития осложнений – одна из актуальных в медицинской практике.

Низкая функциональная активность клеток иммунной системы как в целом, так и в очаге поражения определяет длительность течения и хронизацию процесса, протекающего на фоне сниженных показателей фагоцитарной активности нейтрофилов и существенных изменений популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов, что объясняется окислительными процессами и увеличением числа свободных радикалов [1]. В то же время растительный антиоксидант кверцетин, угнетая окислительный стресс [2], мог бы позитивно повлиять на активность фагоцитирующих клеток и таким образом изменить иммунный статус. Однако кверцетин плохо растворим в водной среде, и повысить его растворимость можно путём создания инклюзивного наноконплекса с циклодекстринами.

Цель. Исследуя влияние наноконплекса на основе 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина (ГПЦД) и кверцетина на заживление механических

полнослойных кожных ран у крыс, мы попытались оценить влияние монопрепарата кверцетина и его наноконплекса на состояние общего и местного иммунитета.

Материалы и методы. Исследования выполнены на 26 белых лабораторных крысах-самцах, массой от 340 до 420 г. Крысы были разделены по принципу нанесения растворов на рану: 1 группа (контроль) – физиологический раствор; 2 группа – раствор ГПЦД; 3 группа – взвесь кверцетина; 4 группа – наноконплекс кверцетина с ГПЦД (далее наноконплекс). В промывной жидкости, полученной с поверхности механических ран у опытных и контрольных крыс, определяли фагоцитарную активность нейтрофилов. Исследования проводились в клеточной суспензии, полученной из смыва раневой поверхности. Оценивали фагоцитарный индекс (ФИ), характеризующий количество нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, в динамике лечения кожных ран на 3 и 5 сутки.

Влияние исследуемых субстанций на процессы местного фагоцитоза изучали в клеточной суспензии, извлечённой из промывной жидкости раны после ежедневной обработки раны соответствующим препаратом. Иммунологическую активность оценивали по изменению ФИ в суспензии. В качестве объекта фагоцитоза использовалась 10% полистирольная суспензия частиц латекса размером 1,5 мкм. Клеточную суспензию получали путём смыва с области раны изотоническим раствором хлорида натрия, с последующим центрифугированием при 1500 об/мин. Статистически достоверное увеличение ФИ свидетельствует о стимуляции фагоцитарных процессов в ране [3]. В крови крыс по окончании опыта подсчитывали лейкоцитарную формулу, ФИ и показатель спонтанного восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), свидетельствующий о метаболической активности нейтрофилов крови.

Результаты и их обсуждение. Заживление полнослойных кожных ран у исследованных животных и в выбранные сроки происходило на 75-80% за счёт контракции и на 20-25% за счёт эпидермизации. При этом ГПЦД не влиял на скорость заживления раны, кверцетин ускорял разрастание эпидермиса на поверхности раны, не влияя на процесс контракции, а наноконплекс увеличивал стимулирующее влияние полифенола на процесс заживления ран, сокращая время наступления полной эпидермизации на двое суток.

В ранах, обработанных наноконплексом, на третьи сутки лечения ФИ достоверно увеличился (в 1,6 раза), а на пятые сутки – в 1,7 раза по сравнению с контрольной группой. Влияние монопрепарата кверцетина на ФИ в изучаемые сроки было менее выраженным. Применение наноконплекса в лечении механической раны положительно влияло на иммунологические и гематологические показатели крови: отмечалось повышение относительного количества лимфоцитов, увеличивалась фагоцитарная и метаболическая активность нейтрофилов крови, о чём свидетельствуют показатели ФИ и НСТ-теста.

Таким образом, нами установлено, что изучаемый наноконкомплекс стимулирует фагоцитарную активность нейтрофилов в области кожной механической раны у крыс с одновременной иммуностимуляцией фагоцитарных и метаболических процессов в крови, что объясняет его более высокую ранозаживляющую эффективность по сравнению с индивидуальными компонентами, входящими в состав этого комплекса.

Выводы. Наноструктурированный комплекс ГПЦД с кверцетином оптимизировал фагоцитарные и метаболические процессы в крови, повышая общую неспецифическую и иммунологическую резистентность организма. Кроме того, наноконкомплекс стимулировал фагоцитарную активность нейтрофилов в области кожной раны. Указанные эффекты благоприятно влияют на процессы репарации и регенерации кожных ран и сокращают сроки ранозаживления.

Литература

1. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология. – М.: Мед. лит., 2009. – 273, 288с.
2. Новожилов А.В., Тавровская Т.В, Войтенко Н.Г. и др. Влияние антиоксидантов на состояние эритроцитов крыс в условиях истощающей беговой нагрузки// Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – № 10. – С. 1223-1232.
3. Инструкция по медицинскому применению препарата Деринат. Регистрационный номер Р N002916/02.

РОЛЬ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И.М. СЕЧЕНОВА В ИЗУЧЕНИИ ТРАНСПОРТА ГАЗОВ КРОВЬЮ

Балбатун О. А., Емельянчик Ю. М., Орехов С. Д., Глуткин С. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
dpfizio@mail.ru

После окончания с отличием медицинского факультета Московского университета с осени 1856 г. по февраль 1860 г. Иван Михайлович Сеченов проходил стажировку за границей. В этот период происходило активное формирование его научных взглядов и интересов. В Берлинском университете (осень 1856 г. – осень 1857 г.) И. М. Сеченов проводил опыты по электрофизиологии в лаборатории Э. Г. Дюбуа-Реймона (1818-1896 гг.) и по медицинской химии в лаборатории Ф. Гоппе-Зейлера (1825-1995 гг.), в которой измерял концентрации алкоголя и CO₂ в выдыхаемом воздухе. В Лейпцигском университете (осень 1857 г. – февраль 1858 г.) в лаборатории О. Функе (1828-1879 гг.) И. М. Сеченов изучал влияние алкоголя на азотистый обмен в скелетных мышцах и нервной системе. В феврале 1858 г. И. М. Сеченов возвратился в Берлин, в лабораторию Ф. Гоппе-Зейлера и проводил количественный анализ состава желчи. Весной 1858 г. И. М. Сеченов уехал в Венскую военно-

медицинскую школу в лабораторию К. Людвига (1816-1895 гг.). В Вене проводилось изучение влияния алкоголя на кровообращение и поглощение кровью O_2 . Опыты примешивания паров алкоголя к освобожденной от газов крови оказались неудачными. Зимой 1859 г. И. М. Сеченов решил выделить из крови газы у животного в нормальных условиях и в состоянии алкогольной интоксикации. С этой целью абсорбциометр Л. Мейера (1830-1895 гг.) был модифицирован в кровяной насос с возобновляемой пустотой и возможностью согревания крови. С помощью данного насоса собственной конструкции И. М. Сеченов изучал газовый состав артериальной крови в норме и в условиях асфиксии экспериментального животного. По этому поводу И. М. Сеченов в автобиографических записках написал: «Этим способом учение о газах крови поставлено на твердую дорогу, и эти же опыты, равно как длинная возня с абсорбциометром Л. Мейера, были причиною, что я очень значительную часть жизни посвятил вопросам о газах крови и о поглощении газов жидкостями» [1]. В мае 1859 г. И. М. Сеченов переехал в Гейдельберг для работы в лабораториях Г. Геймгольца (1821-1894 гг.) и Р. В. Бунзена (1811-1899 гг.). У Р. В. Бунзена проводились опыты по титрованию и анализу газов. В лаборатории Г. Геймгольца извлекались газы из молока. Из Гейдельберга И. М. Сеченов 1 февраля 1960 г. вернулся в Санкт-Петербург [2].

В 1870 г. после назначения профессором кафедры физиологии Новороссийского университета в Одессе И. М. Сеченов продолжил исследование транспорта газов крови. Абсорбциометрически изучался вопрос о состоянии CO_2 в крови. Проводилось сравнение поглощения CO_2 кровью и растворами солей. Было показано, что сыворотка крови поглощает CO_2 в тканях сильнее простого водного раствора и высвобождает CO_2 в легких легче, чем раствор бикарбоната. Также было показано, что гемоглобин в эритроцитах образует слабое соединение с CO_2 , т. е. был открыт карбгемоглобин. И. М. Сеченов отметил, что химическая связь между гемоглобином и CO_2 гораздо слабее его связи с O_2 , особенно при температуре тела человека, следовательно, вытеснение CO_2 из гемоглобина кислородом при дыхании происходит с большой легкостью [1]. И. М. Сеченов первым обратил внимание на то, что не O_2 , а именно CO_2 , оказывает существенное влияние на регуляцию дыхания [2].

В мае 1876 г. И. М. Сеченов из Одессы вернулся в Санкт-Петербургский университет и здесь в 1879 г. закончил свои исследования по поглощению CO_2 растворами солей и кровью. В 1879 г. И. М. Сеченов под впечатлением гибели двух воздухоплателей на воздушном шаре «Зенит» на высоте 8000 м выполнил расчеты содержания O_2 в атмосферном воздухе на разных высотах [2]. Во время работы И. М. Сеченова в Санкт-Петербургском университете в его научной лаборатории в 1878-1882 гг. работал Б. Ф. Вериго (1860-1925 гг.), уроженец Витебской губернии, который в последующем, будучи в заграничной командировке, в 1892 г. открыл влияние CO_2 на способность крови связывать O_2 (эффект Вериго).

С 1889 г. И. М. Сеченов начал работать в Императорском Московском университете. У него появляется верный ученик и соратник М. Н. Шатерников (1870-1939 гг.). Они совместно разработали новый способ определения у человека количества выдыхаемого воздуха и содержания в нем CO_2 (1899 г.). В дальнейшем аппарат для анализа дыхания человека в неподвижном положении был преобразован в портативную форму с возможностью измерения дыхания во время движения (1900 г.). В последние годы жизни И. М. Сеченов занимался вопросами физиологии труда и утомления [2].

В течение почти 50-летней научной деятельности И. М. Сеченов более 20 лет изучал вопросы физиологии газообмена. Хронология важнейших публикаций на эту тему («О поглощении CO_2 растворами солей и сильными кислотами» – 1888; «О щелочах крови и лимфы» – 1893; «Прибор для быстрого и точного анализа газов» – 1896; «Портативный дыхательный аппарат» – 1900) также свидетельствует о важности данного направления исследований. И. М. Сеченова можно по праву считать одним из основоположников изучения транспорта газов кровью в Российской Империи [3] и в отечественной физиологии.

Литература

1. Сеченов И.М. Автобиографические записки. – М.: Издательство академии наук СССР, 1945. – 179 с.
2. Сорокина Т.С. Иван Михайлович Сеченов в истории российской и мировой физиологии // Вестник РУДН. Серия: Медицина. – 2014. – № 3. – С. 102-112.
3. Сафонов В.А., Тараканов И.А., Тихомирова Л.Н. К истории исследований физиологии дыхания, по материалам съездов физиологов (1917-2010 гг.) и школ-семинаров по экспериментальной и клинической физиологии дыхания (1977-2010 гг.) // Патогенез. – 2014. – Т. 12, № 1. – С. 62-72.

ВВЕДЕНИЕ РЕСВЕРАТРОЛА БЕРЕМЕННЫМ КРЫСАМ НА ФОНЕ СТРЕССА МОДУЛИРУЕТ ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СОДЕРЖАНИЕ НИТРАТОВ/НИТРИТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ИХ ПОЛОВОЗРЕЛОГО ПОТОМСТВА

Беляева Л. Е., Павлюкевич А. Н., Шемет Ю. Н.

«Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
Витебск, Беларусь, lyudm.belyaeva2013@yandex.by

Развитие беременности в неблагоприятных условиях приводит к серьезным медицинским и социальным последствиям из-за программирования различных форм патологии у потомков [1], одним из механизмов которого является действие высоких концентраций активных форм кислорода и азота, вызывающих продолжительное изменение активности генов потомства [3].

Цель. Исследовать способность полифенола ресвератрола (РСВ), вводимого беременным крысам на фоне стресса, изменять показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и концентрацию конечных продуктов деградации оксида азота в крови их 3-месячного потомства.

Материалы и методы. Беспородных самок и самцов крыс высаживали в клетки в соотношении 1:1. После наступления беременности из самок сформировали группы «контроль» (беременность протекала в обычных условиях) и «стресс» (со 2-го по 16-й дни беременности крысы подвергались чередующимся через разные промежутки времени эпизодам лишения пищи в течение суток, контакту с экскрементами кошек, 20-минутному иммобилизационному стрессу в воде комнатной температуры). РСВ (Sigma, USA) вводили половине беременных крыс каждой группы в течение всего периода их беременности утром, натощак, в одно и то же время, в растворе 0,5% карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) из расчета 10 мг/кг. Вторая половина каждой группы крыс получала эквивалентный объем 0,5% КМЦ. Потомство крыс обеих групп в возрасте 3 месяцев декапитировали под нембуталовым наркозом (60 мг/кг, в/брюшинно) и получали сыворотку крови, в которой определяли интенсивность ПОЛ посредством индукции хемилюминесценции (ХЛ) сыворотки перекисью водорода с сульфатом железа и концентрацию конечных продуктов деградации NO ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) с помощью реакции Грисса. Данные, представленные в виде Me (15%; 85%), сравнивали с использованием U-критерия Манна-Уитни для независимых групп.

Результаты и их обсуждение. Светосумма вспышки ХЛ сыворотки крови самок и самцов, перенесших пренатальный стресс, интенсивность максимальной вспышки ХЛ, а также тангенс угла падения кинетической кривой ХЛ статистически значимо не отличались от значений, полученных при исследовании сыворотки крови крыс группы «потомство-контроль». Введение РСВ беременным крысам группы «стресс» способствовало уменьшению светосуммы и интенсивности вспышки ХЛ у их потомства-самок до 10,75 (10,60; 11,69) мВ и 1,21 (1,17; 1,26) мВ, соответственно, против 12,79 (11,48; 14,55) мВ и 1,38 (1,16; 1,54) мВ, соответственно, у самок-потомства контрольных крыс ($p < 0,05$). У пренатально стрессированного потомства-самцов, матери которых получали РСВ во время беременности, характер уменьшения светосуммы и интенсивности вспышки ХЛ был аналогичен описанному выше; кроме того, под действием РСВ у этих крыс тангенс угла падения кинетической кривой ХЛ увеличивался на 9,4%, что свидетельствует об усилении антиоксидантного потенциала сыворотки крови. Это означает, что РСВ, вводимый беременным крысам, потенциально способен изменять редокс-состояние различных клеток потомства.

Содержание $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в сыворотке крови контрольного потомства-самцов и самок статистически значимо не различалось. Введение РСВ контроль-

ным крысам во время беременности сопровождалось повышением концентрации $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в сыворотке крови их 3-месячного потомства-самок, но не самцов, на 29,4%, по сравнению с таковым у потомства-самок контрольных крыс. Содержание $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в сыворотке крови пренатально стрессированных самцов и самок статистически значимо не отличалось от такового, обнаруженного в крови потомства контрольных крыс. В то же время введение РСВ беременным крысам группы «стресс» способствовало увеличению содержания $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в сыворотке крови их потомства-самок на 42,4% и самцов – на 70,6% по сравнению с таковым в сыворотке крови крыс соответствующего пола, перенесших пренатальный стресс. Способность РСВ, вводимого беременным крысам, увеличивать содержание нитратов/нитритов в крови их потомства может быть объяснено его способностью (1) повышать экспрессию и активность эндотелиоцитарной NO-синтазы [5]; (2) снижать активность метилтрансферазы-1 протеинов и уменьшать концентрацию асимметричного диметил-L-аргинина (ADMA) [2]; (3) повышать активность диметиламиногидролазы [4], фермента, разрушающего ADMA, эндогенный ингибитор NO-синтазной реакции.

Выводы. Таким образом, введение беременным крысам полифенола ресвератрола способно существенным образом модифицировать редокс-состояние клеток их половозрелого потомства из-за изменения характера образования активных форм кислорода и азота.

Литература

1. Barker D.J. Mother, babies, and disease in later life // *BMJ*. – 1994. – P. 1-12; 132-134.
2. Charles S., Raj V., Arokiaraj J. et al. Caveolin 1/protein arginine methyltransferase/sirtuin 1 axis as a potential target against endothelial dysfunction // *Pharmacol. Res.* – 2017. – Vol. 119. – P. 1-11.
3. Flerov M.A., Gerasimova I.A., V'yushina A.V. et al. Effects of prenatal stress on free-radical lipid and protein oxidation and superoxide dismutase activity in cerebral cortex neurons and neuroglia in the rat brain // *Neurosci. Behav. Physiol.* – 2009. – Vol. 39, № 4. – P. 371-375.
4. Frombaum M., Therond P., Djelidi R. et al. Piceatannol is more effective than resveratrol in restoring endothelial cell dimethylarginine dimethylaminohydrolyase expression and activity after high-glucose oxidative stress // *Free Radic. Res.* – 2011. – Vol. 45, № 3. – P. 293-302.
5. Xia N., Strand S., Schlufter F. et al. Role of SIRT1 and FOXO factors in eNOS transcriptional activation by resveratrol // *Nitric Oxide*. – 2013. – Vol. 32. – P. 29-35.

ЭФФЕКТ ОЗОНА НА МЕХАНИЗМЫ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА КРОВЬЮ

Билецкая Е. С., Гурло Н. А., Тоистева Д. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
biletskaya.e@inbox.ru

Повышение эффективности терапии и уменьшение лекарственной нагрузки – важнейшие задачи, стоящие перед клинической медициной. Перспективным немедикаментозным методом, призванным решить эти задачи, можно рассматривать озонотерапию [2]. Озонотерапия обеспечивает усиленную отдачу кислорода недостаточно кровоснабжаемым тканям, что было подтверждено на основе анализа газового состава крови [1; 4]. Озон улучшает микрогемодиализацию и реологические свойства крови, а также увеличивает кислородную емкость плазмы, способствуя снижению степени выраженности тканевой гипоксии [2]. Важно отметить, что большинство экспериментальных и клинических исследований посвящены оценке действия только тех доз медицинского озона, которые непосредственно применяются для коррекции изучаемой патологии, что не позволяет получить достаточно полное представление о дозозависимых эффектах соединения в широком диапазоне концентраций [3]. В связи с этим особый интерес представляет изучение эффекта озона непосредственно на кислородсвязывающие свойства крови при разных режимах воздействия.

Целью данного исследования стало изучение эффекта озона на кислородтранспортную функцию крови экспериментальных животных в опытах *in vitro* при разных режимах воздействия.

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

Объект исследования – кровь, которая анализировалась в 4-х экспериментальных группах, по 10 проб в каждой: 1-я контрольная – вводили 0,9% раствор хлорида натрия. В кровь остальных вводили озонированный 0,9% NaCl с концентрацией O_3 2 мг/л (2-я группа), 6 мг/л (3-я группа), 10 мг/л (4-я группа). Время инкубации составило 30 и 60 минут. Изотонический раствор 0,9% NaCl барбатировался озono-кислородной смесью при помощи озонотерапевтической установки УОТА-60-01-Медозон (Россия).

Показатели кислородтранспортной функции крови, такие как напряжение кислорода (pO_2), степень оксигенации (SO_2) и кислотно-основного состояния: напряжение углекислого газа (pCO_2) определяли при 37°C на газоанализаторе Stat Profile pHox plus L. Средство гемоглобина к кислороду (СГК)

оценивали спектрофотометрическим методом по показателю $p50$ (pO_2 крови при 50% насыщении ее кислородом). По формулам Severinghaus [5] рассчитывали значение $p50_{\text{станд}}$.

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

Результаты и их обсуждение. При инкубации крови разной концентрацией озона отмечается выраженный рост напряжения кислорода. Так, в группе с концентрацией озона 2 мг/л этот параметр возрастает при экспозиции 30 и 60 минут. При максимальной концентрации озона (10 мг/л) отмечается наибольший прирост pO_2 . Подобная тенденция наблюдается и по отношению к степени насыщения крови кислородом, которая возрастает при экспозиции 30 и 60 минут по сравнению с контролем. Показатель значения СГК $p50_{\text{реал}}$ при воздействии данным фактором увеличивается. Схожая динамика изменений была и по показателю $p50_{\text{станд}}$. С увеличением концентрации озона отмечается большая степень возрастания СГК. Как видим, полученные данные свидетельствуют об увеличении таких показателей кислородтранспортной функции крови, как $p50$, pO_2 , SO_2 .

Выводы. Таким образом, инкубация крови с озонированным изотоническим раствором 0,9% NaCl в диапазоне концентраций от 2 до 10 мг/л обуславливает изменение кислородтранспортной функции крови, проявляющееся в увеличении pO_2 , SO_2 и уменьшении СГК, выраженность которых усиливается с увеличением концентрации озона. Очевидно, противогипоксическое действие озона реализуется через механизмы, изменяющие кислородтранспортную функцию крови.

Литература

1. Змызгова А.В., Максимов В.А. Клинические аспекты озонотерапии. – М., 2003. – 287 с.
2. Чекман И.С., Сыровая А.О., Макаров В.А. и др. Озон и озонирование: Монография. – Х: «Цифрова друкарня №1», 2013 – 144 с.
3. Kontorschikova C.N., Peretyagin S.P., Ivanova I.P. Physicochemical properties of ozonated isotonic sodium chloride solution. Proceedings of 12th World Congress of the International Ozone Association. – France, 1995. – P. 237-240.
4. Mattassi R. Ozonoterapia. Organizzazione Editoriale Medico Scientifica. – Milano. – 1985. – P. 1-179.
5. Severinghaus J.W. Blood gas calculator // J. Appl. Physiol. – 1966. – Vol. 21, № 5. – P. 1108-1116.

ПРЯМЫЕ ЭФФЕКТЫ ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ

Богодвид Т. Х.^{1,2}, Андрианов В. В.¹, Головченко А. Н.¹,
Дерябина И. Б.¹, Муранова Л. Н.¹, Гайнутдинов Х. Л.¹

¹ Казанский федеральный университет

(Институт фундаментальной медицины и биологии), Казань;

² Поволжская академия физической культуры, спорта и туризма,
Казань, Россия, *tat-gain@mail.ru*

Известно, что при формировании условных рефлексов существуют мембранные корреляты, которые выражаются в повышении нейрональной возбудимости. Параметрами, через изменения которых выражается возбудимость нейронов, являются мембранный и пороговый потенциал, частота спайкирования, количество спайков в ответ на электрический стимул. Оксид азота (NO) рассматривается в настоящее время как новая сигнальная молекула, играющая роль универсального регулятора многих физиологических процессов в организме. Установлена роль NO как одного из возможных патогенетических факторов при нейродегенеративных заболеваниях ЦНС, ишемии, мозговом инсульте, эпилепсии. Не вызывает сомнения определяющая роль системы NO в функционировании сердечно-сосудистой системы – в патогенезе инфаркта миокарда, а также целого ряда других заболеваний, связанных прежде всего с сосудистыми нарушениями. NO-синтезирующие нейроны обнаружены в нервной системе беспозвоночных, в том числе моллюсков. Установлено, что NO участвует в поведенческих программах и причастен к активации цГМФ, все больше данных накапливается о том, что в нервной системе NO участвует в развитии, созревании и старении мозга, в процессах обучения и памяти.

Цель – исследование эффектов изменения уровня NO на мембранный потенциал премоторных интернейронов виноградной улитки.

Материалы и методы. Для экспериментов были выбраны виноградные улитки *Helix lucorum*, нервная система которых хорошо изучена. Анализ электрических характеристик проводили на премоторных интернейронах оборонительного рефлекса левого и правого париетальных ганглиев. Измерения проводили с помощью внутриклеточных стеклянных микроэлектродов сопротивлением 3-10 МоМ. Исследовали эффекты аппликации донора оксида азота нитропруссид натрия (SNP) (в концентрации 10^{-4} моль/л), в раствор, омывающий препарат интактных улиток, на мембранный потенциал премоторных интернейронов.

Результаты и их обсуждение. В экспериментах найдено, что аппликация донора NO SNP в раствор, омывающий препарат интактных улиток, вызывает нарастающую гиперполяризацию мембраны премоторных интернейронов на 5,5 мВ к 10-й минуте, $n=12$. Достоверность отличия от контрольных улиток $p<0,001$. Таким образом, нами продемонстрировано, что у

определенных нейронов NO может вызывать гиперполяризацию мембраны. Предполагается, что реакция нейрона на NO зависит от места расположения его в нейронной сети.

Выводы. Установлено, что аппликация донора оксида азота – нитропруссид натрия – вызывает гиперполяризационное смещение мембранного потенциала премоторных интернейронов оборонительного поведения виноградной улитки. Предполагается, что реакция нейрона на NO зависит от места расположения его в нейронной сети.

Литература

1. Balaban P.M., Roshchin M.V., Timoshenko A.Kh. et al. Nitric oxide is necessary for labilization of a consolidated context memory during reconsolidation in terrestrial snails // *Eur. J. Neurosci.* – 2014. – Vol. 40, № 6. – P. 2963-2970.
2. Cleary L.J., Lee W.L., Byrne J.H. Cellular correlates of long-term sensitization in *Aplysia* // *J. Neurosci.* – Vol. 18. – P. 5988-5998.
3. Gainutdinov Kh.L., Chekmarev L.Yu., Gainutdinova T.H. Excitability increase in withdrawal interneurons after conditioning in snail // *NeuroReport.* – 1998. – Vol. 9. – P. 517-520.
4. Mozzachiodi R., Lorenzetti F.D., Baxter D.A. et al. Changes in neuronal excitability serve as a mechanism of long-term memory for operant conditioning // *Nature Neurosci.* – 2008. – Vol. 11. – P. 1146-1148.
5. Muranova L.N., Bogodvid T.Kh., Andrianov V.V. et al. Effects of NO donors and inhibitors of NO synthase and guanylate cyclase on the acquisition of a conditioned defense food aversion response in edible snails // *Bull. Experim. Biol. Med.* – 2016. – Vol. 160, № 4. – P. 414-416.
6. Teyke T. Nitric oxide, but not serotonin, is involved in acquisition of food-attraction conditioning in the snail *Helix pomatia* // *Neurosci. Lett.* – 1996. – Vol. 206. – P. 29-32.
7. Schulz D.J. Plasticity and stability in neuronal output via changes in intrinsic excitability: it's what's inside that counts // *J. Exp. Biol.* 2006. – Vol. 209. – P. 4821-4827.
8. Susswein A.J., Katzoff A., Miller N. et al. Nitric oxide and memory // *Neuroscientist.* – 2004. – Vol. 10, № 2. – P. 153-162.
9. Steinert J.R., Chernova T., Forsythe I.D. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia // *Neuroscientist.* – 2010. – Vol. 16. – P. 435-452.

РОЛЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В ОКИСЛИТЕЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МОЗГА МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

**Бондарюк Е. В., Кречак В. В., Лавринович Е. Е.,
Фан Мин Гианг, Нгуен Ман Куонг**

Белорусский государственный университет, Минск
bondev@mail.ru

Одной из важнейших глобальных проблем современного мира, имеющей социальные и экономические последствия, является наиболее часто встречающееся депрессивное расстройство психики, для которого характерны пониженное настроение и активность, расстройство мышления, и другие

симптомы. При депрессии увеличивается риск развития других заболеваний, включая онкологические и нейродегенеративные, возможна потеря работоспособности, депрессия является причиной многих случаев самоубийства. Считается, что патогенез депрессии определяется многими факторами, одним из которых является увеличение синтеза и активности митохондриального фермента моноаминоксидазы-А (МАО-А) вследствие повышенного уровня глюкокортикоидов, имеющего место при хроническом стрессе [1]. При этом однократное повышение уровня гормонов стресса приводит к угнетению активности МАО-А, что играет адаптивную роль при остром стрессе.

МАО-А – флаavin-содержащий фермент (EC 1.4.3.4), который катализирует окислительное дезаминирование экзогенных и эндогенных аминов, играя важнейшую роль в метаболизме нейроактивных и вазоактивных регуляторных аминов, а также в детоксикации потенциально токсичных экзогенных моноаминов. МАО-А участвует в метаболизме нейротрансмиттера серотонина – ключевого регулятора настроения. Одним из продуктов метаболизма серотонина с участием МАО-А является H_2O_2 , повышенная активность которого может вызвать развитие окислительного стресса в мозге [2]. Ингибиторы МАО-А применяются в качестве антидепрессантов с середины прошлого века, один из них – хлоргидин.

В данной работе мы оценивали изменение количества и активности МАО-А в мозге, а также уровень маркеров окислительного стресса в модели хронического стресса у мышей.

Материалы и методы. В работе использовали самцов мышей линии C57BL/6J возрастом 6 недель, которые были разделены на 3 группы по 5 животных в каждой группе: контроль, стресс и стресс + хлоргидин. Животные ежедневно в течение двух недель подвергались одному из типов мягкого стресса: принудительное плавание в воде с разной температурой в течение 15 минут, подвешивание за хвост 15 минут, лишение пищи на сутки, лишение воды на сутки. Мыши третьей группы ежедневно получали инъекции хлоргидина (водный раствор 150 мкл внутривенно, 10 мг/кг). В последний день эксперимента животных подвергали принудительному плаванию и немедленно декапировали, извлекали мозг, промывали охлажденным раствором 0,9% NaCl и гомогенизировали с 9 объемами 10 мМ Na-фосфатного буфера, pH 7,4. Часть гомогената использовали для получения митохондриальной фракции методом дифференциального центрифугирования, как описано в [3], в оставшемся гомогенате определяли содержание ТБК-активных продуктов и карбонильных производных белков [3].

Активность МАО-А определяли в митохондриальной фракции мозга с помощью флуоресцентного метода. Реакционная среда содержала: 50 мМ Na-фосфатный буфер, pH 7,4, 1 ммоль/л серотонина в качестве субстрата МАО-А, 100 мкмоль/л Амплекс-ред реагента, 1 ед/мл пероксидазы хрена, 0,5 мг/мл белка митохондриальной фракции. Смесь инкубировали 20 минут при 37°C и измеряли интенсивность флуоресценции при длине волны возбуждения 550 нм (щель 5 нм) и длине волны эмиссии 590 нм (щель

5 нм) на спектрофлуориметре Varioskan Flash (Thermo Scientific, Австралия). Активность MAO-A выражали в нмоль/мин/мг белка.

Достоверность различий оценивали с помощью метода ANOVA с тестом Тьюкей-Крамера ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Уровень карбониллов белков и ТБК-активных продуктов у мышей, подвергавшихся хроническому стрессу в течение двух недель, был повышен, однако отличие уровней от аналогичного показателя в контрольной группе не было статистически достоверным. Хотя имеются сведения о значительном увеличении уровня маркеров окислительного стресса в мозге при гораздо менее продолжительном воздействии стрессовых факторов (принудительное плавание на протяжении пяти дней) [3], в экспериментах подобного рода, как правило, используются более сложные схемы с большим количеством разнообразных стрессовых факторов. У мышей, подвергавшихся хроническому стрессу и получавших инъекции хлоргилина, наблюдалось достоверное снижение как уровня карбониллов белков, так и ТБК-активных продуктов по сравнению с группой стресса, на 23 и 34%, соответственно. Активность MAO-A у мышей, получавших хлоргилин, составляла 17% от уровня группы стресса. Хлоргилин является известным специфическим ингибитором MAO-A, однако его применение в качестве антидепрессанта ограничено из-за необратимого ингибирования MAO-A, кроме мозга, также и в тонком кишечнике, где фермент играет важную роль в обезвреживании потенциально токсичных экзогенных аминов, таких как тирамин (вызывает выброс норадреналина и повышение артериального давления).

Выводы. На основании полученных результатов можно заключить, что увеличение активности MAO-A, вызванное хроническим стрессом, играет незначительную роль в продукции активных форм кислорода и развитии окислительного стресса в мозге.

Литература

1. Soliman A., Udemgba C., Fan I. et al. Convergent effects of acute stress and glucocorticoid exposure upon MAO-A in humans // *J. Neurosci.* – 2012. – Vol. 32, № 48. – P. 17120-17127.
2. Meyer J.H., Ginovart N., Boovariwala A. et al. Elevated monoamine oxidase levels in the brain: an explanation for the monoamine imbalance of major depression // *Arch Gen Psychiatry.* – 2006. – Vol. 63, № 11. – P. 1209-1216.
3. Yoshino S., Hara A., Sakakibara H. et al. Effect of quercetin and glucuronide metabolites on the monoamine oxidase-A reaction in mouse brain mitochondria // *Nutrition.* – 2011. – Vol. 27. – P. 847-852.

**ГЕПАТОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ БЕТУЛИНА
ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ У КРЫС**

**Буко В.У.¹, Кузьмицкая И. А.¹, Кирко С. Н.¹, Белоновская Е. Б.¹,
Нарута Е. Е.¹, Лукивская О. Я.¹, Шляхтун А. Г.¹, Ильич Т. В.²,
Заводник И. Б.²**

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно

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

buko@bioch.basnet.by

Окислительный стресс играет ключевую роль в развитии алкогольного поражения печени, что связано главным образом с наработкой активных форм кислорода в митохондриях [1]. Поэтому антиоксиданты находят широкое применение в коррекции алкогольного стеатогепатита (АСГ). Бетулин, пентациклический тритерпен, обладающий выраженными антиоксидантными свойствами [2], был выделен нами из коры берёзы и очищен со степенью чистоты 98%. В настоящей работе мы оценили защитные эффекты этого соединения у крыс с АСГ.

В опыте использовались белые крысы-самцы (200-230 г), которые получали 25% раствор этанола (4 г/кг, в/ж, 8 недель). Животным двух групп, получавших этанол, вводили бетулин (50 и 100 мг/кг, в/ж) на протяжении всего опыта. В сыворотке крови определяли активность маркерных ферментов крови. Печень использовалась для гистологических и биохимических исследований, а также для выделения митохондрий.

Печень крыс, получавших этанол, характеризовалась макро- и микровезикулярным стеатозом, очаговыми лимфоцитарными инфильтратами (до 10 в поле зрения), балонной дегенерацией гепатоцитов. Область суданофильной окраски срезов печени увеличивалась в 4,5 раза по сравнению с контролем. У животных, получавших бетулин, снижались размеры липидных вакуолей и уменьшалась воспалительная инфильтрация печени, особенно под влиянием высокой дозы бетулина (100 мг/кг).

Биохимические данные подтверждают эффективность высокой дозы бетулина. Введение этанола резко повышало по сравнению с контролем активности АСТ и АЛТ, а также содержание цитокинов TNF α и TGF β в сыворотке крови и только введение бетулина в дозе 100 мг/кг достоверно снижало эти показатели. Уровень триглицеридов в сыворотке крови и печени существенно повышался у крыс, получавших этанол, и снижался под влиянием обеих доз бетулина. Приведенные данные свидетельствуют, что бетулин в высокой дозе проявляет выраженный гепатопротективный и противовоспалительный эффекты, а также обладает противофиброзным потенциалом.

Введение этанола снижало в митохондриях показатель дыхательного контроля V3/V4 (ДК) и коэффициент АДФ/О, характеризующие соответственно митохондриальное дыхание и окислительное фосфорилирование. Бетулин в дозе 100 мг/кг достоверно повышал показатель ДК для субстратов

митохондриального комплекса I (пируват+малат) и комплекса II (сукцинат+ротенон) и нормализовал отношение АДФ/О для субстратов обоих типов. Низкая доза бетулина (50 мг/кг) увеличивала отношение АДФ/О с меньшей эффективностью. Потребление алкоголя снижало активность митохондриальных ферментов, НАДН-дегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы и, отражающих активности митохондриальных комплексов I, II и IV, соответственно. Бетулин дозозависимо активировал НАДН-дегидрогеназу и сукцинатдегидрогеназу, не влияя на активность цитохром с оксидазы. Длительное введение этанола способствует Ca^{2+} -зависимому набуханию митохондрий, обусловленного повышенным порообразованием. Бетулин препятствует этому процессу, приводя при введении высокой дозы бетулина показатель открытия митохондриальных пор МРТ практически к контрольному уровню.

Хемилюминисценция митохондрий, усиленная люцигенгином, резко повышалась (более чем в 3 раза) у крыс, получавших этанол, свидетельствуя об активной выработке супероксиданиона. Этот показатель достоверно снижался под влиянием обеих доз бетулина (соответственно, в 2 и 3 раза). В аналогичной степени бетулин снижал и выработку конечных продуктов перекисного окисления липидов, повышенную у животных с АСГ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что бетулин в дозе 100 мг/кг угнетает прогрессирование стеатоза печени и воспалительной реакции у крыс с АСГ. Нами продемонстрировано, что введение бетулина, обладающего свойствами ловушки АФК и антиоксидантными свойствами, улучшает показатели митохондриального дыхания и окислительного фосфорилирования, восстанавливает активность митохондриальных комплексов I и II, нормализует процесс Ca^{2+} -зависимого порообразования в митохондриях, снижая показатель проницаемости внутренней митохондриальной мембраны (МРТ). Ca^{2+} -зависимые поры в мембране вызывают падение мембранного потенциала, большую амплитуду набухания митохондрий, разрывы мембраны и митохондриальное разобщение, сопровождающееся падением энергообразования. МРТ играет ключевую роль в процессах гибели клеток, апоптоза и некроза, тогда как угнетение МРТ предупреждает эти патологические явления в митохондриях и клетке. Мы предполагаем, что именно повышение резистентности митохондрий к открытию пор, обусловленное антиоксидантными свойствами бетулина, является фактором, определяющим гепатопротективные свойства этого соединения при АСГ у крыс.

Литература

1. Yip W.W., Burt A.D. Alcoholic liver diseases // *Semin. Diagn. Pathol.* – 2006. – Vol. 23. – P. 149-160.
2. Bailey S.M., Cunnunham C.C. Contribution of mitochondria to oxidative stress associated with alcohol liver disease // *Free. Rad. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 32. – P. 11-16.
3. Batandier C., Leverve X., Fontaine E. Opening of the mitochondrial permeability transition pore induces reactive oxygen species production at the level of the respiratory chain complex I // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 17197-17204.
4. Alavian K.N., Beutner G., Lazrove E., et al. An uncoupling channel within the c-subunit ring of the F1FO ATP synthase is the mitochondrial permeability transition pore // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2014. – Vol. 111. – P. 10580-10585.

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИНТРАТЕСТИКУЛЯРНОГО КРОВОТОКА ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОЙ АТЕНЗИОННОЙ ГЕРНИОПЛАСТИКИ

¹Визгалов С. А., ²Сугоняко Ю. В., ³Поплавская Е. А., ³Смотрин С. М.

¹УЗ «Гродненская областная клиническая больница»,

²УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Гродно»,

³УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь
sergey_vizgalov@mail.ru

Одной из наиболее актуальных проблем современной хирургии является лечение паховых грыж. Операции по поводу наружных грыж живота традиционно занимают значительную часть спектра оперативной деятельности хирургических стационаров и составляют до 25%. На паховые грыжи приходится до 75% из всех грыж, из них 90-95% грыж встречаются у мужчин [1]. За более чем вековую историю изучения вопроса лечения паховых грыж предложено огромное количество разных методов хирургического лечения, однако выполняемая с использованием собственных тканей герниопластика часто сопровождается рецидивами (10% – при первичных и до 30% – при повторных герниопластиках). В связи с этим проблема выбора безрецидивного способа хирургического лечения пациентов с паховыми грыжами была и остается актуальной [2]. Одним из осложнений пахового грыжесечения является сдавление элементов семенного канатика во вновь образованном наружном паховом кольце. Однако сведения об этом осложнении грыжесечения в литературных источниках недостаточно широко обсуждаются. Это вызвано тем обстоятельством, что до настоящего времени не нашли широкого применения современные технологии для контроля качества грыжесечения.

Цель. Оценить состояние интратестикулярного кровотока после комбинированной атензионной герниопластики.

Материалы и методы. Нами проведено исследование по изучению интратестикулярного кровотока у пациентов с наружными грыжами живота до и после оперативного лечения. Обследованы 50 пациентов с паховыми грыжами, которым выполнялась комбинированная атензионная герниопластика. Косые паховые грыжи (КПГ) диагностированы у 28 пациентов, прямые паховые грыжи (ППГ) – у 22 пациентов. Всем пациентам накануне оперативного вмешательства и через 3 года после операции проводили ультразвуковое сканирование обеих пахово-мошоночных областей для оценки состояния интратестикулярного кровотока. Исследование осуществляли с помощью аппарата «Sonolain-G60» фирмы Siemens, оснащенного датчиком с длиной волны 5-7,5 МГц в режиме доплеровского картирования и определяли максимальные систолическую и диастолическую скорость кровотока и рассчитывали индекс резистентности (IR) в паренхиме яичка. Оценку достоверности изменения численных значений проводили с помощью непараметрической статистики с применением компьютерной программы Statistica 6.0 для Windows.

Результаты и их обсуждение. Результаты доплерографии показали, что при паховых грыжах имеет место снижение максимальной систолической скорости кровотока как при прямых, так и косых паховых грыжах (табл. 1). При этом существенной разницы в показателях IR не выявлено.

Таблица 1. – Гемодинамические показатели в паренхиме яичек у пациентов с паховыми грыжами, Me (IQR)

Исследуемые показатели	Прямые паховые грыжи		Косые паховые грыжи	
	контрлатеральная сторона	на стороне грыжевого выпячивания	контрлатеральная сторона	на стороне грыжевого выпячивания
V max sist, см/с	8,60 (6,20; 9,80)	6,70 (5,40; 9,30)	8,90 (6,20; 9,80)	5,05 (3,70; 8,95)
V max diast, см/с	2,95 (2,70; 3,60)	2,55 (2,00; 3,00)	2,70 (2,00; 3,50)	2,35 (1,40; 3,00)
IR	0,61 (0,57; 0,68)	0,63 (0,59; 0,66)	0,67 (0,64; 0,69)	0,64 (0,59; 0,70)

Через три года после комбинированной атензионной герниопластики у пациентов с прямыми паховыми грыжами происходит повышение максимальной систолической скорости кровотока. Наряду с этим наблюдалось и увеличение индекса резистентности кровотока. У пациентов с косыми паховыми грыжами наблюдается повышение максимальной диастолической скорости кровотока, индекс резистентности при этом снижается (табл. 2).

Таблица 2. – Гемодинамические показатели в паренхиме яичек у пациентов через 3 года после комбинированной атензионной герниопластики, Me (IQR)

Исследуемые показатели	Прямые паховые грыжи		Косые паховые грыжи	
	контрлатеральная сторона	на стороне грыжевого выпячивания	контрлатеральная сторона	на стороне грыжевого выпячивания
V max sist, см/с	7,50 (5,00;9,00)	10,00 (9,00;11,00)	7,00 (5,00; 8,00)	7,00 (6,00; 9,00)
V max diast, см/с	3,00 (2,00;3,00)	3,00 (3,00;4,00)	2,20 (2,00; 3,00)	3,00 (3,00; 4,00)
IR	0,59 (0,55; 0,60)	0,62 (0,60; 0,66)	0,60 (0,57; 0,66)	0,57 (0,50; 0,63)

Выводы. При наружных паховых грыжах живота имеют место изменения гемодинамических показателей в паренхиме яичек. В отдаленном периоде после комбинированной атензионной герниопластики не выявлено негативных изменений интратестикулярного кровотока.

Литература

1. Визгалов С.А., Смотрин С.М. Паховые грыжи: современные аспекты этиопатогенеза и лечения // Журнал ГрГМУ – 2010. – № 4. – С. 17-22.
2. Назарьянц Ю.А., Петрушко С.И. и др. Способ лечения паховых грыж // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 123-129.

ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ДЕТЕЙ С ПИЕЛОНЕФРИТАМИ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Вильчук К. У.

ГУ «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь
sevenhos@mail.belpak.by

Высокая распространенность и частота рецидивирования микробно-воспалительной патологии почек у детей по-прежнему обуславливает актуальность её патогенеза [2; 3]. Ведь именно в детском возрасте формируются предпосылки для хронического течения заболеваний почек, что обуславливает их прогрессирование с развитием хронической почечной недостаточности [3]. Недостаточная эффективность терапии пиелонефритов у детей также обосновывает своевременность углубленного изучения роли дисфункции эндотелия (ДЭ) в их патогенезе. Ведь, снижение продукции оксида азота эндотелием сосудов почек может обусловить недостаточность элиминации возбудителей заболевания вследствие местной и системной вазоконстрикции. Предполагают, что инфекционные воздействия на эндотелий [4; 5] могут приводить к повышению десквамации эндотелия и развитию его дисфункции.

Цель – определить роль морфофункциональных свойств эндотелия в патогенезе пиелонефритов у детей.

Материалы и методы. Объект исследования – 140 детей: 100 с пиелонефритами (основная группа) и 40 практически здоровых (контрольная группа). Группы детей не различались между собой ($p > 0,05$) по возрасту и массо-ростовому показателям. У всех пациентов в начале и в конце госпитализации оценены функциональное состояние почек, уровень десквамации эндотелия методом микроскопии [4] и NO-синтазная активность эндотелия с помощью теста с реактивной гиперемией [1; 5]. Результаты обработаны с помощью стандартной лицензионной программы «Statistika 10.0» с использованием критерия Манна-Уитни $p < 0,05$ и представлены в виде среднего квадратичного отклонения ($M \pm STD$).

Результаты и их обсуждение. По результатам теста с реактивной гиперемией установлено, что у детей основной группы с пиелонефритами на фоне разной активности воспалительного процесса максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье после окклюзии был ниже ($7,3 \pm 4,80\%$), чем у здоровых детей ($19,9 \pm 4,46\%$, $p < 0,001$). Установлено, что в основной группе 80% пациентов с пиелонефритами имеют ДЭ, (1-я опытная группа, $n=80$) ($5,2 \pm 2,35\%$), а 20% детей (2-я опытная группа, $n=20$) не имеют ДЭ ($15,4 \pm 3,3\%$, $p < 0,001$) и максимальный прирост пульсового кровотока в предплечье после окклюзии у них не отличался от значений в контрольной группе ($p > 0,05$).

У детей с пиелонефритами, имеющих ДЭ, количество циркулирующих в периферической крови эндотелиальных клеток в 100 мкл плазмы крови составило $9,6 \pm 3,86$ клеток и было выше, чем у детей без ДЭ – $2,9 \pm 2,77$ клеток ($p < 0,001$) и в контрольной группе ($2,07 \pm 1,86$, $p < 0,01$). В группе пациентов

с ДЭ выявлена корреляционная зависимость (по критерию Spearman Rank) между максимальным пульсовым кровотоком и содержанием в крови циркулирующих эндотелиоцитов ($R=-0,68$, $p<0,001$).

Полученные данные подтверждают, что наряду с функциональными изменениями эндотелия у 80% пациентов с пиелонефритами происходит нарушение целостности эндотелиального пласта, снижающее NO-синтазную активность эндотелиоцитов. В свою очередь снижение образования NO эндотелием приводит к выраженной периферической вазоконстрикции и гипоперфузии тканей, что может вносить дополнительный вклад в патогенез развития пиелонефритов и, как предполагается, в их хронизацию у детей.

Выводы. У 80% детей с пиелонефритами наблюдается снижение эндотелийзависимой дилатации сосудов, что свидетельствует о развитии дисфункции эндотелия. Развитие дисфункции эндотелия у детей с пиелонефритами сопровождается и увеличением количества циркулирующих в крови эндотелиальных клеток. Выявленная закономерность подтверждается реализацией в данной группе пациентов корреляционных зависимостей между показателем дисфункции эндотелия с уровнем циркулирующих в крови эндотелиоцитов ($R=-0,68$, $p<0,001$). Таким образом, выявленные закономерности свидетельствуют о значимой роли изменения морфофункциональных свойств эндотелия в патогенезе пиелонефритов у детей. Обнаружение дисфункции эндотелия у детей с пиелонефритами требует дополнительной коррекции нарушений кровообращения как фактора, усугубляющего течение основного заболевания.

Литература

1. Вильчук К.У., Максимович Н.А. Способы диагностики и патогенетической коррекции дисфункции эндотелия сосудов у детей с пиелонефритами путем воздействия на NO-синтазную активность эндотелия. Инструкция по применению: утв. Министерством здравоохранения Республики Беларусь 23.04.08 // Регистрационный № 100–1107. – Гродно: ГрГМУ, 2008. – 20 с.
2. Здравоохранение в Республике Беларусь / Официальный статистический сборник за 2007 г.; ред.: О.С. Капранова [и др.]. – Минск: ГУ РНМБ, 2008. – 300 с.
3. Игнатова М.С. Актуальные проблемы нефрологии детского возраста в начале XXI века // Педиатрия. – 2007. – Т. 86. – №6. – С. 6-13.
4. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Физиология и патофизиология эндотелия // Дисфункция эндотелия: причины, механизмы, фармакологическая коррекция / под ред. Н.Н. Петрищевой СПб.: Изд-во СПбГМУ. – 2003. – С. 4-39.
5. Celermajer D.S. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // Lancet. – 1992. – Vol. 340. – P. 1111-1115.

ЗНАЧИМОСТЬ АКТИВНОСТИ L-АРГИНИН-NO СИСТЕМЫ И ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МЕХАНИЗМЕ АНТИПИРЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МОЧЕВИНЫ В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ

Висмонт А. Ф., Жадан С. А., Висмонт Ф. И.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь
patfiz@bsmu.by

Известно, что перекисное окисление липидов (ПОЛ) имеет большое значение в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии. Ранее нами было показано, что введение в организм аминокислоты L-аргинина, как и мочевины, оказывает выраженный антипиретический эффект [1]. Учитывая, что аминокислота аргинин может использоваться в печени как для процессов мочевинообразования, так и биосинтеза монооксида азота (NO) [2; 4], были основания полагать, что выявленные эффекты мочевины могут быть связаны с изменением активности L-аргинин-NO системы.

Цель исследования заключалась в выяснении значимости активности L-аргинин-NO системы и процессов ПОЛ в механизме антипиретического действия мочевины в условиях эндотоксिनновой лихорадки.

Материалы и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах массой 160-200 г и кроликах-самцах массой 2,5-3,0 кг. Для создания экспериментальной модели эндотоксिनновой лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин *E. Coli* (Серотип 0111: B4, «Sigma», США), который вводили однократно кроликам в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг, крысам внутрибрюшинно 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). Содержание 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 all. (1973). С целью выяснения значимости L-аргинин-NO системы в исследуемых процессах использовали L-аргинин гидрохлорид (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия) и неселективный ингибитор NO-синтазы – метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME) фирмы ACROS ORGANICS (США). Раствор L-аргинина гидрохлорида, как и L-NAME приготовленный на апирогенном физиологическом растворе, вводили кроликам внутривенно, а крысам – внутрибрюшинно. 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 биологической статистики

с помощью критерия Стьюдента. Достоверность результатов учитывали при «р» менее 0,05.

Результаты и их обсуждение. Внутривенное введение крысам (n=12) ЛПС приводило к повышению температуры тела на 1,3 и 1,2°C (p<0,001) через 120 и 180 минут после инъекции эндотоксина и которая составляла 38,8±0,10 и 38,7±0,12°C. Температура тела у кроликов (n=9) через 30, 60 и 120 минут после введения в кровотоки 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).

Введение ЛПС, через 120 и 180 минут после инъекции приводило у крыс (n=7) к повышению уровня NO₃⁻/NO₂⁻ в плазме крови на 29,6% (p<0,05) и 60,7% (p<0,05).

В опытах на кроликах (n=8) показано, что введение в кровотоки мочевины (0,3 г/кг) на высоте подъема температуры тела при эндотоксиновой 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±0,08°C и 0,8±0,10°C (p<0,05).

Внутривенное введение L-аргинина (100 мг/кг) в условиях действия ЛПС оказывало выраженный антипиретический эффект и приводило к повышению содержания мочевины и NO₃⁻/NO₂⁻ в крови у кроликов. Уровень мочевины и NO₃⁻/NO₂⁻ в плазме крови через 30 мин. после инъекции повышался на 29,8% (p<0,05) и 27,1% (p<0,05). Выявлено, что в условиях предварительного (за 30 мин. до инъекции ЛПС) введения в организм L-NAME (25 мг/кг) действие эндотоксина у крыс (n=7) через 120 минут после инъекции сопровождается увеличением содержания основных продуктов ПОЛ в плазме крови и менее значимым повышением температуры тела, а также снижением в плазме крови уровня NO₃⁻/NO₂⁻ на 48,7% (p<0,05) и повышением концентрации мочевины на 26,8% (p<0,05). Уровни ДК, МДА и ОШ в плазме крови повышались на 121,3%, 58,1% и 31,4% (p<0,05), соответственно.

Выводы. В механизмах антипиретического действия мочевины в условиях эндотоксиновой лихорадки большое значение имеет активность L-аргинин-NO системы и процессов ПОЛ.

Литература

1. Висмонт А.Ф., Лобанок Л.М. Об участии мочевины и аргиназы печени в процессах терморегуляции при эндотоксиновой лихорадке // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2010. – № 4. – С. 20-24.

2. Morris, S.M. Arginine metabolism: boundaries of our knowledge // J. Nutr. – 2007. – Vol. 137. – S. 1602-1609.
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.
4. Scibior D., Czczot H. Arginine – metabolism and functions in the human organism // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2004. – Vol 58. – P. 321-332.

ОБ УЧАСТИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ И L-АРГИНИН-NO СИСТЕМЫ В ПРОЦЕССАХ ДЕТОКСИКАЦИИ И РАЗВИТИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Висмонт Ф. И., Лобанова В. В.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь
patfiz@bsmu.by

Известно, что активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), развитие оксидативного стресса вносят весомый вклад в поражение печени, вызванное этанолом [4]. Учитывая, что активность аргиназы печени лимитирует доступность L-аргинина для индуцибельной NO-синтазы [2], были основания полагать, что ее активность будет сказываться на синтезе монооксида азота (NO), который играет важную роль в механизмах детоксикации и процессах ПОЛ [1].

Цель исследования – выяснение значимости аргиназы печени и NO в процессах детоксикации и развитии оксидативного стресса у крыс при хронической этаноловой интоксикации.

Материалы и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах-самцах массой 180-220 г. Модель хронической алкогольной интоксикации воспроизводили на крысах путем ежедневного интрагастрального введения животным 30% раствора этанола (из расчета 3,5 г 92% этанола на кг массы тела животного) в течение 60 дней. Активность аргиназы печени определяли спектрофотометрически [3]. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню в плазме крови нитратов/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) [5]. О степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), степени токсичности крови (СТК) и содержанию в плазме крови «средних молекул» (СМ). Активность процессов ПОЛ в крови и печени оценивали по содержанию в них таких продуктов, как малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ). Концентрацию МДА, ДК и ОШ определяли спектрофотометрическим методом M. Mihára, M. Uchiyama (1978), В. А. Костюка (1984) и В. L. Fletcher et al. (1973), соответственно. Декапитацию производили через один час после последнего введения этанола (опыт) или физиологического раствора (контроль). Все полученные

цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики. Различия между экспериментальными группами считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что длительное интрагастральное введение этанола приводит к угнетению детоксикационной функции печени, что проявлялось повышением СТК на 57,8% ($p < 0,05$, $n=10$), уровня СМ в плазме крови на 38,5% ($p < 0,05$, $n=10$) и увеличением ПНС на 24,5% ($p < 0,05$, $n=7$). Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС в контроле (ежедневное интрагастральное введение физ. раствора в течение двух месяцев, $n=10$) составили, соответственно, $0,69 \pm 0,012$ г/л, $1,3 \pm 0,11$ ед. и $27,8 \pm 3,22$ минут. Активность аргиназы печени в этих условиях снижалась на 54,7% ($p < 0,05$, $n=8$) и составляла $2,5 \pm 0,27$ мкмоль мочевины/г сырой ткани · час.

Установлено, что действие этанола в организме у животных сопровождается повышением в плазме крови уровня ДК, МДА и ОШ на 39,3% ($p < 0,05$, $n=7$), 58,5% ($p < 0,05$, $n=8$) и 50,8% ($p < 0,05$, $n=7$), соответственно. В печени содержание ДК возрастало на 29,3% ($p < 0,05$, $n=7$), МДА на 36,5% ($p < 0,05$, $n=7$) и ОШ на 23,3% ($p < 0,05$, $n=7$). Интрагастральное введение этанола приводило у крыс ($n=8$) к повышению в плазме крови уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ на 79,1% ($p < 0,01$), который составлял $11,02 \pm 1,34$ мкмоль/л.

Установлено, что ежедневное внутрибрюшинное введение в течение 2-х недель крысам ингибитора аргиназы N^ω -гидрокси-нор-L-аргинина (nor-NOHA) фирмы Bachem (Германия) в дозе 10 мг/кг приводило к снижению активности аргиназы печени на 70,8% ($p < 0,05$, $n=7$). Выявлено, что в этих условиях действие этанола сопровождается более значимым угнетением детоксикационной функции печени, повышением уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме и содержания продуктов ПОЛ в крови и печени. Содержание $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$, ДК и МДА в плазме крови у крыс с хронической алкогольной интоксикацией ($n=8$), получавших nor-NOHA, по сравнению с уровнем в контрольной группе животных ($n=8$) было выше на 47,1% ($p < 0,05$), 35,1% ($p < 0,05$) и 29,8% ($p < 0,05$), соответственно.

Установлено, что действие этанола у крыс ($n=8$) в условиях предварительной (за 30 мин. до введения животным этанола в течение 60 дней) инъекции в организм животным блокатора NO-синтазы метилового эфира N^G -нитро-L-аргинина (L-NAME) (ежедневное внутрибрюшинное введение в течение 60 дней в дозе 25 мг/кг) по сравнению с контрольной группой животных ведет к менее выраженному угнетению процессов детоксикации. Обнаружено, что хроническая этаноловая интоксикация у крыс ($n=8$), предварительно получивших L-NAME, по сравнению с животными контрольной группы приводит к уменьшению количества ДК в печени на 39,2% ($p < 0,05$), а в плазме крови – на 28,6% ($p < 0,05$). Концентрация МДА в печени в этих условиях снижалась на 27,6% ($p < 0,05$), в плазме крови – на 30,3% ($p < 0,05$). Уровень ОШ снижался в печени и в плазме крови, соответственно, на 50,5% ($p < 0,05$) и 36,7% ($p < 0,05$).

Выводы. В изменениях детоксикационной функции печени и развитии оксидативного стресса, индуцированных хронической интоксикацией этанолом, участвуют аргиназа печени и L-аргинин-NO система. Действие

в организме блокатора NO-синтазы L-NAME ослабляет, а ингибитора аргиназы *nos-NOHA* способствует развитию характерных изменений детоксикационной функции печени и в процессах ПОЛ при хронической алкогольной интоксикации.

Литература

1. Тэйлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905-923.
2. Hallemeesch M.M., Lamers W.H., Deutz N.E. Reduced arginine availability and nitric oxide production // Clin. Nutr. – 2002. – Vol. 21. – P. 273-279.
3. Geyer J.W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 39, № 2. – P. 412-417.
4. Moncada S., Torres V., Varghese G., Albano E., and Israel Y. Ethanol-derived immunoreactive species formed by free radical mechanisms // Mol. Pharmacol. – 1994. – Vol. 46. – P. 786-791.
5. 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 АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ В ИЗМЕНЕНИЯХ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА, АКТИВНОСТИ L-АРГИНИН-NO СИСТЕМЫ, ПРОЦЕССОВ ДЕТОКСИКАЦИИ И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ

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

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь
patfiz@bsmu.by

Известно, что активность аргиназы печени имеет большое значение в процессах жизнедеятельности организма в норме и при патологии [1; 2]. Учитывая, что аминокислота аргинин может использоваться аргиназой печени как в цикле синтеза мочевины, так и NO-синтазой в цикле синтеза монооксида азота (NO) [5], можно было предположить, что ее активность будет сказываться на активности L-аргинин-NO системы печени, а, соответственно, на процессах детоксикации, перекисного окисления липидов (ПОЛ) и регуляции температуры тела при эндотоксикозной лихорадке.

Цель исследования – выяснить значимость аргиназы печени в изменениях активности L-аргинин-NO системы, процессов детоксикации, ПОЛ и температуры тела при эндотоксикозной лихорадке.

Материалы и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах массой 160-180 г и кроликах обоего пола массой 2,8-3,0 кг. Для создания модели эндотоксикозной лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин *E.Coli* (серотип 0111: B4 Sigma, США), который вводили однократно: крысам – внутрибрюшинно

в дозе 5 мкг/кг, кроликам – в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг. С целью выяснения значимости аргиназы печени и NO в изучаемых процессах использовали L-аргинин моногидрохлорид (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия), L-валин (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия) и неселективный блокатор NO-синтазы метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME) фирмы ACROS ORGANICS (США). Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C₈. Активность аргиназы печени определяли спектрофотометрически [3]. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню нитрат/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) в плазме крови [5]. О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию в плазме крови фракции «средних молекул» (СМ) и степени токсичности крови (СТК). Определение содержания СМ производили методом кислотного-этанольного осаждения, разработанным В. М. Мойным с соавт. (1989), СТК-способом, предложенным О. А. Радьковой с соавт. (1985). О ПНС у крыс (гексенал 100,0 мг/кг, внутривентриально) судили по времени нахождения животных в боковом положении (Парк Д. В., 1973). Ректальную температуру измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с помощью критерия Стьюдента. Достоверность результатов учитывали при «р» менее 0,05.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что внутривентриальное введение крысам (n=12) ЛПС приводит к слабо выраженной гипертермии. Температура тела повышалась на 1,3°C (p<0,05) и 1,2°C (p<0,001) через 120 и 180 минут после инъекции экзопирогена и составляла 38,9±0,11°C и 38,8±0,12°C. Введение в кровоток ЛПС кроликам (n=9) приводило к повышению температуры тела на 0,6°C (p<0,05), 1,3°C (p<0,05) и 1,6°C (p<0,05) через 30, 60 и 120 минут после инъекции эндотоксина. Действие ЛПС у крыс (n=7), через 120 и 180 минут после инъекции, приводило к повышению активности аргиназы печени на 53,1% (p<0,05) и 39,2% (p<0,05) и к снижению уровня аргинина в плазме крови на 28,2% (p<0,05) и 32,4% (p<0,05) соответственно. Через 120 мин после введения экзопирогена имело место повышение в крови у крыс (n=7) уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ на 29,6% (p<0,05). Системное действие ЛПС у крыс сопровождалось активацией детоксикационной функции печени. Так ПНС у крыс в условиях лихорадки (через 120 и 180 мин после инъекции ЛПС) уменьшалось, соответственно, на 21,2% (p<0,05, n=8) и 23,5% (p<0,05, n=7).

Выявлено, что у крыс в условиях угнетения аргиназы печени L-валином (100 мг/кг) действие ЛПС не сопровождалось активацией детоксикационной функции печени и лихорадочная реакция у животных на действие ЛПС не развивалась.

Внутривенное введение L-аргинина (100 мг/кг) в условиях действия ЛПС оказывало выраженный антипиретический эффект и приводило к повышению содержания $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в крови у кроликов. Уровень $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме крови через 30 мин. после инъекции повышался на 27,1% (p<0,05).

Выявлено, что в условиях предварительного (за 30 мин. до инъекции эндотоксина) введения в организм L-NAME (25 мг/кг) действие ЛПС у крыс (n=7) через 120 минут после инъекции сопровождается увеличением содержания основных продуктов ПОЛ в плазме крови и менее значимым повышением температуры тела, а также снижением в плазме крови уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ на 48,7% ($p<0,05$). Уровни ДК, МДА и ОШ в плазме крови повышались на 121,3; 58,1 и 31,4% ($p<0,05$), соответственно.

Выводы. По-видимому, аргиназа печени, участвуя в изменениях активности L-аргинин-NO системы, имеет большое значение в процессах детоксикации, ПОЛ и регуляции температуры тела при эндотоксиновой лихорадке, определяя их характер и выраженность.

Литература

1. Абдуллаев Р.А., Эмирбеков Э.З. Активность аргиназы мозга и печени при гипотермии // Укр. биохим. журн. – 1991. – Т. 63, № 2. – С. 108-111.
2. Durante W., Johnson F.K., Johnson R.A. Arginase: A critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2007. – Vol. 34, № 9. – P. 906-911.
3. Geyer J.W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 39, № 2. – P. 412-417.
4. 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.
5. Scibior D., Czczot H. Arginine - metabolism and functions in the human organism // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2004. – Vol 58. – P. 321-332.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ОКСИДА АЗОТА В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО И ГЕМОМРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА: ЭПР ИССЛЕДОВАНИЕ

Гайнутдинов Х. Л.^{1,2}, Досина М. О.³, Яфарова Г. Г.^{1,2},
Пашкевич С. Г.³, Андрианов В. В.^{1,2}, Богодвид Т. Х.¹, Июдин В. С.²,
Стукач Ю. П.³, Замаро А. С.³, Кульчицкий В. А.³

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет

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

³ Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

kh_gainutdinov@mail.ru

Нарушения церебрального кровотока, которые ведут к недостатку снабжения кислородом отделов мозга, ведут также к ишемии мозга, которая может завершиться ишемическим инсультом, сопровождаемым повреждением тканей мозга и его функций, а тромбирование сосуда часто завершается геморрагическим инсультом [1]. Гипоксия – патологический процесс, возникающий при недостаточном снабжении тканей организма кислородом или нарушении его утилизации в процессе биологического окисления (состояние кислородного

голодания как всего организма в целом, так и отдельных органов и тканей); это важный компонент патогенеза многих заболеваний [2]. В связи с этим изучение патогенеза, способов коррекции и механизмов инсульта представляется важным как с теоретической, так и с практической точки зрения. Оксид азота (NO) известен как одна из важнейших сигнальных молекул, регулирующих физиологические функции организма и метаболизм клеток [3; 4]. Большой интерес вызывает участие NO в механизмах развития различных патологических состояний организма [5]. В настоящее время нет единого мнения о роли эндогенного NO в процессах, протекающих при повреждениях нервной системы. Показано, что при возникновении и развитии как ишемического, так и геморрагического инсульта NO может играть как протекторную роль, так и деструктивную, что определяется многими факторами, которые определяют вовлечение в процесс разных форм NO-синтаз [6, 7, 8, 9].

Цель. Исходя из данных литературы и наших предыдущих исследований, в настоящей работе мы провели сравнительное исследование процесса продукции NO с применением метода спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) в гиппокампе крыс после моделирования как ишемического, так и геморрагического инсульта.

Материалы и методы. Наш коллектив изучал содержание NO в тканях гиппокампа крыс методом ЭПР спектроскопии с применением методики спиновых ловушек. В качестве спиновой ловушки применен комплекс Fe^{2+} с диэтилдитиокарбаматом (ДЭТК) – $(D\acute{E}TK)_2-Fe^{2+}-NO$. Этот комплекс характеризуется легко распознаваемым спектром ЭПР с триплетной сверхтонкой структурой [10]. Регистрация приготовленных образцов проводилась на спектрометре ЭПР ER 200 SRC X-диапазона фирмы «Брукер». Подробности использования метода ЭПР спектроскопии для детекции NO описаны нами ранее [11].

Результаты и их обсуждение. Результаты измерений интенсивности спектров ЭПР показывают снижение продукции NO в гиппокампе в 3 раза через 5 часов после моделирования геморрагического инсульта. Через 24 и 72 часа уровень продукции NO в гиппокампе остается сниженным (в среднем в 2 раза). Статистические данные по интегральным интенсивностям сигнала $(D\acute{E}TK)_2-Fe^{2+}-NO$ в спектрах гиппокампа, показывающие влияние инсульта на продукцию NO в гиппокампе на разных сроках после инсульта, раскрывают существенное снижение продукции NO также после моделирования ишемического инсульта (в 2,2 раза).

Выводы. Таким образом, уже через 5 часов после инсульта происходит уменьшение содержания NO в гиппокампе в среднем в 2-3 раза. Это снижение продукции NO сохраняется через 24 и 72 часа после инсульта.

Литература

1. Doyle K.P., Simon R.P., Stenzel-Poore M.P: Mechanisms of ischemic brain damage // *Neuropharmacology* – 2008. – Vol. 55. – P. 310-318.
2. Кошелев В.Б. В Механизмы регуляции артериального давления // *Избранные лекции по современной физиологии.* – Казань, ГОЭТАР. – 2010. – С. 178-194.

3. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа и S-нитрозотиолы – две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота в биосистемах // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 924-938.
4. Steinert J.R., Chernova T., Forsythe I.D. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia // *Neuroscientist*. – 2010. – Vol. 16, № 4. – P. 435-452.
5. Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 315-427.
6. Bolanos J.P. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005272899000304> - CORR1, <mailto:jbolanos@gugu.usal.es> Almeida A. Roles of nitric oxide in brain hypoxia-ischemia // *Biochim. Biophys. Acta* – 1999. – Vol. 1411. – P. 415-436.
7. Manukhina E.B., Malyshev I.Y., Smirin B.V. et al. Production and storage of nitric oxide in adaptation to hypoxia // *Nitric Oxide*. – 1999. – Vol. 3. – P. 393-401.
8. Terpolilli N.A., Moskowitz M.A., Plesnila N. Nitric oxide: considerations for the treatment of ischemic stroke // *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* – 2012. – Vol. 32, № 7. – P. 1332-1346.
9. Andrianov V.V., Pashkevich S.G., Yafarova G.G. et al. Changes of nitric oxide content in the rat hippocampus, heart and liver in acute phase of ischemia // *Appl. Magn. Res.* – 2016. – Vol. 47, № 9. – P. 965-976.
10. 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.
11. Gainutdinov Kh.L., Gavrilova S.A., Iyudin V.S. et al. EPR study of the intensity of the nitric oxide production in rat brain after ischemic stroke // *Appl. Magn. Res.* – 2011. – Vol. 40, № 3. – P. 267-278.

ИЗМЕНЕНИЕ ДЗЕТА-ПОТЕНЦИАЛА АЛЬБУМИНА В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ ОБЛУЧЕНИЕМ КАК МОДЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

Галкина П. А., Проскурнин М. А., Проскурнина Е. В.

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»,
Москва, Россия, pol-galkina@yandex.ru

Альбумин является основным белком плазмы крови, выполняющим несколько важнейших функций – транспортную, осмотическую, антиоксидантную. Особенность строения молекулы – гибкость петель и наличие свободной тиоловой группы – обуславливает легкость окислительной модификации [1], которая должна отразиться и на поверхностном заряде альбумина. Поверхностный заряд молекулы альбумина имеет важное физиологическое значение, обеспечивая связь его с катионами, особенно натрия, что усиливает онкотическое давление почти на 50% (эффект Гиббса-Доннана).

Цель. Исследовать изменение дзета-потенциала альбумина при ультрафиолетовом облучении как модели оксидативного стресса.

Материалы и методы. Измерение дзета-потенциала проводили на приборе NanoBrook-ZetaPALS (Brookhaven Instruments Corp., США).

Окислительную модификацию альбумина оценивали по ослаблению его флуоресценции при $\lambda=354$ нм (флуоресценция триптофана), длина волны возбуждающего излучения 260 нм, спектрофлуориметр RF-5301 PC (Shimadzu, Япония). Рассчитывали параметр ДОА (Доля Окисленного Альбумина), равный отношению $(I_0-I)/I_0$, где I_0 – интенсивность флуоресценции альбумина до облучения, I – интенсивность флуоресценции альбумина после облучения.

Результаты и их обсуждение. Дзета-потенциал сывороточного альбумина человека (концентрация 3 мг/мл в 100 мМ фосфатном буферном растворе рН 7.4) был определен в исходном состоянии и после облучения разными дозами ультрафиолета (табл.).

Таблица – Величины дзета-потенциала и ДОА при облучении разными дозами ультрафиолета

Доза облучения, Дж/м ²	Дзета-потенциал, мВ и относительное стандартное отклонение, $n=10$	ДОА, средние значения ($n=5$)
0	-35.6, $S_r = 3.0$	0
0.1	-36.7, $S_r = 3.1$	0.22
0.2	-37.6, $S_r = 3.6$	0.53
0.3	-53.9, $S_r = 6.1$	0.62
0.4	-60.8, $S_r = 3.1$	0.73

Таким образом, при окислительной модификации ультрафиолетом наблюдается увеличение дзета-потенциала сывороточного альбумина человека, что свидетельствует об изменении связывания противоионов. Вероятно, нарастание потенциала по абсолютному значению связано с окислением тиоловых групп и карбонилированием.

По отношению к дзета-потенциалу точкой резкого нарастания потенциала является значение ДОА = 0.4. Это соответствует нашим данным по изучению референсного интервала ДОА у практически здоровых доноров (0.05 до 0.44, медиана 0.26).

Выводы. Ультрафиолетовое облучение как модель физического оксидативного стресса вызывает нарастание по абсолютной величине дзета-потенциала сывороточного альбумина человека параллельно с его окислительной модификацией. Резкое изменение дзета-потенциала начинается с дозы, приводящей к ДОА = 0.4.

Литература

1. Созарукова М.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Сывороточный альбумин как источник и мишень свободных радикалов в патологии // Вестник РГМУ – 2016. – № 1. – С. 61-67.

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС В ПАТОГЕНЕЗЕ ПАРАНОИДНОЙ ШИЗОФРЕНИИ И ДЕМЕНЦИИ ТИПА АЛЬЦГЕЙМЕРА

Гришина Н. К.¹, Ханнанова А. Н.², Смирнова Е. А.¹, Долгушин Г. О.¹,
Зайцевская С. А.¹, Созарукова М. М.³, Проскурнина Е. В.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»,
Москва, Россия

²ГБУЗ «Городская психиатрическая больница № 3 им. В. А. Гиляровского»,
Москва, Россия

³ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс»
МЗ РФ, НИИ Клинической кардиологии им. А. Л. Мясникова, Москва, Россия
proskurnina@gmail.com

Шизофрения – это психическое расстройство до конца не установленной этиологии, характеризующееся позитивными, негативными и когнитивными симптомами, началом в молодом возрасте и тенденцией к хроническому течению.

Оксидативный стресс – патологическое состояние, возникающее вследствие избыточной активации свободно-радикальных процессов и нарушения функционирования антиоксидантных систем. В литературе есть отдельные данные, свидетельствующие о развитии оксидативного стресса при психотическом приступе, также есть исследование, показавшее нарушение транспортной функции альбумина при психических расстройствах, что может быть причиной резистентности к проводимой лекарственной терапии.

Цель. Выявить наличие оксидативного стресса в крови пациентов с параноидной шизофренией.

Материалы и методы. Исследовали плазму крови 45 пациентов, разделенных на группы: группа К – группа контроля, пациенты с деменцией типа Альцгеймера, n=18, группа Ш – пациенты с параноидной шизофренией, n=27.

Определение доли занятых связывающих центров проводили методом спектрофлуориметрии с помощью зонда К-35. Определение доли окисленного альбумина в плазме крови проводили методом спектрофлуориметрии по тушению триптофановой флуоресценции. Определение антиоксидантной емкости плазмы крови проводили методом люминол-активированной хемилуминесценции с азоинициатором свободнорадикальных процессов.

Результаты и их обсуждение. Описательная статистика по группам приведена в таблице.

Таблица – Антиоксидантная активность (АОА) и доля окисленного альбумина (ДОА) плазмы крови пациентов с шизофренией (Ш) и группы контроля (К)

Группа и показатель	Число вариант, <i>n</i>	Медиана	Межквартильный размах
К: S(AOA)	18	256	162
Ш: S(AOA)	27	218	134
К: ДОА	18	0,34	0,21
Ш: ДОА	27	0,37	0,12

ДОО: сравнение группы контроля с группой шизофрении по критерию Манна-Уитни не выявило различий.

АОО: сравнение группы К vs ШЗ и К vs АГ – по критерию Манна-Уитни различий нет, однако в группе ШЗ есть пациенты с АОО ниже нормы – 20% и выше нормы – 22%, в группе АГ есть пациенты с АОО ниже нормы – 10% и выше нормы – 32%.

Выводы. Антиоксидантная емкость крови не различается в группах пациентов с параноидной шизофренией по отношению к пациентам с болезнью Альцгеймера.

Доля окисленного альбумина крови не различается в группах пациентов с параноидной шизофренией по отношению к здоровым донорам и пациентам с болезнью Альцгеймера, однако среди пациентов с АГ имеются с ДОО >0,5, при котором транспортная функция альбумина нарушена.

ОДНОСТОРОННЯЯ ИШЕМИЯ ЗОНЫ КАРОТИДНЫХ ТЕЛЕЦ У КРЫС ПРИВОДИТ К РАЗВИТИЮ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И ИЗМЕНЯЕТ АКТИВНОСТЬ СИМПАТИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Давыдова М. П., Марков М. А., Тесаков И. П., Сафарова Н. Б.

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия, *mari-ja@mail.ru*

Легочная гипертензия – состояние длительного повышения давления в легочных артериях (ЛА), которое может быть опосредовано разными причинами, в том числе повышением тонуса симпатической нервной системы (СНС). Одним из факторов, повышающих тонус СНС, является гиперактивация каротидных телец, вызванная их ишемией. Известно, что одностороннее действие цианида на каротидные тельца приводит к кратковременному увеличению тонуса ЛА. Этот эффект имеет рефлекторную природу, поскольку исчезает при денервации каротидных телец [2]. Однако влияние долгосрочной односторонней ишемии каротидных телец на состояние ЛА как независимого механизма развития легочной гипертензии до сих пор не изучено.

Цель исследования – выявить морфологические особенности и изменения в структуре NO-зависимого расслабления ЛА и оценить чувствительность барорефлекса у крыс с односторонней перевязкой зоны каротидных телец.

У самцов белых беспородных крыс весом 180-220 г перевязывали и пересекали левую общую сонную артерию (ОСА). Через месяц крыс наркотизировали, измеряли систолическое правожелудочковое давление (СПЖД) и извлекали левое легкое для проведения экспериментов на изолированных ЛА второго порядка. ЛА перфузировали в режиме постоянного потока.

Тестирование дилататорных реакций было проведено на фоне тонического сокращения в ответ на серотонин в концентрации 5×10^{-6} М. Как донор NO использовали нитропруссид натрия (SNP) в диапазоне концентраций от 10^{-11} до 10^{-7} М. Для подавления NO-зависимого расслабления использовали: ингибитор растворимой гуанилатциклазы 1Н-[1,2,4,oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ, 10^{-6} М); блокатор АТФ-чувствительных K^+ -каналов глибенкламид (5×10^{-6} М); хлорид тетраэтиламмония (5×10^{-3} М). Тетраэтиламмоний является неселективным блокатором калиевых каналов, однако в миллимолярных концентрациях, не превышающих 10 мМ, он в основном воздействует на калиевые кальций-зависимые каналы [1]. Гемодинамические параметры – среднее артериальное давление, ЧСС и чувствительность хронотропного компонента барорефлекса – оценивали у бодрствующих крыс. За день до эксперимента крысам устанавливали катетеры в нижнюю часть аорты через бедренную артерию для регистрации гемодинамических параметров и в яремную вену для введения веществ. После записи параметров в покое в течение часа, производили болюсное введение SNP в дозе 1,5 мкг/кг, а еще через 15 минут – агониста α -адренорецепторов фенилэфрина в дозе 2 мкг/кг. Для предотвращения влияния ишемии мозга на результаты остановка кровотока в зоне каротидных телец в этом эксперименте осуществлялась за счет перевязки наружной сонной артерии (НСА) сразу после ее отхождения от ОСА и выше области каротидных телец, а также всех веточек, отходящих от нее между двумя лигатурами. В обеих экспериментальных группах и в ложнооперированной группе измеряли отношение массы правого желудочка сердца к общей массе желудочков и межжелудочковой перегородки, а также забирали долю правого легкого для гистологического исследования. После изготовления срезов и окраски гематоксилином-эозином, определяли площадь стенки ЛА малого диаметра (<300 мкм), вычисляли нормированную на диаметр толщину меди ЛА и подсчитывали количество слоев гладкомышечных волокон в меди.

Чувствительность барорефлекса при введении фенилэфрина не различалась в контрольной и опытной группах, а при введении SNP была значительно меньше в экспериментальной группе (1,53 Δ мм рт. ст./ Δ уд. в мин. vs 2,62 Δ мм рт. ст./ Δ уд. в мин., $p < 0,05$), что указывает на наличие изменений в активности СНС у крыс с односторонней ишемией каротидных телец. Также были получены доказательства функциональных и структурных изменений в ЛА. В группе контроля выявлено значимое ($p < 0,05$) снижение ответа на NO при введении ODQ лишь при высоких концентрациях SNP, в то время как в группе с ишемией каротидных телец – при всех концентрациях. С другой стороны, глибенкламид в группе контроля значительно подавлял расслабление в диапазоне концентраций SNP от 10^{-10} до 10^{-8} М, а при односторонней ишемии каротидных телец, наоборот, глибенкламид практически не влиял на эффективность NO-индуцируемого расслабления. (ТЭА в группе контроля значительно уменьшал расслабление ЛА при концентрациях SNP от 10^{-9} до 10^{-7} М, а в группе с ишемией каротидных телец – в диапазоне от 10^{-10} до 10^{-7} М.) Кроме того, в ЛА увеличилась площадь меди (0,22 у.е. в контроле vs 0,26 у.е.

в группе с перевязкой ОСА и 0,34 в группе с перевязкой НСА, $p < 0,05$). Гипертрофии правого желудочка в экспериментальных группах не наблюдалось, однако было зафиксировано увеличение СПЖД (30,0 и 35,9 мм рт. ст. в контроле и в опытной группе, соответственно, $p < 0,05$).

Мы предполагаем существование механизма, ассоциированного с каротидными тельцами и опосредованного СНС, который может быть существенным для развития умеренной легочной гипертензии. Тем не менее, при отсутствии гипертрофии правого желудочка сердца наблюдается гипертрофия меди ЛА, что отражается в увеличении СПЖД. Увеличение вклада зависящего от растворимой гуанилатциклазы пути NO-опосредованного расслабления также может быть следствием гипертрофии ЛА.

Литература

1. Evans A.M., Osipenko O.N., Haworth S.G. et al. Resting potentials and potassium currents during development of pulmonary artery smooth muscle cells // *Am. J. Physiol.* – 1998. – Vol. 275, № 9. – P. H887-H899.
2. Sugito K., Tatsumi K., Igari H. et al. Role of carotid body in pressure response of pulmonary circulation in rats // *Respir. Physiol.* – 1998. – Vol. 111, № 3. – P. 283-293.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ENOS У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Давыдчик Э. В., Снежицкий В. А., Степура Т. Л.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
davydchike@mail.ru

Спектр генов-кандидатов сердечно-сосудистой патологии широк. Среди них большое клиническое значение придается гену синтазы оксида азота 3-го типа (NOS3, eNOS), кодирующему эндотелиальную синтазу оксида азота [2; 3]. Ген, определяющий структуру эндотелиальной NO-синтазы, расположен в 7 хромосоме, в локусе 7q35-36. Было обнаружено несколько полиморфизмов этого гена, один из них – структурный полиморфизм экзона 7: замена гуанина тимидином в 894-й позиции, которая приводит к замене глутамина аспарагином в 298-й позиции самого фермента [1].

Цель. Молекулярно-генетическое исследование полиморфизма G894T гена eNOS у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС), сочетанной и не сочетанной с сахарным диабетом (СД) 2 типа, а также у практически здоровых лиц, проживающих на территории Гродненского региона.

Материалы и методы. Обследованы 165 пациентов. Пациенты были разделены на 3 группы. 1 группа (n=65) – пациенты с ИБС и СД 2 типа. 2 группа (n=70) – пациенты с ИБС без СД 2 типа. 3 группа (n=30) – относительно здоровые пациенты контрольной группы. Средний возраст пациентов

1 и 2 групп составил 59 (55; 61) и 59 (53; 64) лет, соответственно. Пациенты контрольной группы (средний возраст 54 (52; 56) года) были моложе пациентов 1 и 2 групп. Набор пациентов в 1 и 2 группы осуществлялся на базе кардиологического отделения УЗ «Гродненский областной клинический кардиологический центр». Пациенты 3 группы были отобраны на базе УЗ «Поликлиника УВД» г. Гродно. В исследование не включались пациенты с наличием СД 1 типа, почечной и печеночной недостаточности, с наличием заболеваний щитовидной железы с нарушением функции, тяжёлых сопутствующих соматических заболеваний в стадии декомпенсации патологического процесса, острого коронарного синдрома.

Определение полиморфизма G894T гена eNOS осуществляли с помощью метода полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени с применением набора реагентов производства «Литех», РФ. Выделение геномной ДНК человека проводилось набором реагентов «ДНК-экспресс-кровь». Амплификацию ДНК вели на амплификаторе Rotor Gene-Q («Qiagen», Германия).

Статистический анализ проводился с помощью непараметрических методов в программе Statistica 10.0. Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей осуществляли с помощью точного критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В общей выборке пациентов частоты генотипов полиморфизма G894T гена eNOS были следующими: 894GG – 81 (49,1%) пациент, 894GT – 63 (38,2%), 894TT – 21 (12,7%). Распределение соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p = 0,123$). Частота аллеля 894G составила 68,2%, аллеля 894T – 31,8%.

По результатам генотипирования пациентов 1 группы по полиморфизму G894T гена eNOS получены следующие результаты: гомозиготный генотип 894GG выявлен у 29 (44,6%) пациентов, генотип 894TT – у 11 (16,9%), гетерозиготный генотип 894GT – у 25 (38,5%). Аллель 894G встречалась в 63,8%, аллель 894T – в 36,2%.

Во 2 группе гомозиготный генотип 894GG выявлен у 36 (51,4%) пациентов, генотип 894TT – у 10 (14,3%), генотип 894GT – у 24 (34,3%) пациентов. Частота встречаемости аллели 894G составила 68,6%, аллели 894T – 31,4%.

Гомозиготный генотип 894GG выявлен у 16 (53,3%) пациентов 3 группы, гетерозиготный генотип 894GT – у 14 (46,7%) пациентов. Гомозиготный генотип 894TT у пациентов 3 группы не обнаружен. Аллель 894G встречалась в 76,7%, аллель 894T – в 23,3%.

Выводы. В результате исследования установлено распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена eNOS у пациентов 1, 2 и 3 групп. Получены достоверные различия между 1 и 3 группами ($p = 0,01$), а также между 2 и 3 группами ($p = 0,03$) по гомозиготному генотипу 894TT полиморфизма G894T гена eNOS при выполнении сравнительного анализа.

Литература

1. Кузнецова Т.Ю., Гаврилов Д.В., Самоходская Л.М. и др. Влияние полиморфизма Glu298Asp гена эндотелиальной NO синтазы на развитие поражений

органов-мишеней при установлении артериальной гипертензии в молодом возрасте // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Т. 25, № 2. – С. 33-38.

2. Муслимова Э.Ф., Реброва Т.Ю., Сергиенко Т.Н. и др. Связь полиморфизма T-786C гена эндотелиальной NO-синтазы 3-го типа с функциональным состоянием миокарда у больных ИБС на фоне сахарного диабета 2-го типа // Генетика. – 2017. – Т. 53, № 6. – С. 756-760.

3. Пархоменко А.Н., Лутай Я.М., Иркин О.И. и др. Клинико-прогностическое значение полиморфизма гена эндотелиальной NO-синтазы у больных с острыми коронарными синдромами // Медицина неотложных состояний. – 2014. – Т. 58, № 3. – С. 45-54.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГОВ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С СИГАРЕТНЫМ ДЫМОМ

Девина Е. А., Таганович А. Д.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь
devinal@mail.ru

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) - одна из ведущих причин заболеваемости и смертности в мире. Одним из основных объективно доказанных этиологических факторов ХОБЛ является курение. Возникающий при курении дисбаланс в системе оксиданты/антиоксиданты, в формировании которого принимают участие клетки легких, - важное патогенетическое звено патологического процесса в легочной ткани [3].

В настоящее время обсуждается возможность использования антиоксидантов для ослабления или предотвращения развития окислительного стресса, индуцированного сигаретным дымом (СД) в клетках легких. Сведения о влиянии N-ацетилцистеина (N-АЦ) на альвеолярные макрофаги (АМ) при контакте с СД немногочисленны и противоречивы [1].

Цель исследования – изучить эффекты N-ацетилцистеина на показатели окислительного метаболизма альвеолярных макрофагов в условиях воздействия сигаретного дыма и на этой основе оценить эффективность использования N-АЦ для предотвращения изменений, вызванных сигаретным дымом.

Материалы и методы. АМ получали из бронхоальвеолярной жидкости (БАЛЖ) крыс. АМ прединкубировали с N-АЦ (1мМ) в CO₂-инкубаторе (температура 37° С, увлажненная атмосфера, 5% CO₂) в течение 2 ч. Затем инкубировали в течение 1 и 20 ч с экстрактом сигаретного дыма (ЭСД), содержащим 0,7 и 2,1 г/л смол.

Спектрофотометрически определяли содержание внутриклеточного глутатиона (GSH) и перекиси водорода (H₂O₂), активность супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГПО) и каталазы. Статистическая значимость

полученных результатов была оценена при помощи U-теста Манна-Уитни для непараметрических выборок. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что концентрация H_2O_2 в АМ снижалась на 18,5% через 1 ч после прединкубации с N-АЦ. Через 20 ч этих различий уже не выявлялось. Активность каталазы через 1 ч после обработки N-АЦ повышалась на 26,8%, активность ГПО – на 15,7%; через 20 ч после обработки клеток N-АЦ – на 20,2% и 28,3%, соответственно. Полученные нами результаты показывают стимулирующее влияние N-АЦ на активность ГПО и каталазы в АМ. Активность СОД не различалась в контрольных АМ и обработанных N-АЦ. Концентрация GSH увеличивалась на 14,8 и 27,3%, соответственно, 1 и 20 ч инкубации, что может быть обусловлено непрямым антиоксидантным действием N-АЦ, которое заключается в том, что он является предшественником GSH. Исследования *in vitro* показали, что N-АЦ легко проходит через клеточную мембрану и затем деацилируется, превращаясь в цистеин, который расходуется на синтез GSH [2].

Нами ранее установлено, что при воздействии ЭСД снижается жизнеспособность АМ, нарушается структурная целостность клеточных мембран, снижается внутриклеточный уровень нитрит-ионов, увеличивается продукция АФК на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты, возрастает интенсивность процессов перекисного окисления липидов, угнетается фагоцитоз. Эти изменения проявляются в АМ уже при минимальном по времени контакте с ЭСД, а при продолжительном контакте (до 20 ч) имеющиеся изменения усугубляются.

N-АЦ препятствует снижению уровня GSH, росту количества H_2O_2 в АМ и снижению активности антиоксидантных ферментов в условиях 1 ч воздействия ЭСД; активность ГПО и концентрация небелковых SH-соединений в клетках, обработанных N-АЦ и контактировавших с ЭСД (0,7 г/л), не отличалась от контроля ($p < 0,05$).

Количество H_2O_2 уменьшилось на 20 и 23,9%, соответственно, а концентрация смол в ЭСД – на 0,7 и 2,1 г/л по сравнению с АМ, необработанными N-АЦ. Ранее показано, что SH-группы N-АЦ способны взаимодействовать с пероксидом водорода. В результате образуется конечный продукт – дисульфидная форма N-АЦ. Анализ работы ферментов, участвующих в метаболизме H_2O_2 , показал, что N-АЦ эффективно препятствует снижению их активности только при кратковременном контакте АМ с ЭСД. В результате длительного контакта с ЭСД в клетках с N-ацетилцистеином активность ГПО и СОД еще больше снижалась. Аналогично, уменьшение снижения концентрации глутатиона в АМ, контактировавших с ЭСД, но прединкубированных с N-АЦ, было заметно только при кратковременном контакте с ЭСД.

Выводы:

1. N-ацетилцистеин, контактируя *in vitro* с АМ, увеличивает уровень восстановленного глутатиона, активность каталазы и глутатионпероксидазы, снижает концентрацию пероксида водорода. Эти изменения ярко проявляются в течение 1 ч после контакта с N-ацетилцистеином.

2. Более продолжительный контакт АМ с ЭСД минимизирует протекторное действие N-ацетилцистеина, что может ограничивать его эффективность у курильщиков, на клетки легких которых длительно и неоднократно воздействует сигаретный дым.

Литература

1. Decramer M., Rutten-van Molken M., Dekhuijzen P.N. et al. Effects of N-acetylcysteine on outcomes in chronic obstructive pulmonary disease // *Lancet*. – 2005. – Vol. 365. – P. 1552–1560.
2. Sadowska A., Verbraecken J. et al. Role of N-acetylcysteine in the management of COPD // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2006. – Vol. 1, № 4. – P. 425-434.
3. Yoshida T. Pathobiology of Cigarette Smoke-induced chronic Obstructive Pulmonary Disease // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 1047-1082.

ОСОБЕННОСТИ СРОДСТВА ГЕМОГЛОБИНА К КИСЛОРОДУ У ПАЦИЕНТОВ СО СТЕНОКАРДИЕЙ И ИНФАРКТОМ МИОКАРДА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

Добродей М. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
proped@grsmu.by

В патогенезе стенокардии, помимо нарушения коронарного кровообращения, имеют значение и другие факторы. Ранее нами было установлено, что у пациентов, страдающих стенокардией напряжения, изменяются показатели кислородтранспортной функции крови (КТФК), причем эти изменения более выражены с нарастанием степени тяжести стенокардии [1]. Одним из важных параметров КТФК является сродство гемоглобина к кислороду (СГК). Еще в 1967 г. Edwards с соавторами показали, что при уменьшении pO_2 с 75 до 45 мм рт. ст. молодые эритроциты отдают около 30% кислорода, в то время как более старые – только 20%, т. к. СГК с возрастом эритроцитов увеличивается и кривая диссоциации оксигемоглобина смещается влево [2]. Сведения об изменении СГК в зависимости и от возраста пациентов, страдающих стенокардией миокарда, немногочисленны и противоречивы.

Цель исследования – оценить СГК в зависимости от возраста пациентов при стабильной стенокардии и инфаркте миокарда.

Материалы и методы. Обследованы 92 пациента со стабильной стенокардией напряжения (ССН) I, II, III функциональных классов (ФК) и 46 пациентов с не Q инфарктом миокарда (ИМ). В каждом ФК стенокардии при ИМ были выделены 2 группы в зависимости от возраста пациентов. Первую группу составили пациенты со стенокардией в возрасте от 38 до 55 лет (44 чел.), вторую группу – от 56 до 80 лет (44 чел.). В группе пациентов ИМ первую группу составили пациенты от 36 до 55 лет (12 чел.), вторую – от 56 до 78 лет (22 чел.).

СГК определяли по методике, описанной ранее [1]. Для этого в венозной крови находили показатели: напряжение кислорода (pO_2), напряжение углекислого газа (pCO_2), pH, содержание кислорода в венозной крови (SvO_2) и кислородную емкость. По ним оценивали степень насыщения крови кислородом (SO_2). Рассчитывали показатель СГК ($p50$) при pH крови и его стандартное значение (при $T=37^\circ C$ и $pH=7,4$).

Результаты и их обсуждение. Как видно из таблицы, показатели КТФК изменились не только от ФК стенокардии, но и от возраста пациентов.

Таблица – Показатели КТФК у пациентов ССН I-III ФК и инфаркте миокарда в зависимости от возраста ($M \pm m$)

Показатели/ возраст	I ФК		II ФК		III ФК		ИМ	
	до 55 лет	более 55	до 55 лет	более 55	до 55 лет	более 55	до 55 лет	более 55
n	13	15	14	15	17	18	12	22
pO_2 (мм рт.ст.)	$36,4 \pm 1,40$ <0,05	$32,2 \pm 1,32^*$	$29,7 \pm 0,7$ <0,05	$27,4 \pm 10,46^*$	$28,7 \pm 0,92$	$26,4 \pm 1,11$	$29,1 \pm 0,92$	$27,3 \pm 1,04$
pCO_2 (мм рт.ст.)	$41,2 \pm 1,02$ <0,01	$46,06 \pm 1,0$ *	$46,01 \pm 1,04$	$44,2 \pm 1,12$	$45,4 \pm 1,29$ <0,05	$49,5 \pm 1,02$	$54,2 \pm 2,2$	$56 \pm 1,6$
pH (ед)	$7,381 \pm 0,011$ <0,02	$7,332 \pm 0,02^*$	$7,352 \pm 0,016$	$7,357 \pm 0,009$	$7,362 \pm 0,013$	$7,349 \pm 0,017$	$7,291 \pm 0,001$	$7,296 \pm 0,002$
SvO_2 (об%)	$14,5 \pm 0,92$ <0,01	$10,4 \pm 0,82^*$	$10,2 \pm 0,62$	$8,4 \pm 0,78$	$9,98 \pm 0,62$	$8,72 \pm 0,57$	$9,41 \pm 0,87$	$8,22 \pm 0,61$
КЕ (ед)	$22,4 \pm 0,62$ 0,02	$19,4 \pm 0,91^*$	$21,4 \pm 0,68$ <0,05	$23,6 \pm 0,72^*$	$21,9 \pm 0,63$	$20,1 \pm 0,61$	$19,70 \pm 0,64$	$17,92 \pm 0,78$
SO_2 (%)	$50,09 \pm 2,24$	$54,1 \pm 1,24$	$46,7 \pm 2,01$	$44,2 \pm 1,1$	$44,88 \pm 1,12$ <0,05	$48,12 \pm 0,99^*$	$46,2 \pm 1,32$	$49,4 \pm 1,05$
$p50_{\text{реальн}}$ (мм рт.ст.)	$30,2 \pm 1,1$ $p < 0,05$	$34,2 \pm 1,04$ *	$28,6 \pm 0,90$ <0,01	$32,7 \pm 0,62^*$	$27,8 \pm 0,74$ <0,05	$29,4 \pm 0,82^*$	$25,4 \pm 0,36$	$27,3 \pm 0,32$
$p50_{\text{станд}}$ (мм рт.ст.)	$29,8 \pm 0,82$ <0,01	$34,4 \pm 0,97$ *	$26,7 \pm 0,72$ $p < 0,01$	$30,2 \pm 0,62^*$	$26,1 \pm 0,46$ <0,01	$28,8 \pm 0,71^*$	$24,1 \pm 0,42$	$29,3 \pm 0,54$

Примечание – * – достоверность различий между лицами до 55 лет и старше

Так, у лиц ССН I ФК старшего возраста по сравнению с пациентами в возрасте до 55 лет были меньше pO_2 (на 11,5%), pH (на 1,7%), КЕ (на 13,4%), но выше – pCO_2 (на 11,8%), $p50_{\text{станд}}$ (на 14,4%), $p50_{\text{реальн}}$ (на 11,4%). Аналогичная тенденция сохранялась у пациентов ССН II ФК. У пациентов ССН III ФК в возрасте старше 55 лет увеличились не только $p50_{\text{реальн}}$ (на 10,4%), $p50_{\text{станд}}$ (на 5,5%), но и pO_2 (на 9,2%), SvO_2 (на 7,8%), а концентрация 2,3-дифосфоглицериновой кислоты в эритроцитах повысилась на 43,6%. Подобные изменения СГК наблюдались и у пациентов с инфарктом миокарда без зубца Q. Если в целом по группе пациентов с ИМ $p50$ было 26,3 мм рт. ст., то у лиц старше 55 лет оно было на 9,5% выше, чем у пациентов до 55 лет.

Надо полагать, что вышеуказанные изменения СГК носят приспособительный характер в условиях гипоксии при стенокардии и ИМ.

Как известно, при старении даже здорового организма наблюдаются сложные изменения сердечно-сосудистой системы, приводящие к развитию циркуляторного компонента кислородной недостаточности. При ССН, особенно при III ФК и ИМ, гипоксия нарастает, происходит снижение СГК для улучшения оксигенации тканей. Однако в отличие от здоровых пожилых лиц у пациентов ССН и ИМ старше 55 лет наблюдалось увеличение $p\text{CO}_2$ и $p\text{H}$, которые влияют на СГК. Помимо этого, в данной группе концентрация 2,3-дифосфоглицериновой кислоты была выше во всех ФК ССН и ИМ. Ее увеличение, вероятно всего, связано с усилением гликолитических процессов при старении.

Таким образом, проведенное исследование показало, что у лиц более старшего возраста ССН и ИМ по сравнению с более молодыми СГК снижено, что связано и с возрастными изменениями сердечно-сосудистой системы.

Выводы. У пациентов со стенокардией разных функциональных классов и инфаркте миокарда без зубца Q старше 55-летнего возраста отмечается снижение СГК. Изменение СГК к кислороду связано с изменением внутриэритроцитарных механизмов формирования СГК, прежде всего с повышением 2,3-дифосфоглицериновой кислоты в эритроцитах.

Литература

1. Добродей М.А. Кислородтранспортная функция крови у курящих и некурящих больных ИБС // Здоровоохранение Белоруссии. – 1988. – № 1. – С.7-10.
2. Edwards M.J., Norry M.J., Walters C.Z. et. al. Impoved oxygen release; an adaptation of nature red cells to hypoxia // J. Clin. Invest. – 1988. – Vol. 47. – P. 1851-1857.

ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

¹Дорохин К. М., ²Лыщик В. Т., ¹Орехов С. Д.,

¹Прут С. В., ¹Дорохина Л. В.

¹Гродненский государственный медицинский университет,

²Гродненская областная клиническая больница, Гродно, Беларусь

dorokhin61@mail.ru

По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно регистрируется около 15 миллионов инсультов, из которых примерно 5 млн случаев заканчивается летальным исходом, а еще 5 млн – инвалидизацией.

Частота инсультов в нашей стране в 2-2,5 раза выше, чем в странах ЕС. По данным Минздрава РБ, в 2016 г. 32 500 человек перенесли острое нарушение мозгового кровообращения, причем 30% из них – трудоспособное

население. Летальность, достигавшая 10 лет назад 25%, снизилась вдвое – до 12%, что приблизительно соответствует показателям стран Евросоюза. Этому удалось добиться благодаря улучшению качества лечения пациентов [1].

Активно разрабатываются новые методы неинвазивного мониторинга и уточняются факторы риска при нарушении мозгового кровообращения [2]. Неадекватная доставка O_2 к тканям сопровождается развитием тканевой гипоксии и полиорганной недостаточности [3]. Показатели системы транспорта кислорода могут быть критериями тяжести патологического процесса в остром периоде ишемического инсульта [4]. Однако в современной литературе встречается небольшое количество работ, посвященных данной тематике.

Цель исследования – выявить различия кислородтранспортной функции крови у выживших и умерших пациентов при остром нарушении мозгового кровообращения.

Материалы и методы. Проанализированы истории болезни 31 пациента (17 женщин и 14 мужчин), проходивших лечение в отделении реанимации для терапевтических пациентов Гродненской областной клинической больницы. В 1 гр. (n=7) вошли умершие в последующем пациенты, а во 2 гр. (n=24) – выжившие и переведенные в дальнейшем в неврологический стационар. Лабораторные показатели на момент поступления и при окончании курса интенсивной терапии сведены в электронные таблицы. Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета прикладных программ «Statistica10.0».

Результаты и их обсуждение. При поступлении в отделение интенсивной терапии (ОИТ) у умерших в последующем пациентов (1 гр.) фиксируются более низкие значения по шкале ком Глазго (ШКГ) – $7,29 \pm 1,74$ баллов, что характеризует их состояние как коматозное. У пациентов, переведенных в дальнейшем в неврологический стационар (2 гр.) показатели ШКГ соответствуют сопору или даже оглушению – $12,92 \pm 0,58$ ($p < 0,0001$).

В начале лечения парциальное давление кислорода (pO_2) у пациентов 1 гр. было ниже, чем у выживших ($87,14 \pm 20,1$ мм рт. ст. и $112,58 \pm 6,27$ мм рт. ст., $p > 0,05$). Аналогичное соотношение наблюдается для степени насыщения гемоглобина кислородом sO_2 : $91,75 \pm 3,58\%$ и $96,52 \pm 0,46\%$, $p = 0,02$ соответственно. Однако в конце лечения наблюдается инверсия этих показателей, что, очевидно, связано с проведением искусственной вентиляции легких у пациентов 1 гр. высоко оксигенированной газовой смесью. pO_2 у этих пациентов стал выше, чем у выживших ($123,50 \pm 23,24$ мм рт. ст. и $83,04 \pm 7,52$ мм рт. ст., $p = 0,04$) и, соответственно, увеличилась sO_2 ($98,28 \pm 1,29\%$ и $90,66 \pm 2,43\%$, $p > 0,05$). Концентрация гемоглобина в обеих группах не отличается от нормы в начале и конце лечения. Парциальное давление углекислого газа (pCO_2) в начале лечения у 1 гр. выше, чем у 2 гр. ($39,43 \pm 6,35$ мм рт. ст. и $30,83 \pm 0,87$ мм рт. ст., $p = 0,026$). В результате проводимых лечебных мероприятий pCO_2 у пациентов 1 гр. стал $27,83 \pm 3,69$ мм рт. ст., а у 2 гр. $31,25 \pm 1,04$ мм рт. ст. ($p > 0,05$). При поступлении концентрация общей углекислоты (TCO_2) у умерших в

последующем пациентов была ниже $18,67 \pm 2,47$ ммоль/л, чем у выживших $22,89 \pm 0,63$ ммоль/л, $p < 0,05$. В конце лечения в отделении реанимации TCO_2 умерших пациентов примерно равнялась таковой у выживших. Концентрация гидрокарбоната (HCO_3^-) при поступлении была достоверно ниже у пациентов 1 гр. $15,07 \pm 3,09$ ммоль/л, чем у выживших $23,06 \pm 0,23$ ммоль/л ($p < 0,001$). В процессе лечения у пациентов 1 гр. данный показатель повысился, но оставался ниже уровня выживших. Показатель pH в обеих группах в начале и при окончании лечения не отличался и был в пределах нормы. Вероятно, это также связано с более интенсивной кислородотерапией в группе тяжелых пациентов.

Необходимо отметить, что при поступлении в ОИТ из биохимических показателей лишь показатель мочевины достоверно различается в двух группах пациентов (в 1 гр. $13,06 \pm 3,44$ ммоль/л, во 2 гр. $8,16 \pm 0,76$ ммоль/л, $p < 0,05$). К концу лечения в реанимационном стационаре активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы и общего билирубина у пациентов 1 гр. достоверно выше, чем у 2 гр.

Выводы. Степень тяжести острого нарушения мозгового кровообращения при поступлении хорошо определяется шкалой ком Глазго и показателями КТФ крови. Проводимая интенсивная терапия (ИВЛ, инфузионно-трансфузионная терапия), позволяет контролировать кислородный статус пациентов, однако его коррекция не всегда защищает пациентов от выхода на терминальную стадию болезни. Биохимические изменения в крови характеризуют развитие полиорганной недостаточности у погибших пациентов.

Литература

1. Кулеш С.Д. Мозговой инсульт: комплексный анализ региональных эпидемиологических данных и современные подходы к снижению заболеваемости, инвалидности и смертности: монография. – Гродно: ГрГМУ, 2012. – 204 с.
2. Nametner C. et al. Noninvasive cerebral oximetry during endovascular therapy for acute ischemic stroke: an observational study // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2015. – Vol. 35, № 11. – P. 1722-1728.
3. Борщикова Т.И., Антонов А.Р., Чурляев Ю.А., Елифанцева Н.Н. Нарушения транспорта кислорода при ишемическом инсульте // Международный журнал экспериментального образования. – 2015. – № 12-5. – С. 644-645.
4. Лукашев К.В., Валиахмедов А.З., Чурляев Ю.А. и др. Особенности транспорта кислорода в остром периоде ишемического инсульта // Общая реаниматол. – 2010. – Т. VI, № 2. – С. 30-33.

ГЕМИЧЕСКИЙ КОМПОНЕНТ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ И МНОЖЕСТВЕННОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ СОСУДОВ

¹Дорохин К. М., ²Бекиш А. Е., ¹Орехов С. Д., ¹Авдевич Э. М.

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

²Гродненский областной клинический кардиологический центр, Гродно, Беларусь
dorokhin61@mail.ru

В настоящее время во всех странах мира увеличивается количество пациентов с цереброваскулярной болезнью и ишемической болезнью сердца [1]. Атеросклеротически поражаются как брахиоцефальные, так и коронарные артерии [2]. Широкое использование хирургических методов лечения сосудистой патологии обуславливает наличие жизнеугрожающих состояний, связанных с нарушением транспорта кислорода.

Одним из частых осложнений при аортокоронарном шунтировании (АКШ) является мозговой инсульт [2]. Некоторые авторы показывают, что хорошая сократительная активность миокарда при проведении АКШ может предотвратить снижение оксигенации головного мозга у пациентов как с наличием, так и без стеноза а. carotis [3]. Несмотря на это, в доступной литературе не удалось обнаружить сравнительного анализа состояния кислородтранспортной функции (КТФ) крови у пациентов при изолированном (преобладающем) каротидном стенозе и сочетании каротидного и коронарного стенозов.

Цель исследования – сравнить состояние кислородтранспортной функции крови у пациентов с атеросклеротическим поражением одного или нескольких сосудистых бассейнов.

Материалы и методы. Проанализированы истории болезни 56 человек, проходивших лечение в отделении сосудистой хирургии Гродненского областного клинического кардиологического центра в 2016 г. В ходе предоперационного обследования были определены показания к изолированной эндартерэктомии у 29 пациентов (1 гр.). Вторую группу составили 27 пациентов, которым была показана этапная эндартерэктомия, с последующим аортокоронарным шунтированием.

В периоперативный период определяли показатели КТФ артериальной и венозной крови. Забор артериальной крови производили из артерии предплечья после интубации трахеи, на фоне искусственной вентиляции легких газонаркотической смесью ($O_2 + \text{воздух} = 1:1$) + севофлуран. Пробы венозной крови получали после окончания основного этапа операции. Исследования полученных образцов производили на аппарате Radiometer ABL800 flex.

Результаты и их обсуждение. Пациенты, вошедшие в первую группу, были старше пациентов второй группы ($65,62 \pm 9,25$ и $61,41 \pm 7,14$; $p=0,063$).

При исследовании показателей КТФ в образцах артериальной крови был выявлен ряд достоверных различий. Так, количество гемоглобина у пациентов 1 гр. соответствовало нормальным величинам ($120,53 \pm 14,56$ г/л), а во второй

определялись признаки анемии легкой степени ($106,42 \pm 18,48$ г/л, $p=0,015$). Показатель гематокрита артериальной крови у всех пациентов был ниже нормальных величин, что можно объяснить гемодилуцией в результате инфузионной терапии. В 1 гр. этот показатель был выше, чем во второй: $37,27 \pm 4,06\%$ против $32,87 \pm 5,58\%$ ($p=0,011$). У пациентов 1 гр. фракция оксигемоглобина была ниже, чем во второй ($\text{FO}_2\text{Hb(a)}$): $84,82 \pm 16,0\%$ и $94,97 \pm 2,32\%$; $p=0,003$). Таким же образом различались исследуемые группы по степени насыщения гемоглобина кислородом $\text{sO}_2\text{(a)}$ ($89,01 \pm 15,95\%$ и $97,7 \pm 2,41\%$; $p=0,009$). Уровень рН артериальной крови соответствовал нормальным показателям и не отличался в обеих группах. Вместе с тем у пациентов с распространенным атеросклеротическим процессом (2 гр.), отмечалась гиперлактатемия – $2,73 \pm 2,16$ мм/л, по сравнению с нормальным уровнем в 1 гр. – $0,98 \pm 0,31$ мм/л ($p=0,004$).

При исследовании показателей КТФ венозной крови выяснилось, что количество Hb(v) у пациентов 1 гр. значительно превышает его содержание во 2 гр. ($123,64 \pm 12,33$ г/л и $95,27 \pm 15,31$ г/л; $p=0,001$). Таким же образом различались показатели гематокрита венозной крови: $38,05 \pm 3,73\%$ и $29,48 \pm 4,57\%$, соответственно ($p=0,001$). Подобные различия могут быть связаны с разной степенью кровопотери в ходе операции и разведением крови в результате переливания кристаллоидных растворов. Фракции дигемоглобинов у пациентов разных групп не выходили за пределы референтных диапазонов. Процентное содержание карбоксигемоглобина в первой гр. было ниже, чем во второй: $0,97 \pm 0,30\%$ и $1,31 \pm 0,34\%$ ($p=0,004$). Содержание кислорода в венозной крови 1 гр. было выше, чем во 2 гр. ($120,28 \pm 9,41$ мл/л и $85,65 \pm 4,10$ мл/л, соответственно; $p < 0,001$). Артериовенозная разница содержания кислорода в крови ниже в первой группе ($29,23 \pm 9,60$ мл/л) по сравнению со второй ($53,99 \pm 5,04$ мл/л, $p=0,021$).

Выводы. Показатели гемического компонента кислородного статуса у пациентов с локальным и множественным атеросклеротическим поражением артерий различаются. Существенное понижение содержания гемоглобина у пациентов с множественным атеросклерозом сосудов компенсировалось большей степенью оксигенации гемоглобина артериальной крови и более интенсивной деоксигенацией. Периоперативное определение кислородтранспортной функции крови позволяет оценивать адекватность проводимого анестезиологического пособия (параметры ИВЛ, состав газонаркотической смеси), оперативно корректировать выявленные изменения.

Литература

1. Бокерия Л.А. и др. Современные подходы к диагностике и хирургическому лечению брахиоцефальных артерий у больных ишемической болезнью сердца // Вестник РАМН. – 2012. – № 10. – С. 4-11.
2. Likosky D.S. et al. Determination of etiologic mechanisms of strokes secondary to coronary artery bypass graft surgery // Stroke. – 2003. – Vol. 34, № 12. - P. 2830-2834.
3. Toyama S. et al. Retrospective evaluation of the effect of carotid artery stenosis on cerebral oxygen saturation during off-pump coronary artery bypasses grafting in adult patients // BMC Anesthesiol. – 2015. – Vol. 15, № 15. – P. 180-186.

АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ДЕЙСТВИЯ ДОНОРОВ ИЛИ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ МОНООКСИДА АЗОТА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИШЕМИИ МОЗГА

¹Досина М. О., ¹Денисов А. А., ¹Пашкевич С. Г.,
^{2,3} Адрианов В. В., ^{2,3} Гайнутдинов Х. Л.

¹Институт физиологии НАН Беларуси
pochta_margo@mail.ru

²Казанский (Приволжский) федеральный университет (Институт фундаментальной
медицины и биологии), лаборатория двигательной нейрореабилитации, г. Казань;

³Казанский физико-технический институт КазНЦ РАН,
лаборатория спиновой физики и спиновой химии, Казань, Россия

Дисбаланс нейромедиаторов (в том числе газообразных) в мозге является триггерным звеном в нарушении интегративной функции нейронных сетей головного мозга при ослаблении церебрального кровотока в результате травм и инсультов [1]. Нарушение церебрального кровотока сопровождается гипоксией, изменением энергетических и метаболических процессов в мозге, нарушением контроля уровня сигнальных молекул в нервной ткани и ослаблением (вплоть до полного угнетения) регулирующей функции мозга [2].

Цель исследования – исследовать зависимость эффективности функционирования нейронных сетей головного мозга от баланса газообразного нейромедиатора монооксида азота, его предшественников и дериватов, а также супероксиддисмутаза 1 и 3, в мозге при моделировании гипоксии.

На срезах гиппокампа крысят ($n=37$) в условиях моделирования пятиминутной гипоксии путем насыщения искусственной спинномозговой жидкости смесью газов, содержащих 21,96% кислорода, 0,04% углекислого газа и 78% азота, вместо карбогена (95% O_2 и 5% CO_2) при предъявлении донора монооксида азота (NO) – нитропруссид натрия (болюсно 0,1 мл, 10 μM , $n=37$) или предшественника монооксида азота L-аргинина (болюсно 0,1 мл, 10 mM , $n=37$) изучали условия формирования в СА1 области гиппокампа вызванных ответов при раздражении нейронов СА3 области. В условиях протоколного рекомендуемого насыщения искусственного ликвора карбогеном (95% O_2 и 5% CO_2) и добавления в ликвор исследуемых веществ ($n=15$) наблюдали кратковременное возрастание амплитуд вызванных ответов с последующей тенденцией к восстановлению процессов формирования возбуждающего постсинаптического потенциала и популяционного спайка. В следующей серии опытов на срезах гиппокампа крысят ($n=15$) при моделировании 10-минутной «нормобарической гипоксии» (перфузия срезов 20,96% O_2 , 0,04% CO_2 , 78,0% азота) зарегистрировано быстрое снижение амплитуды вызванных ответов вплоть до их блокады через две-три минуты после начала моделирования. После предварительной аппликации блокатора NO-синтазы L-NAME полной блокады вызванных ответов не выявлено. При моделировании 10-минутной гипоксии установлено увеличение распределения стволовых клеток с

аккумуляцией в областях СА1 и СА3 гиппокампа. Перфузия L-NAME сопровождалась тенденцией к снижению количества эндогенных стволовых клеток в СА1 области гиппокампа. В качестве спиновой ловушки в срезы гиппокампа введен комплекс Fe^{2+} с диэтилдитиокарбаматом (ДЭТК) - $(ДЭТК)_2-Fe^{2+}-NO$ для уточнения механизмов вовлечения NO-синтаз в формирование синаптической пластичности. Затем на наркотизированных крысах ($n=15$), у 5 из которых унилатерально аспирационным путем разрушали сенсомоторную зону головного мозга и с этой же стороны полушарий мозга осуществляли деструкцию зоны СА3 гиппокампа (удаляли 2-3 мм³ ткани мозга). По всему периметру гиппокампа количество флуоресцирующих стволовых клеток было минимальным в сравнении с содержанием стволовых клеток в области популяций СА1 и СА3 нейронов. Затем апплицировали на срезы гиппокампа доноры монооксида азота. Установили, что активирующий эффект на процессы миграции стволовых клеток определяется уровнем гипоксии и/или наличием травмы мозга и не зависит от содержания NO в ткани мозга.

Итак, даже кратковременная гипоксия сопровождается угнетением межнейронных коммуникаций в результате дисбаланса сигнальных молекул и возрастания свободных радикалов, что активирует эндогенный пул стволовых клеток. Следовательно, систематические гипоксические воздействия сравнительно небольшой интенсивности выполняют своеобразную «тренирующую» роль в активации эндогенных защитных функций нервной системы, в частности активации стволовых клеток. Таким образом, в проведенных опытах получены дополнительные факты, подтверждающие аксиому о значимости прекондиционирования для инициации процессов пластичности в мозге и возрастания устойчивости нервной ткани к экстремальным воздействиям (гипоксия, травма), что актуально учитывать при выборе тактики терапии в клинической практике при ишемических инсультах и травмах мозга.

Работа выполнена в рамках исследований при финансовой поддержке БРФФИ Б16Р-166 Республика Беларусь и РФФИ 16-54-00098 Российская Федерация.

Литература

1. Кульчицкий В.А. Синаптический и внесинаптический пути передачи сигналов в мозге // *Нейронауки: теоретические и клинические аспекты.* – 2009. – Т. 4, № 2. – С. 48-52.
2. Islam M.T. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders // *Neurol. Res.* – 2016. – Vol. 3. – P. 1-10.

КОРРЕКЦИЯ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ ПРИ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Глуткин С. В., Гуляй И. Э., Сезнев И. Г., Балбатун О. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
glutkin@mail.ru

Кислородное голодание в органах и тканях наблюдается при развитии многих острых и хронических заболеваний. Кислородный дефицит характеризуется сложной динамикой вовлеченности широкого спектра функционально-метаболических систем [1]. Важным является поиск способов регулирования системного и регионарного распределения кислорода, создание новых методов коррекции.

Цель – изучить влияние коррекции на кислородтранспортную функцию крови при нормобарической гипоксии.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на беспородных крысах-самцах массой 220-270 г. с соблюдением всех норм гуманного обращения с животными. В течение одного часа животных помещали в специальную замкнутую камеру, куда подавался воздух с содержанием 12% кислорода. Предварительно за 30 минут до гипоксического воздействия крысам внутрибрюшинно вводили некоторые препараты. Таким образом, были сформированы следующие группы: 1 – контроль (интактные животные), 2 – гипоксия, 3 – мелатонин+гипоксия, 4 – мелатонин+L-аргинин+гипоксия, 5 – мелатонин+L-NAME (метилловый эфир NG-нитро-L-аргинина)+гипоксия, 6 – мелатонин+NaHS (гидросульфид натрия)+гипоксия, 7 – мелатонин+PAG (DL-пропаргилглицин)+гипоксия.

Забор крови осуществляли сразу после извлечения крысы из камеры. После забора крови производили ее анализ на анализаторе газов крови Stat Profile рНОх plus L. Определяли показатели кислородтранспортной функции крови (парциальное напряжение кислорода (pO_2) и углекислого газа (pCO_2), $p50$ и др.) и кислотно-основного состояния (КОС). $p50$ измеряли при стандартных условиях $pH=7,4$, $pCO_2=40$ мм рт. ст. и температуры = $37^\circ C$ ($p50_{\text{станд}}$) и при реальных значениях pH , pCO_2 и температуры ($p50_{\text{реал}}$). Полученные значения $p50$ приводили к реальным значениям pH , pCO_2 и температуры по уравнению, предложенному J. W. Severinghaus. Для анализа полученных результатов использовали методы непараметрической статистики – Н-критерий Краскела-Уоллиса и U-критерий Манна-Уитни. Данные представлены в виде медианы (Me) и квартильного размаха [25-75%].

Результаты и их обсуждение. Установлено, что в 4-й группе происходит увеличение $p50_{\text{реал}}$ 28,65 [26,76; 31,4] мм рт. ст. в сравнении с группами «контроль» (25,59 [23,87; 27,17] мм рт. ст.) и «мелатонин+гипоксия» (23,89 [20,26; 29,23] мм рт. ст.). По сравнению с 1-й группой (25,75 [23; 27,25] мм рт. ст.) значение $p50_{\text{станд}}$ снижается во 2-й (19,3 [11,8; 25,5] мм рт. ст.) и 3-й (17,9 [16,9; 23] мм рт. ст.) группах. Происходит повышение уровня данного показателя в 5-й (25,1 [23; 27,2] мм рт. ст.) и 7-й (25,3 [23,4; 25,6] мм рт. ст.)

группах относительно 2-й и 3-й групп. В сравнении с контролем показатель pO_2 снижается во всех экспериментальных группах, за исключением «мелатонин+L-NAME+гипоксия». В данной 5-й группе этот параметр (16,4 [12;27,5] мм рт. ст.) выше, чем у животных, получивших мелатонин (12,85 [8,1; 14,2] мм рт. ст.) и комбинацию мелатонин+L-аргинин (11,4 [8,8; 13,3] мм рт. ст.) с последующей гипоксией.

Выявлено, что уровень pH уменьшается во 2-й, 3-й и 5-й группах, а увеличивается в 4-й и 7-й группах относительно контроля. После гипоксии происходит повышение концентрации гемоглобина во всех экспериментальных группах. Низкая концентрация кислорода во вдыхаемом воздухе приводит к снижению показателей КОС. Наблюдается уменьшение уровня Ca^{2+} у животных групп «мелатонин+L-NAME+гипоксия» (0,53 [0,47; 0,6] ммоль/л) и «мелатонин+PAG+гипоксия» (0,55 [0,53; 0,62] ммоль/л), а увеличение – в «мелатонин+NaHS+гипоксия» (0,845 [0,68; 0,94] ммоль/л). Повышение концентрации Na^+ в крови происходит с 4-й по 7-ю группы. В результате гипоксии величина лактата вырастает у всех экспериментальных животных.

Выводы. В результате действия нормобарической гипоксии наблюдаются типичные изменения кислородтранспортной функции крови и кислотно-основного состояния. Повышение концентрации гемоглобина после воздействия гипоксии связано с увеличением количества эритроцитов в периферической крови. На дефицит кислорода реагируют клетки организма, в которых посредством образования индуцируемого гипоксией фактора происходит активация экспрессии определенных генов мишеней. В ответ на это увеличивается продукция эритропоэтина почками с последующим усилением эритропоэза [2]. Введение мелатонина улучшает показатели КОС. Комбинация мелатонина и L-NAME уменьшает сродство гемоглобина к кислороду при стандартных условиях среды, увеличивает его поступление в ткани, улучшает параметры КОС, но не нормализует их до уровня контрольной группы. Совместное введение мелатонина и ингибитора сероводорода повышает дезоксигенацию крови, приводит к избыточному выведению CO_2 из организма и падению pCO_2 , развитию газового алкалоза, что обуславливает гипокальциемию. Комбинация же мелатонина с донором сероводорода не вызывает защелачивания крови (pH ближе к норме), увеличивает концентрацию Ca^{2+} в крови.

Влияние на образование сигнальных молекул (монооксида азота и сероводорода) способствует модификации кислородтранспортной функции крови. С одной стороны, их воздействие связано с прямым регулированием содержания кислорода в кровеносной системе или тканях и клетках, с другой – влиянием на респираторный или метаболический компоненты КОС, с третьей – включением компенсаторных адаптационных процессов, стресс-лимитирующих реакций.

Литература

1. Евсеев А.В., Шабанов П.Д., Парфенов Э.А. и др. Острая гипоксия: механизмы развития и коррекция антиоксидантами. Монография. – СПб: Элби-СПб, 2008. – 224 с.
2. Song, J., Prchal J.T. Evaluation of erythrocyte changes after normoxic return from hypoxia // Methods Mol. Biol. – 2018. – № 1742. – P. 185-194.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МИОКАРДЕ, С УРОВНЕМ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ В КРОВИ И ЭКСПРЕССИЕЙ РАННИХ ГЕНОВ В МИОКАРДЕ ПРИ СТРЕССЕ У ГИПОТИРЕОИДНЫХ ЖИВОТНЫХ

Евдокимова О. В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь, *olgavladim87@mail.ru*

Последние годы тиреоидная патология выходит на лидирующую позицию в структуре эндокринных нарушений, в связи с чем является актуальной медико-социальной и экономической проблемой. По данным ВОЗ, йододефицитные состояния имеют место у 13% населения. Вместе с тем не менее актуальным в наше время остается проблема стресса. Известно, что у гипотиреоидных пациентов исключена возможность реализации протекторного эффекта йодсодержащих тиреоидных гормонов (ЙТГ) при стрессе. Важную роль в защите клеток от стресс-индуцированных повреждений играют гены раннего ответа, экспрессия которых возрастает уже в первые минуты после воздействия стрессоров. Учитывая геномное действие ЙТГ, можно предположить, что одним из механизмов их стресс-протекторного действия является изменение экспрессии ранних генов, приводящее к дальнейшему каскаду «защитных» реакций.

Цель. Установить зависимость изменения уровня продуктов ПОЛ (некоторых начальных диеновых конъюгатов (ДК) и одного из конечных – малонового диальдегида (МДА) и скорости этого процесса в миокарде от содержания ЙТГ в крови и уровня мРНК *c-fos* и *c-jun* в миокарде при химическом и эмоциональном воздействии у гипотиреоидных животных.

Материалы и методы. Работа выполнена на 130 беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Химический стресс вызывали введением этанола (однократно внутривентрикулярно в дозе 3,5 г/кг массы тела), эмоциональный – с помощью «свободного плавания животных в клетке». Мерказолил вводили в дозе 25 мг/кг 20 дней внутривентрикулярно в 1% крахмальном клейстере. Состояние перекисного окисления липидов в миокарде оценивали по концентрации ДК, МДА, а также по скорости этого процесса. Содержание белка в миокарде изучали по Lowry, общих липидов – сульфофосфованилиновой реакцией. Экспрессию генов *c-fos* и *c-jun* в миокарде изучали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием системы для ПЦР-амплификации «CFX-96» (Bio-Rad, США). Концентрацию ЙТГ в крови определяли радиоиммунологически. Количественную оценку экспрессии генов проводили с использованием значений пороговых циклов *Ct*. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Статистика 6.0».

Результаты и их обсуждение. Введение мерказолила *per se* угнетало ПОЛ в миокарде: содержание ДК снижалось на 20%, МДА на 22% ($p < 0,05$). Скорость ПОЛ падала на 25% ($p < 0,01$). У гипотиреоидных животных развивалась более выраженная по сравнению с таковой при стрессе у эутиреоидных крыс активация ПОЛ в миокарде. По отношению к группе «Мерказолил» после введения алкоголя концентрация ДК увеличивалась на 37% ($p < 0,01$), МДА на 23% ($p < 0,05$); после СПК содержание ДК в миокарде повышалось на 47%, МДА на 42% ($p < 0,01$). Данные изменения были связаны с увеличением скорости ПОЛ – на 39 и 55% ($p < 0,01$) после химического и эмоционального стресса. Вследствие этого по отношению к контролю уровень ДК в сердцах гипотиреоидных крыс был выше: после введения алкоголя на 17%, после СПК на 27%, как и скорость ПОЛ: на 14% после введения алкоголя и на 30% после СПК ($p < 0,01$). Концентрация МДА была больше только после СПК – на 20% ($p < 0,01$). Учитывая падение содержания продуктов ПОЛ в миокарде, вызванное самим введением мерказолила, его значение после стресса у гипотиреоидных животных по отношению к таковому у стрессированных эутиреоидных было меньшим: концентрация ДК после введения алкоголя и СПК – на 7 и 5% ($p < 0,05$), МДА после введения алкоголя и СПК – на 19% ($p < 0,01$) и 17% ($p < 0,05$). Скорость ПОЛ в сердце также была меньшей после всех примененных воздействий: на 15% после введения алкоголя и на 12% после СПК ($p < 0,01$). При расчете коэффициента парциальной корреляции в группах «Мерказолил» и «Мерказолил+стресс», отражающего связь концентрации продуктов и скорости ПОЛ с уровнем мРНК генов раннего ответа в миокарде, установлено наличие прямой корреляционной связи между указанными показателями в условиях всех изученных стрессов. После введения алкоголя R для концентрации ДК составил 0,80 – 0,97 с *c-fos*, 0,83 – 0,98 с *c-jun*; после СПК 0,71 – 0,89 с *c-fos* и 0,64 – 0,91 с *c-jun* ($p < 0,01$). R для содержания МДА был равен 0,89 – 0,97 с *c-fos* и 0,92 – 0,98 с *c-jun* после воздействия химического фактора и 0,81 – 0,95 с *c-fos* и 0,76 – 0,96 с *c-jun* после эмоционального стресса ($p < 0,01$). R , отражающий связь скорости ПОЛ с уровнем мРНК генов раннего ответа в миокарде, составил 0,83-0,96 с *c-fos* и 0,87-0,97 с *c-jun* после введения алкоголя; 0,75-0,89 и 0,69-0,91 – после эмоционального стресса ($p < 0,01$). Характер связи во всех описанных случаях – прямой. При расчете частного коэффициента корреляции, отражающего связь параметров, характеризующих интенсивность ПОЛ в миокарде, с сывороточным содержанием ЙТГ (при исключении влияния уровня мРНК *c-fos* и *c-jun*) в группах «Мерказолил» и «Мерказолил+стресс» установлено, что корреляционная связь, напротив, носила обратный характер при воздействии обоих изученных стрессоров. После введения алкоголя R для ДК составил -0,89 – -0,99; R для МДА был равен -0,65 – -0,98; R для скорости ПОЛ составил -0,89 – -0,99 ($p < 0,01$). После СПК R для ДК был равен -0,92 – -0,96 и -0,90 – -0,97; R для МДА составил -0,89 – -0,97; R для ПОЛ был равен -0,91 – -0,96 ($p < 0,01$). Наиболее значимая корреляционная связь наблюдалась между указанными показателями интенсивности ПОЛ в миокарде с содержанием общего Т3 после воздействия обоих факторов.

Выводы. Большее стрессорное повреждение должно было провоцировать большую индукцию генов раннего ответа с целью органичения (в том числе) стресс-индуцированной активации ПОЛ. Однако введение тиреостатика «выключает» ответ ранних генов, вследствие чего они не оказывают своего протекторного действия, в результате при стрессе у гипотиреоидных животных интенсификация ПОЛ в миокарде более выражена, чем у крыс, подвергнутых аналогичным воздействиям без предварительного введения мерказолила.

КИСЛОРОДНЫЙ ГОМЕОСТАЗ С УЧЕТОМ ПОЛИМОРФИЗМА G894T ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА

¹Жадько Д. Д., ²Конон И. Т.

¹ Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

² Областной диспансер спортивной медицины, Гродно, Беларусь

zinchuk@grsmu.by

Монооксид азота (NO) участвует в формировании кислородтранспортной функции крови путем взаимодействия с гемоглобином с образованием разных NO-форм: S-нитрозогемоглобин, нитрозилгемоглобин, метгемоглобин, которые в значительной степени определяют кислородсвязывающие свойства крови [1]. Ген эндотелиальной синтазы оксида азота имеет ряд полиморфных участков, определяющих экспрессию и активность NO-синтазы. В частности, существенный эффект на образование NO оказывает полиморфизм G894T [2], однако его влияние на кислородтранспортную функцию крови изучено недостаточно.

Цель исследования – оценка кислородного гомеостаза с учетом полиморфизма G894T гена эндотелиальной синтазы оксида азота.

Группу испытуемых составили здоровые молодые мужчины 18-24 лет (n=165), у которых в состоянии покоя, натошак забирали кровь из локтевой вены. Определяли полиморфизм 894T на амплификаторе Rotor Gene-Q («Qiagen», Германия), а также напряжение кислорода (pO₂) и углекислого газа (pCO₂), содержание кислорода (CvO₂), насыщение крови кислородом (SO₂), уровень гемоглобина (Hb), метгемоглобина (MetHb), кислородную емкость крови (OC), pH, концентрацию бикарбоната (HCO₃⁻), стандартного бикарбоната (SBC), общей углекислоты (TCO₂), уровень реального (ABE) и стандартного (SBE) недостатка/избытка буферных оснований на газоанализаторе «Stat Profile pHox Plus L» (NOVA Biomedical, США). О степени сродства гемоглобина к кислороду судили по показателю p50 (напряжение кислорода в крови, при котором гемоглобин насыщается O₂ на 50%) в стандартных (p50_{станд.}: температура 37°C, pH=7,4, pCO₂=40 мм рт. ст.) и реальных условиях (p50_{реал.}). Используя уравнение Хилла, по полученным значениям p50 рассчитывали положение кривой диссоциации оксигемоглобина.

Распределение генотипов полиморфного варианта G894T в данной выборке не отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга, что свидетельствует об отсутствии сторонних влияний (мутации, дрейф генов, не случайное скрещивание) на генетическую структуру данной выборки. Встречаемость генотипа GG составила 49,1%, GT – 44,2%, TT – 6,7%, частота аллелей G/T была определена как 0,71/0,29.

У лиц, имеющих генотип TT, содержание кислорода в венозной крови на 48,7% ($p=0,006$) меньше, чем у испытуемых с генотипом GT и на 49,4% ($p=0,012$) меньше, чем у обследуемых, имеющих генотип GG. Носители генотипа TT имеют на 32,4% ($p=0,014$) и 35,9% ($p=0,007$) меньше сатурацию, чем лица с генотипом GT и GG, соответственно. В доминантной модели наблюдается на 34,3% ($p=0,007$) более высокая степень насыщения крови кислородом в сравнении с носителями рецессивного генотипа. Напряжение кислорода в крови у лиц, имеющих генотип TT, на 26,1% ($p=0,008$) ниже, чем при наличии генотипа GT, и на 27,4% ($p=0,012$) – при наличии генотипа GG. В свою очередь у добровольцев, имевших в генотипе доминантный аллель (GG+GT), напряжение кислорода на 26,7% ($p=0,008$) больше, чем у испытуемых с генотипом TT. Значения рН крови у обследуемых, имеющих рецессивный генотип, на 0,022 ед. ниже, чем в группах GG ($p=0,038$), GT ($p=0,034$) и GG+GT ($p=0,030$), что свидетельствует о смещении рН у данной категории лиц в кислую сторону.

У лиц с генотипом TT показатель $p50_{\text{станд}}$ на 5,8% ($p=0,019$) ниже, чем у испытуемых с генотипом GT, и на 6,8% ($p=0,009$) ниже – чем у добровольцев с генотипом GG. При этом сравнение в доминантной модели показало более низкие значения $p50_{\text{станд}}$ (на 6,5%, $p=0,010$) у обследуемых с рецессивным генотипом. Как видно, генотип TT опосредует более высокое сродство гемоглобина к кислороду в сравнении с генотипами, имеющими аллель G. При сопоставлении значений $p50_{\text{реал}}$ наблюдались сходные изменения. Так, у людей, имеющих в генотипе два аллеля T, $p50_{\text{реал}}$ на 5,4% ($p=0,008$) меньше, чем у лиц с генотипом GT, и на 6,4% ($p=0,005$), чем у лиц с генотипом GG.

Таким образом, при рецессивном гомозиготном генотипе TT у молодых здоровых мужчин рН имеет более низкие значения, а также относительно низкие параметры содержания, напряжения и насыщения крови кислородом, повышение сродства гемоглобина к кислороду, что создает предпосылки для изменения кислородного обеспечения организма. При гетерозиготном генотипе полиморфизма G894T гена NOS3 наблюдается рост значений рН, увеличение показателей содержания и напряжения кислорода в крови, повышение параметров насыщения крови O_2 и сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, обеспечивающий улучшение условий транспорта кислорода из крови в ткани и не выходящий за пределы физиологического диапазона. Гомозиготный доминантный генотип обеспечивает еще более высокие значения содержания, напряжения и насыщения крови кислородом, а также более низкое сродство гемоглобина к кислороду при соотношении с генотипами GT и TT. Сравнение по доминантной модели свидетельствует о значительном влиянии аллеля T на содержание кислорода и условия диссоциации оксигемоглобина

на уровне капилляров большого круга кровообращения. Очевидно, данные различия параметров кислородтранспортной функции крови имеют NO-зависимый характер.

Литература

1. Bonaventura C., Henkens R., Alayash A.I. et al. Molecular controls of the oxygenation and redox reactions of hemoglobin // *Antioxid. Redox Signal.* – 2013. – Vol. 18, № 17. – P. 2298-2313.
2. Mahmoodi K., Nasehi L., Karami E. et al. Association of nitric oxide levels and endothelial nitric oxide synthase G894T polymorphism with coronary artery disease in the iranian population // *Vasc. Specialist Int.* – 2016. – Vol. 32, № 3. – P. 105-112.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИФЕНОЛЫ И ИХ КОМПЛЕКСЫ С В-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ ПРЕДОТВРАЩАЮТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ МИТОХОНДРИЙ И ЭРИТРОЦИТОВ: ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Заводник И. Б.¹, Лапшина Е. А.¹, Ильич Т. В.¹, Вейко А. Г.¹,
Коваленя Т. А.¹, Буко В. У.²**

¹Гродненский государственный университет имени Янки Купалы,

²Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,
Гродно, Беларусь, zavodnik_il@mail.ru

Полифенолы, вторичные метаболиты растений, обладают широким спектром биологической и фармакологической активности [1]. Антиоксидантная активность полифенолов обусловлена как прямым радикал-связывающим механизмом, так и модулирующим эффектом на ферменты системы антиоксидантной защиты и ферменты, генерирующие свободные радикалы, а также способностью хелатировать ионы металлов и ингибировать металлзависимое образование свободных радикалов. К флавоноидам, широкому классу полифенолов, относятся природные соединения, представляющие собой различные производные бензо- γ -пирона (хромона) [1]. Кверцетин – один из наиболее распространенных и изученных флавоноидов, обладает доказанной антиоксидантной активностью и демонстрирует выраженный терапевтический потенциал при целом ряде патологических состояний. Механизм(ы) одно- или двух-электронных окислительно-восстановительных реакций кверцетина определяются структурой его молекулы, природой образующихся свободных радикалов, условиями среды; скорость образования промежуточного феноксильного радикала определяется энтальпией диссоциации фенольной ОН-группы флавоноида. Выяснение механизмов окислительно-восстановительных реакций, обеспечивающих антиоксидантную активность кверцетина (и других полифенолов), представляет значительный теоретический и практический интерес.

Цель. В настоящей работе мы оценили эффективность ингибирования кверцетином и комплексом включения кверцетин - гидроксипропил- β -циклодекстрин окислительных процессов в митохондриях и эритроцитах крыс при моделировании окислительного стресса *in vitro* и рассмотрели молекулярную структуру и электронные свойства молекулы флавоноида.

Материалы и методы. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования из печени крыс. Митохондриальный осадок суспендировали в среде выделения: 150 мМ KCl, 20 мМ KH_2PO_4 , 0,5 мМ ЭДТА, pH 7,4. Эритроциты трижды промывали изотоническим раствором NaCl (145 мМ NaCl, 1,9 мМ NaH_2PO_4 , 8,1 мМ Na_2HPO_4 , pH 7,4, PBS). Митохондрии (12 мг белка/мл в среде выделения) или эритроциты (10% гематокрит в PBS) экспонировали tBHP (700 мкМ). Лизис эритроцитов индуцировали гипохлорной кислотой (200 мкМ).

Результаты и их обсуждение. Генерирование карт распределения электронной плотности в молекуле кверцетина и семихинон-радикала кверцетина показывает, что активные электронные орбитали (HOMO и LUMO) кверцетина и его семихинон-радикала делокализованы по всем фенольным кольцам, что в случае радикала обеспечивает его определенную стабилизацию. Известный окислительный агент *трет*-бутилгидропероксид, аналог гидроперекисей липидов, индуцировал перекисное окисление липидов и окисление восстановленного глутатиона в эритроцитах и митохондриях печени крыс. Кверцетин эффективно предотвращает перекисное окисление липидов мембран эритроцитов и митохондрий, индуцируемое *терт*-бутилгидропероксидом: $\text{IC}_{50}=31\pm 4$ мкМ в случае митохондрий и 25 ± 3 мкМ в случае эритроцитов. Эффективность ингибирования кверцетином окисления восстановленного глутатиона эритроцитов и митохондрий значительно ниже, что отражает липофильность полифенола. Комплекс кверцетин-гидроксипропил- β -циклодекстрин оказался более эффективен в качестве ингибитора процессов перекисного окисления мембранных липидов и окисления глутатиона. В случае мембран эритроцитов оцененное нами значение IC_{50} ингибирования комплексом кверцетин-HP- β -CD процесса образования ТБКРС равно $\text{IC}_{50}=5\pm 1$ мкМ, в случае митохондриальных мембран – 5 ± 1 мкМ. Ранее нами были рассмотрены закономерности лизиса эритроцитов гипохлорной кислотой, основным медиатором воспаления и одним из наиболее сильных биологических окислителей, продуцируемых активированными полиморфоядерными нейтрофилами [2]. Индуцируемые НОС1 сложные изменения морфологии эритроцитов и стабильности эритроцитарной мембраны предшествуют лизису эритроцитов. В нашем эксперименте кверцетин, как и его комплекс с циклодекстрином, в концентрации 10-100 мкМ дозозависимо ингибировал лизис эритроцитов гипохлорной кислотой: $\text{IC}_{50}=3\pm 0,5$ мкМ. Этот факт можно рассматривать как указание на возможный механизм противовоспалительного действия флавоноидов. Следует отметить, что скорость лизиса эритроцитов определяется соотношением числа клеток в суспензии и концентрации НОС1. Вероятно, кверцетин взаимодействует с НОС1, уменьшая её эффективную концентрацию в суспензии эритроцитов.

Выводы. Кверцетин эффективно предотвращает перекисное окисление липидов мембран эритроцитов и митохондрий, индуцируемое трет-бутил гидропероксидом, ингибирует окисление восстановленного глутатиона эритроцитов и митохондрий и лизис эритроцитов гипохлорной кислотой. Комплекс кверцетин-гидроксипропил- β -циклодекстрин оказался более эффективен в качестве ингибитора процессов перекисного окисления мембран липидов.

Литература

1. Червяковский Е.М., Курченко В.П., Костюк В.А. Физиологическое и терапевтическое значение окислительных процессов протекающих с участием флавоноидов в растительных и животных организмах // Труды Белорусского государственного университета. Минск. БГУ. – 2009. – Т. 4, № 1. – С. 9-26.

2. Zavodnik I.B., Lapshina E.A., Zavodnik L.B., Bartosz G., Soszynski M., Bryszewska M. Hypochlorous acid damages erythrocyte membrane proteins and alters lipid bilayer structure and fluidity // Free Radic. Biol. Med. – 2001. - Vol. 30. – P. 363-369.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ РЕПЕРФУЗИОННО-РЕОКСИГЕНАЦИОННОГО СИНДРОМА ПОСЛЕ ДЕЗОБЛИТЕРАЦИИ БЕДРЕННОЙ АРТЕРИИ

Засимович В. Н.¹, Иоскевич Н. Н.²

¹УЗ «Брестская областная больница», Брест, Беларусь

²УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь
zasimovich.v@gmail.com

Рост заболеваемости облитерирующим атеросклерозом [6], совершенствование методов его хирургического лечения привели к заметному увеличению числа реваскуляризаций нижних конечностей [4]. Однако стало очевидным, что даже технически удачно выполненная реконструктивная артериальная операция не гарантирует восстановления периферического кровотока и сохранения конечности [2]. Запуск механизмов реперфузионно-реоксигенационного синдрома (РРС) приводит к парадоксальному, на первый взгляд, ухудшению перфузии тканей с последующим их реперфузионным повреждением [1].

После реваскуляризации клетки тканей, ранее испытывавших длительную ишемию, начинают интенсивно поглощать кислород, образуя такое количество перекисных соединений, с которым не могут справиться антиоксидантные системы. В свою очередь активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) приводит к прямому повреждению клеточных мембран и свободно-радикальному некробиозу [3]. Супероксидные радикалы, взаимодействуя с углеводами и белками, нарушают процессы окислительного дезаминирования, метилирования, что приводит к образованию токсичных веществ – кетонов, альдегидов, перекисей [5]. Развившийся РРС пролонгирует ишемию тканей, способствует прогрессированию в них процессов дистрофии и оказывает генерализованное депрессивное влияние на органы и системы [7].

Цель. Изучить клинические проявления РРС после реваскуляризации нижней конечности при атеросклеротической окклюзии поверхностной бедренной артерии (ПБА) в послеоперационном периоде в зависимости от степени и продолжительности исходной ишемии.

Материалы и методы. За период с 2011 по 2015 гг. в отделении сосудистой хирургии УЗ «Брестская областная больница» произведено 133 реваскуляризации нижней конечности при изолированной атеросклеротической окклюзии ПБА методом ретроградной петлевой эндатерэктомии. Из них 127 пациентов (95,5%) были мужского пола. Средний возраст составил $62,9 \pm 8,9$ лет. По степени хронической ишемии нижних конечностей (ХИНК) наблюдения разделялись в соответствии с классификацией Фонтейна-Покровского: стадию II ишемии имели 39 пациентов (29,3%), III – 51 (38,4%), IV – 43 (32,3%). Всем пациентам выполнялась ультразвуковая доплерография с вычислением лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) до и после хирургического вмешательства. В качестве клинических проявлений РРС фиксировались: появление или увеличение отека нижней конечности (на 1 см и более по периметру на границе средней и нижней трети голени); усиление болей в стопе без нагрузки; появление или увеличение по площади зон некроза кожи стопы; рост уровня креатинина (более чем $0,12$ ммоль/л); нарушение сердечного ритма; тромбозы дезоблитерированной ПБА.

Результаты и их обсуждение. Технический успех достигнут в 100% наблюдений с приростом ЛПИ на $0,43 \pm 0,18$. Послеоперационный отек ноги зафиксирован у 48 пациентов (36,1%): у 5 с исходной II стадией ХИНК, у 23 – III, у 20 – IV. Усиление болей отмечено у 26 пациентов (19,5%), оперированных по поводу III и IV стадий ишемии. Увеличение зоны некроза в дистальных отделах стоп установлено в 16 наблюдениях (12,0%) при исходной IV стадии ХИНК. Уровень креатинина достоверно повысился в 19 (14,3%) наблюдениях у пациентов с исходными III и IV стадиями ХИНК, что обусловило необходимость диализа в одном случае. У 14 пациентов с исходными III и IV стадиями в послеоперационном периоде отмечалось нарушение сердечного ритма (10,5%): у 12 – экстрасистолия, у 2 – фибрилляция предсердий. Причиной смерти двух пациентов на 4-е и 12-е сутки была острая сердечная недостаточность (послеоперационная летальность – 1,5%). Развитию 5 тромбозов дезоблитерированного сегмента (3,7%) у пациентов с исходными III и IV стадиями ХИНК предшествовали отек и усиление болей.

РРС был диагностирован в 56 наблюдениях. Однако если исключить из обсуждения пациентов со II стадией ишемии, у которых только в 5 случаях наблюдался отек, то вероятность реперфузионных осложнений после реваскуляризации нижней конечности у пациентов с III и IV стадиями ишемии возрастает до 54,3%, что, безусловно, сказывается на результатах хирургического вмешательства.

Выводы. Вероятность реперфузионных проявлений после реваскуляризации нижней конечности у пациентов с критической ишемией при атеросклеротической окклюзии ПБА превышает 50%. Это определяет необходимость

поиска методов прогнозирования, профилактики и лечения РРС с целью улучшения результатов хирургического лечения хронической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза.

Литература

1. Baines C.P. How and when do myocytes die during ischemia and reperfusion: the late phase // *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol.16, № 3-4. – P. 239-243.
2. Dick F., Li J., Giraud M.N., Kalka C., Schmidli J., Tevæearai H. Basic control of reperfusion effectively protects against reperfusion injury in a realistic rodent model of acute limb ischemia // *Circulation.* – 2008. – Vol. 118, № 19. – P. 1920-1928.
3. Калинин Р.Е., Пшенников А.С., Сучков И.А. Реперфузионное повреждение тканей в хирургии артерий нижних конечностей // *Новости хирургии.* – 2015. – Т. 23, № 3 – С. 348-352.
4. Калмыков Е.Л., Скрыпник Д.А., Виноградов Р.А., Гаилов А.Д. 30-й конгресс европейского общества сосудистых хирургов (Копенгаген, Дания, 28-30 сентября 2016 г.) // *Ангиология и сосудистая хирургия.* – 2017. – № 1. – С. 143-147.
5. Манухина Е.Б., Терехина О.Л., Белкина Л.М. и др. Вазопротекторный эффект адаптации при ишемическом и реперфузионном повреждении сердца // *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* – 2013. – № 4. – С.26-31.
6. Молер Ш Э.Р., Джафф М.Р. Заболевания периферических артерий / пер. с англ. Писарев М.В. – Москва, РФ: ГЭОТАР-Медиа. – 2010. – 224 с.
7. Rautou P.E., Vion A.C., Amabile N. et al. Microparticles, vascular function and atherothrombosis // *Circ. Res.* – 2011. – Vol. 109, № 5. – P. 593-606.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОРГАНИЗМА

Зинчук В. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
zinchuk@grsmu.by

Механизмы, обеспечивающие системное потребление кислорода, определяют аэробный метаболизм организма. Среди них определяющее значение принадлежит гемоглобину, благодаря которому содержание кислорода в крови значительно выше в сравнении с физической растворенной долей в плазме. Данный глобин – временное транспортное депо для кислорода и в этом качестве обладает рядом свойств, обеспечивающих как процессы образования оксигемоглобина, так и своевременной отдачи O_2 [1]. В клинической практике при терапии многих заболеваний, особенно при критических состояниях, важно поддержание оптимального поступления O_2 в ткани, в связи с чем модификация сродства гемоглобина к кислороду (СГК) является терапевтической мишенью проводимых мероприятий [6].

Изменение СГК реализуется через разные кратко- и долгосрочные уровни регуляции эритроцитарных и системных механизмов. В их обеспечении также участвуют и NO-продуцирующие структуры. Эффекты газотрансмиттера NO

на систему транспорта кислорода реализуются не только через регулирование гемодинамического компонента данной системы, но и через формирование кислородтранспортной функции крови. Взаимодействие NO с гемоглобином вносит свой вклад в развитие адаптивных и дезадаптивных реакций при стрессе, гипоксии и других состояниях [1]. NO-зависимые механизмы формирования SGK могут быть эффективным механизмом адаптации к дефициту кислорода в условиях разных вариантов функционального статуса организма.

Повышенное SGK имеют около 100 гетерогенных аутосомно-доминантных генетических заболеваний, многие из которых связаны с мутацией фенотипа с высоким сродством субъединиц $\alpha_1\beta_2$ или переходом молекулы гемопротеина в T-конформацию с низким сродством к кислороду [6]. Гипоксия индуцирует экспрессию ряда генов, отвечающих за образование фактора роста эндотелия, эритропоэтина, эндотелина и других, которые в свою очередь обеспечивают усиление процессов васкуляризации, эритропоэза, вазоконстрикцию, что в конечном итоге направлено на поддержание кислородного гомеостаза. Однозначно существуют генотипические детерминанты формирования кислородного гомеостаза, в частности на уровне механизмов транспорта кислорода кровью. Как пример, у лиц, профессионально занимающихся спортом (интенсивные и систематические физические нагрузки), при наличии аллели D гена ангиотензинпревращающего фермента характерны высокие значения pO_2 и SO_2 крови, а при генотипе II для адекватного обеспечения клеток кислородом при интенсивных физических нагрузках включается молекулярно-генетический механизм синтеза дополнительных белков, в частности фетального гемоглобина, увеличивающего аффинность крови к кислороду [3].

При недостатке кислорода для осуществления аэробных процессов запускается в организме каскад реакций, включающий дополнительные резервы на молекулярно-генетическом уровне. Регуляция гена эндотелиальной NO-синтазы представляет собой сложный процесс, в результате которого конечная концентрация функциональной эндотелиальной NO-синтазы является следствием действия многих факторов, включая активность промоторного ответа, действие факторов, обеспечивающих регуляцию экспрессии в ответ на различные физиологические стимулы [2]. Гипоксия, физическая активность и другие средовые факторы активизируют разные физиологические механизмы для обеспечения адекватного транспорта кислорода в организме в зависимости от их принадлежности к вариантам полиморфизма того или иного гена.

Исследовалось влияние различных сочетаний аллелей полиморфного варианта T786C на протекание физиологических процессов в организме, выявлено участие данного полиморфизма в возникновении ряда патологий. Установлены ассоциации между полиморфным вариантом T786C и состоянием сердечно-сосудистой системы: гомозиготный генотип CC полиморфизма T786C обуславливает более высокие значения систолического и диастолического артериального давления в сравнении с носителями других вариантов у молодых здоровых лиц [4], концентрация NO в плазме выше у лиц, гомозиготных по аллелю C в сравнении с носителями генотипов TT и TC [5].

Нами изучены распределения частот аллелей и генотипов полиморфизмов *G894T* (*Glu289Asp*) и их вклад в протекании кислородзависимых процессов (процессы транспорта кислорода в организме, прооксидантно-антиоксидантный баланс, активность L-аргинин-NO системы) в организме человека является важной проблемой. При рецессивном гомозиготном генотипе ТТ у молодых здоровых мужчин параметры содержания, напряжения и насыщения крови кислородом имеют более низкие значения, а также отмечается повышенное СГК. При гетерозиготном генотипе полиморфизма *G894T* гена NO-синтазы наблюдается рост показателей содержания и напряжения кислорода в крови, повышение насыщения крови O_2 и сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, что обеспечивает улучшение условий транспорта кислорода из крови в ткани. Гомозиготный доминантный генотип характеризуется еще более высоким значением содержания, напряжения и насыщения крови кислородом, а также более низким СГК при соотнесении с генотипами GT и TT. Сравнение по доминантной модели свидетельствует о значительном влиянии аллеля Т на содержание кислорода и условия диссоциации оксигемоглобина на уровне капилляров большого круга кровообращения. Очевидно, существует ассоциация механизмов обеспечения кислородного гомеостаза с полиморфизмом гена эндотелиальной NO-синтазы. Модификация СГК через генетический детерминированный характер полиморфизма гена позволяет формировать определенный уровень кислородного гомеостаза.

Различные физиологические и патологические условия могут модулировать уровень экспрессии эндотелиальной NO-синтазы в эндотелиальных клетках как через транскрипционные механизмы, так и через посттранскрипционные. Так, тяжелая хроническая гипоксия угнетает синтез NO в эндотелии, а при умеренной гипоксии активность эндотелиальной NO-синтазы увеличивается, коррелируя с высвобождением эндотелиального NO [2]. В этом аспекте важно отметить, что у лиц с разными полиморфными вариантами генотипов и аллелей гена эндотелиальной NO-синтазы адаптивные возможности механизмов транспорта кислорода будут разными. Анализ приспособительных изменений кислородсвязывающих свойств крови при дисфункции эндотелия и гипоксиях следует рассматривать именно в аспекте молекулярно-генетических особенностей функционирования L-аргинин-NO системы. В формировании нарушений кислородтранспортной функции крови участвует полиморфизм гена эндотелиальной NO-синтазы, так как только синтезируемый в адекватном количестве NO поддерживает нормальный кровоток и транспорт кислорода кровью к тканям.

Таким образом, анализ собственных и литературных данных свидетельствуют, что молекулярно-генетические механизмы через NO-зависимые процессы (полиморфизм *G894T*) могут оказывать влияние на формирование СГК и в целом кислородного обеспечения в соответствии с потребностью организма.

Литература

1. Зинчук В.В., Степура Т.Л. NO-зависимые механизмы внутриэритроцитарной регуляции сродства гемоглобина к кислороду: монография / под ред. В.В. Зинчука. – Гродно, 2016. – 176 с.

2. Кравченко Н.А., Ярмыш Н.В. Регуляция экспрессии эндотелиальной NO-синтазы и дисфункция сосудистого эндотелия при сердечно-сосудистой патологии // Цитология и генетика. – 2008. – Т. 42, № 4. – С. 69-80.
3. Усманова С.Р., Шамратова В.Г. Адаптационные резервы кислородтранспортной системы крови в зависимости от средовых факторов и генотипа на примере гена ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 10. – С. 598-603.
4. Jira M. et al. Association of eNOS gene polymorphisms T-786C and G894T with blood pressure variability in man // *Physiol. Res.* – 2011. – Vol. 60, № 1. – P. 193-197.
5. Salimi S. et al. Association of plasma nitric oxide concentration and endothelial nitric oxide synthase T-786C gene polymorphism in coronary artery disease // *Pathophysiology.* – 2012. – Vol. 19, № 3. – P. 157-162.
6. Srinivasan A.J., Morkane C., Martin D.S., Welsby I.J. Should modulation of p50 be a therapeutic target in the critically ill? // *Expert. Rev. Hematol.* – 2017. – Vol. 10, № 5. – P. 449-458.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БАЛАНСА ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИММУНОСУПРЕССОРОВ IN VITRO И IN VIVO

Зыблев С. Л.¹, Петренко Т. С.¹, Зыблева С. В.²

¹Гомельский государственный медицинский университет

²Республиканский научно-практический центр радиационной медицины
и экологии человека, Гомель, Беларусь
S.zyblev@yandex.by

Измерение отдельных показателей про-антиоксидантной системы не в полной мере отражает состояние сбалансированности [1]. Методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) можно оценить характер расстройств и степень компенсации в системе про-/антиоксидантов. Ранее мы сообщали об использовании метода ЛЗХЛ для изучения изменения баланса про-/антиоксидантной системы организма после включения почечного трансплантата в кровотока [2]. Во время операции по пересадке почки пациентам, как правило, вводят блокаторы рецептора интерлейкина-2 (базиликсимаб) и метилпреднизолон. Однако влияние данных лекарственных средств на показатели ЛЗХЛ в современной литературе не описаны. Нами было проведено экспериментальное исследование по изучению влияния перечисленных лекарственных средств на показатели ЛЗХЛ.

Цель. Оценить влияние базиликсимаба и метилпреднизолона на показатели баланса про-/антиоксидантной системы *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. Плазму крови здоровых лиц (n=23) делили на три равные пробы. В первую пробу добавляли физиологический раствор. Во вторую пробу – базиликсимаб, в третью – метилпреднизолон.

Лекарственные средства вносили в пробирку с плазмой в терапевтической дозе, необходимой для достижения иммуносупрессивного действия.

В эксперименте участвовали 32 самца белой крысы, массой 200 ± 10 г. Животные были разделены на две группы. Первой группе ($n=17$) вводили базиликсимаб в дозе 1 мкг/кг с 0,9% раствором NaCl, второй группе ($n=15$) вводили метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг с 0,9% раствором NaCl. Изучали показатели про-/антиоксидантного баланса плазмы крови животных методом ЛЗХЛ до введения лекарственных средств и через 24 часа после введения

Состояние про-/антиоксидантного баланса оценивали методом ЛЗХЛ на флюориметре/спектрофотометре Cary Eclipse FL1002M003 (Variant, USA) с автоматическим определением максимальной интенсивности свечения (I_{\max}), светосуммы хемилюминесценции (S). I_{\max} отражает баланс про-/антиоксидантной системы, рассчитанный по формуле: $((I_{\max_k} - I_{\max_o}) / I_{\max_k}) \times 100\%$, где «к» – контроль, «о» – плазма. Снижение данного показателя указывает на сдвиг баланса в прооксидантную сторону, а рост означает преобладание антиоксидантов в системе. S отражает мощность антиоксидантной защиты организма, рассчитывается по формуле: $((S_k - S_o) / S_k) \times 100\%$, где «к» – контроль, «о» – плазма. Результат выражали в процентах относительно контроля. Степень угнетения светосуммы ЛЗХЛ в присутствии биологического материала (плазмы крови) отражает состояние мощности антиоксидантной защиты организма.

Полученные данные обработаны с помощью программы «Statistica 6,1» (StatSoft, GS-35F-5899H). Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали равным и менее 0,05.

Результаты и их обсуждение. При исследовании *in vitro* обнаружено, что I_{\max} в контрольной пробе равнялась 54,3 [48,5; 62,1]%, а S составила 55,0 [49,3; 62,5]%. При добавлении в пробу базиликсимаба I_{\max} составила 49,6 [47,6; 62,9]% ($p=0,421$), а S равнялась 58,2 [47,8; 67,5]% ($p=0,765$). При добавлении в пробу метилпреднизолона I_{\max} составила 58,3 [45,3; 65,3]% ($p=0,841$), а S равнялась 50,5 [49,0; 58,9]% ($p=0,159$).

В исследовании *in vivo* выявлено, что в первой группе животных до введения базиликсимаба I_{\max} была равна 44,1 [28,0; 61,6]%, а S составляла 47,9 [26,9; 65,8]%. После введения базиликсимаба I_{\max} составила 39,8 [26,7; 56,8]% ($p=0,71$), а S равнялась 43,2 [26,8; 56,9]% ($p=0,44$). Во второй группе животных I_{\max} до введения метилпреднизолона равнялась 71,0 [55,8; 79,2]%, а S составляла 52,6 [27,2; 61,4]%. После введения метилпреднизолона так же не произошло значимого смещения баланса, который равнялся 68,8 [50,0; 76,3]% ($p=0,525$), а S равнялась 45,8 [24,3; 50,3]% ($p=0,187$). По результатам нашего исследования такие лекарственные средства, как базиликсимаб и метилпреднизолон, не оказывают значимого влияния на показатели ЛЗХЛ плазмы крови.

Вывод. Наличие в пробе базиликсимаба и метилпреднизолона и введение лабораторным животным базиликсимаба и метилпреднизолона не вызывает значимого изменения в показателях максимальной интенсивности свечения и светосуммы люминолзависимой хемилюминесценции.

Литература

1. Тёмин Д.В., Евсеев А.К., Гараева Г.Р. и др. Анализ прооксидантно-антиоксидантного баланса сыворотки крови // Успехи в химии и химической технологии. – 2013. – Т. 27, № 7. – С. 106-111.
2. Зыблев С.Л., Петренко Т.С., Новикова И.А. и др. Показатели баланса про-антиоксидантной системы организма при ишемически-реперфузионной травме // Кислород и свободные радикалы: сборник материалов Международной научно-практической конференции (Гродно, 19-20 мая 2016 г.) [Электронный ресурс] / отв. ред. В. В. Зинчук. – Электрон. текст. дан. и прогр. (объем 3 Mb). – Гродно: ГрГМУ, 2016. – С. 66-67.

ПРО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС И ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПЕРЕСАДКИ ПОЧКИ

Зыблева С. В.², Зыблев С. Л.¹, Петренко Т. С.¹

¹Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель

²Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь
zyb-svetlana@yandex.by

Трансплантация солидных органов – оптимальный метод заместительной терапии. При этом донорский орган неизбежно подвергается как неиммунологическим, так и иммунологическим повреждающим факторам. Однако первичным при трансплантации является ишемическое и реперфузионное его повреждение (ИРП) с риском развития первичной дисфункции трансплантата [1; 6]. В результате ИРП активируется каскад иммунных реакций, направленных на развитие острого криза отторжения. Таким образом, неиммунные факторы содействуют развитию иммунологического компонента дисфункции трансплантата [2]. Метод люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) позволяет оценить характер расстройств и степень компенсации в системе про/антиоксидантов. В предыдущих публикациях мы сообщали об изменениях в показателях ЛЗХЛ уже в течение первых суток после трансплантации почки [4; 5].

Нами изучены параллели между показателями ЛЗХЛ и иммунограммы у пациентов, перенесших пересадку почки, а именно, показатели Т-клеточного звена иммунитета, отвечающие за регуляторную и эффекторную стадии иммунного ответа, приведенные в данной публикации. Многие авторы оценивают активность отторжения трансплантата по динамике содержания CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов в крови. В связи с тем, что молекулы CD4 обеспечивают взаимодействие Т-лимфоцитов с антигенами HLA класса II на антигенпредставляющих клетках, а молекулы CD8 – с антигенами HLA класса I, обычно при развитии реакции отторжения трансплантата выявляют рост обеих субпопуляций Т-лимфоцитов [2].

Цель. Изучить связь показателей клеточного звена иммунитета с показателями люминолзависимой хемилюминесценции в ранний посттрансплантационный период.

Материалы и методы. Проанализированы результаты обследования 36 пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) 5 стадии (группа «Т»), которым была выполнена трансплантация почки в хирургическом отделении (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (ГУ «РНПЦРМиЭЧ»). Возраст пациентов составлял $44,5 \pm 1,9$ года, мужчин было 19 (53%), женщин – 17 (47%). Лабораторные исследования выполняли на базе лаборатории клеточных технологий ГУ «РНПЦРМиЭЧ». Через 24 часа после операции на флюориметре/спектрофотометре оценивали состояние про-/антиоксидантного баланса методом ЛЗХЛ плазмы крови с автоматическим определением максимальной интенсивности свечения (I_{max}), светосуммы хемилюминесценции (S). I_{max} отражает баланс про-/антиоксидантной системы. S отражает мощность антиоксидантной защиты организма. На третьи сутки с помощью проточной цитометрии определяли количество Т-лимфоцитов, имеющих фенотип $CD3^+CD4^+$ (Т-хелперы), $CD3^+CD8^+$ (Т-цитотоксические). Полученные данные обработаны с помощью программы «Statistica 6,1» (StatSoft, GS-35F-5899H).

Результаты и их обсуждение. При исследовании выявлено, что I_{max} через сутки после операции равнялась 16,3 [11,8; 39,7]%, а S составила 20,5 [10,5; 38,4]%. Количество Т-лимфоцитов, имеющих фенотип $CD3^+CD4^+$, на третьи сутки после операции составило 45,85 [41,9; 53,7]%, а с фенотипом $CD3^+CD8^+$ – 18,35 [11,6; 26,2]%

При этом выявлена отрицательная корреляционная связь средней силы показателя S и уровня $CD3^+CD4^+$ $r_s = -0,5$ ($p = 0,006$), а с уровнем $CD3^+CD8^+$ $r_s = -0,53$ ($p = 0,0037$). Взаимосвязи уровня I_{max} с показателями лимфоцитов не выявлено.

Выводы. По результатам нашего исследования можно сделать вывод, что снижение активности антиоксидантной защиты организма в первые сутки после пересадки почки, отражающей тяжесть ишемически-реперфузионной травмы, приводит к росту $CD3^+/CD4^+$ и $CD3^+/CD8^+$ лимфоцитов. Последние, как известно, играют существенную роль в развитии иммунологического конфликта в посттрансплантационном периоде.

Литература

1. Зилькарнаев А.Б. Патогенетическое обоснование эффективности экстракорпоральной терапии при лечении реперфузионной травмы почечного трансплантата // Вестник новых медицинских технологий. – 2013 – Т. 20, № 1. – С. 50-53.
2. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Трансплантационный иммунитет // Клиническая иммунопатология / Под ред. Н.П. Базеко, Б.И. Чернин. – М., 2006. – С. 314-318.
3. Ватазин А.В., Нестеренко И.В., Зилькарнаев А.Б. и др. Патогенетические механизмы развития ишемического и реперфузионного повреждения почки как перспективные мишени специфической терапии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2015. – Т. 27, № 1. – С. 147-155

4. Зыблев С.Л., Петренко Т.С., Новикова И.А. и др. Показатели баланса про-антиоксидантной системы организма при ишемически-реперфузионной травме // Кислород и свободные радикалы: сборник материалов Международной научно-практической конференции (Гродно, 19-20 мая 2016 г.) [Электронный ресурс] / отв. ред. В. В. Зинчук. – Электрон. текст. дан. и прогр. (объем 3 Mb). – Гродно: ГрГМУ, 2016. – С. 66-67.

5. Зыблев С.Л., Петренко Т.С., Зыблева С.В. и др. Развитие окислительного стресса при ишемически-реперфузионной травме // Хирургия. Восточная Европа. – 2017. – Т. 6, № 1. – С. 8-14.

6. Domanski L., Pawlik A., Safranow K. et al. Changes in cytokine concentration in graft renal vein during reperfusion in patient with and without delayed graft function // Ann. Acad. Med. Stetin. – 2008. – Vol. 54, № 1. – P. 49-52.

КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ И ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ СОСТОЯНИЕ КРОВИ ПРИ КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА

Иоскевич Н. Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
inngrno@mail.ru

Повсеместный рост продолжительности жизни сопровождается увеличением случаев хронической критической ишемии нижних конечностей (ХКИНК) вследствие облитерирующего атеросклероза (ОА) артерий бедренно-подколенного сегмента [1]. Однако успешно выполненная артериальная реконструкция на пораженном артериальном сегменте на является гарантом благоприятного течения послеоперационного периода. Это связано с развитием в нижних конечностях, перенесших ишемию и включенных в артериальный кровоток, сложного комплекса патофизиологических реакций, именуемых реперфузионно-реоксигенационным синдромом (РРС) [2].

Цель исследования – изучение кислородтранспортной функции и прооксидантно-антиоксидантного состояния венозной крови при хронической критической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза до и после выполнения реконструктивных артериальных операций для разработки концепции лечения имеющих нарушения.

Материалы и методы. Обследованы 102 пациента с ХКИНК вследствие ОА артерий бедренно-подколенного сегмента, перенесших бедренно-подколенное аутовенозное шунтирование. У 63 человек имелась третья стадия хронической артериальной недостаточности нижних конечностей (ХАННК), у 39 – четвертая стадия. Показатели кислородтранспортной функции крови (КТФК), перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС) изучались в венозной крови нижних конечностей до операции, на 5-6 и 11-12 сутки послеоперационного периода. Величины PO_2 , pCO_2 , pH и $p50_{\text{станд}}$

устанавливались на микроанализаторе ABL-330 «Radiometr» и анализаторе газов «Stat Profile Ultrac» (США). СГК измерялось по показателю $p50$ методом смешивания в модификации. S_vO_2 , CaO_2 и КЕК определялись полярографическим методом в модификации. HbO_2 определялась по отношению показателей, определяемых описанным выше способом и выражаемом в процентах. AVO_2 рассчитывались по разнице между содержанием O_2 в артериальной и венозной крови нижних конечностей. КИК определялся по формуле. Активность ПОЛ анализировалась по содержанию ДК и ОШ. Состояние АОС оценивалось по концентрации АО неферментативного действия (α -токоферол, β -каротин) и ферментативного действия (каталитическая активность) в плазме крови [3].

Результаты и их обсуждение. У пациентов с ОА при ХКИНК развивается сложный гипоксический синдром, характеризующийся сочетанием всех известных типов гипоксии. Полезной компенсаторно-приспособительной реакцией в таких условиях, направленной на улучшение снабжения тканей кислородом, является уменьшение СГК. Одновременно при ХАННК отмечается нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия с увеличением содержания ДК и ОШ, а также снижение как неферментативного, так и ферментативного звеньев АОС ($p < 0,01$).

Степень активации ПОЛ находится в прямо пропорциональной ($r = 0,86$, $p < 0,01$), а угнетения АОС – в обратно пропорциональной зависимости от стадии ХКИНК ($r = -0,84$, $p < 0,01$). Восстановление магистрального артериального кровообращения в нижних конечностях сопровождается развитием РРС. Он характеризуется отсутствием нормализации КТФ в венозной крови включенных в кровоток нижних конечностей в течение всего раннего послеоперационного периода и прежде всего СГК. Одновременно отмечается инициация процессов ПОЛ, показатели которого остаются выше дооперационных значений ($p < 0,01$) к моменту выписки пациентов на амбулаторное лечение (11-12 суток). Изменение АОС отражает обратную динамику процессов ПОЛ, но без нормализации к 11-12 суткам.

Выводы. Таким образом, ХКИНК сопровождается развитием многокомпонентного гипоксического синдрома, одним из главных признаков которого является изменение показателей КТФК. Одновременно с этим происходит нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия с активацией свободно-радикальных процессов и истощением АОС. Восстановление артериального кровообращения в нижних конечностях приводит к развитию РРС, преимущественно его составного компонента – феномена reflow-paradox.

Литература

1. Зинчук В.В., Шульга Е.В., Гуляй И.Э. Влияние эритропоетина на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние у кроликов при введении липосахаридов // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2010. – Т. 96, № 1. – С. 43-49.
2. Орлова А.Ю., Суковатых Б.С., Артюшкова Е.Б. и др. Влияние актовегина и солкосерила на микроциркуляцию при критической ишемии нижних конечностей в эксперименте // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2017. – Т. 22, № 4. – С. 29-35.

3. Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Власенко О.Н. и др. Отдаленные результаты лечения больных с хронической ишемией нижних конечностей методом непрямой реваскуляризации и генотерапии // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2016. – Т. 21, № 1. – С. 29-36.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У КРЫС-ОТЪЕМЫШЕЙ ПРИ АЛИМЕНТАРНОМ ДИСБАЛАНСЕ

Исаев В. А., Елеусизова А. Т.

Карагандинский государственный медицинский университет,
Караганда, Республика Казахстан
e.t.azhara13@gmail.com

Основным параметром оценки наличия окислительного стресса в клетке является накопление первичных и вторичных продуктов свободнорадикального окисления. Наиболее информативные в силу своей стабильности показатели наличия окислительного стресса – диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены (КД) и малоновый диальдегид (МДА) с основаниями Шиффа [2]. Рациональное питание – это основа защиты организма и первичная профилактика многих заболеваний. Ранее проведенными исследованиями установлено, что рацион с высоким содержанием липидов повреждает паренхиму печени [8]. Высокое потребление жира и углеводов сказывается на прогрессировании заболевания почек [6]. В связи с этим цель нашего исследования – изучить изменение показателей свободнорадикального окисления головного мозга и изменение поведения у крыс-отъемышей при алиментарном дисбалансе с недостатком белка и избытком углеводно-липидного компонента.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на 30 белых беспородных крысах (1-я группа – 15 самцов-отъемышей, содержащихся на общевиварном рационе, 2-я группа – 15 самцов-отъемышей, получавших ежедневно рацион с дефицитом белка и избытком углеводно-липидного компонента). Рацион составлен согласно рекомендациям В. Я. Шаблий [5].

Интенсивность накопления продуктов свободнорадикального окисления в гомогенате головного мозга оценивали по содержанию: (ДК) и кетодиенов КД [4], МДА [1] и оснований Шиффа [3]. Поведенческие реакции оценивали по тесту «Открытое поле» [7].

Полученные данные были обработаны методом вариационной статистики. Статистическую значимость различий оценивали по критерию Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований установлено, что в группе самцов-отъемышей, находящихся 30 суток на рационе с дефицитом белка и избытком углеводно-липидного компонента,

происходит увеличение всех показателей продуктов перекисного окисления липидов по сравнению с показателями контрольной группы. Уровень диеновых конъюгатов возрос на 38,8% ($p < 0,01$), уровень кетодиенов увеличился на 43,7% ($p < 0,05$), показатели уровня малонового диальдегида увеличились на 10,5% ($p < 0,01$), концентрация оснований Шиффа возросла на 60% ($p < 0,05$).

Изучение показателей поведенческих реакций выявило девятность в поведении опытной группы, по сравнению с группой контроля: происходило снижение локомоторной активности на 24% ($p < 0,01$) и количества пересеченных квадратов на 14,3% ($p < 0,01$). Самцы малоподвижны, перемещение происходило внутри самих квадратов, выход в центр практически не фиксировался, что говорит о состоянии беспокойства и страха. Показатели ориентировочно-исследовательского поведения возросли – количество актов обнюхивания на 24,7% ($p < 0,01$), количество актов стойки и стойки с опорой возросло на 63,1% ($p < 0,05$) и на 12,1% ($p < 0,01$), соответственно. Увеличение показателей исследовательского поведения подтверждает состояние тревоги и страха у опытной группы самцов-отъемышей.

Выводы. Таким образом, в результате проведенных исследований можно сделать вывод: рацион с дефицитом белка и избытком углеводно-липидного компонента негативно влияет на показатели перекисного окисления липидов головного мозга самцов-отъемышей. Это находит отражение в изменениях структуры поведения у самцов-отъемышей – они демонстрируют высокий уровень тревожности.

Литература

1. Гончаренко М.С., Латипова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лабораторное дело. – 1985. – № 1. – С. 60-61.
2. Луцкий М.А. Окислительный стресс в патогенезе инсульта // Альманах клинической медицины. – 2005. – № 8-3. – С. 13-15.
3. Львовская Е.И., Волчегородский И.А., Шемяков С.Е., Лифшиц Р.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // Вопросы медицинской химии. – 1991. – № 4. – С. 92-93.
4. Ушкалова В.Н., Кадочникова Г.Д. Использование параметров, характеризующих активность перекисного окисления липидов при изучении адаптации человека к новым климатогеографическим условиям // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1987. – № 5. – С. 571-573.
5. Шаблий В.Я., Игнатъев А.Д., Керимова Н.Г. и др. Методические рекомендации, по биологической оценке, продуктов питания. – Москва. – 1973. – 30 с.
6. Kramer H. Kidney Disease and the Westernization and Industrialization of Food // American journal of kidney diseases. – 2017. – Vol. 70, № 1. – P. 111-121.
7. Lin Y.H., Liu A.H., Xu Y., Tie L., Yu H.M. Li X.J. Effect of chronic unpredictable mild stress on brain-pancreas relative protein in rat brain and pancreas // Behavior brain research. – 2005. – Vol. 165, № 1. – P. 63-71.
8. Vaidya H.B., Gangadaran S., Cheema S.K. A high fat-high sucrose diet enriched in blue mussels protects against systemic inflammation, metabolic dysregulation and weight gain in C57BL/6 mice // Food research international. – 2017. – Vol. 100, № 2. – P. 78-85.

КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Карпович О. А., Шишко В. И., Шульга Е. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
ft@grsmu.by

Интерес к проблеме гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) обусловлен многофакторностью её патогенеза. Рефлюкс-эзофагит – воспалительный процесс в дистальном отделе пищевода, вызванный действием на слизистую оболочку органа содержимого желудка и/или 12-перстной кишки. Целостность эпителия пищевода имеет жизненно важное значение в поддержании барьера от вредных компонентов рефлюксата (кислота, пепсин, желчные кислоты и т. д.). Относительная проницаемость эпителия пищевода определяется функциональными расширенными межклеточными пространствами, которые обеспечивают структурную основу [1; 2]. Известно, что образование свободных радикалов является одним из патогенетических механизмов при воспалении [3]. В результате свободнорадикальных реакций образуются активные формы кислорода (АФК), которые вызывают повреждение белков, нуклеиновых кислот и липидов биологических мембран, инициируя развитие окислительного стресса. Данный механизм лежит в основе развития язвенной болезни, хронического холецистита, хронического панкреатита, а также существуют единичные упоминания об активации свободнорадикальных процессов при ГЭРБ [4; 5; 6], однако роль кислородсвязывающих свойств крови в патогенезе ГЭРБ практически не изучена.

Цель. Оценить параметры кислородтранспортной функции крови у пациентов с ГЭРБ.

Материалы и методы. В исследование были включены 26 человек трудоспособного возраста. После проведения эзофагогастродуоденоскопии обследуемые были разделены на две группы: 1-я (n=14) – пациенты с ГЭРБ (возраст $43,1 \pm 3,26$), 2-я (n=12) – лица, составившие группу контроля, у которых признаков ГЭРБ не выявлено (возраст $42,7 \pm 4,18$).

Оценку параметров кислородтранспортной функции, а также показателей кислотно-основного равновесия крови изучали на микрогазоанализаторе «Stat Profile pH_{Ox} plus L. (США, Instrumentation Laboratory)». Изучены следующие показатели: напряжение кислорода (pO_2), степень оксигенации (SO_2), содержание кислорода (C_vO_2), количество гемоглобина, напряжение углекислого газа (pCO_2), pH крови, стандартный бикарбонат (SBC), стандартное буферное основание (SBE), реальный недостаток/избыток буферных оснований (ABE), концентрация бикарбоната плазмы (HCO_3^-) и общей углекислоты плазмы крови (TCO_2), уровень лактата. По показателю $p50$ (pO_2 крови при 50% насыщении ее кислородом) оценивали сродство гемоглобина к кислороду (СГК) при стандартных (температуре $37^\circ C$, pH 7.4, pCO_2 40 мм рт. ст.)

($p50_{\text{станд}}$) и реальных значениях этих параметров ($p50_{\text{реал}}$). При сравнении средних групповых количественных признаков использовался непараметрический критерий различия – U критерий Манна-Уитни, так как распределение результатов наблюдений в большинстве групп отличалось от нормального.

Результаты и их обсуждение. У пациентов с ГЭРБ отмечается смещение рН крови в кислую сторону: с 7,453 [7,409-7,468] до 7,341 [7,304-7,383], $p < 0,05$. Значения SBC, SBE и ABE снижаются ($p < 0,05$), в то время как показатель pCO_2 , лактата увеличивается ($p < 0,05$). Показатель pO_2 снижается по отношению к контрольной группе ($p < 0,05$). Параметр $p50_{\text{станд}}$ снижается в группе пациентов с ГЭРБ, (с 26,45 [23,30-28,20] до 21,80 [19,40-23,30], $p < 0,05$). Значение $p50_{\text{реал}}$ понижается по отношению к контролю ($p < 0,05$), что характеризует смещение кривой диссоциации оксигемоглобина влево.

Таким образом установлено, что у пациентов с ГЭРБ наблюдается развитие дыхательного ацидоза, повышение СГК при реальных значениях рН, pCO_2 и температуры, а также ухудшение доставки кислорода к поврежденным тканям. Как известно, гемоглобин, изменяя своё сродство к кислороду, может регулировать поток кислорода в ткани в соответствии с их потребностью в нём, тем самым предупреждать избыточное его использование для свободно-радикального окисления [7]. Избыточное образование АФК оказывает повреждающее действие на уровне мембран и способствует деструкции клеток, что приводит к ухудшению микроциркуляции и снижению оксигенации тканей. Это способствует снижению защитных свойств слизистой пищевода и ее повреждению.

Выводы. Таким образом, ухудшение кислородтранспортной функции крови лежит в основе механизмов развития ГЭРБ.

Литература

1. Mönkemüller K., Wex T., Kuester D. et al. Role of tight junction proteins in gastroesophageal reflux disease // BMC. – Gastroenterol. – 2012. – Vol. 12. – P. 128-131.
2. Weijenborg P.W., Smout A.J., Verseijden C. et al. Hypersensitivity to acid is associated with impaired esophageal mucosal integrity in patients with gastroesophageal reflux disease with and without esophagitis // Am. J. Physiol. – 2014. – Vol. 307. – P. 323-329.
3. Маеда Х., Акаике Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. - С. 1007-1019.
4. Селезнева Э.Я. Изменение уровня простагландинов при сочетании ЖКБ и ЯБДК // Эксперим. и клин. гастроэнтерол. – 2003. – № 6. – С.144-146.
5. Jacob P., Kahrilas P.J., Herzog G. Proximal esophageal pH-metry in patients with "reflux laryngitis" // Gastroenterology. – 1991. – Vol. 100. – P.305-310.
6. Sifrim D., Holloway R. et al. Composition of the postprandial refluxate in patients with gastroesophageal reflux disease // Am. J. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 96, № 3. – P. 647-655.
7. Зинчук В.В. Роль кислородсвязующих свойств крови в формировании прооксидантно-антиоксидантного состояния организма при гипертермических состояниях различного генеза. – Гродно: ГГМУ, 2005. – 168 с.

УРОВЕНЬ МЕЛАТОНИНА И КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНЬЮ, АССОЦИИРОВАННОЙ С СИНДРОМОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ/ГИПОПНОЭ СНА

Карпович О. А., Шишко В. И., Шульга Е. В.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь
olesjakarpovich@rambler.ru

Распространённость гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) среди взрослого населения может достигать 40-50% [1]. Ещё одна проблема современной медицины – синдром обструктивного апноэ/гипопноэ сна (СОАГС), распространённость которого составляет 5-7%. Гастроэзофагеальный рефлюкс может провоцировать развитие СОАГС. В то же время около 70% пациентов с СОАГС страдают ГЭРБ [2].

В последние годы в патогенезе заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) особую роль отводят мелатонину (МТ), который является мощным антиоксидантом, стимулирует клеточную пролиферацию и микроциркуляцию, обладает цитопротекторным действием [3]. Изучены эффекты мелатонина в условиях окислительного стресса, индуцированного гипотермией с последующим отогреванием, введением липополисахарида [4].

Отдельные исследования показывают, что изменения тканевого кровотока у пациентов с ГЭРБ выявляются в 98% случаев [5]. Сопровождающая апноэ/гипопноэ гипоксемия также является типичным признаком данного состояния. Таким образом, представляется интересным изучение кислотно-основного состояния (КОС) и уровня МТ у пациентов с эндоскопически позитивной ГЭРБ, ассоциированной с СОАГС (ГЭРБ/СОАГС).

Цель. Оценить показатели кислотно-основного состояния и уровень МТ у пациентов с ГЭРБ, ассоциированной с СОАГС.

Материалы и методы. Были обследованы 25 человек в возрасте от 30 до 60 лет ($46 \pm 11,1$ лет), из них женщин 11 (44%), мужчин 14 (56%).

Верификацию диагноза ГЭРБ проводили с помощью эзофагогастродуоденоскопии. Для выявления нарушений дыхания во сне проводилось респираторное мониторирование с помощью системы SOMNOchek micro. По результатам проведенных обследований 12 пациентам был выставлен диагноз ГЭРБ в сочетании с СОАГС лёгкой либо средней степени тяжести (основная группа). Группу контроля составили 13 человек без ГЭРБ и СОАГС.

Определение показателей КОС проводили на микрогазоанализаторе «Stat Profile pHox plus L» (США, Instrumentation Laboratory). Определялись следующие показатели: реальный и стандартный избыток буферных оснований (ABE/SBE), стандартный бикарбонат (SBE), концентрация гидрокарбоната (HCO_3^-), общей углекислоты (TCO_2), стандартного бикарбоната (SBC), уровень лактата.

Уровень МТ оценивали по содержанию основного метаболита: 6-сульфатоксимелатонина (6-SM) в суточной моче на иммуноферментном анализаторе SunriseTECAN с помощью набора для иммуноферментного анализа Human MS.

Полученные данные статистически обрабатывались с помощью программы «Statistica 6.0». Уровень статистической значимости $p < 0,05$ принимался за достоверный. Значения представлены в виде Me (25%; 75%).

Результаты и их обсуждение. При сравнении показателей кислотно-основного состояния отмечается более высокое содержание лактата в основной группе в сравнении с контрольной группой: 2,8 (2,2; 3,8) и 1,6 (1,5; 1,9), $p < 0,005$. В основной группе также ниже значения pH: 7,38 (7,37; 7,44) и 7,45 (7,40; 7,47), $p < 0,05$; содержание АВЕ: 3,25 (2,65; 4,40) и 6,9 (5,4; 8,6), $p < 0,05$; SBE: 3,3 (2,5; 4,9) и 6,6 (3,4; 7,9), $p < 0,005$; SBC: 26,5 (25,5; 27,3) и 29,1 (28,1; 30,4), $p < 0,05$. Полученные данные свидетельствуют о том, что сочетание ГЭРБ с СОАГС сопровождается развитием компенсированного метаболического ацидоза.

Уровень 6-SM в суточной моче пациентов основной группы был значимо ниже, чем в контрольной: 138,4 (77,8; 185,9) и 220,2 (212,3; 228,1), $p < 0,05$.

При проведении корреляционного анализа у пациентов с ГЭРБ/СОАГС выявлено наличие прямой корреляционной связи между уровнем 6-SM в ночной порции мочи и концентрацией HCO_3^- ($r=0,7$, $p < 0,05$) и TCO_2 ($r=0,6$, $p < 0,05$) в плазме крови.

СОАГС сопровождается депривацией сна, что отрицательно сказывается на содержании МТ в крови, так как синтез этого гормона имеет циркадную ритмичность. Выявленное нами снижение уровня МТ у пациентов с ГЭРБ/СОАГС приводит к усугублению нарушений на всех уровнях защиты слизистой пищевода: преэпителиального, эпителиального и постэпителиального.

Выводы. ГЭРБ, ассоциированная с СОАГС, сопровождается развитием компенсированного метаболического ацидоза, снижением уровня 6-SM в суточной моче. Выявленные изменения указывают на возможную роль МТ в патогенезе данной сочетанной патологии.

Литература

1. Dent J., ElSerag H.B., Wallander M.A. et al. Epidemiology of gastroesophageal reflux disease: A systematic review // Gut. – 2005. – Vol. 54, № 5. – P. 710-717.
2. Newman A.B., Nieto F.J., Guidry U., et al. Relation of sleepdisordered breathing to cardiovascular disease risk factors: the Sleep Heart Health Study // Am. J. Epidemiol. – 2008. – Vol. 154. – P. 50-59.
3. Рапопорт С.И. Мелатонин: перспективы применения в клинике. – М.: ИМА-ПРЕСС, 2012. – С. 57-62.
4. Зинчук В.В., Глуткин С.В., Шульга Е.В., Гуляй И.Э. Влияние мелатонина на кислородзависимые процессы // Экспер. и клинич. фармакология. – 2013. – Т. 76, № 2. – С. 32-36.
5. Щербенков И.М. Особенности нарушения микроциркуляции при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни: дис. ... канд. мед.наук: 14.00.05/ И.М. Щербенков; ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию». – Москва, 2006. – 136 с.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В СТЕНКЕ СЕРДЦА ПРИ 24-ЧАСОВОМ ПОДПЕЧЕНОЧНОМ ОБТУРАЦИОННОМ ХОЛЕСТАЗЕ

Кизюкевич И. Л.¹, Гуляй И. Э.², Кизюкевич Д. Л.², Кизюкевич Л. С.²

¹Гродненский областной клинический кардиологический центр, Гродно

²«Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Kizyukevichl@mail.ru

Заболевания печени и желчных путей могут сопровождаться нарушением сердечной деятельности [5]. Фактором изменения состояния миокарда может являться висцеро-висцеральный рефлекс, описанный как «билиарно-кардиальный синдром», что является проявлением токсического влияния на миокард продуктов и медиаторов воспаления, желчных кислот и другие [4]. В доступной литературе мы не нашли данных о влиянии желчной гипертензии на состояние свободнорадикальных процессов, определяющих гомеостаз организма, в сердечной мышце, что придает данной проблеме особую актуальность.

Цель. Изучить активность процессов ПОЛ в сердечной мышце животных спустя 24 часа от начала моделирования подпеченочного обтурационного холестаза.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном отношении к животным. В работе использован материал от 20 беспородных белых крыс-самцов, массой 250±50 г. У опытных животных ($n=10$) под эфирным наркозом обтурационный подпеченочный холестаз (продолжительностью 24 ч) моделировали путем перевязки и последующего пересечения общего желчного протока (ОЖП) между двумя шелковыми лигатурами в проксимальной его части, области впадения в последний долевых печеночных протоков. У контрольных крыс ($n=10$) производили ложную операцию – ОЖП оставляли интактным. Все оперированные животные содержались в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и пище. В конце опытного срока после предварительного эфирного наркоза животных декапитировали. В гомогенатах стенки сердца активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных (диеновые конъюгаты), третичных (триеновые конъюгаты) [3] и вторичных – малонового диальдегид [1] продуктов ПОЛ, а также факторы антиоксидантной защиты: активность фермента антиоксидантной защиты – каталазы [2], концентрацию α -токоферола и ретинола [7] и восстановленного глутатиона [6]. Сравнительный анализ произведен с помощью критерия Манна-Уитни при непараметрическом характере распределения величин и параметрического t-критерия Стьюдента для нормального распределения признака. 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%.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований показали, что спустя 24 ч эксперимента на фоне желчной гипертензии в гомогенатах стенки сердца крыс отмечается значительное увеличение концентрации малонового диальдегида, тогда как концентрация диеновых и триеновых конъюгатов остается в пределах контрольных величин (табл.).

Таблица – Показатели процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты в стенке сердца крыс через 24 ч экспериментального обтурационного подпеченочного холестаза ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Опыт
Диеновые конъюгаты (ед/г ткани)	22,24±0,42	21,39±0,19
Триеновые конъюгаты (ед/г ткани)	8,69±0,49	8,34±0,30
Малоновый диальдегид (мкмоль/г ткани)	8,81±0,17	14,15±0,37***
Восст. глутатион, ммоль/г ткани	0,88±0,01	0,75±0,03**
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мин/г ткани	65,83±2,79	55,85±1,82**
Витамин Е, мкмоль/г ткани	147,31±7,74	143,45±4,92
Витамин А, мкмоль/г ткани	8,34±0,43	5,54±0,32***

Примечание – ** – показатель достоверности $p < 0,01$; *** – показатель достоверности $p < 0,001$

Параллельно с этим в гомогенатах сердечной мышцы опытных крыс наблюдается достоверное снижение активности каталазы, концентрации ретинола и восстановленного глутатиона. При этом концентрация α -токоферола остается в пределах контрольных величин (табл.).

Таким образом, при 24-часовом подпеченочном обтурационном холестазе на фоне эндогенной интоксикации, обусловленной желчной гипертензией, в стенке сердца желтушных крыс активируются прооксидантные процессы (увеличивается концентрация малонового диальдегида), что сопровождается истощением антиоксидантной защиты органа – уменьшением активности каталазы, содержания ретинола и восстановленного глутатиона, что может быть связано с избыточным их использованием организмом для эффективного противостояния процессам пероксидации. Пероксидация в оболочках стенки сердца – это звено одной цепи в поступательном развитии полиорганной недостаточности в динамике механической желтухи.

Литература

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. – 2-е изд. – Мн.: Беларусь, 2002. – Т. 2. – 463 с.
2. Королюк М. А. и др. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
3. Волчегорский И. А. и др. Сопоставление разных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127-131.
4. Маев И. и др. Состояние центральной гемодинамики и левых отделов сердца у больных хроническим калькулезным холециститом // Неотлож. помощь в клин. условиях. – 2002. – № 9. – С. 163-165.

5. Rizzo C.C. et al. Repercussões sistêmicas da icterícia obstrutiva // Medicina (Bras.). – 1997. – Vol. 30, № 2. – P. 173-182.

6. Sedlak J., Lindsay R.N. Estimation of total, protein-bound, and protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent // Anal. Biochem. – 1968. – Vol. 25, № 1. – P. 192-205.

7. Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis // Lipids. – 1976. – Vol. 11, № 7. – P. 530-538.

ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ПОЛ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ 24-ЧАСОВОМ ПОДПЕЧЕНОЧНОМ ОБТУРАЦИОННОМ ХОЛЕСТАЗЕ

**Кизюкевич Л. С.¹, Мармыш В. Г.¹, Кизюкевич И. Л.², Кизюкевич Д. Л.¹,
Шелудько С. М.¹, Шелесный А. И.¹, Хведынич С. Н.¹, Погудо А. С.¹**

¹Гродненский областной клинический кардиологический центр,

²«Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Kizyukevichl@mail.ru

При длительном синдроме холестаза в патологический процесс вовлекается система крови – возрастает концентрация общих желчных кислот и билирубина, что обуславливает развитие эндогенной интоксикации [1]. Представляет несомненный интерес изучение свободнорадикальных процессов в крови в динамике экспериментального холестаза.

Цель. Изучить активность процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты в крови крыс спустя 24 часа от начала моделирования подпеченочного обтурационного холестаза.

Материалы и методы. В работе использован материал от 20 беспородных белых крыс-самцов, массой 250±50 г. У опытных животных ($n=10$) под эфирным наркозом обтурационный подпеченочный холестаз продолжительностью 24 ч моделировали путем перевязки и последующего пересечения общего желчного протока (ОЖП) между двумя шелковыми лигатурами в области впадения в общий желчный проток. У контрольных крыс ($n=10$) производили ложную операцию – ОЖП оставляли интактным. Все оперированные животные содержались в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и пище. В конце опытного срока после предварительного эфирного наркоза животных декапитировали. В плазме и Эр-массе крови крыс активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию диеновых конъюгатов (ДК) [4], малонового диальдегида (МД) [2] и триеновых конъюгатов (ТК) [4], а также изучали факторы антиоксидантной защиты: активность фермента антиоксидантной защиты – каталазы [3], концентрацию α -токоферола и ретинола [6] и восстановленного глутатиона [5]. Сравнительный анализ произведен с помощью t-критерия Стьюдента для нормального распределения

признака. Различия между контрольной и опытной группами считались достоверными при двустороннем уровне значимости $p < 0,05$, когда вероятность различий была больше или равна 95%.

Результаты и их обсуждение. Спустя 24 часа от начала моделирования подпеченочного обтурационного холестаза в плазме крови опытных крыс значительно возрастает содержание малонового диальдегида, снижается концентрация диеновых и практически не отличается от контрольных показателей концентрация триеновых конъюгатов, что сопровождается достоверным снижением концентрации α -токоферола и ретинола при значительном увеличении уровня церулоплазмينا (таблица).

Таблица – Показатели процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты крови крыс через 24 ч экспериментального обтурационного подпеченочного холестаза ($M \pm m$)

Показатели	Контроль	Опыт
<i>Плазма крови</i>		
ДК (Ед/мл)	5.43±0.06	5.18±0.07*
ТК (Ед/мл)	0.61±0.01	0.57±0.03
МДА (мкмоль/л)	2.48±0.22	7.41±0.41***
α -токоферол (мкмоль/л)	11.01±0.39	8.09±0.51***
Ретинол (мкмоль/л)	1.39±0.07	1.10±0.04**
Церулоплазмин (мг/л)	222.22±13.56	319.9±15.44***
<i>Эритроцитарная масса</i>		
ДК (Ед/мл)	45.09±0.51	46.88±0.35*
ТК (Ед/мл)	11.8±0.42	13.19±0.30*
МДА (мкмоль/л)	7.31±0.34	10.39±0.36***
Восстановленный глутатион (мкмоль/гНв)	65.61±4.23	51.5±1.18***
Каталаза (ммоль H_2O_2 /мин/ гНв)	19.2±0.88	17.37±0.74*

Примечание – * – показатель достоверности $p < 0,05$; ** – показатель достоверности $p < 0,01$; *** – показатель достоверности $p < 0,001$

Параллельно с этим в Эр-массе достоверно возрастает концентрация малонового диальдегида, уровень диеновых и триеновых конъюгатов, при этом снижается активность каталазы и содержание восстановленного глутатиона (таблица).

Выводы. Таким образом, спустя 24 ч от начала эксперимента в плазме крови опытных крыс отмечается увеличение содержания малонового диальдегида, сопровождающееся истощением антиоксидантной системы защиты (снижается концентрация α -токоферола и ретинола). В эритроцитарной массе возрастает содержание всех изучаемых продуктов ПОЛ, при этом снижается активность каталазы и концентрация восстановленного глутатиона.

Литература

1. Кизюкевич Л.С. и др. Желчные кислоты и билирубин – маркеры эндогенной интоксикации в динамике экспериментального разноуровневого обтурационного холестаза // Актуальные проблемы медицины: материалы ежегодной итоговой научно-практической конференции (26-27 января 2017 г.) [Электронный ресурс] / отв. ред. В.А. Снежицкий. – Гродно: ГрГМУ, 2017. – С. 383-386.

2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. – 2-е изд. – Мн.: Беларусь, 2002. – Т. 2. – 463 с.
3. Королюк М.А. и др. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
4. Волчегорский И.А. и др. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан -изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127-131
5. Sedlak J., Lindsay R.N. Estimation of total, protein-bound, and protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent // Anal. Biochem. – 1968. – Vol. 25, № 1. – P. 192-205.
6. Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis // Lipids. – 1976. – Vol. 11, № 7. – P. 530-538.

ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА G5665T ГЕНА ЭНДОТЕЛИНА-1 С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ И ПАРАМЕТРАМИ ЖЕСТКОСТИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Киндалева О. Г., Степура Т. Л., Шулика В. Р., Пронько Т. П.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
kindaliova.volha@mail.ru

Согласно рекомендациям Европейского общества по артериальной гипертензии 2013 г., сосудистая стенка является органом-мишенью гипертензивного процесса [1]. Так как повышение артериальной жесткости тесно связано с наличием дисфункции эндотелия, ген EDN-1, возможно, играет одну из ключевых ролей в повышении сосудистой жесткости и определяет степень поражения сосудистого русла на генетическом уровне.

Цель. Провести анализ ассоциации полиморфного маркера G5665T гена эндотелина-1 (EDN-1) с показателями параметров жесткости сосудистой стенки у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) после перенесенного ишемического инсульта.

Материалы и методы. Обследование выполнено на базе кафедры пропедевтики внутренних болезней Гродненского государственного медицинского университета. В эксперимент были включены 63 человека, средний возраст которых составил $60,3 \pm 7,4$ года, среди них 39 мужчин и 24 женщины. Генотипирование образцов ДНК выполнено методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием набора «SNP-экспресс» (ЛИТЕХ, РФ). Количественное определение уровня эндотелина-1 в плазме крови проводилось с помощью набора для иммуноферментного анализа «Human EDN1 (Endothelin-1)», ELISA Kit. Исследование толщины комплекса интима-медиа (КИМ) сонных артерий проводили на аппарате

Алока 5000 (Япония) линейным датчиком 7-19 МГц в В-режиме. Исследование эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) и скорости распространения пульсовой волны (СРПВ) по артериям мышечного типа осуществлялось с помощью аппаратно-программного комплекса «Импекард-М» (Беларусь). Показатель жесткости артерий эластического типа – сердечно-лодыжечно сосудистый индекс (СЛСИ) и сосудистый возраст – определялись при помощи сфигмоманометра-сфигмографа VaSera VS-1500N Fucuda Denshi (Япония). Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Statistica 10.0.

Результаты и их обсуждение. Распределение генотипов полиморфного локуса G5665T гена *EDN-1* соответствовало ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга, $\chi^2=1,03$, $p=0,31$. Носители генотипа GG гена *EDN-1* – 41 чел., генотипа GT – 18 чел., TT – 4 человек. Пациенты были поделены на 2 подгруппы согласно рецессивной модели. Подгруппу 1 (ПГ 1) сформировали носители генотипа GG, подгруппу 2 (ПГ 2) – носители генотипов GT и TT.

В таблице представлены данные показателей функции эндотелия и параметров жесткости сосудистой стенки у пациентов с АГ после перенесенного ишемического инсульта.

Таблица – Параметры жесткости сосудистой стенки у обследуемых лиц, Me [LQ; UQ]

Подгруппы / показатели	ПГ1	ПГ2
Эндотелин-1, пг/мл	10,8 [6,8; 15,5]	8,6 [4,8; 14,5]
ЭЗВД, %	-13,1 [-26,0; -0,4]	-26,4 [-31,9; -5,6]
СРПВ, м/с	13,1 [7,5; 18,6]	11,9 [6,7; 20,8]
КИМ справа, мм	1,1 [1,0; 1,2]	1,1 [1,1; 1,2]
КИМ слева, мм	1,1 [1,1; 1,2]	1,1 [1,0; 1,1]
СЛСИ	8,8 [8,3; 9,4]	9,4 [8,9; 11,7] *
Сосудистый возраст	67 [57; 77]	67 [57; 80]

Примечание – ЭЗВД – эндотелийзависимая вазодилатация, СРПВ – скорость распространения пульсовой волны, КИМ – комплекс интима-медиа, СЛСИ – сердечно-лодыжечный плечевой индекс. * – достоверные отличия ПГ2 от ПГ1, где * – $p<0,05$

Как видно из таблицы, по таким показателям, как уровень эндотелина-1 в плазме крови, величине ЭЗВД, СРПВ, толщине КИМ справа и слева, сосудистому возрасту пациенты ПГ1 не имели достоверных различий от пациентов ПГ2. В литературе имеются также работы, где не обнаружено ассоциации полиморфного маркера G5665T гена эндотелина-1 (*EDN-1*) с развитием сердечно-сосудистых заболеваний [2].

Как видно из приведенной таблицы, ПГ2 достоверно отличалась от ПГ1 по показателю СЛСИ ($p=0,02$). Так как с поражением сосудистой стенки артерий эластического типа связан высокий риск возникновения сердечно-сосудистых событий [3], пациентам с АГ после перенесенного инсульта, возможно, следует интенсифицировать меры вторичной профилактики.

Выводы:

1. У пациентов с АГ после перенесенного ишемического инсульта ассоциация полиморфного маркера G5665T гена *EDN1* с уровнем эндотелина-1, величиной ЭЗВД, толщиной КИМ, СРПВ и сосудистым возрастом не прослеживалась.

2. У пациентов с АГ после перенесенного ишемического инсульта выявлена ассоциация минорной аллели полиморфного локуса G5665T гена *EDN1* со СЛСИ.

Литература

1. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension [Electronic resource]. – 2013. – Mode of access: http://journals.lww.com/jhypertension/Citation/2013/07000/2013_ESH_ESC_Guidelines_for_the_management_of.2.aspx. – Date of access: 12.03.2018.

2. Wiltshire S. et al. Investigating the association between K198N coding polymorphism in EDN1 and hypertension, lipoprotein levels, the metabolic syndrome and cardiovascular disease // Human genetics. – 2008. – Vol. 123. – P. 307-313.

3. Safar M.E. et al. Central Pulse pressure and mortality in end stage renal failure // Hypertension. – 2002. – Vol. 39. – P. 735-738.

**МОБИЛЬНАЯ ТЕЛЕМЕТРИЧЕСКАЯ СИСТЕМА
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ O₂
В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ
В ПРОЦЕССЕ ДЫХАТЕЛЬНОГО ЦИКЛА**

Кисляков Ю. Я., Кислякова Л. П., Зайцева А. Ю.

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

Поддержание на требуемом уровне энергетического и пластического метаболизма организма в значительной степени определяется интенсивностью потребления O₂. Для исследования этих процессов разработаны приборы, контролирующие процессы дыхания и содержания во вдыхаемом и выдыхаемом воздухе парциальных давлений O₂. Это сложные и дорогостоящие устройства, которые регистрируют показатели газообмена с временной задержкой, обусловленной технологией удаления влаги из выдыхаемого воздуха. Это обстоятельство ограничивает их возможности при диагностике морфофизиологических особенностей дыхательной системы. Проблема синхронной регистрации парциальных давлений O₂, CO₂ и объемной скорости выдоха в ходе каждого дыхательного цикла была нами решена при разработке стационарного аналитического комплекса, предназначенного для массовых исследований [1; 2].

Цель исследования – разработка малогабаритного мобильного аналитического комплекса для функциональной диагностики дыхательной

системы и аэробного энергетического метаболизма путем измерения парциального давления O_2 и объемной скорости выведения этого газа из легких у человека в ходе дыхательного цикла.

Материалы и методы. Аналитический комплекс состоит из двух блоков – *Измерительного* и *Информационного*. Измерительный блок осуществляет регистрацию объемной скорости выдоха и парциального давления O_2 в порциях выдыхаемого воздуха у испытуемого и передает этих данные в информационный блок, который осуществляет определение на это основе динамических характеристик скорости потребления O_2 в процессе выдоха.

Измерительный блок состоит из модулей пробоотбора, сенсорного, электронного модулей и передачи данных в информационный блок, в состав которого входят модули приема, обработки, анализа и хранения данных.

Модуль пробоотбора представляет собой дыхательную трубку, в которой поддерживается стабильная температура.

Сенсорный модуль состоит из двух быстродействующих датчиков – объемной скорости выдоха Q (л/с), и парциального давления O_2 (pO_2 , мм рт. ст.) в выдыхаемом воздухе.

Электронный модуль регистрации данных выполняет высокоточное измерение электрических потенциалов электродов и передачу этих данных в информационный блок.

Модули передачи и приема данных осуществляют связь измерительного блока с информационным по каналам беспроводной связи.

Модуль обработки, анализа и хранения данных обеспечивает их обработку, визуальное отображение и хранение в виде массива данных, таблиц и графиков.

Основные измеряемые параметры: объемная скорость выдыхаемого воздуха и парциальное давление O_2 в нем.

Определяемые параметры: объемы выдыхаемого воздуха и выдыхаемого O_2 в ходе дыхательного цикла.

Результаты и их обсуждение. Для отработки методики измерений были выполнены измерения объемной скорости дыхания и парциальных давлений O_2 в выдыхаемом воздухе в процессе умеренного выдоха у пяти добровольцев в спокойном состоянии. Типичный результат измерений представлен ниже:

Время (сек.)	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4
Скорость выдоха, л/сек	1.7	3.0	4.3	5.7	5.0	4.0	1.0	0.4
pO_2 , мм рт. ст.	118	110	110	110	110	110	110	110

По результатам этих измерений рассчитывался объем потребленного O_2 в фиксированных равных порциях выдыхаемого воздуха. Время выдоха, объемы выдыхаемого воздуха и потребленного O_2 у испытуемых варьировали в значительных пределах. Поэтому для их сравнения результаты измерений у каждого испытуемого нормировались в процентах, относительно их максимальных величин. Результаты расчетов динамики содержания O_2

(средние значения по четырем измерениям в % объема O₂, потребленного за один цикл) в порциях выдыхаемого воздуха представлены ниже:

Объем выдоха, %	0-20	20-40	40-60	60-80	80-100
Испытуемый 1, объем потребленного O ₂ , %	15	20	30	20	15
Испытуемый 2, %	7	28	24	31	10
Испытуемый 3, %	14	35	28	15	8
Испытуемый 4, %	16	21	36	23	4
Испытуемый 5, %	8	41	25	14	12

Результаты проведенных исследований показывают, что динамика содержания O₂ в выдыхаемом воздухе у каждого испытуемого имеет свои индивидуальные особенности, которые определяются морфологическими и физиологическими параметрами дыхательной системы испытуемого.

Выводы. Разработан аналитический комплекс, предназначенный для измерения парциального давления O₂ и объемной скорости выведения этого газа из легких у человека в ходе дыхательного цикла. Эти показатели могут быть использованы для диагностики индивидуальных морфофизиологических параметров дыхательной системы человека.

Литература

1. Кислякова Л.П., Кисляков Ю.Я., Полукаров И.А., Зайцева А.Ю. Телеметрический многофункциональный капнограф // В мире научных открытий. – 2012. – Т. 26, № 2. – С. 152-154.
2. Kislyakov Yu.Ya., Kislyakova L.P., Zaiceva A.Yu., Gulyaev V.I. Universal mobile analytical complex for research of respiration and gas exchange in man and animals // Физиологічний журнал. – 2013. – Т. 59, № 4. – С. 103-106.

СРАВНЕНИЕ РОЛИ ПРОСТАЦИКЛИНА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ГИПЕРПОЛЯРИЗУЮЩЕГО ФАКТОРА В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЭНДОТЕЛИЙ-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ КОРОНАРНОГО КРОВОТОКА В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО NO

Козловский В. И.¹, Хлопицкий С.²

¹«Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

²Ягеллонский университет (г. Краков, Польша)

vkz45@rambler.ru

Одним из важнейших факторов патологии системы кровообращения является дисфункция эндотелия сосудов. Она проявляется нарушением эндотелий-зависимых механизмов регуляции тканевого кровотока, которые позволяют обеспечить соответствие доставки кислорода к тканям их метаболическим потребностям. Чаще всего дисфункция эндотелия проявляется снижением количества основного сосудорасширяющего фактора эндотелиального

происхождения – монооксида азота (NO) – вследствие снижения его продукции клетками эндотелия либо повышенной его инактивации активными формами кислорода (АФК) [3]. Дисфункция эндотелия приводит к ухудшению перфузии тканей и системным гемодинамическим нарушениям. При дисфункции эндотелия в организме могут включаться компенсаторные механизмы, обеспечивающие сохранение эндотелий-зависимой регуляции тканевого кровотока. В этих механизмах могут участвовать другие сосудорасширяющие факторы эндотелиального происхождения, в частности, простаглицлин и так называемый эндотелиальный гиперполярирующий фактор (ЭГПФ).

Цель исследования – сравнить роль простаглицлина и ЭГПФ в механизмах эндотелий-зависимой вазодилатации в условиях экспериментальных моделей дисфункции эндотелия, обусловленной нарушением продукции эндотелиального NO или инактивацией последнего АФК.

Материалы и методы. Исследования проведены на двух экспериментальных моделях дисфункции эндотелия: 1) мыши с нокаутированным геном эндотелиальной NO-синтазы (eNOC^{-/-} мыши), 2) окислительный стресс, обусловленный взаимодействием ксантина и ксантиноксидазы, в изолированном сердце морской свинки.

Мыши eNOC^{-/-} были получены на основе чёрных мышей линии C57BL/6J, последние использовались в качестве контроля (eNOC^{+/+} мыши). На изолированном сердце мыши оценивались эндотелий-зависимые коронарорасширяющие ответы на ацетилхолин и брадикинин в группах eNOC^{-/-} и eNOC^{+/+} мышей, а также влияние на эти ответы ингибитора синтеза простаглицлина индометацина и ингибитора NO-синтазы L-NG-нитро-аргинина метилового эфира (L-NAME).

Окислительный стресс моделировался путём введения ксантиноксидазы в изолированное сердце морской свинки, перфузируемое раствором Кребса-Хензелейта, содержащим ксантин. Результатом взаимодействия ксантина и ксантиноксидазы является генерация супероксид аниона [2]. В экспериментах оценивалась субмаксимальная коронарная вазодилатация, вызванная ацетилхолином и брадикинином. Для анализа механизмов эндотелий-зависимой вазодилатации использовали L-NAME и индометацин.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что в изолированном сердце мыши коронарорасширяющий ответ на брадикинин является NO-зависимым (ингибировался L-NAME), в то же время коронарная вазодилатация, индуцированная ацетилхолином, состоит из двух фаз: ранней NO-зависимой и поздней, опосредованной простаглицлином (практически полностью блокировалась индометацином). Не выявлено существенных различий между группами eNOC^{-/-} и eNOC^{+/+} мышей по величине коронарорасширяющего эффекта брадикинина и поздней фазы ацетилхолин-индуцированной коронарной вазодилатации, в то же время ранняя фаза коронарорасширяющего ответа на ацетилхолин была снижена в сердце eNOC^{-/-} мышей. Ингибитор синтеза простаглицлина индометацин не влиял на коронарорасширяющий эффект брадикинина и раннюю фазу коронарной вазодилатации,

вызванной ацетилхолином, в сердце eNOC^{-/-} и eNOC^{+/+} мышей, в то же время он полностью устранял позднюю фазу коронарорасширяющего ответа на ацетилхолин в обеих группах животных. В условиях одновременного ингибирования синтеза NO и простаглицина, когда основную роль в механизме эндотелий-зависимой вазодилатации играет ЭГПФ [1], коронарорасширяющий эффект брадикинина в сердце eNOC^{-/-} мышей был примерно в 2 раза выше в сравнении с контролем. Все эти данные свидетельствуют о решающей роли ЭГПФ в обеспечении эндотелий-зависимых механизмов регуляции коронарного кровотока при дефиците эндотелиального NO.

Также установлено, что ксантинооксидазный окислительный стресс в изолированном сердце морской свинки незначительно уменьшал коронарорасширяющий эффект ацетилхолина и в то же время усиливал коронарную вазодилатацию, индуцированную брадикинином. В условиях одновременного ингибирования синтеза NO и простаглицина потенцирование коронарорасширяющего ответа на брадикинин под влиянием ксантинооксидазного окислительного стресса было ещё более выраженным, что свидетельствует о решающей роли ЭГПФ в эндотелий-зависимой вазодилатации в этих условиях.

Выводы. В условиях дефицита эндотелиального NO основная роль в механизмах эндотелий-зависимой регуляции коронарного кровотока принадлежит ЭГПФ, в то же время простаглицлин не имеет существенного значения для компенсации эндотелий-зависимых регуляторных механизмов в этих условиях.

Литература

1. Hammoud S.H., Omar A.G., Eid A.A., El-Mas M.M. CYP4A/CYP2C modulation of the interaction of calcium channel blockers with cyclosporine on EDHF-mediated renal vasodilations in rats // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 334. – P. 110-119.
2. Pfister S.L., Nithipatikom K., Campbell W.B. Role of superoxide and thromboxane receptors in acute angiotensin II-induced vasoconstriction of rabbit vessels // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2011. – Vol. 300, № 6. – P. 2064-2071.
3. Yuyun M.F., Ng L.L., Ng G.A. Endothelial dysfunction, endothelial nitric oxide bioavailability, tetrahydrobiopterin, and 5-methyltetrahydrofolate in cardiovascular disease. Where are we with therapy? // *Microvasc. Res.* – 2018. – Vol. 119. – P. 7-12.

ОЦЕНКА ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ БЕЛКОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В РАЦИОНЕ ПИТАНИЯ СМЕСИ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК

Кондрашова С. Б.

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь
svetlana.condraschova2011@yandex.ru

Исследования в области пищевых и биологически активных добавок, а также обогащенных ими продуктов являются одним из приоритетных направлений прикладной науки. Оно постоянно развивается и трансформируется в соответствии с концепцией о функциональном питании, формированием международных и европейских нормативных и методических документов [5].

Разработка новых видов пищи (низкокалорийные продукты, аналоги мясных, молочных и рыбных продуктов) связана с использованием пищевых добавок, регулирующих консистенцию и увеличивающих сроки хранения продовольствия.

Однако в последнее время выдвигается ряд претензий к технологам и производителям пищевой продукции в связи с использованием искусственных пищевых добавок и их негативного влияния на состояние здоровья человека. Необходимо отметить, что в доступной литературе нет достаточных экспериментальных или клинических доказательств нарушения физиологических функций в организме после употребления в пищу тех или иных продуктов потребления или компонентов, входящих в их состав, в отличие от более детально изученных изменений показателей биохимических реакций при многих заболеваниях. Поэтому целью данного исследования было изучение перекисного окисления белков (ПОБ) и системы антиоксидантной защиты (АОЗ) сыворотки крови у половозрелых животных после длительного употребления смеси пищевых добавок – глутамата и бензоата натрия, а также красителя тартразина.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 250 г с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986). Расчет допустимой суточной дозы (ДСД) пищевых добавок для крысы осуществляли, используя соответствующие формулы и коэффициенты пересчета [6]. Длительность эксперимента составляла 15 суток. Материалом для исследования служила сыворотка крови.

Активность супероксиддисмутазы (СОД) – ключевого фермента антиокислительных систем – определяли по степени торможения реакции окисления кверцетина [2].

Каталазная активность (предотвращение накопления перекиси водорода, образующейся при дисмутации супероксидного аниона) в сыворотке крови оценивалась с помощью спектрофотометрического метода, основанного на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс [1].

Спонтанные и металл-катализируемые реакции модификации белков определяли по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином и образованием 2,4-динитрофенилгидразонов [3].

Результаты и их обсуждение. Показано, что после употребления смеси пищевых добавок половозрелыми животными, находившимися в состоянии физиологической нормы, содержание продуктов перекисного окисления белков в крови крыс претерпело следующие изменения: статистически достоверно снижалась концентрация общих динитрофенилгидразонов (ОДГ) – на 79.1%, а уровни альдегид-динитрофенилгидразонов (АДГ) и кетон-динитрофенилгидразонов (КДГ) находились в пределах контрольных значений.

Можно предположить, что введенные в рацион половозрелых животных исследуемые пищевые добавки, вступая в определенные биохимические реакции (метаболическая активность клеток), способны ингибировать ПОБ.

В исследованиях установлено возрастание активности СОД в крови крыс при потреблении ими всех видов исследуемых пищевых добавок на 34.55% по сравнению с контролем. В то же время достоверных изменений активности каталазы, выраженной в расчете на мл сыворотки, в данном эксперименте не наблюдалось.

Интерпретировать механизмы активации СОД при употреблении в пищу смеси пищевых добавок сложно. Не ясно, связана ли она с сигнальным действием активных форм кислорода и/или продуктов ПОБ либо является результатом реализации других механизмов, активированных первичным стимулом. Например, с действием глутамата и бензоата натрия как синергистов, которые сами по себе не обладают антиокислительными свойствами и, тем не менее, в полтора – два раза повышают стабилизирующие способности эндогенных антиоксидантов [4].

Выводы. Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод о том, что исследуемые пищевые добавки, включенные в рацион половозрелых животных в допустимых дозах, способствуют угнетению процесса перекисидации белков и снижению токсической нагрузки на организм активных форм кислорода.

Литература

1. Корольюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
2. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Кислородные радикалы в химии, биологии и медицине. Рига. – 1990. – С. 45-54.
3. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins // Meth. Enzymol. – 1990. – Vol. 186. – P. 464-478.
4. Onyema O.O. et al. Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats // Indian J. Biochem. Biophys. – 2006. – Vol. 43, № 1. – P. 4-20.
5. Разумовский М.В. Добавки - нормальный атрибут научно-технического прогресса // Мясной ряд. – 2011. – № 1. – С.16-17.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. – М.: Медицина. – 2005. – 832 с.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ЭКСТРЕННОЙ РЕНТГЕНЭНДОВАСКУЛЯРНОЙ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА

Константинова Е. Э.¹, Цапаева Н. Л.², Миронова Е. В.²

¹Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова НАН Беларуси, Минск

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь
ekonst65@mail.ru

К настоящему времени показано, что, несмотря на очевидные преимущества чрескожных коронарных вмешательств перед другими методами лечения пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС), в целом ряде случаев, несмотря на адекватное своевременное лечение, развиваются повторные коронарные события [2]. С другой стороны, известно, что нарушение эффективности транспорта кислорода в системе микроциркуляции является одним из значимых факторов, определяющих характер течения ишемической болезни сердца (ИБС) и результативность проводимых лечебных мероприятий.

Цель исследования – оценка параметров транспорта кислорода в системе микроциркуляции у пациентов с ИБС в отдаленном периоде экстренной рентгенэндоваскулярной реваскуляризации миокарда (РЭРМ).

В исследование включены 32 пациента (средний возраст $61,4 \pm 5,3$ года) с ИБС, у которых в анамнезе имел место ОКС и в этот период выполнена экстренная РЭРМ. Исследования проведены через 8 и 12 месяцев после РЭРМ. В качестве контроля использовали данные практически здоровых лиц ($n=35$) сопоставимого возраста ($56,5 \pm 5,8$ года).

Исследование показателей утилизации и транспорта кислорода проводили в условиях, исключающих предшествующую физическую и эмоциональную нагрузку, в положении пациента сидя, на кресле с удобными подлокотниками для устранения напряжения мышц верхних конечностей. Кинетику транспорта кислорода исследовали полярографическим методом с накожным электродом Кларка с помощью кислородного монитора TCM-2 (Radiometer, Дания) в условиях пробы с локальной ишемией, которая создавалась с помощью надувной манжеты, накладываемой на плечо. При этом оценивали исходное и конечное напряжение кислорода в ткани – $1pO_2$ и $2pO_2$, мм рт. ст., латентные периоды (Lp_1 и Lp_2 , с) и скорости (V_1 V_2 , мм рт. ст./с) утилизации и восстановления кислорода, а также коэффициент тепловой девиации dQ , у.е., характеризующий объем микроциркуляторного кровотока в точке исследования [1].

В результате проведенных исследований установлено, что у пациентов с ИБС через 8 месяцев после экстренной РЭРМ уровень $1pO_2$ составляет $38,9 \pm 3,1$ мм рт. ст. Этот показатель достоверно ниже, чем в группе контроля – $49,2 \pm 3,5$ мм рт. ст. ($p < 0,05$). Через 3 месяца наблюдения среднее значение $1pO_2$ – $41,17 \pm 3,9$ мм рт. ст. несколько повышается, однако остается достоверно ниже, чем в группе практически здоровых лиц ($p < 0,05$). Показатель $2pO_2$

у пациентов с ИБС ($33,4 \pm 3,2$ и $35,9 \pm 3,4$ мм рт. ст., соответственно) достоверно ниже, чем в группе контроля – $46,5 \pm 4,3$ мм рт. ст. ($p < 0,05$). При этом средние значения L_{p1} у пациентов с ИБС – $12,98 \pm 1,03$ и $12,25 \pm 1,01$ с – достоверно не различаются с таковыми в контрольной группе – $11,6 \pm 0,9$ с. Средние значения L_{p2} у пациентов с ИБС – $22,6 \pm 2,3$ с и $25,4 \pm 2,6$ с – достоверно выше, чем у практически здоровых лиц – $13,2 \pm 1,2$ с ($p < 0,01$). Средние значения V_1 , у пациентов с ИБС – $0,71 \pm 0,06$ и $0,75 \pm 0,08$ мм рт.ст/с – достоверно ниже, чем в группе контроля – $1,01 \pm 0,09$ мм рт.ст/с ($p < 0,05$). В отношении V_2 имеет место такая же закономерность, но степень различий между показателями пациентов с ИБС – $0,31 \pm 0,02$ и $0,34 \pm 0,03$ мм рт. ст/с – и контрольной группы – $0,51 \pm 0,04$ мм рт. ст/с – значительно выше ($p < 0,001$). Средние значения коэффициента тепловой девиации dQ в группе пациентов с ИБС – $18,8 \pm 1,7$ и $19,6 \pm 1,8$ у.е., достоверно не отличаются от таковых в группе практически здоровых лиц – $22,4 \pm 1,97$ у.е.

Таким образом, установлено, что у пациентов с ИБС в отдаленном периоде экстренной РЭРМ эффективность транспорта кислорода в системе микроциркуляции снижена по сравнению с группой практически здоровых лиц. Это определяется значительным увеличением латентного периода ишемической пробы, снижением скоростей утилизации и восстановления кислорода. Уменьшение скорости утилизации кислорода у пациентов с ИБС может быть результатом развития компенсаторных реакций в системе микроциркуляции в условиях гипоксии. Одной из причин различий эффективности транспорта кислорода между группами пациентов с ИБС и практически здоровых лиц при равном объеме кровотока в точке исследования, как показывают результаты оценки показателя dQ , может быть разный вклад капиллярного и шунтового компонентов микроциркуляторного русла [3].

Для определения причин снижения эффективности транспорта кислорода у этих пациентов необходимы оценка вклада, с одной стороны, состояния морфологии микроциркуляторного русла, с другой, реологических свойств крови, а также оценка гендерных различий [4]. Такой комплекс исследований позволит определить механизмы изменений транспорта кислорода у пациентов с ИБС, перенесших экстренную РЭРМ в период ОКС, и разработать методы повышения результативности данного вмешательства.

Литература

1. Инструментальные методы исследования в кардиологии // Руководство под научной редакцией Г.И. Сидоренко. – 1994. – Минск. – С. 168-175.
2. Eftekhari H., Bukharovich I., Aziz E. et al. Epidemiology and pathophysiology of acute coronary syndrome // Acute coronary syndrome. – 2008. – P. 25-36.
3. Konstantinova E.E., Tolstaya T.N., Prishchep S.G. et al. Plasma lipid levels, blood rheology, platelet aggregation, microcirculation state and oxygen transfer to tissues in young and middle-aged healthy people // Clinical Hemorheology and Microcirculation. – 2004. – Vol. 30, № 3-4. – P. 443-448.
4. Konstantinova E.E., Tsapaeva N.L., Mironova E.V. et al. Peculiarities of microcirculation state at different types of cardiovascular diseases // V Eurosummer School on Biorheology and Symposium on Micro and Nanomechanics and Mechanobiology of Cells, Tissues and Systems. – Varna. – Bulgaria. – Abstracts. – 2015. – P. 15-16.

БЕСПРОВОДНЫЕ УСТРОЙСТВА ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКСИГЕНАЦИИ КРОВИ В ПАТЕНТАХ СТРАН МИРОВОГО СООБЩЕСТВА

Королёв П. М.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
korpet@mail.ru

Беспроводные устройства для обеспечения телемониторинга параметров физиологических функций организма находят всё более широкое применение в клинической практике, космической и спортивной медицине, научных исследованиях, что широко освещено в литературе [1]. В то же время в научных публикациях не выявлено работ, касающихся анализа патентной информации по теме исследования, что стало поводом для выполнения данной работы.

Цель исследования – анализ динамики патентования изобретений в странах мирового сообщества по проблеме разработки беспроводных устройств для регистрации показателей оксигенации крови.

Для реализации поставленной цели был осуществлен патентный поиск в базе данных Всемирной организации интеллектуальной собственности PATENTSCOPE [2], которая обеспечивает доступ к международным патентным документам (ПД) в соответствии с Договором о патентной кооперации, Европейского патентного ведомства, Африканской региональной организации интеллектуальной собственности (ARIPO), а также к ПД из региональных и национальных фондов. В базах данных PATENTSCOPE содержится более 68 миллионов ПД, включая 3,3 миллиона опубликованных международных заявок на изобретения, поданных в соответствии с Договором о патентной кооперации. Ключевые слова для поиска: wireless, blood oxygen, detection. Глубина патентного поиска охватывает период с 2000 г. (первый выявленный ПД по теме исследования) по 2017 г. включительно.

Результаты и их обсуждение. Сведения об активности патентования беспроводных устройств для регистрации показателей оксигенации крови в странах мирового сообщества за весь период исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Количественная характеристика патентования по теме исследования в странах мирового сообщества

Страны	Количество ПД	Страны	Количество ПД
Китай	151	Япония	2
США	33	Австралия	1
РСТ	18	Канада	1
Корея	13	Германия	1
ЕРО	7	Израиль	1
Великобритания	4	Мексика	1

Приведенные в таблице 1 данные убедительно свидетельствуют о том, что наибольшее количество патентов по теме исследования зарегистрировано в Китае и США.

В результате количественного анализа в базах данных выявлено 230 ПД, отвечающих цели исследования, 28 из которых были зарегистрированы в период 2000-2007 гг., 202 – за последний десятилетний период. Динамика патентования по годам за указанный период представлена в таблице 2.

Таблица 2. – Динамика патентования изобретений по теме исследования за период 2008-2017 гг.

Годы	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Кол-во ПД	6	10	13	14	7	8	16	46	37	45

Анализ данных таблицы 2 свидетельствует о том, что наибольшее количество ПД (71%) было выдано в период 2014-2017 гг. и убедительно демонстрирует значительное возрастание изобретательской активности в области разработки и создания беспроводных устройств для регистрации показателей оксигенации крови.

Ведущими разработчиками и заявителями изобретений по теме исследования являются научные учреждения из следующих стран: Китай - Institute of Automation; Chinese Academy of Sciences; Porin Intelligent Technology (Beijing) Co., Ltd.; South China University of Technology; Chinese PLA General Hospital; Contec Medical Systems (Qinhuangdao) Co., Ltd.; Guangdong Chenghui Medical Instrument Co., Ltd.; США - Cardiac Pacemakers, Inc.; Aseptika Ltd; Nanoident Technologies AG; Sanmina Corporation; Astek Technology Ltd; Somnology, Inc.; Health Outcomes Sciences, Inc.; B/E Aerospace, Inc.; The Texas A&M University System.

Таким образом, полученные в работе данные свидетельствуют о том, что в течение 2014-2017 гг. существенно возросла изобретательская активность в области патентования беспроводных устройств для регистрации показателей оксигенации крови, при этом лидирующее положение в данном направлении занимают заявители изобретений из Китая и США.

Приведенная выше информация может представлять интерес для широкого круга научных работников и изобретателей, занимающихся разработкой и использованием беспроводных устройств для определения показателей оксигенации крови.

Литература

1. Лавлинская О.Ю., Максимов А.А. Информационные технологии и средства телемониторинга // Вестник Воронежского института высоких технологий. – 2017. – Т 2, № 21. – С. 68-70.
2. WIPO – Search International and National Patent Collections [Electronic resource] / World Intellectual Property Organization – 2014. – Mode of access: <http://patentscope.wipo.int/search/en/search.jsf> – Date of access: 20.03.2018.

НАНОСТРУКТУРИРОВАНИЕ КАК ПУТЬ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Костюк В. А.¹, Потапович А. И.¹, Сухан Т. О.¹, Шутова Т. Г.²

¹Белорусский государственный университет

²Институт химии новых материалов НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

kostyuk@bsu.by

Заболевания сердечно-сосудистой системы в настоящее время являются одной из основных причин высокой смертности во всем мире. Ежегодно от этих заболеваний, в частности от инфаркта миокарда и инсульта, в мире умирают почти 20 млн человек. Заболевания сердечно-сосудистой системы обычно сопровождаются нарушением кровообращения в отдельных органах и тканях (ишемия), за которым может последовать его восстановление (реперфузия). Такие состояния также встречаются во время операций на сердце, при трансплантации органов. Ключевую роль в реперфузионных повреждениях играет гиперпродукция активных форм кислорода (АФК) и развитие окислительного стресса. Наряду с АФК определенный вклад в патогенез ишемии-реперфузии органов и тканей вносит монооксид азота, вырабатываемый эндотелием сосудов и клетками крови. Его важнейшей физиологической функцией является поддержание нормального уровня вазодилатации. NO способен с большой скоростью реагировать с анион-радикалом кислорода, активно продуцируемым в постишемический период. Снижение в результате этого концентрации монооксида азота может привести к спазмированию сосудов и развитию вторичной ишемии.

В качестве потенциальных средств защиты от деструктивного воздействия окислительного стресса в последние годы рассматриваются растительные полифенольные соединения (РПС). Эти соединения обладают широким диапазоном биологического действия, включая противовоспалительное, антиоксидантное, противоаллергенное, противовирусное и антитромботические. Связь между потреблением флавоноидов и уменьшением смертности от сердечно-сосудистой патологии была впервые показана в 1993 г. по результатам Цутфен-обследования (Zutphen Elderly Study) пожилых людей и была подтверждена в последующих многочисленных эпидемиологических исследованиях. Однако фармацевтическое и медицинское использование РПС все еще незначительно как в силу ограниченной растворимости, так и из-за низкой всасываемости в кишечнике. Кроме того, низкая биодоступность РПС обусловлена активно протекающими процессами биотрансформации, включающими их конъюгацию, метилирование и окисление в эпителиальных клетках желудочно-кишечного тракта и гепатоцитах.

Наиболее перспективным подходом для повышения биодоступности и улучшения терапевтического потенциала РПС является использование в

качестве средств доставки полимерных и липидных наноразмерных контейнеров-переносчиков. Включение РПС в наночастицы не только повышает их растворимость, но и защищает фитопрепараты от неблагоприятного воздействия, увеличивает физико-химическую стабильность и время их хранения, расширяет тканевую биодоступность, позволяет контролировать процесс высвобождения лекарственной субстанции. Многообещающим “строительным материалом” для формирования наноструктур является желатин. Желатиновые макро- и микрокапсулы широко используются при оральном приеме лекарств, витаминов, БАДов для их адресного переноса и пролонгированного высвобождения. Преимущество желатина – прекрасная биосовместимость, отсутствие токсичности как у самого желатина (классифицируется управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США как безопасное вещество), так и продуктов его деградации. Есть данные, что желатиновые наноструктуры (ЖН) при неинвазивном (назальном) введении способны миновать гематоэнцефалический барьер. Нами была исследована возможность использования ЖН, полученных методом двухстадийной десольватации, в качестве средств доставки фармакологически активных субстанций в культивируемые нормальные и раковые клетки человека. Средний диаметр исследованных ЖН, согласно атомно-силовой микроскопии, составляет около 360 нм, значение ζ -потенциала, полученное методом электрофоретического рассеяния света, равняется $+20,50 \pm 0,23$ мВ. Наличие достаточно большого положительного заряда на поверхности частиц обуславливает высокую коллоидную устойчивость раствора. Хранение ЖН в течение шести месяцев при температуре 4°C не приводило к их укрупнению.

Чтобы оценить эффективность и специфичность клеточного захвата, ЖН нагружали флуоресцентным красителем нильский красный (НК). Полученные наноструктуры (НК-ЖН) инкубировали от 1 до 24 ч с клетками аденокарциномы груди человека линии MDA-MB-231 и нормальными фибробластами (НФ) как в присутствии фармакологических агентов, влияющих на трансмембранный перенос ЖН (ингибитор синтеза АТФ – азид натрия, конкурентный блокатор Arg-Gly-Asp-зависимых коллагеновых рецепторов – желатин, ингибитор клатрин-зависимого эндоцитоза – хлорпромазин), так и при их отсутствии. Об интенсивности трансмембранного переноса судили по внутриклеточному накоплению НК. Установлено, что при инкубации с НК-ЖН содержание красителя в клетках возрастает с увеличением времени инкубации и достигает максимума через 24 ч, при этом накопление красителя в раковых клетках происходит значительно быстрее, чем в фибробластах. Исследованные ингибиторы микровезикулярного транспорта снижали эффективность транслокации ЖН через мембраны НФ и MDA-MB-231 на 40-60%, что свидетельствует об интернализации ЖН путем как неспецифического, так и рецептор-опосредованного эндоцитоза. В последующих экспериментах была исследована способность ЖН транспортировать в клетки кверцетин – флавоноид, обладающий эффективным антиоксидантным действием. С этой целью сравнивали цитотоксическое действие наноструктурированного и свободного

кверцетина в отношении нормальных и раковых клеток. Установлено, что включение кверцетина в ЖН приводило к усилению его цитотоксического действия в отношении нормальных фибробластов, особенно раковых клеток. Сделан вывод, что повышение цитотоксичности наноструктурированного кверцетина обусловлено облегчением его трансмембранного переноса и, как следствие, – более высокой внутриклеточной концентрацией в сравнении с растворимой формой.

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАРУШЕНИЙ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ

¹Кухарчик Ю. В., ¹Гутикова Л. В., ²Колесникова Т. А.

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет»

²УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр», Гродно, Беларусь
juliakukharchik@mail.ru

В общей структуре патологии в сфере женской репродуктивной системы миома матки занимает одно из ведущих мест. Эта патология является наиболее частым гормонозависимым заболеванием, которому подвержены, по данным разных авторов, от 10 до 30% женщин репродуктивного возраста, в основном старше 30 лет [1].

В настоящее время на основании оценки состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при различных заболеваниях, в том числе при гормонозависимых состояниях, разрабатываются способы коррекции выявленных нарушений [2]. Однако характер нарушений перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при миоме матки у бесплодных и фертильных женщин репродуктивного возраста изучен недостаточно.

Цель. Установить роль нарушений процессов пероксидации липидов и антиоксидантной защиты в патогенезе репродуктивных нарушений у женщин с миомой матки при беременности и в послеродовом периоде.

Материалы и методы. На основании информированного согласия нами обследовано 85 женщин. Исследование проводилось в следующих группах: 1 группа – 35 женщин с миомой матки, величина узлов составляла 1-5 см; 2 группа – 30 женщин с миомой матки, величина узлов составляла от 5 до 20 см; 3 группа – 20 женщин, не имеющих миомы матки (группа контроля). Средний возраст обследованных женщин составил $31,27 \pm 1,57$ года. Всем женщинам выполнено полное клинико-лабораторное обследование, УЗИ органов малого таза, цитологическое и гистологическое исследование биологического материала. Определение продуктов перекисного окисления липидов: диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и антиокислительной активности сыворотки крови; α -токоферола – флуорометрическим методом. Статистическая обработка данных проведена с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение. Нами установлено, что у 77,65% женщин данная патология до беременности характеризовалась бессимптомным течением и впервые была выявлена в I триместре во время проведения УЗИ. Изучение анамнеза женщин исследуемых групп подтвердило, что основными факторами риска развития миомы матки являются аборт, эндокринная патология, гинекологические заболевания. При анализе течения беременности в первом триместре установлено, что наиболее частым осложнением был угрожающий выкидыш, который диагностировался у 37,14±5,02% беременных в 1 группе и 36,67±7,16% – во 2 группе. У 28,57±4,72% беременных 1 группы и у 26,67±6,62% 2 группы во втором триместре беременности сохранялись клинические признаки угрожающего прерывания беременности. В 10±4,37% во втором триместре у пациенток 2 группы угроза прерывания беременности сопровождалась увеличением и дегенеративными изменениями миоматозных узлов. В третьем триместре беременности у женщин 2 группы в 43,33±7,42% случаев диагностировались угрожающие преждевременные роды, в 90±5,48% выявлялись дегенеративные изменения в миоматозных узлах, и в 10±5,42% диагностировалась хроническая плацентарная недостаточность и СЗРП.

В нашем исследовании женщины с величиной миоматозных узлов более 5 см и дегенеративными изменениями в них при беременности, с нарушением маточно-плацентарно-плодового кровотока были родоразрешены путем операции кесарева сечения с последующей миомэктомией в 100% случаев. В 1 группе роды через естественные родовые пути прошли у 97,14±2,28% женщин. Наиболее частыми осложнениями в родах были: вторичная слабость родовой деятельности – 17,14±3,61%, дискоординация родовой деятельности – 8,57±3,21%. В группе контроля аномалии родовой деятельности диагностировались у 5,71±2,27% беременных.

Исследование первичных продуктов перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) в сыворотке крови у женщин с миомой матки не выявило достоверных различий в исследуемых группах при беременности. Через 1 месяц после родов отмечено снижение диеновых конъюгатов: в 2,7 раза в 1 группе, в 2,2 раза – во 2 группе, в 2,3 раза – в 3 группе. Уровень малонового диальдегида, одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов, в 35-36 недель беременности был достоверно выше в 1 группе женщин по сравнению с показателями 2 группы и группы контроля, и начинал снижаться с 5-7 дня после родов со стабилизацией показателя через 1 год. Низкие значения малонового диальдегида определялись через 1 месяц после родов в 1 группе 2,41±0,07 мкмоль/л, во 2 группе 2,39±0,06 мкмоль/л, и достоверно различались с показателями группы контроля (2,81±0,13 мкмоль/л; $p<0,05$).

Снижение антиоксидантной защиты в сроке 36 недель гестации проявлялось достоверным понижением уровня α -токоферола в сыворотке крови у женщин 1 (8,1±1,25 мкмоль/л) и 2 групп (12,8±1,52 мкмоль/л) по сравнению с показателями группы контроля (17,43±7,89 мкмоль/л; $p<0,05$). Через 1 год после родов во 2 группе отмечалось достоверное повышение уровня α -токоферола (11,4±0,94 мкмоль/л), по сравнению с показателями группы контроля (6,78±0,82 мкмоль/л; $p<0,05$).

Выводы. Таким образом, патологическая трансформация матки при миоме является фоном для осложненного течения беременности, послеродового периода, что отражается в общей реакции организма, выражающейся в изменении процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты.

Литература

1. Koleva Z. et al. Large uterine myoma during pregnancy and delivery-choice of management // Akush. Ginekol. (Sofia). – 2001. – Vol. 41, № 1. – P. 33-35.
2. Salvador E., Bienstoch J., Blakemore K.I. Leiomyoma uteri, genetic amniocentesis, and the risk of second-trimester spontaneous abortion // Am. J. Obstet Gynecol. – 2002. – Vol. 186, № 5. – P. 913-915.

РОЛЬ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ У КРЫС, АДАПТИРОВАННЫХ К СТРЕССУ

Лазуко С. С.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь, lazuko71@mail.ru

Состояния, связанные с эндотелиальной дисфункцией, сопровождаются снижением биодоступности NO и, как следствие, нарушением тонуса сосудов сердца. Синтез NO в организме осуществляется посредством трех изоформ NO-синтазы: эндотелиальной, нейрональной и индуцибельной. Известно, что NO, образующийся iNOS, имеет важное значение в проявлении адаптационных эффектов прекондиционирования [1]. Большое значение имеет монооксид азота, продуцируемый iNOS, в формировании кардио- и вазопротективных эффектах, возникающих под влиянием интермиттирующей гипоксии [2]. Однако мало данных о роли iNOS в механизмах регуляции системного артериального давления у крыс, адаптированных к стрессу.

Цель исследования – изучить вклад индуцибельной NO-синтазы в механизмы регуляции системного артериального давления у крыс, адаптированных к стрессу.

Материалы и методы. Все животные были разделены на группы: 1-я – «контроль» (n=12); 2-я – «стресс» (n=10); 3-я – «адаптация» (n=8); 4-я – «адаптация+стресс» (n=8); 5-я – группа животных, которым в процессе адаптации внутрибрюшинно вводили S-MT, (n=8) (S-MT, 3 мг/кг массы тела за 30 минут до начала процедуры), «адаптация+ в/б S-MT»; 6-я – группа животных перенесших 6-часовой иммобилизационный стресс на фоне предварительной адаптации с внутрибрюшинным введением S-MT (n=8), «адаптация+стресс+ в/б S-MT».

Артериальное давление (АД) у крыс определяли неинвазивным методом с использованием системы NIBP фирмы Panlab. Адаптацию короткими

стрессорными воздействиями и стресс моделировали по методикам, описанным ранее. Концентрацию iNOS; eNOS и ИЛ-1 β в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Концентрацию С-реактивного белка в сыворотке крови определяли иммунотурбидиметрическим методом при использовании диагностического набора C-Reactive Protein (CRP), BioSystems (Испания). Супероксиддисмутазу (СОД) определяли с использованием набора реактивов для спектрофотометрического определения фермента супероксиддисмутазы.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью стандартного пакета статистических программ «STATISTICA 10.0» и «MS Excel».

Результаты и их обсуждение. В группе животных «стресс» САД, ДАД, СрАД снижались на 7, 20 и 15%, соответственно ($p < 0,05$, по сравнению с контролем). ЧСС при этом увеличивалась на 20% ($p < 0,05$). В группах «адаптация» и «адаптация+ стресс» САД, ДАД, СрАД и ЧСС не отличались от контрольных показателей. Внутривнутрибрюшинное введение S-MT, в период адаптации животных к стрессу (группа «адаптация+ в/б S-MT»), сопровождалось увеличением САД, ДАД, СрАД на 11, 12 и 12%, соответственно ($p < 0,05$). В группе «адаптация+ в/б S-MT» ЧСС увеличивалась на 20% ($p < 0,05$). В группе «адаптация+стресс+в/б S-MT» параметры САД, ДАД, СрАД были выражены в той же степени, что и при стрессе. ЧСС при этом увеличивалось на 30% ($p < 0,05$). Таким образом, внутривнутрибрюшинное введение блокатора S-метилизотиомочевина увеличивает тонус периферических сосудов, что сопровождается ростом системного артериального давления, а после перенесенного стресса приводит к постстрессорной гипотонии сосудов.

В группе животных, перенесших стресс, содержание эндотелиальной изоформы NO-синтазы в сыворотке крови снижалось на 78%, а индуцибельной – возрастало в 9 раз. В группе «адаптация» содержание фермента eNOS увеличивалось в 1,8 раза, а концентрация iNOS не отличалась от контрольных показателей. В группе «адаптация+стресс» значения концентрации eNOS и iNOS были сопоставимы с таковыми в контроле. Концентрация eNOS в группе животных «адаптация+ в/б S-MT» снижалась на 78%, значения iNOS не изменялись. В группе животных «адаптация+стресс+в/б S-MT» содержание eNOS уменьшалось на 69%, а iNOS возрастало в 2,2 раза.

В группах животных, перенесших стресс, «адаптация+ в/б S-MT» и «адаптация+стресс+ в/б S-MT», концентрация СОД и КАТ в гомогенате миокарда снижалась в одинаковой степени в среднем на 47% ($p < 0,05$, по сравнению с контролем). Адаптация сопровождалась увеличением концентрации СОД и КАТ в одинаковой степени на 20% ($p < 0,05$).

В группах «стресс», «адаптация+ в/б S-MT» и «адаптация+стресс+ в/б S-MT» наблюдалось увеличение концентрации С-реактивного белка в сыворотке крови животных в 2 в 2,8 раза, соответственно ($p < 0,05$). Напротив, в группах «адаптация» и «адаптация+стресс» концентрация С-реактивного белка не отличалась от показателей группы «контроль». Содержание ИЛ-1 β

в группах «стресс», «адаптация+в/б S-MT» и «адаптация+стресс+ в/б S-MT» превышало контрольный уровень более чем в 36 раз. Концентрация ИЛ-1 β в сыворотке животных группы «стресс», «адаптация+в/б S-MT» и «адаптация+стресс+ в/б S-MT» составляла 22,3, 22,4, 28 пг/мл, соответственно ($p < 0,029$, для сравнения в контроле 0,6 пг/мл).

Выводы. Таким образом, блокада индуцибельной NO-синтазы в период формирования адаптации к стрессу сопровождается развитием системного воспаления низкой интенсивности, уменьшения антиоксидантной защиты и снижения концентрации эндотелиальной NO-синтазы. Подобные изменения могут быть рассмотрены как факторы, увеличивающие тонус периферических сосудов, что сопровождается ростом системного артериального давления.

Литература

1. Guo Y. et al. Exercise-induced late preconditioning is triggered by generation of nitric oxide // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2001. – Vol. 33. – P. 41-46.
2. Manukhina E.B., Downey H.F., Mallet R.T. Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia // Exp. Biol. Med. – 2006. – Vol. 231, № 4. – P. 343-365.

ЛОКАЛЬНЫЙ ОКСИДАТИВНЫЙ СТАТУС ЯИЧНИКОВ У ПАЦИЕНТОК С ЭНДОМЕТРИОИДНЫМИ КИСТАМИ

Ларин К. В., Бугеренко К. А., Щербакова Л. Н.,
Панина О. Б., Проскурнина Е. В.

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»,
Москва, Россия, *washthestample@gmail.com*

Тяжелое течение эндометриоза часто сопровождается образованием эндометриоидных кист, причем после хирургического лечения эндометриоидных кист яичников снижается овариальный резерв. Механизм угнетения функции яичников при этом окончательно не выяснен, но известно, что нарушение свободнорадикального гомеостаза при эндометриозе играет важную роль.

Цель. Исследовать локальный оксидативный статус ткани яичника у женщин с эндометриоидными кистами и сопоставить полученные данные с размером кисты и содержанием антимюллера гормона (АМГ).

Материалы и методы. В работу были включены 15 пациенток с эндометриоидными кистами (10 с двусторонним поражением яичников, 5 с односторонним), таким образом, в основной группе была исследовано 30 образцов ткани яичника.

Группа сравнения включала 4 пациенток с доброкачественными опухолями яичников (зрелая тератома, серозная цистаденома), 4 с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), оперированных с целью создания искусственной непроходимости маточных труб, т. е. в контрольной группе было изучено 16 образцов ткани яичников. Образцы ткани получали интраоперационно путем биопсии. Масса образцов примерно 50 мг.

Критериями исключения являлись: возраст старше 40 лет, онкологические заболевания, острые воспалительные заболевания, системные заболевания.

Интраоперационно степень распространённости наружного генитального эндометриоза оценивалась по шкале Американского общества по репродуктивному здоровью, 1996.

Средний возраст в группе пациенток с эндометриоидными кистами составил 31.2 ± 2.9 года. Средний возраст пациенток группы сравнения составил 29.1 ± 3.9 года.

Радикал-продуцирующую активность ткани изучали методом спонтанной люцигенин-активированной хемилюминесценции в условиях аэрации кислород-содержащей газовой смесью (радикал-продуцирующая активность митохондрий) и после добавления НАДН (активность НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы).

Результаты и их обсуждение. Люцигенин-активированная хемилюминесценция в условиях аэрации кислородсодержащей газовой смесью (75% N₂, 20% O₂, 5% CO₂) была примерно одинаковой для ткани яичника без эндометриоза и ткани яичника, прилежащего к эндометриодной кисте (таблица), что свидетельствует о неизменной радикал-продуцирующей функции митохондрий.

При добавлении НАДН интенсивность хемилюминесценции значительно возрастала в контрольной группе. У пациенток с эндометриоидными кистами этот показатель был как минимум на порядок ниже, чем в контрольной группе (таблица), причем он коррелировал с размером кисты. Чем больше по размеру была эндометриоидная киста, тем менее выраженной была активность НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы. Известно, что этот фермент принимает участие в поддержании антиоксидантного статуса клетки, в частности, за счет восстановления коэнзима Q10. Коэффициент корреляции Спирмена между размером эндометриодной кисты и люцигенин-активированной хемилюминесценцией в присутствии НАДН составил 0.45.

Для изучения взаимосвязи между уровнем АМГ и активностью НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы рассчитывали средний коэффициент стимуляции между правым и левым яичником. Нами была выявлена прямая корреляция между коэффициентом стимуляции ($КС = I_{\text{НАДН}} / I_{\text{аэр}}$) и уровнем АМГ. Коэффициент корреляции Спирмена составил 0.67, т. е. у пациенток с низким овариальным резервом наблюдалась меньшая активность НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы.

Таблица – Люцигенин-активированная хемилюминесценция в условиях аэрации ($I_{\text{аэр}}$), НАДН-стимулированная хемилюминесценция ($I_{\text{НАДН}}$) и коэффициент стимуляции (КС) ткани яичника пациенток с эндометриодной кистой и в контрольной группе

	Основная группа (n=15)	Контрольная группа (n=8)	p
$I_{\text{аэр}}$	0.10 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.67
$I_{\text{НАДН}}$	0.83 ± 0.15 для кист размером больше 4 см, n=7 3.1 ± 0.6 для кист размером меньше 4 см, n=8	22 ± 3	0.0001 0.0001
КС	8 ± 2 для кист размером больше 4 см, n=8 33 ± 6 для кист размером меньше 4 см, n=7	230 ± 20	0.00005 0.00006

Выводы. Развитие эндометриоидных кист приводит к снижению активности НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы в ткани яичника, что может быть интерпретировано как локальный оксидативный стресс в яичнике. Активность этого фермента коррелирует как с размером кисты пораженного яичника, так и с уровнем АМГ. Можно предположить, что продукция радикалов и овариальный резерв связаны между собой.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-015-00234.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СИСТЕМЫ В КРОВИ И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ КОРРЕКЦИИ ПРЕРЫВИСТОЙ МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Лелевич В. В., Виницкая А. Г.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
vinitskaya@tut.by

Печень является органом, в котором в основном происходит метаболизм препаратов, в частности – морфина. Считается, что одним из определяющих механизмов гепатотоксичности морфина является развитие окислительного стресса [1, 2]. Так, при длительном введении морфина в организм возникает нарушение свободнорадикального гомеостаза печени, которое приводит к цитолизу гепатоцитов, проявлением которого является увеличение активности аминотрансфераз в сыворотке крови [3]. Учитывая необходимость привлечения фундаментальных знаний для разработки медикаментозных методов лечения опиоидной зависимости, целесообразно изучение состояния прооксидантной и антиоксидантной систем (АОС) крови и печени при прерывистом введении морфина.

Цель исследования – оценка влияния прерывистой морфиновой интоксикации (ПМИ) и назначения на ее фоне аминокислотных препаратов Тавамин и Нейрамин на некоторые показатели, характеризующие состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ) и АОС крови и печени крыс.

Материалы и методы. В эксперименте были использованы белые крысы-самцы массой 150-220 г. ПМИ моделировали путем циклического, внутрибрюшного введения крысам 1% раствора морфина гидрохлорида по схеме «4 суток морфин + 3 суток отмены». Всего было использовано три цикла введения морфина (1-й цикл – по 15 мг/ кг/сутки, 2-й и 3-й циклы – по 30 мг/кг/сутки) (1-я группа – ПМИ). Во 2-й группе в свободные от морфина периоды времени, внутрижелудочно, вводили препарат Тавамин (500 мг/кг/сутки). В 3-й группе на фоне ПМИ внутрижелудочно вводили препарат Нейрамин (200 мг/кг/сутки). Контрольная группа была сформирована из крыс, которым внутрибрюшинно, 2 раза в сутки, вводили эквивалентные количества физиологического раствора, используя прерывистую схему введения, как в группах ПМИ.

После декапитации животных были выделены кровь, которую разделяли на плазму, эритроциты и печень. Образцы хранились в условиях высокой заморозки. В плазме, эритроцитах, и гомогенатах печени определяли интенсивность процесса ПОЛ по концентрации первичных и вторичных продуктов – диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА), а также некоторые показатели АОС (активность каталазы, содержание α -токоферола, ретинола и церулоплазмينا). Достоверность различий между группами оценивали параметрическим методом с применением дисперсионного анализа (ANOVA) и измерения t критерия Стьюдента с использованием поправки Бонферрони.

Результаты и их обсуждение. Прерывистое введение морфина сопровождалось статистически значимым повышением содержания ДК в плазме крови, тогда как уровни церулоплазмينا, α -токоферола и МДА достоверно не изменились. Более выраженные изменения изученных показателей произошли в печени. Они заключались в повышении содержания ДК и МДА, что указывало на активацию ПОЛ в печени при ПМИ. В то же время в печени снизились активность каталазы и уровень α -токоферола, свидетельствующие об уменьшении активности АОС. Следовательно, прерывистая морфиновая интоксикация, как и хроническая [3], сопровождается развитием окислительного стресса, что можно определить как один из механизмов гепатотоксичности морфина.

Введение Тавамина на фоне ПМИ не снижало в крови повышенный уровень ДК. При этом в плазме крови и эритроцитах выросло содержание МДА по сравнению с группой ПМИ. Более выраженный корригирующий эффект Тавамина проявился в печени, где данный препарат повышал активность каталазы и содержание α -токоферола, на фоне снижения содержания продуктов ПОЛ относительно группы ПМИ. Эти изменения свидетельствовали об одновременном снижении уровня ПОЛ и активации АОС в печени под действием препарата Тавамин.

Нейрамин также обладает определенным корригирующим действием на показатели ПОЛ при ПМИ. В плазме крови данный препарат нормализовал повышенный уровень ДК и снизил, в сравнении с контролем, содержание МДА. В печени крыс Нейрамин нормализовал сниженную активность каталазы, не меняя показателей неферментативного звена АОС. Одновременно Нейрамин способствовал нормализации уровней ДК и МДА в печени относительно контроля.

Полученные данные свидетельствуют о позитивном влиянии препаратов Тавамин и Нейрамин на свободнорадикальные процессы в крови и печени, активированные под действием ПМИ. Выраженность этих эффектов была разной, что следует учитывать при интегральной оценке данных препаратов как средств метаболической коррекции ПМИ в совокупности с изменениями других показателей обмена веществ.

Литература

1. Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П., Сахарова Е.Г. и др. Гистопатология и ультраструктура печени при действии наркотических веществ в сочетании с вирусами гепатита С и D // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 128, № 9. – С. 351-355.

2. Matsunaga Y., Teroda T. Perbiliary capillary plexus around interlobular bile ducts in various chronic liver diseases // *Pathol. Int.* – 1999. – Vol. 49, № 1. – P. 869-873.

3. Панченко Л.Ф., Перегуд Д.И., Яковлев А.А. и др. Влияние синдрома отмены морфина на показатели свободнорадикального гомеостаза и систему оксида азота в печени и тимусе крыс // *Биомедицинская химия.* – 2004. – Т. 50, Вып. 5. – С. 460-470.

МАГНИТНОЕ ПОЛЕ И МЕХАНИЗМЫ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА КРОВЬЮ

Лепеев В. О., Зверко Э. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
lepeev@ya.ru

Физиологический эффект действия магнитного поля (МП) обуславлен образованием под их влиянием активных форм молекул, участвующих в метаболизме и играющих важную роль в проявлении физиологической активности тканей, органов и систем, регуляции процессов жизнедеятельности [1]. Особый интерес в понимании механизмов действия в ответ на магнитное воздействие представляет новый класс молекулярных посредников. Газотрансмиттеры, такие как монооксид азота (NO) и сероводород, обеспечивают различные механизмы межклеточных и внутриклеточных коммуникаций, а также адаптативные процессы в организме [2].

В данной работе выполнен анализ возможного механизма в реализации эффектов МП на механизмы транспорта кислорода кровью.

В экспериментах *in vitro*, получены нами данные, свидетельствующие о влиянии МП на кислородтранспортную функцию крови, проявляющуюся в уменьшении сродства гемоглобина к кислороду и увеличении содержания общих нитрат/нитритов в плазме крови, а при введении ингибитора фермента NO-синтазы (L-NAME) не было выявлено данных изменений. Сродство гемоглобина к кислороду определяется в значительной степени взаимодействием между гемопротеидом и различными физиологическими модуляторами, которые в совокупности на уровне клеточного компартмента крови образуют автономную внутриэритроцитарную систему регуляции [3].

Вклад NO в механизмы регуляции кислородсвязывающих свойств гемоглобина представлен в результатах нашего другого исследования. Опыты были выполнены на крысах-самцах массой 250-300 г, которым проводили облечение хвостовой артерии МП и инфузию интраперитонеально препаратов, корригирующих систему газотрансмиттеров, в течение 10 суток. Установлено, что МП обуславливает уменьшение сродства гемоглобина к кислороду и реализуется при участии L-аргинин-NO системы: отмечается увеличение концентрации метаболитов NO (нитрат/нитритов). Доказано, что наиболее чувствительными элементами системы крови являются мембраны эритроцитов,

в которых локализован фермент NO-синтаза. Очевидно, МП вызывает определенные изменения функционирования L-аргинин-NO-системы. С одной стороны, это может быть обусловлено повышением концентрации свободного эндогенного NO, а с другой, то, что данная молекула может способствовать активации гемопротеидов и увеличивает сродство гемоглобина к кислороду, тем самым увеличивая оксигенацию крови. Данные эффекты обусловлены как прямым воздействием NO на гемоглобин, так и опосредованным – через кислородзависимые механизмы регуляции образования NO. Установлено, что данная сигнальная молекула выполняет роль аллостерического эффектора в отношении гемоглобина, изменяя его сродство к кислороду и определяя состояние КТФ крови [4]. Гемоглобин способен связывать NO не только в результате образования комплексов с гемовым железом, но и путем образования комплексов с тиоловыми группами, обеспечивая защиту клеток от избыточного образования NO [5].

Изменение сродства гемоглобина к кислороду при действии МП реализуется также через другой газовый посредник – сероводород, который выступает в качестве важного модификатора его функциональных свойств. Выявлена содружественность в действии данных газотрансмиттеров на кислородтранспортную функцию крови. Так, было доказано однонаправленное уменьшение сродства гемоглобина к кислороду при введении донора сероводорода гидросульфида натрия и L-аргинина и отсутствием сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина при введении необратимого ингибитора фермента цистотионин-γ-лиазы (PAG). Данные эффекты могут быть обусловлены общим взаимодействием между механизмами продукции NO и сероводорода [6]. Сероводород может регулировать продукцию NO за счет модуляции экспрессии и активности различных изоформ фермента NO-синтазы [7]. Так, введение сероводорода активирует эндотелиальную NO-синтазу и проявляет защитный эффект при ишемических повреждениях сердца [8]. В то же время показано, что экзогенное применение донора NO (нитропрусида натрия) усиливает экспрессию ферментов цистатионин-β-синтазы и цистатионин-γ-лиазы, увеличивая продукцию сероводорода в тканях крыс [9].

Как видим, в сложно организованной иерархии системы газотрансмиттеров существует определенный синергизм между механизмами действия NO и сероводорода в реализации кислородтранспортной функции крови в условиях действия МП, что подтверждается и в проведенных нами опытах с направленной коррекцией образования сероводорода и NO.

Таким образом, полученные нами данные обосновывают использование МП, изменяющего активность системы газотрансмиттеров для коррекции кислородтранспортной функции крови организма при кислороддефицитных состояниях.

Литература

1. Улащик В.С. и др. Магнитотерапия: теоретические основы и практическое применение / Под общ. ред. В.С. Улащика. – Минск: Беларуская навука, 2015. – 379 с.
2. Черток В.М., Зенкина В.Г. Регуляция функции яичников: участие газовых транзиттеров NO, CO и H₂S // Успехи физиологических наук. – 2015. – № 4. – С. 74-89.

3. Зинчук В.В., Гацура С.В., Глуткина Н.В. Коррекция кислородтранспортной функции крови при патологии сердечно-сосудистой системы: монография. Гродно: ГрГМУ. – 2016. – 310 с.
4. Зинчук В.В., Степура Т.Л. NO-зависимые механизмы внутриэритроцитарной регуляции сродства гемоглобина к кислороду: монография. – Гродно: ГрГМУ, 2016. – 175 с.
5. Киричук В.Ф., Цымбал А.А. Закономерности и механизмы биологического действия электромагнитных волн терагерцевого диапазона. – Саратов: Изд-во Саратов. гос. мед. ун-та, 2015. – 291 с.
6. Kolluru G.K., Prasai P.K., Kaskas A.M., Letchuman V., Pattillo C.B. Oxygen tension, H₂S, and NO bioavailability: is there an interaction? // Journal of Applied Physiology. – 2016. – Vol. 120. – P. 263-270.
7. Altaany Z., Yang G., Wang R. Crosstalk between hydrogen sulfide and nitric oxide in endothelial cells // Journal of Cellular and Molecular Medicine. – 2013. – Vol. 17, № 7. – P. 879-888.
8. Yong Q.C., Lee S.W., Foo C.S., Neo K.L., Chen X., Bian J.-S. Endogenous hydrogen sulphide mediates the cardioprotection induced by ischemic postconditioning // The American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology. – 2008. – Vol. 295, № 3. – P. 1330-1340.
9. Zhao W., Ndisang J. F., Wang R. Modulation of endogenous production of H₂S in rat tissues // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 2003. – Vol. 81, № 9. – P. 848-853.

РЕЦЕПЦИЯ СОСТОЯНИЯ ГИПЕРГЛИКЕМИИ И ГИПЕРНАТРИЕМИИ КИШЕЧНЫМИ И ПОЧЕЧНЫМИ АФФЕРЕНТАМИ

Люзина К. М.¹, Ясючя Р. Н.², Чумак А. Г.¹

¹Белорусский государственный университет

²Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

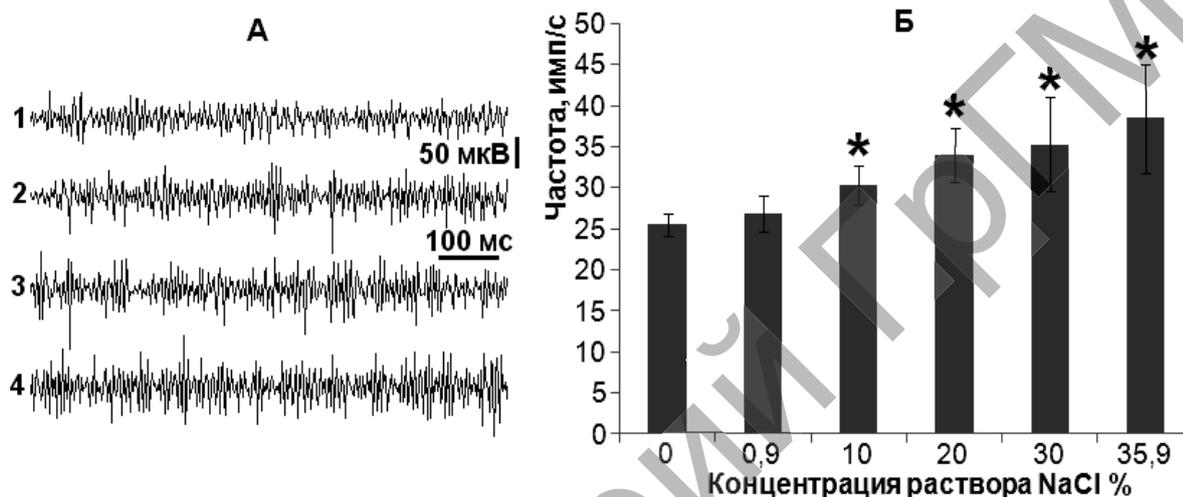
ChumakA@bsu.by

Гипергликемическое и гиперосмолярное состояние организма часто связывают с развитием окислительного стресса на том основании, что рост содержания в крови не утилизируемой глюкозы сопровождается развитием дисфункции эндотелия и накоплением в клетках активных форм кислорода и азота [4]. Сообщалось, что при этом могло резко и пролонгированно меняться содержание в крови ионов натрия [5]. Означенные значительные колебания гомеостатических констант внутренней среды организма не могут не отслеживаться нервной системой, что предполагает сенсорную рецепцию глюкозы и натрия в ключевых рецептивных полях внутренней среды. Логично полагать, что такими специфическими рецептивными полями могут выступить тонкая кишка и почка, органы, соответственно, всасывания и реабсорбции нутриентов.

Цель исследования – идентификация сенсорных рецепторов, воспринимающих колебания концентрации глюкозы и ионов натрия, в кишке и почке по показателям активности афферентных волокон в брыжеечных и почечных нервах.

Применены методы электрофизиологического анализа афферентной активности в брыжеечных и почечных нервах наркотизированных уретаном лабораторных крыс ($n=27$) с соблюдением принципов биоэтики. Подробное описание методики приведено в [2].

В опытах установлено, что введение в кишку растворов глюкозы или NaCl увеличивало частоту и амплитуду афферентных импульсов в блуждающем нерве, как это описано в [1]. При фоновом значении частоты импульсации, равном $25,5 \pm 1,4$ имп/с, достоверное ее увеличение (до $33,9 \pm 3,2$ имп/с) вызвала инфузия 10% раствора соли. Изотонический 0,9% раствор NaCl, введенный в тех же условиях, реакции не вызывал (рисунок).



А: 1 – до, 2, 3, 4 – после внутрикишечного введения 10, 20 и 30% раствора NaCl, соответственно; Б: * – достоверное изменение частоты по сравнению с фоном при $p < 0,05$, $n = 15$

Рисунок – Изменение афферентной импульсации в вагусе до и после внутрикишечного введения растворов NaCl 0,9; 10; 20; 30; 35,9%

Усиление центростремительной импульсации обнаружено и в почечном нерве, после введения в кровоток растворов NaCl. Изотонический раствор не вызывал реакции, на введение 0,5 мл 5% раствора отмечено незначительное увеличение частоты, а введение 10% раствора дало прирост импульсации до $113,3 \pm 10,3$ имп/с при уровне фона $60,2 \pm 0,5$ имп/с ($n=12$, $p < 0,05$) с длительностью эффекта до 2 ч. Более высокие концентрации давали необратимые эффекты.

Интенсификацию импульсации в блуждающих и почечных нервах вызывала и физиологическая гипергликемия. После введения в двенадцатиперстную кишку 0,5 мл 20% раствора глюкозы максимум центростремительной импульсации зарегистрирован на 15-20 минут. Аналогично, рост интенсивности афферентных импульсов в блуждающих и брыжеечных нервах отмечен после введения растворов глюкозы в бедренную вену (20% раствор, 0,5 мл, $n=10$, $p < 0,05$). После гипергликемического воздействия обнаружена достоверная долговременная (до 2 часов) активация афферентных волокон (рост

частоты от $59,5 \pm 0,5$ до $109,2 \pm 8,7$ имп/с) и в почечных нервах. Эффекты гипергликемии отменялись предварительным введением в кровоток или кишку растворов флоридзина (20 мг/кг в 0,5 мл физиологического раствора), специфического ингибитора зависящего от натрия транспортера глюкозы, с развитием глюкозурии, что указывает на детекцию в описанных опытах в кишке и почке именно глюкозы и натрия, а не осмолярных их эффектов.

Понятие *сенсорная рецепция* предполагает наличие в афферентном звене соответствующей сенсорной системы не только специфических мембранных рецепторов, но и активно возбуждающихся нервных проводников, несущих информацию о действии контролируемого лиганда, в виде частотного кода, в центральную нервную систему. Поэтому обнаруженные закономерности служат доказательством того, что в кишке и почке постоянно контролируется содержание глюкозы и ионов натрия на уровне интероцептивной сенсорной системы. Мембранные рецепторы, чувствительные к глюкозе, в этих органах обнаружены методами молекулярной биологии [3].

Литература

1. Люзина К.М. Электрофизиологический анализ вовлечения натрия в рецепцию процесса всасывания глюкозы // Новости мед.-биол. наук. – 2009. – № 1-2. – С. 31-34.
2. Ясюченя Р.Н., Люзина К.М., Чумак А.Г. Рецепция глюкозы сенсорными волокнами почечного нерва // Вестн. БГУ. Сер. 2. Химия. Биология. География. – 2016. – № 2. – С. 44-50.
3. Fioramonti X., Chrétien C., Leloup C. et al. Recent Advances in the Cellular and Molecular Mechanisms of Hypothalamic Neuronal Glucose Detection // Front Physiol. – 2017. – Vol. 14, № 8. – P. 875.
4. Stoner G.D. Hyperosmolar Hyperglycemic State // Am. Fam. Physician. – 2017. – Vol. 96, № 11. – P. 729-736.
5. Vigil D., Ganta K., Sun Y. et al. Prolonged hypernatremia triggered by hyperglycemic hyperosmolar state with coma: A case report // World J. Nephrol. – 2015. – Vol. 4, № 2. – P. 319-23.

РОЛЬ NO В РАЗВИТИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У КРЫС С РЕПЕРFUЗИОННЫМ СИНДРОМОМ ПОСЛЕ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Максимович Н. Е.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
mne@grsmu.by, zinchuk@grsmu.by

Окислительный стресс (ОС) – один из компонентов биохимического каскада при повреждении головного мозга (ГМ) реперфузионного генеза. Составляющей окислительного стресса является так называемый «нитрозативный стресс», обусловленный монооксидом азота (NO) и его активными формами [1, 2]. Его выработка происходит при участии трех видов изоформ

NO-синтазы – эндотелиальной (eNOS), нейрональной NOS (nNOS) и индуцибельной (iNOS), в связи с чем каждая из изоформ NO-синтазы может вносить определенный вклад в развитие ОС при восстановлении кровотока в ГМ [3, 4]. Вопрос о роли NO в развитии ОС при реперфузионном повреждении ГМ после ишемии требует детализации.

Целью исследований является изучение роли NO в развитии ОС у крыс с реперфузионным синдромом ГМ.

Материалы и методы. Изучение показателей, характеризующих окислительные процессы, осуществляли у 128 белых беспородных крыс-самцов массой 220-250 г в 7 группах, (по 16 крыс). Крысам 2-7-й групп осуществляли моделирование ишемии-реперфузии ГМ (ИРГМ) в условиях в/в тиопенталового наркоза (40-60 мг/кг) путем 30 минут окклюзии общих сонных артерий с последующей 30-минутной (ранний период) или 24-часовой (поздний период) реперфузией. Для выяснения роли NO в развитии ОС осуществляли модуляцию пути L-аргинин-NO с помощью ингибиторов NOS и субстрата NOS – L-аргинина. Крысам 1-й гр. (контроль) и 2-й гр. вводили изотонический раствор NaCl (0,5мл), 3-й гр. – неселективный ингибитор NOS - N ω -nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME), 5мг/кг, 4-й гр. – селективный ингибитор nNOS – 7-nitro-Indazole (7-NI), 10 мг/кг, 5-й – селективный ингибитор iNOS S-Methylthiourea (S-MT), 1мг/кг, 6-й – совместно селективные ингибитор нейрональной и iNOS S-Methylthiourea (S-MT), 7-й – совместно 7-NI и S-MT в сочетании с L-аргинином. Препараты вводили в бедренную вену непосредственно после окклюзии общих сонных артерий. Активность процессов ПОЛ в ГМ оценивали по концентрации диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) в гомогенатах ГМ, определяемых по общепринятым методам. Полученные данные обработаны методами описательной статистики.

Результаты и их обсуждение. При исследовании показателей ПОЛ в ГМ крыс с ИРГМ (гр. 2) в ранний период выявлено достоверное увеличение ДК и МДА ($p < 0,05$). У крыс с введением L-NAME (гр. 3) наблюдали более значительное увеличение активности ПОЛ по сравнению с группой «контроль» ($p < 0,05$) и по сравнению со 2-й гр. без введения ингибитора ($p < 0,05$), что свидетельствовало о способности неселективного ингибитора L-NAME повышать активность ОС в ГМ.

Введение 7-NI (гр. 4) привело к уменьшению концентрации продуктов ПОЛ в оба периода, что свидетельствовало об участии NO, образуемого nNOS, в механизмах ОС в мозге крыс в оба периода его ишемии-реперфузии. С повышенной активностью nNOS и гиперпродукцией NO при ее участии связаны механизмы глутаматной эксайтотоксичности при ишемическом повреждении ГМ [2, 3, 4]. Введение S-MT (гр. 6) не вызвало изменений в ГМ уровня продуктов ПОЛ в ранний период ИРГМ, однако привело к уменьшению выраженности ОС в поздний период, демонстрируя вклад NO макрофагального происхождения в развитие ОС. Прооксидантное действие образующегося при участии нейрональной и индуцибельной NO-синтаз оксида азота связано со способностью NO образовывать сильный окислитель – пероксинитрит.

В высоких концентрациях пероксинитрит и его продукты (гидроксильный радикал и нитрит) способствуют нейродегенеративным изменениям [4].

При совместном введении 7-NI и S-MT (гр.6) корригирующий эффект был более значим по сравнению с изолированным введением селективных ингибиторов ($p < 0,05$) и еще более выраженным был корригирующий эффект после введения обоих селективных ингибиторов и L-аргинина – гр. 7 ($p < 0,001$).

У крыс 8-й гр. с совместным введением 7-NI, S-MT и L-аргинина наблюдали наиболее значительное снижение активности окислительных процессов. По сравнению с 7-й гр. (7-NI+S-MT) отмечали достоверное снижение ДК и МДА в оба изучаемые периода ($p < 0,001$), а определяемые показатели не отличались от их значений в группе контроль ($p > 0,05$). Анализ показателей ПОЛ в данной группе дает основание говорить о наличии у NO, образованного при участии eNOS, антиоксидантных эффектов у крыс с реперфузионным синдромом ГМ. В нейронах они обусловлены подавлением NMDA-рецепторной активности нейронов, которая в условиях дефицита L-аргинина является причиной избыточного образования пероксинитрита, а также путем модулирования клеточных и физиологических процессов [1], в частности, изменение сродства гемоглобина к кислороду [1], путем усиления перфузии мозга и другие [1, 3, 4].

Таким образом, комплексный анализ изолированного и сочетанного применения селективных и неселективных ингибиторов, а также L-аргинина дает основание считать, что роль NO, образованного при участии разных изоформ NO-синтазы, неоднозначна.

Литература

1. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Роль оксида азота в процессах перекисного окисления липидов // *Здравоохранение*. – 1996. – № 11. – С.47-50.
2. Проскуряков С.Я., Коноплянников А.Г., Иванников А.И., Скворцов В.Г. Биология окиси азота // *Успехи современной биологии*. – 1999. – Т. 119, № 4. – С. 380-395.
3. Максимович Н.Е. Понятие о нитроксидаергической системе мозга. Роль нейрональных источников // *Журнал ГрГМУ*. – 2003. – № 4. – С.7-11.
4. Максимович Н.Е. Понятие о нитроксидаергической системе мозга. Роль экстранейрональных источников // *Журнал ГрГМУ*. – 2004. – №1. – С.3-5.

ИЗМЕНЕНИЯ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ И ВВЕДЕНИЯ L-NAME

Максимович Н. Е., Бонь Е. И.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

mne@grsmu.by, e_bon@list.ru

Оксид азота присутствует в головном мозге в составе нейрональных и экстранейрональных источников, формируя нитроксидаергическую систему [1; 2]. Через активацию разных изоформ NO-синтазы он вовлекается в повреждение головного мозга, причем участие нейрональной, макрофагальной и

эндотелиальной NO-синтаз неоднозначно [3, 4, 5]. Ранее проведенными исследованиями показано негативное влияние неселективного ингибитора NO-синтазы – N ω -nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) на течение ишемических повреждений головного мозга [3, 4, 5]. Показано, что развитие повреждения головного мозга характеризуется активацией перекисного окисления липидов, воспаления, способствуя отекообразованию, сопровождается развитием дисфункции эндотелия и активацией гемостаза [3, 4, 5].

Целью исследования явилось изучение изменений в париетальной коре и гиппокампе головного мозга крыс при субтотальной ишемии.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 20 самках беспородных белых крыс массой 230 ± 20 г в условиях в/в тиопенталового наркоза (40-50 мг/кг) с соблюдением требований о защите животных, используемых для научных целей. Контрольную группу (группа 1) составили ложнооперированные крысы, которым производился разрез кожи и в/в вводили изотонический раствор NaCl. Субтотальную ишемию головного мозга ИГМ (группа 2, опыт 1) моделировали путем перевязки обеих общих сонных артерий (ОСА) [6]. Животным второй опытной группы (группа 3, опыт 2) кроме перевязки ОСА вводили неселективный ингибитор NO-синтазы – N ω -nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME), 5 мг/кг. Животных с ИГМ декапитировали после 60-минутной ишемии. После декапитации быстро извлекали головной мозг, кусочки переднего отдела коры больших полушарий фиксировали в жидкости Карнуа. Серийные парафиновые срезы окрашивали 0,1% толуидиновым синим по методу Ниссля. Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование и морфометрию в гистологических препаратах проводили с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (LeicaDFC 320, Германия) и программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США). У каждого животного оценивали не менее 30 нейронов пятого слоя париетальной коры и пирамидного слоя поля СА1 гиппокампа, что обеспечивало достаточный объем выборки для последующего анализа. Результаты анализировали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США).

Результаты и их обсуждение. У крыс с ИГМ выявлено уменьшение количества нормохромных нейронов и увеличение патологических форм нейронов (гипер-, гипохромных нейронов и клеток-теней) в 5-м слое париетальной коры и пирамидном слое гиппокампа. В париетальной коре количество гиперхромных нейронов увеличилось на 11% ($p < 0,05$), гиперхромных сморщенных клеток – на 12% ($p < 0,05$), клеток-теней – на 6% ($p < 0,05$). В гиппокампе отмечали увеличение количества гиперхромных нейронов на 10% ($p < 0,05$), гиперхромных сморщенных клеток – на 13% ($p < 0,05$). У крыс группы ИГМ+L-NAME наблюдалось снижение количества гиперхромных (на 13%, $p < 0,05$) и увеличение количества гиперхромных сморщенных нейронов (на 17%, $p < 0,05$), по сравнению с группой опыт 1 (ИГМ). Кроме того, происходило изменение формы нейронов париетальной коре – уменьшение форм-фактора на 12,55% ($p < 0,05$).

Таким образом, проведение морфологических исследований подтвердило выявленные ранее функциональные изменения в условиях использования неселективного ингибитора NO-синтазы. Угнетение всех компонентов нитрергической системы неблагоприятно сказывается на течении повреждений в головном мозге при его ишемии, в наибольшей степени, как показано ранее, эти изменения обусловлены ингибированием эндотелиальной NOS.

Литература

1. Максимович Н.Е. Понятие о нитроксидергической системе мозга. Роль экстранейрональных источников // Журнал ГрГМУ. – 2004. – №1. – С.3-5.
2. Максимович Н.Е. Понятие о нитроксидергической системе мозга. Роль нейрональных источников // Журнал ГрГМУ. – 2003. – № 4. – С.7-11.
3. Зинчук В.В., Максимович Н.Е. Роль NO-зависимых механизмов в патогенезе ишемии-реперфузии мозга и печени // Нейрохимические механизмы формирования адаптивных и патологических состояний мозга: тез. докл. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 64.
4. Максимович Н.Е. Окислительный стресс в ткани головного мозга крыс с синдромом ишемии-реперфузии и коррекции системы «L-аргинин – NO» // Мат-лы конф. 7-й национальной науч.-практ. конф. с межд. участием «Активные формы кислорода, оксида азота, антиоксиданты и здоровье человека», 14-18 сент. 2011 – Смоленск, 2011. – С. 165-166.
5. Максимович Н.Е. Агрегация тромбоцитов при модуляции пути L-Аргинин-NO у крыс с ишемией головного мозга // Патофизиология и экспериментальная терапия. – 2005. – № 4. – С. 14-15.
6. Hossman K.A. Experimental models for the investigation of brain ischemia // Cardiovascular Research. – 1998. – Vol. 39. – P. 106-120.

ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ У ДЕТЕЙ С ВЫСОКИМ НОРМАЛЬНЫМ АРТЕРИАЛЬНЫМ ДАВЛЕНИЕМ

Максимович Н. А.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь
drmaximovich@mail.ru

Известно, что развитие дисфункции эндотелия (ДЭ) или сниженной эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) у взрослых наблюдается при действии управляемых и неуправляемых факторов риска (ФР) атеросклероза (отягощенная по атерогенной патологии наследственность, ожирение, артериальная гипертензия, гиподинамия, курение, стресс, атерогенная диета, гиперхолестеринемия, избыточное потребление соли и др.) [2, 3, 5].

Целью исследования является оценка физического развития и эндотелий зависимой вазодилатации у детей с высоким нормальным артериальным давлением.

Методы и методы. Исследования выполнены у 324 детей обоего пола в возрасте 8 до 12 лет. По уровню артериального давления (АД) из когорты

детей были сформированы 3 группы детей с предгипертензией (группа 1, n=178) или с высоким нормальным АД (ВНАД), с нормотензией (группа 2, n=50) или с нормальным АД (НАД) и с предгипотензией (группа 3, n=96) или с низким нормальным АД (ННАД).

У всех детей проведена оценка уровня отягощенности ФР атеросклероза. В качестве основных ФР атеросклероза анализировали наличие наследственной отягощенности по сердечно-сосудистой патологии атерогенного генеза у кровных родственников 3-х поколений, наличие повышенного нормального АД, пассивного и/или активного курения, гиподинамии, атерогенного питания и воздействия стресса. Каждому из ФР была присвоена стандартная система оценки: наличие ФР обозначали «единицей», отсутствие – «нулем». Благодаря данному подходу установлен относительный индивидуальный уровень отягощенности ФР каждого испытуемого в единицах (от «0» до «6» условных единиц). Суммарный уровень отягощенности ФР до 2-х условных единиц считали низким, выше 2-х – средним и выше 4-х условных единиц считали высоким или максимальным.

Диагностика повышенного и пониженного артериального давления проводилась общепринятым методом по процентильным сеткам в соответствии с возрастом, полом и ростом пациента [1, 3]. Оценку функционального состояния эндотелия сосудов у всех детей осуществляли путем выполнения теста с реактивной гиперемией на фоне исследования пульсового кровотока (ПК) предплечья, а также его максимального прироста ($\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$) [1, 4] на реоанализаторе (реоанализатор 5А-05, Украина). Полученные результаты обработаны с помощью стандартной лицензионной программы «Statistika 10,0» методами параметрической и непараметрической статистики с использованием критерия Манна-Уитни $p < 0,05$ и представлены в виде среднего квадратичного отклонения ($M \pm \text{STD}$).

Результаты и их обсуждение. При выполнении теста с реактивной гиперемией степень $\Delta\text{ПК}_{\text{макс.}}$ в предплечье у детей с ВНАД составила $10,5 \pm 4,04\%$, что ниже, чем в группах детей с ННАД – $15,4 \pm 3,83\%$ ($p < 0,001$) и с НАД – $16,2 \pm 5,55\%$ ($p < 0,001$). Анализ полученных результатов позволил установить, что у 64% детей с ВНАД имеет место ДЭ или патологическое снижение эндотелийзависимой дилатации сосудов. Между группами с ННАД и с НАД различий в эндотелий зависимой дилатации не выявлено ($p > 0,05$) и она оставалась в пределах нормы, хотя была выше, чем у детей с ВНАД ($p < 0,05$).

Анализ распределения детей по полу, возрасту и длине тела не выявил различий, между отдельными группами ($p < 0,05$), за исключением массы тела. Масса тела детей в 1-й группе с ВНАД была более высокой ($56,1 \pm 14,44$ кг), чем в 3-й группе с ННАД ($47,7 \pm 13,60$ кг, $p < 0,05$) и во 2-й группе - с НАД ($46,9 \pm 12,27$ кг, $p < 0,05$). Ожирение I-й и II-й степени чаще выявлялось (31,5%) среди детей с ВНАД, чем с НАД (6,0%, $p < 0,001$) и с ННАД (26,0%, $p < 0,05$). В подтверждение изложенного индекс массы тела в 1-й группе ($22,1 \pm 4,21$ кг/м²) оказался выше, чем в 3-й ($20,5 \pm 3,69$ кг/м², $p < 0,001$) и во 2-й ($19,6 \pm 2,44$ кг/м²,

$p < 0,001$) группах, а также в контрольной группе ($20,2 \pm 2,75$ кг/м², $p < 0,001$). Как следствие, гармоничное, дизгармоничное и резко дизгармоничное физическое развитие (соответственно) обнаружено у детей с ВНАД в 41,6%, 21,9% и 36,5% случаев, с НАД в 56,0%, 38,0% и в 6,0% случаев, а с ННАД – у 54,2%, 18,8% и 27,1% детей.

Выводы:

1. Установлено, что физическое развитие детей с ВНАД зависит от действия средовых факторов и характеризуется значительной долей детей с ожирением, высоким ростом, и, как следствие - уменьшением квоты детей с нормальной массой тела, гармоничным развитием и увеличением квоты исследуемых с резко дисгармоничным физическим развитием.

2. Установлено, что около 3/4 детей с ВНАД вели малоподвижный образ жизни, имели атерогенное питание, избыточное воздействие стресса, а около 2/3 – активно курили либо подвергались пассивному курению, имели отягощенную наследственность по атерогенным заболеваниям.

Литература

1. Максимович Н.А. Диагностика, коррекция и профилактика дисфункции эндотелия у детей с расстройствами вегетативной нервной системы. – Гродно: УО «ГрГМУ», 2010. – 212 с.
2. Оганов Р.Г. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний в России: успехи, неудачи, перспективы // Терапевтический архив. – 2004. – № 6. – С. 22-24.
3. National high blood pressure education program working group on high blood pressure in children and adolescents / The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents // Pediatrics. – 2004. - V.114. – P. 555-576.
4. Celemajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // Lancet. – 1992. – Vol. 340. – P.1111-1115.
5. Van Horn L., Greenland P. Prevention of coronary artery disease is a pediatric problem // JAMA. – 1997. – Vol. 278. – P. 1779-1780.

ИШЕМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ТОНКОМ КИШЕЧНИКЕ ЖИВОТНЫХ ПРИ ЭНТЕРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Малашко В. В., Бозер В. Т., Малашко Д. В., Кулеш И. В.

Гродненский государственный аграрный университет, Гродно, Беларусь
patvet@mail.ru

Организм животного, в первую очередь желудочно-кишечный тракт, постоянно подвергается вредным воздействиям окружающей среды. Под действием экзогенных и эндогенных факторов нарушаются микрoэкологическое равновесие кишечного биотопа и метаболические процессы в структурах тонкого кишечника животных [1, 3, 2]. При энтеральной патологии у телят и поросят развиваются выраженные нарушения механизмов, обеспечивающих

полостное, мембранное пищеварение, а также всасывание. Дефекты пищеварения обусловлены атрофией ворсинок и микроворсинок, нарушением структуры и ультраструктуры энтероцитов, сорбционных свойств структуры слизистой оболочки, нарушением и развитием ишемических процессов.

Тканевая гипоксия, развивающаяся на фоне патологических изменений в слизистой оболочке тонкого кишечника телят и поросят, приводит как к активации, так и к повреждению эндотелиальных клеток. В условиях гипоксии эндотелиоциты увеличивают секрецию из гранул фактора Виллебранда, т.е. белка, опосредующего адгезию тромбоцитов, и стимулируют активацию эндотелия. По нашему мнению, снижение кровотока играет ключевую роль в образовании эрозий и язв слизистой оболочки тонкого кишечника, а гипоксия вызывает паралич гладких мышц кишечника. Гемо- и лимфомикроциркуляторные расстройства проявляются сужением просвета микрососудов, утолщением и усилением электронной плотности базальной мембраны гемокапилляров, агрегацией эритроцитов и тромбоцитов. В совокупности подобные изменения способствуют ухудшению тканевого газообмена и повреждению слизистой оболочки, что является структурной основой нарушения ее секреторной, переваривающей, всасывающей и барьерной функций.

При ишемических процессах глубокие изменения происходят в митохондриях энтероцитов, эндотелиоцитов, нейронах интрамуральных ганглиев. Органеллы резко набухают, вакуолизируются, матрикс становится электроннопрозрачным, кристы разрушаются. Относительный объем митохондрий ($V_v^{mx}, \%$) по сравнению с контролем возрастает на 18-27% ($p < 0,05$). Снижение плотности капилляров в результате деструкции приводит к ишемии и одновременно к компенсаторному ангиогенезу. Коэффициент васкуляризации слизистой оболочки при энтерите снижается на 9,6% ($p < 0,01$). Отмечено, что наряду со снижением плотности капилляров характерно образование дилатированных и кустиковидных капилляров, которые являются функционально неполноценными и не способны обеспечить адекватное кровоснабжение слизистой оболочки тонкого кишечника. В просвете капилляров наблюдали присутствие фибриноподобной сеточки и ветвящихся цитоплазматических выростов, что в дальнейшем приводит к облитерации сосудов. Установлена взаимосвязь между активностью ангиогенеза и интенсивностью последующего фиброза в слизистой оболочке. Сужение венул, артериол и капилляров играет важную роль в процессе увеличения периферического сопротивления крови, деформация эритроцитов – к развитию гемолитической анемии.

Таким образом, изменение гемодинамических параметров в процессе патологии микроциркуляторного русла необходимо учитывать при организации лечебных мероприятий при заболеваниях желудочно-кишечного тракта у животных.

Литература

1. Карпуть И.М., Борознов С.Л. Иммунная реактивность и болезни телят. – Витебск: ВГАВМ, 2008. – 289 с.

2. Малашко В.В., Микулич Е.Л., Лавушева С.Н. и др. Нервно-сосудистые и метаболические изменения при энтеральной патологии у телят // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр.: / Гродн. гос. аграр. ун-т; В.К. Пестис (отв. ред.). – Гродно, 2017. – Т. 36. – С. 106-124.

3. Vighi G., Marcucci E., Sensi L. et al. Allergy and the gastrointestinal system // Clin. Exp. Immunol. – 2008. – Vol. 153, № 1. – P. 3-6.

СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЗАДНЕЙ СТЕНКЕ ГЛАЗА СПУСТЯ 5 СУТОК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОДПЕЧЕНОЧНОЙ ОБТУРАЦИОННОЙ ЖЕЛТУХИ

Мармыш В. Г., Гуляй И. Э., Кизюкевич Л. С.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
vitalimarmysh@gmail.com

Прекращение энтерогепатической циркуляции желчи и увеличение ее компонентов в тканях внутренней среды организма приводит к развитию эндогенной интоксикации [3, 4]. В доступной литературе мы не нашли данных о структурно-метаболических нарушениях в оболочках глазного яблока в динамике механической желтухи. Представляет несомненный интерес выяснение влияния повышенных концентраций основных компонентов желчи на состояние свободнорадикальных процессов в тканях оболочек глаза.

Цель. Изучить активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты в оболочках задней стенки глаза спустя 5 суток от начала моделирования подпеченочного обтурационного холестаза.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном отношении к животным. В работе использован материал от 20 беспородных белых крыс-самцов, массой 250 ± 50 г. У опытных животных ($n=10$) под эфирным наркозом обтурационный подпеченочный холестаз, продолжительностью 5 суток, моделировали путем перевязки и последующего пересечения общего желчного протока (ОЖП) между двумя шелковыми лигатурами в области впадения в последний долевого печеночного протока. У контрольных крыс ($n=10$) производили ложную операцию – ОЖП оставляли интактным. Все оперированные животные содержались в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и пище. В конце опытного срока после предварительного эфирного наркоза животных декапитировали. В гомогенатах задней стенки глаза активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) [6] и малонового диальдегида (МД) [2], а также изучали факторы антиоксидантной защиты: активность фермента антиоксидантной защиты – каталазы [5], концентрацию α -токоферола и ретинола [8] и восстановленного глутатиона [7]. Сравнительный анализ произведен с

помощью критерия Манна-Уитни при непараметрическом характере распределения величин и параметрического t-критерия Стьюдента для нормального распределения признака. 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%.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований показали, что спустя 5 суток эксперимента в гомогенатах тканей задней стенки глаза крыс достоверно уменьшается уровень триеновых конъюгатов и увеличивается содержание малонового диальдегида, тогда как практически без изменений остается концентрация диеновых конъюгатов. Такое состояние свободнорадикальных процессов в оболочках задней стенки глаза опытных крыс сопровождается достоверным увеличением активности каталазы и содержания ретинола, при этом достоверно уменьшается концентрация α -токоферола и восстановленного глутатиона.

Таблица – Показатели процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты в задней стенке глаза крыс через 5 суток экспериментального обтурационного подпеченочного холестаза ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Опыт
ДК (ед/г ткани)	57,04 \pm 3,75	60,28 \pm 1,46
ТК (ед/г ткани)	21,08 \pm 1,06	8,98 \pm 0,40***
МДА (мкмоль/г ткани)	27,55 \pm 1,22	34,68 \pm 0,65***
Восст. глутатион (ммоль/г ткани)	0,95 \pm 0,10	0,47 \pm 0,04***
Каталаза (ммоль H ₂ O ₂ /мин/г ткани)	15,26 \pm 0,97	20,38 \pm 1,41*
α -токоферол (мкмоль/л)	1,46 \pm 0,07	1,10 \pm 0,05***
Ретинол (мкмоль/л)	0,24 \pm 0,02	0,30 \pm 0,02*

Примечание – * – показатель достоверности $p < 0,05$; *** – показатель достоверности $p < 0,001$

Таким образом, при 5-суточном подпеченочном обтурационном холестазе в оболочках задней стенки глаза на фоне увеличения концентрации малонового диальдегида и уменьшения концентрации триеновых конъюгатов наблюдается усиление активности каталазы, увеличение содержания ретинола при снижении концентрации α -токоферола и восстановленного глутатиона. Снижение содержания восстановленного глутатиона и α -токоферола может быть связано с избыточным их использованием организмом для эффективного противостояния процессам пероксидации. Низкий уровень восстановленного глутатиона ассоциируется с высокой скоростью процессов ПОЛ [1].

Литература

1. Карпович В.Е. и др. Взаимосвязь между активностью глутатионтрансферазы, перекисным окислением липидов и уровнем восстановленного глутатиона у больных с желчнокаменной болезнью // Актуальные вопросы гепатологии / под ред. проф. В.М. Цыркунова. – Материалы Второго Белорусского симпозиума гепатологов (1-2 окт. 1996). – Гродно, 1996. – С. 103.
2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.

3. Кизюкевич Л.С. Реактивные изменения в почках при экспериментальном холестазах: монография. – Гродно, 2005. – 239 с.
4. Кулик О.М. Роль средньомолекулярних олігопептидів у генезі ендогенної інтоксикації, викликаной експериментальною механічною жовтяницею // Експерим. та клін. фізіол. і біохімія. – 2000. – № 3. – С. 20-24.
5. Королюк М.А. и др. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
6. Волчегорский И.А. и др. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан -изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127-131.
7. Sedlak J., Lindsay R.N. Estimation of total, protein-bound, and protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent // Anal. Biochem. – 1968. – Vol. 25, № 1. – P. 192-205.
8. Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis // Lipids. – 1976. – Vol. 11, № 7. – P. 530-538.

ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ

Мартусевич А. А.¹, Дерюгина А. В.¹, Мартусевич А. К.²

¹Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

²Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия
a_martusewich@mail.ru

Известно, что активные формы кислорода (АФК) и азота, входящие в комплексное понятие «биорадикалы» [1], способны выступать в качестве универсальных молекулярных биорегуляторов, включающихся как в физиологические, так и патологические пути метаболизма [1, 3, 6]. Показано их многогранное участие практически во всех компонентах обмена веществ, причем результирующая биологического действия биорадикалов непосредственно определяется дозой агента [1].

С другой стороны, особенности реализации модулирующего влияния биорадикалов на живые системы, обусловленные их природой и физико-химическими свойствами, расшифрованы недостаточно полно. В частности, неизвестным остается характер воздействия биорадикалов на электрокинетические свойства эритроцитов. Ранее нашими исследованиями и работами других авторов было показано, что электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ), являющаяся их количественной мерой, может рассматриваться как неспецифический индикатор состояния эритрона и его реакции на изменения гомеостаза и внешние воздействия на организм [2, 4, 5, 6]. В то же время подобные сведения имеются лишь в отношении озона, причем они приводятся только в единичных публикациях [3]. На основании этого целью работы служило изучение электрофоретической подвижности эритроцитов при действии экзогенных активных форм кислорода и оксида азота на образцы крови человека *in vitro*.

Материалы и методы. Исследование выполнено на образцах крови 15 здоровых доноров. Каждый образец был разделен на 3 равных порции по 5 мл, первая из которых являлась контрольной (в ней не проводили никаких манипуляций), остальные барботировали различными газовыми смесями (единые параметры обработки для всех воздействий: объем газовой смеси – 100 мл, продолжительность барботирования – 3 мин.). Вторую порцию крови обрабатывали озono-кислородной смесью (концентрация озона – 500 мкг/л), третью – синглетно-кислородной воздушной смесью (примененная мощность генератора – 100%). Барботажи производили путем медленного (в течение 2 мин) пропускания указанных газов через весь объем биологической жидкости, находящейся в стандартной стеклянной пробирке (выходное отверстие-выпускник газа находилось на дне пробирки). Продолжительность экспозиции после обработки – 5 минут.

Синтез озono-кислородной смеси осуществляли с помощью озонатора «Медозонс-БМ» (Нижний Новгород, Россия). Генерацию холодной плазмы, насыщенной оксидом азота, выполняли аппаратом, созданным в Российском федеральном ядерном центре – Всероссийском НИИ экспериментальной физики (Саров, Россия). Воздушный поток, содержащий синглетный кислород, получали с применением аппарата «Airnergy» (Германия).

Из всех образцов крови выделяли эритроциты трехкратным отмыванием 0,85% раствором хлористого натрия с последующим центрифугированием в течение 10 мин при 1500 об/мин. Измерение ЭФПЭ проводили методом микроэлектрофореза в собственной модификации [2; 3]. Суспензию эритроцитов (0,1%) помещали в 10 мМ трис-НСl буфер (рН 7,4) и фиксировали перемещение клеток при силе тока 8 мА. Величину ЭФПЭ определяли по формуле: $U = S/TH$, где S – расстояние, на которое перемещались клетки, T – время перемещения клеток на расстояние S , H – градиент потенциала.

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 6.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли H -критерий Краскала-Уоллеса.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что изучаемые экзогенные биорадикалы оказывают неодинаковое влияние на ЭФПЭ крови человека. Так, обе изучаемые АФК (озон и синглетный кислород) изменяют данный показатель, однако эти сдвиги разнонаправлены. В частности, барботирование крови озono-кислородной смесью с концентрацией озона 500 мкг/л, что соответствует низким терапевтическим дозам, инициирует существенное снижение значения параметра (на 22%; $p < 0,05$ по сравнению с контрольным образцом), тогда как обработка биологической жидкости синглетно-кислородной газовой смесью вызывает умеренное повышение уровня ЭФПЭ (на 13% относительно контроля; $p < 0,05$). Это обусловлено тем обстоятельством, что даже небольшие количества озона, введенные в биосреду, обеспечивают стимуляцию процессов липопероксидации, приводя к структурным перестройкам мембраны

эритроцитов и, следовательно, изменению их электрокинетических характеристик. Напротив, показанное нами антиоксидантное действие синглетного кислорода способствует стабилизации эритроцитарных мембран и повышению их устойчивости, что, в свою очередь, способствует увеличению подвижности клеток крови в электрическом поле.

Выводы. На основании проведенных исследований показано, что активные формы кислорода специфично влияют на электрокинетические свойства эритроцитов человека в условиях *in vitro*. При этом озono-кислородная смесь обеспечивает снижение данного показателя, а обработка образцов крови синглетным кислородом – усиление электрокинетической активности клеток.

Литература

1. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск: БГУ, 2004. – 174 с.
2. Крылов В.Н., Дерюгина А.В. Изменение электрофоретической подвижности изолированных эритроцитов при действии стресс-факторов // Гематология и трансфузиология. – 2011. – № 5. – С. 18-21.
3. Симутис И.С., Дерюгина А.В., Бояринов Г.А. с соавт. Изменение электрофоретической подвижности и формы эритроцитов при действии озона на эритроцитарную массу // Медиаль. – 2013. – № 4. – С. 20-21.
4. Nihei Y., Asai H., Ukai T., Marimoto H., Nakajima Y., Hanajiri T., Maekawa T. Detection of surface immunoreactions on individual cells by electrophoretic mobility measurement in a micro-channel // Sensors and actuators. – 2008. – № 131. – P. 285-289.
5. Sheremetev Y.A., Suslov F.I., Deriugina A.V., Sheremetev A.V. Effect of neuramidase and proteolytic enzymes on electrophoretic mobility of erythrocytes and their aggregation induced by La^{3+} // Biophysics. – 2000. – Vol. 45, № 1. – С. 79-82.
6. Xie L., Sun D., Yao W., Wen Z. Microrheological characteristics of reticulocyte *in vivo* // Science in China. – 2002. – Vol. 45, № 1. – P. 50-55.

КРИСТАЛЛОСКОПИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОЗОНОТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ОЖоговой БОЛЕЗНью

**Мартусевич А.К.¹⁻³, Перетягин С. П.³, Ковалева Л. К.³, Стручков
А. А.¹, Чернышов С. Н.¹**

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

²Кировский государственный медицинский университет, Киров, Россия

³Ассоциация российских озонотерапевтов, Нижний Новгород, Россия

cryst-mart@yandex.ru

Известно, что термическая травма сопровождается глубокими системными метаболическими нарушениями [1, 3]. Для их коррекции патогенетически обоснованным является использование озонотерапии [2], однако важным аспектом служит мониторинг ее эффективности у конкретного пациента.

Цель. Оценить информативность изучения кристаллогенных свойств сыворотки крови в мониторинге эффективности озонотерапии у пациентов с ожоговой болезнью

Материалы и методы. В исследование были включены 30 пациентов с термической травмой, разделенных на 2 равных по численности группы. Пациенты первой (основной) группы получали стандартное лечение согласно федеральному протоколу ведения ожоговых пациентов, который дополняли курсом системной озонотерапии. Данный курс, начинаемый с 3-4 суток после ожогового периода, включал 10 ежедневных процедур внутривенного введения озонированного физиологического раствора (200 мл; концентрация озона – 3000 мкг/л). Пациенты второй группы (группы сравнения) получали лечение исключительно в рамках утвержденного федерального стандарта.

До начала и по завершении курса озонотерапии у пациентов производили забор крови с последующим выделением сыворотки. Оценку кристаллогенных свойств последней осуществляли методом тизокристаллоскопии [1]. В качестве базисного вещества в тизиграфическом тесте использовали 0,9% раствор хлорида натрия. Описание кристаллоскопических и тизиграфических фаций выполняли морфологически и с помощью системы полуколичественных балльных параметров (кристаллизуемость – Кр, индекс структурности – ИС, степень деструкции фации – СДФ, выраженность краевой белковой зоны – Кз и другие) [1].

У всех пациентов до начала исследования получали информированное согласие на участие в нем.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли Н-критерий Краскала-Уоллеса.

Результаты и их обсуждение. В процессе комплексного лечения у представителей обеих групп отмечали однозначную тенденцию к нормализации собственной и инициированной 0,9% раствором хлорида натрия кристаллизации сыворотки крови, однако выраженность этих сдвигов была неодинаковой. Так, у пациентов группы сравнения, получавших только стандартное лечение, наблюдали умеренное повышение кристаллизуемости и индекса структурности в кристаллоскопических фациях сыворотки крови (до $0,87 \pm 0,16$ и $0,58 \pm 0,20$ балла, соответственно; $p < 0,05$ по отношению к первой контрольной точке), что проявилось в формировании при кристаллизации биожидкости умеренного количества мелких одиночных кристаллических элементов. Кроме того, регистрировали повышение правильности структуропостроения последних, что реализовалось в форме снижения степени деструкции фации (до $1,70 \pm 0,23$ балла; $p < 0,05$ по сравнению с исходным состоянием). Также происходило незначительное расширение краевой зоны кристаллоскопических фаций сыворотки крови, что реализовалось в минимальном увеличении соответствующего параметра (на 13 относительно начала наблюдения; $p < 0,1$) и указывало на частичную нормализацию белкового состава биосреды.

У пациентов с ожогами, которым комплексное лечение дополняли курсом внутривенного введения озонированного физиологического раствора, регистрировали более выраженную тенденцию к нормализации кристаллогенных свойств сыворотки крови. В частности, в кристаллоскопических фаций биологической жидкости обнаруживали появление не только одиночно-кристаллических, но и мелких дендритных элементов, что обуславливало достаточно существенный прирост кристаллизруемости (до $1,24 \pm 0,19$ балла) и индекса структурности (до $0,98 \pm 0,23$ балла). Данный уровень параметра статистически значимо превышает цифры, характерные для первой точки наблюдения ($p < 0,05$). Следует отметить, что в этом случае значения обоих показателей существенно превышают аналогичные, выявленные для пациентов группы сравнения ($p < 0,05$).

Подобная тенденция имеет место и в отношении двух других основных оценочных параметров собственного кристаллогенеза сыворотки крови. Так, степень деструкции фации снижается более отчетливо, чем в группе сравнения (до $1,44 \pm 0,20$ балла), значимо отличаясь как от уровня начала наблюдения, так и от значения, характерного для последних ($p < 0,05$ для обоих случаев). Размер краевой зоны микропрепарата также существенно увеличивается, при этом уровень соответствующего параметра повышается на 29% относительно исходных значений и значения, обнаруженного для группы сравнения, достигая $1,89 \pm 0,21$ балла ($p < 0,05$).

Выводы. Проведенное исследование позволяет заключить, что дополнение стандартного протокола ведения тяжелообожженных пациентов курсом системной озонотерапии (введение озонированного физиологического раствора) способствует оптимизации физико-химических свойств и, следовательно, компонентного состава сыворотки крови.

Кроме того, результаты работы позволяют рассматривать изучение кристаллогенных свойств данного биосубстрата как способ оценки эффективности коррекции метаболических нарушений, возникающих при развитии у пострадавших ожоговой болезни.

Литература

1. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Погодин И.Е. Метаболические аспекты ожогового эндотоксикоза // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2009. – № 1. – С. 30-32.
2. Перетягин С.П., Стручков А.А., Мартусевич А.К., Костина О.В., Лузан А.С. Применение озона как средства детоксикации в раннем периоде ожоговой болезни // Скорая медицинская помощь. – 2011. – Т. 12, № 3. – С. 39-43.
3. Daigeler A., Kapalschinski N., Lehnhardt M. Therapy of burns // Chirurg. – 2015. – Vol. 86, № 4. – P. 389-401.

ВЛИЯНИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА СОСТОЯНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Мартусевич А. К.^{1,2}, Соловьева А. Г.¹, Давыдюк А.²

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

¹Кировский государственный медицинский университет, Киров, Россия

cryst-mart@yandex.ru

Цель исследования – изучение динамики показателей энергетического метаболизма крови животных с термической травмой при введении динитрозильных комплексов железа с глутатионовыми лигандами (ДНКЖ).

Материалы и методы. Исследование проводили на 30 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 220-250 г, разделенных на 3 группы равной численности: интактную (никаких манипуляций не проводили, выполняли лишь однократный забор крови), контрольную (воспроизводили термическую травму и применяли стандартное лечение) и основную (аналогична контрольной с дополнительным введением водного раствора ДНКЖ).

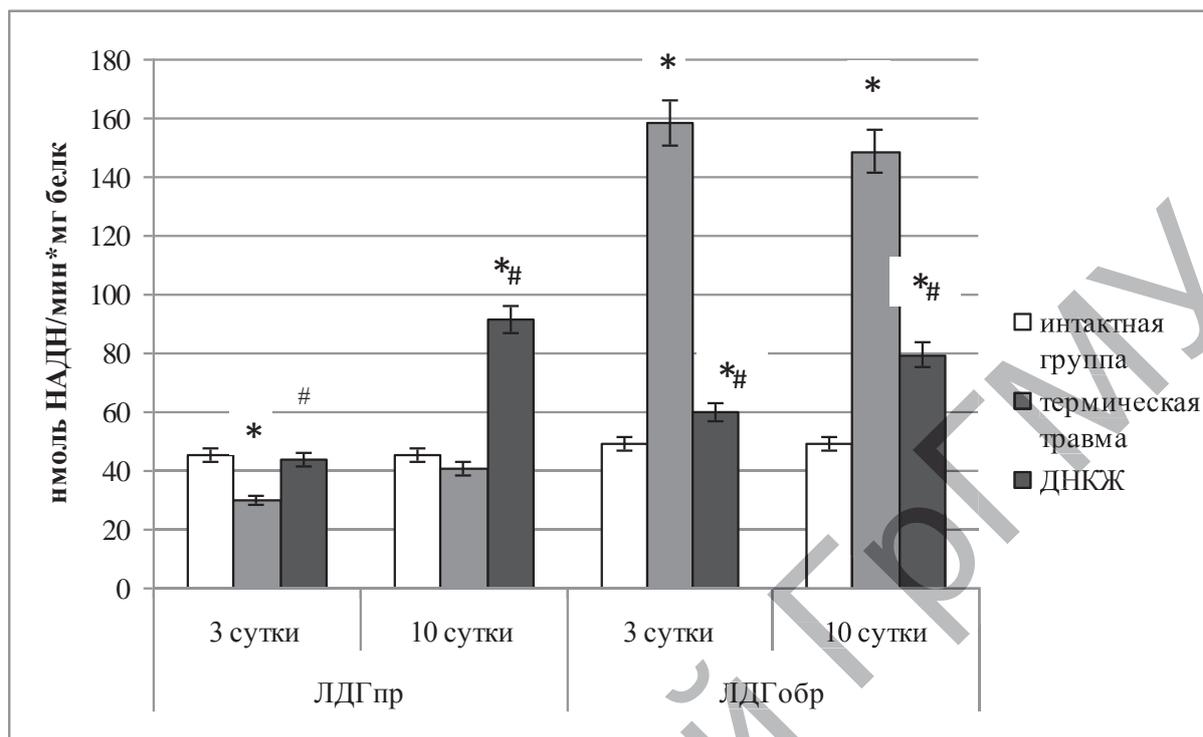
Животным контрольной и основной групп комбинированную травму наносили по разработанной ранее методике, включающей контактный термический ожог кожи спины (площадь – 20% поверхности тела) в сочетании с термоингаляционной травмой. Крысы основной группы ежедневно внутрибрюшинно получали ДНКЖ в физиологическом растворе (3 мл), местное лечение было аналогично проводимому в контрольной группе. Продолжительность экспериментальной терапии животных обеих групп составляла 10 суток. ДНКЖ синтезировали по методике А. Ф. Ванина (2009). Концентрация соединения в физиологическом растворе составляла 3,1 ммоль/л.

На 3 и 10 сутки выполняли получение образцов крови у животных всех сформированных групп. В качестве маркера состояния энергетического метаболизма использовали активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в прямой и обратной реакциях. Активность ЛДГ определяли в гемолизате эритроцитов в дистиллированной воде (1:40 по объему) по методу Г. А. Кочетова. Уровень лактата в эритроцитах оценивали с помощью автоматического анализатора SuperGL Ambulance.

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение. В нашем эксперименте получены данные о положительном действии динитрозильных комплексов железа на метаболические параметры крови животных с термической травмой, в том числе на состояние про- и антиоксидантных систем, которое обусловлено способностью ДНКЖ защищать компоненты биосистем от активных форм кислорода, продуцируемых в условиях окислительного стресса. Этот эффект проявляется в существенном снижении интенсивности (нормализации) процессов перекисного окисления липидов на фоне значимого нарастания антиоксидантных

резервов плазмы крови. Аналогичные тенденции имеют место и в мембранах эритроцитов.



ЛДГ пр – активность лактатдегидрогеназы в прямой реакции;

ЛДГ обр – активность фермента в обратной реакции;

* – значимость различий с уровнем у интактных животных $p < 0,05$;

– значимость различий с уровнем у животных с комбинированной термической травмой $p < 0,05$

Рисунок – Активность лактатдегидрогеназы эритроцитов в норме и при комбинированной термической травме в зависимости от введения динитрозильных комплексов железа

Также выявлено, что ДНКЖ стимулируют энергетический метаболизм эритроцитов крыс с термической травмой за счет преимущественной активации ЛДГ в прямой реакции (на 102% против +21% для обратной реакции; рисунок) и снижения темпов нарастания уровня лактата.

Выводы:

1. Термическая травма, включающая контактный термический ожог и термоингаляционное поражение, приводила к существенным нарушениям энергетического метаболизма эритроцитов (угнетение активности ЛДГ в прямой реакции на 22% с параллельным увеличением ЛДГ обр на 201% на третьи сутки послеожогового периода, $p < 0,05$), нарастанию концентрации лактата в эритроцитах (на 50%, $p < 0,01$).

2. Динитрозильные комплексы железа (1,55 мкмоль/кг, 10 сут., внутривенно) стимулируют энергетический метаболизм эритроцитов крыс с термической травмой за счет: активации ЛДГ в прямой реакции (на 102%, $p < 0,01$), в обратной реакции (на 21%, $p < 0,05$), снижения темпов нарастания уровня лактата (12 против 50% у крыс контрольной группы, $p < 0,01$).

Литература

1. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Погодин И.Е. Метаболические аспекты ожогового эндотоксикоза // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2009. – № 1. – С. 30-32.
2. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги. Руководство для врачей, СПб.: СпецЛит, 2000. – 488 с.
3. Borodulin R.R., Kubrina L.N., Shvydkiy V.O. et al. A simple protocol for the synthesis of dinitrosyl iron complexes with glutathione: EPR, optical, chromatographic and biological characterization of reaction products // Nitric oxide. – 2013. – Vol. 35. – P. 110-115.
4. Van Faassen E., Vanin A.F. (Eds.) Radicals for Life: The Various forms of Nitric Oxide. Amsterdam: Elsevier, 2007. – XIV – 428 с.
5. Vanin A.F. Dinitrosyl-iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology // Nitric Oxide Biol. Chem. – 2009. – Vol. 21. – P. 136-149.
6. Vorobyov A.V., Martusevich A.K., Solovyova A.G. et al. Physical and Biochemical Characteristics of Biological Fluids in Rats with Modeled Thermal Injury // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2009. – Vol. 147, № 4. – P. 424-426.

КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ УРОВНЕМ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ, ИНТЕНСИВНОСТЬЮ КАРИОЗНОГО ПОРАЖЕНИЯ ЗУБОВ И АКТИВНОСТЬЮ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В СЛЮНЕ КРЫС

Масюк Н. Ю., Городецкая И. В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь, *koxinorInata@gmail.com*

Известно, что активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в слюне влияет на резистентность твердых тканей зуба к кариозному поражению (КП) [2]. Вместе с тем стресс способствуют стимуляции ПОЛ [1]. Имеются данные, свидетельствующие о защитном действии йодсодержащих тиреоидных гормонов (ЙТГ) при стрессе.

Цель исследования – выявить и оценить степень корреляции сывороточной концентрации ЙТГ с показателями активности КП в эмали и дентине и ПОЛ в слюне крыс в условиях кариезогенных воздействий.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 390 беспородных белых крысах-самцах, начиная с 21-дневного возраста, в течение 2 месяцев. Животные были разделены на 13 групп: 1 – интактная, 2 – контрольная (внутрижелудочное введение 1% крахмального клейстера), 3 – кариезогенная диета (КГД) (рацион Стефана на протяжении 60 дней), 4 – стресс (содержание крыс по 40 голов в клетке в течение первых 30 дней, по 30 в последующие), 5 – КГД + стресс, 6 – мерказолил (М) (интрагастрально в крахмальном клейстере 25 мг/кг на протяжении 30 дней, затем до окончания эксперимента в половинной дозе), 7 – М + КГД, 8 – М + стресс, 9 – М + КГД + стресс,

10 – L-тироксин (L-T₄) (внутрижелудочно в 1% крахмальном клейстере в дозе 1,5-3,0 мкг/кг 28 дней, в половинной дозе до 60 дня), 11 – L-T₄ + КГД, 12 – L-T₄ + стресс, 13 – L-T₄ + КГД + стресс. Слюноотделение стимулировали внутрибрюшинным введением крысам пилокарпина (0,5 мг/кг). Из эксперимента животных «выводили» путем декапитации под уретановым наркозом (1 г/кг массы тела). Изучение активности КП проводили на продольных шлифах моляров и оценивали по: распространенности, частоте, тяжести и глубине поражения. Интенсивность ПОЛ в слюне и ее антиоксидантную активность (АОА) исследовали с помощью индукции хемилюминесценции перекисью водорода на аппарате «БХЛ-06». Определяли значение светосуммы (S) максимальной интенсивности сигнала (I max) и тангенса угла его убывания (tg α₂), без учета знака (-). Концентрацию ЙТГ в сыворотке крови (общий уровень тироксина (Т₄) и трийодтиронина (Т₃) и их свободные фракции) определяли иммуноферментным методом с помощью специальных диагностических наборов. Результаты обрабатывали с помощью программы Statistica 10.0. Между параметрами интенсивности КП и показателями ПОЛ, АОА (коэффициент корреляции γ₁) и уровнем ЙТГ в крови (коэффициент корреляции γ₂) определяли γ-корреляцию, так как имело место много повторяющихся значений. Связь между показателями ПОЛ, АОА и сывороточной концентрацией ЙТГ устанавливали по методу Спирмена (коэффициент корреляции r). Рассчитывали коэффициенты парциальной корреляции (R₁ и R₂) параметров ПОЛ, АОА с показателями активности кариеса (R₁) и содержанием ЙТГ в крови (R₂). Коэффициенты корреляции меньше 0,25 свидетельствуют о наличии слабой связи, 0,25-0,75 – умеренной, 0,75 и выше – сильной.

Результаты и их обсуждение. Проведенный нами анализ корреляции между параметрами, отражающими активность КП, с одной стороны, и интенсивность ПОЛ в слюне, с другой, выявил наличие прямой умеренной связи: между частотой КП и показателями S и I max коэффициент корреляции γ₁ был равен 0,66 и 0,69 соответственно, между ними и тяжестью КП 0,68 и 0,69, между S и I max и глубиной КП 0,64 и 0,65 (p<0,001 во всех случаях). Между активностью КП и АОА слюны связь была умеренной обратной: коэффициент корреляции γ₁ с частотой и тяжестью КП составил -0,74 (в обоих случаях), с глубиной – -0,70 (p<0,001). Это означает, что чем больше интенсивность ПОЛ и меньше АОА слюны, тем больше активность КП в твердых тканях зуба.

Между показателями интенсивности кариеса и сывороточной концентрацией всех ЙТГ выявлена умеренная обратная взаимосвязь: между уровнем Т₃ общего и частотой и тяжестью КП коэффициент корреляции γ₂ был равен -0,46, с его глубиной -0,48 (p<0,001); между содержанием Т₄ общего и перечисленными показателями коэффициент γ₂ составил -0,45, -0,47 и -0,49 (p<0,001) соответственно; между концентрацией Т₃ свободного и частотой и тяжестью КП -0,46, глубиной -0,48 (p<0,001); между уровнем Т₄ свободного и указанными параметрами – -0,45, -0,46 и -0,46 (p<0,001) соответственно. Это указывает на то, что чем выше сывороточное содержание ЙТГ, тем меньше интенсивность КП в эмали и дентине.

Между уровнем T_4 общего и свободного в крови и значением $\text{tg } \alpha_2$, характеризующим АОА, r был наибольшим – 0,75 ($p < 0,001$) (сильная прямая связь). Немного меньшим r был между величиной $\text{tg } \alpha_2$ и сывороточным содержанием T_3 общего и свободного – 0,73 и 0,71 ($p < 0,001$) (умеренная прямая связь). Вместе с тем между показателями, отражающими стимуляцию ПОЛ, и уровнем ЙТГ в крови, взаимосвязь была обратной умеренной: r между концентрацией T_3 и T_4 общих, T_3 и T_4 свободных и значением параметра S был равен -0,57, -0,61, -0,55 и -0,59, соответственно ($p < 0,001$ во всех случаях), между ними и величиной I_{max} – -0,60, -0,63, -0,57, -0,61 ($p < 0,001$). Для того чтобы выявить вклад каждого из факторов (ЙТГ, активность ПОЛ и АОА) в развитии КП далее проанализирована взаимосвязь между ними методом парциальной корреляции. Между величиной S и параметрами КП наблюдалась прямая корреляция: сильная для тяжести КП ($R_1 = 0,75-0,77$) ($p < 0,001$), умеренная для его частоты и глубины ($R_1 = 0,67-0,71$) ($p < 0,001$). Между значением I_{max} и всеми показателями интенсивности кариеса выявлена умеренная прямая взаимосвязь ($R_1 = 0,66-0,73$). Между величиной $\text{tg } \alpha_2$ и частотой и тяжестью КП, напротив, отмечена обратная сильная корреляция ($R_1 = -0,75- -0,78$) ($p < 0,001$), а между ней и глубиной – обратная умеренная ($R_1 = -0,71- -0,73$) ($p < 0,001$). При анализе значений коэффициента R_2 наиболее существенная связь была выявлена между содержанием в крови ЙТГ и АОА – умеренная прямая ($R_2 = 0,48-0,62$) ($p < 0,001$), в несколько меньшей степени между ним и параметрами ПОЛ – умеренная и слабая обратная ($R_2 = -0,22 - -0,37$) ($p < 0,001$). Это свидетельствует о том, что чем выше уровень ЙТГ в крови, тем больше АОА слюны и меньше активность ПОЛ в ней. Ограничение интенсивности важного процесса патогенеза КП – стимуляция ПОЛ – определяет минимизацию параметров, его характеризующих.

Выводы. Методами анализа степени корреляции установлено, что устойчивость твердых тканей зуба к кариозному процессу зависит от сывороточной концентрации йодсодержащих гормонов щитовидной железы за счет их влияния на интенсивность перекисного окисления липидов в слюне и ее антиоксидантную активность в условиях кариесогенных воздействий.

Литература

1. Городецкая И.В., Евдокимова О.В. Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему миокарда при кратковременных стрессах в эксперименте // Вести НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2013. – № 3. – С. 46-52.
2. Muchandi S., Walimbe H., Bijle M. N. A. et al. Comparative evaluation and correlation of salivary total antioxidant capacity and salivary pH in caries-free and severe early childhood caries children // J. Contemp. Dent. Pract. – 2015. – Vol. 16, № 3. – P. 234-237.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ИСТОЧНИКИ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ В СПЕРМАТОЗОИДАХ ПРИ ПАТОСПЕРМИИ

Мельников Н. А.¹, Черных В. Б.², Проскурнина Е. В.¹

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»,
ФГБУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия
melniko.nikita@yandex.ru

По накопленным научным данным, оксидативный стресс играет значимую роль в патогенезе ряда состояний, связанных с мужской инфертильностью. Особенность свободнорадикального гомеостаза в сперматозоидах состоит в их слабой внутриклеточной антиоксидантной защите, вследствие чего даже незначительное превышение продукции свободных радикалов над нормой может привести к пагубным последствиям.

Цель. Изучение основных внутриклеточных источников свободных радикалов в сперматозоидах – митохондрий и системы цитохрома P-450.

Материалы и методы. Метод основан на регистрации спонтанного люцигенин-активированного свечения сперматозоидов в сперме, а также люцигенин-активированного свечения после добавления НАДФН. В исследовании принимали участие пациенты, обратившиеся в Медико-генетический научный центр (г. Москва). Общее число пациентов $n=34$, из них с нормальной спермограммой $n=9$, с астенозооспермией $n=12$, с астенотератозооспермией $n=13$.

Результаты и их обсуждение. Спонтанное люцигенин-активированное свечение позволяет оценить уровень митохондриальной продукции супероксидного анион-радикала, а НАДФН-стимулированное свечение – уровень продукции супероксида в системе цитохрома P-450. Были рассчитаны уровни спонтанного свечения, стимулированного свечения и коэффициент активации, проведено сравнение данных с данными пациентов с группой контроля – пациенты с нормозооспермией – по критерию Манна-Уитни.

В итоге пациенты с нормозооспермией характеризовались показателями в относительно узких границах, а пациенты с астенозооспермией и астенотератозооспермией разделились на две группы: у части пациентов сперматозоиды характеризовались значимо большим собственным и стимулированным свечением («яркие» сперматозоиды), у другой части уровень стимулированного свечения незначимо отличался от группы контроля («тусклые»). Однако для всех пациентов коэффициент активации был ниже, чем в группе контроля (таблица). Доверительная вероятность p рассчитана по отношению к норме по критерию Манна-Уитни.

Таблица – Радикал-продуцирующая активность сперматозоидов

Группы	$I_{\text{спонт}}$	$I_{\text{НАДФН}}$	$K = I_{\text{НАДФН}} / I_{\text{спонт}}$	p для $I_{\text{спонт}}$	p для $I_{\text{НАДФН}}$	P для K
Норма ($n=9$)	0.07±0.04	0.29±0.04	5.10±1.47	-	-	-
Астено-зооспермия ($n = 9$)	0.25±0.13	0.61±0.29	2.80±0.73	0.01	0.17	0.006

Группы	$I_{\text{спонт}}$	$I_{\text{НАДФН}}$	$K = I_{\text{НАДФН}} / I_{\text{спонт}}$	p для $I_{\text{спонт}}$,	p для $I_{\text{НАДФН}}$	P для K
Астено-зооспермия «тусклые» ($n=7$)	0.10±0.05	0.25±0.11	2.75±1.00	0.21	0.46	0.004
Астено-зооспермия «яркие» ($n=5$)	0.44±0.25	1.12±0.11	2.88±1.87	0.003	0.003	0.016
Астено-терато-зооспермия ($n=13$)	0.61±0.53	0.71±0.52	2.50±0.98	0.09	0.60	0.007
Астено-терато-зооспермия «тусклые» ($n=9$)	0.11±0.10	0.24±0.11	3.16±1.15	0.53	0.42	0.05
Астено-терато-зооспермия «яркие» ($n=4$)	1.76±1.39	1.78±1.56	1.02±0.32	0.007	0.007	0.007

Выводы. Предложена методика, основанная на регистрации люцигенин-активированной хемилюминесценции в присутствии НАДФН, которая позволяет оценить продукцию супероксидного анион-радикала в митохондриях сперматозоидов и системе цитохрома P-450.

У пациентов с нормозооспермией уровень собственного свечения составил $0,07 \pm 0,04$ усл. ед., уровень стимулированного свечения – $0,29 \pm 0,04$, коэффициент активации – $5,0 \pm 1,47$.

Пациенты с астенозооспермией и астено-тератозооспермией разделились на две группы – с усиленным собственным свечением (за счет нарушения работы митохондрий) и сниженным коэффициентом активации (ресурс системы цитохрома P-450), и с неизменным собственным свечением и сниженным коэффициентом активации, причем эти две группы не отличались значимо друг от друга по предложенным показателям.

Таким образом, при нарушении спермограммы у бесплодных мужчин наблюдается в ряде случаев резкое усиление продукции супероксидного анион-радикала митохондриями (оксидативный стресс) в сочетании со снижением продукции супероксидного анион-радикала в системе цитохрома P-450.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У ЖЕНЩИН С ТОТАЛЬНОЙ ОВАРИЭКТОМИЕЙ

Милош Т. С.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
milashts@mail.ru

Основной причиной более тяжелых климактерических расстройств у молодых женщин в сравнении с естественным наступлением менопаузы служит тотальная овариэктомия (ТО) [7]. Известно, что в патогенезе постовариэктомического синдрома играет роль дисбаланс и цитотоксическое влияние свободных радикалов в условиях развивающегося климактерического периода [3].

Для корригирования прооксидантно-антиоксидантного статуса потенциально значимым было выбрано льняное масло (ЛМ). Оно принадлежит к числу незаменимых факторов питания, в составе которого представлена омега 3-полиненасыщенная жирная кислота, обладающая гипополипидемическим, гипокоагуляционным, антиагрегантным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и противоопухолевым эффектами. В литературе имеются единичные указания на их возможное антиоксидантное действие [5].

Цель – улучшить прооксидантно-антиоксидантный баланс женщин в условиях хирургической менопаузы путем применения льняного масла (ЛМ).

Методы исследования. В исследовании принимали участие 25 женщин с ТО (основная группа) изолированно либо в сочетании с гистерэктомией по поводу лейомиомы матки, эндометриоза, опухолевидных образований яичников или их перекрута в течение 6 месяцев после операции. Контрольную группу составили 14 неоперированных пациенток (средний возраст $45,3 \pm 1,3$ года) с сохранившимся регулярным менструальным циклом.

Критерии включения: возраст 47,0 (1,4; 2,3) лет ($p > 0,05$), хирургическое наступление менопаузы более 6 месяцев, наличие информированного согласия пациенток. Критерии исключения из исследования: наличие злокачественных новообразований. Состояние женщин и исследуемых показателей оценивалось до лечения и через 6 месяцев. Оптимизирующее лечение включало прием ЛМ по 1 десертной ложке 2 раза в день.

Прооксидантно-антиоксидантное состояние изучали по концентрации в плазме крови продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ): диеновые конъюгаты (ДК), триеновые конъюгаты (ТК) определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре «СФ-46», Россия [1], уровень оснований Шиффа (ОШ) - спектрофлуориметрическим методом по интенсивности флуоресценции хлороформного экстракта [6], малоновый диальдегид (МДА) – на основании концентрации его комплексов с тиобарбитуровой кислотой на спектрофотометре «СФ-46», Россия [8]. Состояние антиоксидантной защиты (АОЗ) оценивали по концентрации церулоплазмина по методу Равина, который базируется на окислении р-фенилендиамина [2], изучали по уровню α -токоферола (α -Т) и ретинола, используя способность их соединений флуоресцировать в гексановой среде на спектрофлуориметре «F-4010» фирмы «Hitachi» (Япония) [4].

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы «Statistica 6,0».

Результаты и их обсуждение. У 25 прооперированных женщин средний возраст составил 49,0 (0,8; 1,4) лет. Среди пациенток экстирпация матки с придатками составила 52% (95% ДИ 31,3-72,2) случаев, надвлагалищная ампутация матки с придатками – у 24% (95% ДИ 9,4-45,1) женщин, ТО – у 14% (95% ДИ 4,6-36,1) участниц. В ходе исследований выявлено, что у женщин с ТО отмечено увеличение активности ПОЛ в плазме крови: увеличение концентрации ДК в 5,5 ($p < 0,001$) раз, ТК – в 2,4 раза ($p < 0,05$) и снижение уровня АОЗ – содержания α -Т – в 1,2 ($p < 0,05$) раза. При этом наблюдалась тенденция

к повышению уровня ОШ, наряду с тенденцией к снижению концентрации церулоплазмина и ретинола ($p > 0,05$).

Использование ЛМ снизило уровень ДК на 43% ($p < 0,05$), ТК – на 46% ($p < 0,05$); МДА – на 48% ($p < 0,05$) наряду с тенденцией к снижению уровня ОШ, повышению концентрации церулоплазмина, α -Т и ретинола ($p > 0,05$).

Выводы. Таким образом, дефицит половых стероидов, обусловленный тотальной овариэктомией, вызывает активацию процессов липопероксидации и снижение общей антиоксидантной активности организма, что свидетельствует об окислительном стрессе как одном из механизмов возникающих нарушений в условиях постовариэктомического синдрома. Применение льняного масла оказывает корригирующее действие в отношении прооксидантно-антиоксидантного состояния.

Литература

1. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.
2. Камышников В.С. Методы клинических лабораторных исследований // Минск, «Белорусская наука». – 2002. – 775 с.
3. Колесникова Л.И., Мадаева И.М., Семенова Н.В. и др. Оценка системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» у женщин с нарушениями сна в перименопаузальном периоде // ВЕСТНИК РАМН. – 2014. – № 11-12. – С. 11-16.
4. Черняускене Р.Ч. Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное флюориметрическое определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // Лабораторное дело. – 1984. – Т. 6. – С. 362-365.
5. Farooqui A.A., Horrocks L.A., Farooqui T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders // Chemistry and physics of lipids. – 2000. – Vol. 106, № 1. – P. 1-29.
6. Fletcher B.L., Dillard C.J., Tappel A.L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues // Anal. Biochem. – 1973. – Vol. 52, № 1. – P. 1-9.
7. Franco O.H., Muka T., Colpan V. et al. Vasomotor Symptoms in Women and Cardiovascular Risk Markers: Systematic Review and Meta-Analysis. Maturitas. – 2015. – Vol. 81, № 3. – P. 353-361.
8. Rice-Evans C.A., Diplock A.T.M., Symons C.R. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research // Elsevier. – 1991. – Elsevier Amsterdam-London-New York-Tokyo. – 291 p.

ПРОДУКЦИЯ ОКСИДА АЗОТА У ЖЕНЩИН С УДАЛЕННЫМИ ЯИЧНИКАМИ

Милош Т. С., Гуляй И. Э.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
milashts@mail.ru

Актуальность последствий оперативного удаления яичников у женщин с сохраненным менструальным циклом не вызывает сомнений из-за роста высокой заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых катастроф [2]. Известно, что тотальная овариэктомия (ТО), проведенная до 55 лет, повышает смертность пациенток к 80 годам на 8,58%, а до 59 лет – на 3,92% [7].

Считается, что патогенез постовариэктомического синдрома – сложный и до конца не изучен. После ТО из-за недостатка половых гормонов страдает эндотелий сосудов, играя лидирующую роль в патогенезе артериальной гипертензии, вследствие эндотелийзависимых и эндотелийнезависимых механизмов вазодилатационного действия эстрогенов [3]. Установлено, что рост числа инфарктов миокарда и инсультов, наблюдающихся в это время у женщин, сопряжен с дисфункцией эндотелия [1], приводя к возникновению застойной сердечной и хронической почечной недостаточности. Известно, что эстрогены через специфические рецепторы активируют экспрессию генов, отвечающих за синтез молекул оксида азота [5]. При этом нарушение синтеза физиологического уровня оксида азота активирует инициацию и прогрессирование эндотелиальной дисфункции [6]. До настоящего времени, несмотря на многочисленные научные и клинические исследования, сведений о выработке оксида азота у пациенток с оофорэктомией недостаточно.

Цель исследования – изучить продукцию оксида азота у женщин с удаленными яичниками.

Методы исследования. В обследовании участвовали 25 женщин с ТО (основная группа) изолированно либо в сочетании с гистерэктомией по поводу лейомиомы матки, эндометриоза, опухолевидных образований яичников или их перекрута в течение 6 месяцев после операции. Контрольную группу составили 14 женщин с учетом критериев включения и исключения.

Критерии включения: возраст 47,0 (1,4; 2,3) лет ($p > 0,05$). **Критерии исключения из исследования:** наличие острых и хронических (в стадии обострения) заболеваний органов малого таза, сопутствующих инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), опухоли экстрагенитальной локализации, факт приема киких-либо гормональных препаратов, и лекарств, оказывающих влияние на состояние сосудистой стенки в течение последнего года, врожденные заболевания печени и обмена веществ, заболеваний центральной нервной системы. При подборе пациенток также обращали внимание на социальный статус, физическую активность, пищевые и вредные привычки. Всем пациенткам накануне операции проводилось общеклиническое, биохимическое исследование крови, коагулограмма. Учитывались жалобы, анамнестические данные.

В венозной крови исследовали концентрацию нитритов и нитратов (NO_x) как стабильных метаболитов оксида азота. Определение NO_x осуществляли фотометрически на КФК-3 при $\lambda=540$ нм по общепринятому методу с использованием кадмия и реактива Грисса [4]. Суммарную концентрацию нитритов выражали для плазмы крови ($\mu\text{M}/\text{л}$), используя коэффициент молярной экстинкции для нитритов, равный $36,900 \text{ моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ [8].

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы «Statistica 6.0». При описании относительной частоты бинарного признака рассчитывался доверительный интервал (95% ДИ) по формулам Клоппера-Пирсона (Clopper-Pearson interval). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Средний возраст прооперированных пациенток составил 49,0 лет. У всех участниц исследования с ТО наблюдались клинические проявления постовариоэктомического синдрома. Среди проведенных оперативных вмешательств экстирпация матки с придатками составила 52% (95% ДИ 31,3-72,2) случаев, надвлагалищная ампутация матки с придатками выполнена у 24% (95% ДИ 9,4-45,1) пациенток, двусторонняя овариэктомия – у 14% (95% ДИ 4,6-36,1) участниц. У прооперированных женщин отмечено снижение содержания нитритов и нитратов NO_x до 1,75 (1,44; 1,95) $\mu\text{M}/\text{л}$ по сравнению с NO_x в контрольной группе (4,18 (3,4; 4,9) $\mu\text{M}/\text{л}$, $p=0,008$). Снижение концентрации NO_x можно расценивать как результат недостаточной NO -продуцирующей способности сосудистого эндотелия в условиях дефицита эстрогенов.

Выводы. Итак, снижение продукции нитритов и нитратов в плазме крови женщин с удаленными яичниками свидетельствует о нарушении гомеостаза оксида азота. Установленные показатели указывают на развитие на фоне постовариоэктомического синдрома дисфункции эндотелия кровеносных сосудов, отягощающей сердечно-сосудистые параметры женского организма.

Литература

1. Ларева Н.В., Говорин А.В., Калинин Т.В. Функциональное состояние эндотелия у женщин с климаксом различного генеза // Дальневосточный медицинский журнал. – 2008. – № 1. – С. 56-58.
2. Сметник В.П. Критерии репродуктивного старения женщин // Consilium medicum. – 2013. – № 6. – С. 7-8.
3. Татарчук Т.Ф. Менопаузальный метаболический синдром: взгляд гинеколога // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2007. – Т. 3, № 6. – С. 9-13.
4. Granger D.N., Kubes P. Nitric oxide as antiinflammatory agent // Methods in Enzymology. – 1996. – Vol. 269. – P. 434-442.
5. Majmudar N.G., Robinson S.C., Ford G.A. Effects of the Menopause, Gender and Hormone Replacement Therapy on Vascular Nitric Oxide Activity // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2000. – Vol. 85, № 4. – P. 1577-1583.
6. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology // Pharmacol. Rev. – 1991. – № 43. – P. 109-142.
7. Parker W.H., Broder M.S., Chang E. et al. Ovarian conservation at the time of hysterectomy for benign disease // Obstet Gynecol. – 2005. – Vol. 106, № 2. – P. 219-226.
8. Ridnour L.A., Sim J.E., Hayward M.A. et al. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media // Anal. Biochem. – 2000. – Vol. 281, № 2. – P. 223-229.

ОПОСРЕДОВАННЫЙ КОФЕРМЕНТОМ А УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МЕХАНИЗМ РЕАЛИЗАЦИИ РЕДОКС-МОДУЛИРУЮЩЕГО И АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТКИ

Мойсеёнок А. Г.

ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»,
Гродно, Беларусь
andrey.moiseenok@tut.by

Кофермент ацетилирования (КоА) и системы его биосинтеза из пантотеновой кислоты, цистеина и АТФ являются неперенными участниками процессов жизнедеятельности, обеспечивая протекание основных метаболических путей, регуляторные аллостерические взаимодействия и экспрессию различных генов. В последние годы установлена новая функция системы КоА – КоА-илирование белков (Protein CoA-lation), являющаяся обратимой посттрансляционной модификацией, индуцируемой окислительными агентами и окислительным стрессом (ОС). Этот феномен описан в 2017 г. в независимых публикациях [7, 2], на основании обоснованной нами ранее концепции о редокс-модулирующей функции системы биосинтеза КоА [3], а еще ранее осуществленной идентификации дисульфидной природы КоА-белкового взаимодействия [1].

Роль системы биосинтеза КоА как фактора формирования редокс-модулирующего и антиоксидантного потенциала клеток млекопитающих изучалась нами достаточно давно [5, 6], но только в последние годы она приобрела весомый характер в связи с изучением КоА-зависимых механизмов нейродегенеративной патологии и механизмов развития резистентности к действию химиотерапевтических и противомаларийных средств. Судя по тематике докладов международных симпозиумов «Coenzyme A and its derivatives in health and disease», феномен КоА-илирования анализируется в разных лабораториях и пристально исследуется в патогенетических механизмах онкологических, эндокринных, сердечно-сосудистых, в особенности нейродегенеративных заболеваний [1].

Прогресс методологии изучения КоА-илирования был обеспечен группой украинских исследователей (V. Filonenko, I. Gout, G. Panasyuk, O. Melanchuk) [4], осуществивших разработку моноклональных антител, специфичных к КоА (в частности 1F10) в аналитических подходах с использованием вестерн-блоттинга, иммуноферментной схемы и иммунопреципитации. Это стало методической основой ключевого исследования, позволяющего исключить возможность лиганд-белкового взаимодействия с дефосфо-КоА и фосфо-пантотеином – (предшественниками кофермента) – и подтвердить его ковалентный характер.

Показано, что обработка изолированных миокардиоцитов инициаторами ОС (H₂O₂, трет-бутил-пероксид или менадион) или тиоселективным оксидантом диамидом приводит к дозозависимому накоплению иммуно-реактивных дисульфидных комплексов КоА-антител в клеточных лизатах.

В исследованиях на перфузированных сердцах по методу Лангендорфа и подвергаемых воздействию ОС установлено различие процессов S-глутатионилирования и КоА-илирования, что предполагает селективное взаимодействие с цистеиновыми остатками белков. Увеличение степени КоА-илирования белков зарегистрировали при иницировании ОС в различных тканях и клеточных культурах, а также при использовании разных окислителей. На модели клеточной линии HEK293/Pank1 β , характеризующейся сверхсинтезом КоА, достигнут экстремальный подъем КоА-илирования белков при воздействии диамида [7].

Последующие комплексные исследования установили, что КоА-илирование белков, подобно фосфорилированию, ацетилированию и глутатионилированию, является регуляторно обратимым, в том числе в экспериментах с диамидом. Показано, что деКоА-илированный белок иницируется при устранении воздействия ОС или стабилизируется при обработке инкубатов N-ацетилцистеином, но в меньшей степени – аскорбиновой кислотой. Увеличение уровня белка, модифицированного коферментом А, наблюдали в печени животных в состоянии голодания, а его уменьшение – при кормлении гипогликемической диетой и у животных с генетически детерминированным ожирением [7].

Использование хромато-масс-спектрометрического подхода к идентификации КоА-илированных пептидов, образующихся в исследуемых объектах после обработки специфическими гидролазами (Nudix 7), позволило выявить в перфузируемых H₂O₂ сердцах крысы 80 пептидов, соответствующих 58 белкам, и в печени голодавших крыс – 43 пептида, соответствующих 43 белкам. Биоинформационный анализ показал, что КоА-илированные белки относятся к циклу трикарбоновых кислот, бета-окислению, гликолизу, метаболизму аминокислот и кетонных тел и отражают участие системы КоА в интеграции метаболических путей, синтезе белка, мышечном сокращении и механизмах антиоксидантной защиты.

Редокс-регуляторные механизмы, ассоциированные с процессом КоА-илирования, исследованы *in vitro* и *in vivo* на рекомбинантных ферментативных белках: апонитазе, гидроксиметилглутарилсинтетазе, изоцитратдегидрогеназе, пируватдекарбоксилазе, а также на ферментах из мышц (креатинкиназа, глицеральдегидфосфатдегидрогеназа). Указанные ферменты при обработке КоА-S-S-КоА и 1F10-антителом проявили сильный иммунореактивный сигнал, устраняемый восстановителем дитиотрейтолом. КоА-илирование, как установлено, модифицирует также ключевые ферменты бета-окисления и кетогенеза. На креатинфосфокиназе показано различие механизмов S-глутатионилирования и КоА-илирования и их роль в регулировании активности изоформ фермента. Глицеральдегидфосфатдегидрогеназа, белок который подвержен модификации реакциями сульфенилирования, глутатионилирования и нитрозилирования, ингибируется в результате КоА-илирования по остаткам цистеина 23 и 245, что может иметь ключевое значение в регуляции процессов транскрипции, иницировании апоптоза и аксональном транспорте. Не менее важно ингибирование митохондриального фермента – НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы под воздействием КоА-илирования в отличие от

активирующего эффекта на другие изученные дегидрогеназы и пируватдекарбоксилазу – регуляторный компонент пируватдегидрогеназного комплекса, подверженный воздействию ОС в митохондриях миокарда, и, вероятно, находящийся в тесной функциональной связи с системой КоА, в том числе с процессом КоА-илирования.

В целом необходимо сделать вывод об участии КоА в механизмах клеточного редокс-сигналирования, поскольку КоА-илирование белков обратимо инициируется ОС, с активацией или ингибированием ферментативных активностей и специфично опосредуется модуляцией цистеиновых остатков полипептидных цепей белков. По мнению авторов рассмотренной важнейшей публикации, процесс КоА-илирования является новым и важнейшим физиологическим механизмом антиоксидантной защиты, предотвращающим необратимое окисление нуклеофильных тиоловых групп, а также является компонентом редокс-сигналирования, отражающим внутриклеточный редокс-гомеостаз [7], и, возможно, его регулирующим [3].

Наши исследования свидетельствуют о том, что тиол-дисульфидные превращения в системе КоА отвлекают значительную часть его внутриклеточного фонда и, например, в условиях его индуцирования предшественником кофермента Д-пантетином, могут существенно увеличивать свой объем и реализовывать свой редокс-модулирующий потенциал [2].

Последняя публикация по проблеме КоА-илирования указывает на универсальный характер этого процесса в посттрансляционной модификации белков [8], демонстрируя антиоксидантные эффекты на бактериальные объекты.

Работа выполнена по заданию 3.06 ГПНИ «Конвергенция-2020» (2016-2020 гг.).

Литература

1. Гуринович В.А., Хут В. Изучение свойств пантотенатбелкового комплекса цитозоля печени крысы // Биологическая активность и транспорт лекарственных веществ: сб. статей. – Гродно, 1999. – С. 44-46.
2. Мойсеёнок А.Г., Гуринович В.А. КоА-илирование тканевых белков при иницировании биосинтеза кофермента А // Новости медико-биологических наук. – Минск. – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 73.
3. Мойсеёнок А.Г. Пантотеновая кислота: от универсального распространения к универсальным функциям // Биохимия, фармакология и клиническое применение производных пантотеновой кислоты: сб. научных статей. – Гродно, 2003. – С. 107-114.
4. Coenzyme A and its derivatives in health and disease, FEBS Workshop: abstracts book. - Marsele, 2016. - 56 p.
5. Moiseenok A.G. Can pantothenic acid be regarded as an antioxidative vitamin? // In: Sec. Int. Conf. Antioxidant Vitamins and β -carotene in disease prevention. Abstr. – Berlin, 1994. – P. 96.
6. Slyshenkov V., Moiseenok A., Wojtczak L. Noxious effects of oxygen reactive species on energy-coupling processes in Ehrlich ascites tumour mitochondria and the protection by pantothenic acid // Free Radical. Biol. and Med. – 1996. – Vol. 20, № 6. – P. 793-800.
7. Tsuchiya Y., Peak-Chew S.Y., Newell C. et al. Protein CoAlation: a redox-regulated protein modification by coenzyme A in mammalian cells // Biochem. J. – 2017. – № 474. – P. 2489-2508.
8. Tsuchiya Y., Zhyvoloup A., Bacovic J. et al. Protein CoAlation and antioxidant function of Coenzyme A in prokaryotic cells // Biochem. J. – 2018. – Apr.6. doi: 10.1042/BCJ20180043.

РЕДОКС-МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

Мойсеёнок¹ А. Г., Канунникова² Н. П.¹ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»,
Гродно, *andrey.moiseenok@tut.by*²Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь
n.kanunnikava@gmail.com

Одна из актуальных проблем современной нейробиологии – изучение метаболических нарушений, лежащих в основе развития процессов нейродегенерации. Хорошо исследованной к настоящему времени представляется роль свободных радикалов и активации окислительных процессов в ткани мозга, тогда как изучение систем поддержания редокс-потенциала в условиях нейродегенеративной патологии привлекает внимание исследователей только в последние годы [6, 4]. Этот интерес во многом связан с довольно низкой эффективностью применения разных антиоксидантов в условиях клиники, хотя в экспериментах они проявили высокую способность к восстановлению метаболических процессов в ткани мозга на фоне нейродегенерации. В определенной мере эти несоответствия связаны с трудностями моделирования нейродегенеративной патологии на экспериментальных животных. Однако несомненным представляется также положение о недооценке роли нарушений редокс-баланса в развитии нейродегенерации [4, 5].

Сохранение редокс-баланса важно не только для предупреждения повреждений, обусловленных окислительным стрессом (ОС), но также для поддержания правильного редокс-сигналирования за счет активных форм кислорода (АФК) и активных форм азота (АФА) как вторичных посредников. Основная функция находящихся в клетках редокс-буферных систем – это защита тиольных групп от окисления и восстановление тех, которые окислились в результате нормального или измененного метаболизма в клетках.

GSH является жизненно важным компонентом в клетках организма, участвуя в поддержании редокс-статуса, являясь ко-фактором сигнальной трансдукции и системы антиоксидантной защиты, особенно в мозге [1]. Дисрегуляция GSH и GSH-зависимых ферментов вызывает развитие множества клеточных проблем, которые ведут к дисфункции митохондрий, накоплению АФК/АФА повреждений, нарушениям сигнальных путей, агрегации белков и конечной гибели клеток. Редокс-зависимая обратимая окислительная модификация белков может наблюдаться при разных патофизиологических состояниях, она является важным способом сигналирования в клетке, аналогичным механизму клеточного сигналирования, осуществляемому через механизм фосфорилирования [1].

Современные концепции понимания ОС в развитии болезни Паркинсона (БП), болезни Альцгеймера (БА) и других нейродегенеративных заболеваний свидетельствуют о том, что механизмы инициации и развития нейродегенеративных нарушений включают не только ОС и изменения активности

ключевых ферментов удаления активных радикалов, но и нарушения гомеостаза тиолов и сигнальных путей, нарушения конформации белков и агрегацию последних [2].

Активация ПОЛ – одно из наиболее ярких проявлений дегенеративных нарушений в мозге при БА. Установлено наличие высокого уровня ТБКРС во фракции синаптосомальных мембран в мозге при БА. Известно, что индукция ОС при БА сходна с его развитием при острых патологиях (травма мозга или ишемия), но, в отличие от последних, уровень свободных радикалов при БА не столь высок, чтобы привести к недостаточности системы антиоксидантной защиты и вызвать апоптотическую гибель нейронов. В то же время показано следующее: как только усиливается пероксидный метаболизм в мозгу, у пациентов с БА наблюдается повышение активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, которая является ферментом, лимитирующим скорость метаболизма на первом этапе пентозофосфатного пути, – основного пути поддержания цитозольного пула NADPH и, следовательно, редокс-баланса в клетке.

Установлена важная роль снижения восстановительного потенциала системы глутатиона в развитии ОС при БП. Обнаружено уменьшение содержания GSH в посмертных образцах ткани мозга пациентов с БП по сравнению с тканью мозга пациентов без неврологической симптоматики. Активация систем антиоксидантной защиты, которая сопровождается повышением уровня GSH, защищает ДА-нейроны от гибели. Выявлены нарушения системы редокс-потенциала системы глутатиона в экспериментальных моделях БП на крысах при введении ротенона. Обнаружены мутации GSH-зависимых ферментов, которые коррелируют с БП.

При семейных формах БП отмечаются также мутации некоторых специфических генов, регулирующих синтез белков, содержащих цистеиновые остатки, чувствительные к окислению. Так, были обнаружены нарушения экспрессии белка α -синуклеина, который участвует в образовании телец Леви и, соответственно, в гибели нейронов. GSSG ускоряет агрегирование α -синуклеина, тогда как в присутствии препаратов, способствующих повышению уровня GSH, гибель нейронов при действии α -синуклеина снижается. Очевидно, что уровень GSH наиболее точно регулируется в здоровых нейронах, потому что и понижение, и значительное повышение его влияют на способность клетки к выживанию.

Выяснение патогенеза нейродегенеративных синдромов, обусловленных дефектом системы биосинтеза кофермента А (КоА), открыло существование нового механизма посттрансляционной модификации белков – КоА-илирование, альтернативного S-глутатионилированию [7]. Системы глутатиона и КоА взаимосвязаны, что подтверждается при моделировании нейродегенеративной патологии [3].

Таким образом, поддержание внутриклеточного редокс-баланса может быть важным звеном в минимизации внутриклеточного повреждения нейронов при нейродегенерации и перспективным направлением в поиске новых средств патогенетической терапии нарушений при нейродегенеративных заболеваниях.

Литература

1. Канунникова Н.П., Семенович Д.С., Мойсеёнок А.Г. Основные редокс-пары поддержания тиол-дисульфидного баланса в нервной ткани // Новости медико-биол. наук. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 84-89.
2. Канунникова Н.П. Изменения тиол-дисульфидного баланса при болезни Паркинсона // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 1. – С. 108-118.
3. Мойсеёнок А.Г., Омелянчик С.Н., Гуринович В.С. и др. Система биосинтеза CoA при интоксикации липополисахаридом и хлористым алюминием // Новости медико-биол. наук (News of biomedical sciences), Минск. – 2005. – № 1. – С. 51-55.
4. Gu F., Chauhan V., Chauhan A. Glutathione redox imbalance in brain disorders // Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. – 2015. – Vol. 18, № 1. – P. 89-95.
5. Johnson W.M., Wilson-Delfosse L., Mieczal J.J. Dysregulation of glutathione homeostasis in neurodegenerative diseases // Nutrients. – 2012. – Vol. 4, № 12. – P. 1399-1440.
6. McBean G.J. [et al.] Thiol redox homeostasis in neurodegenerative disease // Redox Biology. – 2015. – Vol. 5. – P. 186-194.
7. Tsuchiya Y., Peak-Chew S.Y., Newell C. et al. Protein CoAlation: a redox-regulated protein modification by coenzyme A in mammalian cells // Biochem. J. – 2017. – № 474. – P. 2489-2508.

КИСЛОРОДОБУСЛОВЛЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНЫМИ АНЕВРИЗМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ЭПИЛЕПТИЧЕСКИМИ ПРИСТУПАМИ

Нечипуренко Н. И., Сидорович Р. Р., Пашковская И. Д.,
Василевская Л. А., Змачинская О. Л.

РНПЦ неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь
prof_nin@mail.ru

Механизмы, лежащие в основе формирования артериальных аневризм (АА) головного мозга, достаточно дискуссионны, однако в настоящее время известно, что окислительный стресс, гемодинамические нарушения, асептическое воспаление и дегенерация нервной ткани являются ключевыми элементами в развитии церебральной сосудистой патологии [1]. Анализ клинко-биохимических исследований позволяет характеризовать эпилепсию как свободнорадикальную патологию с нарушением энергетических процессов, предопределяющую возникновение повышенной судорожной активности и способную инициировать ее проявление [2].

Цель – изучить нарушения углеводно-энергетического обмена, про-, антиоксидантного состояния крови и микрогемодинамики у пациентов с эпилептическими приступами при неразрывавшихся АА до и после нейрохирургического лечения.

Материалы и методы. Обследованы 40 пациентов с АА, из них 14 (35%) мужчин и 26 (65%) женщин, разделенных на основную (n=21) и контрольную (n=19) группы.

В основную группу вошли пациенты с эпилептическими приступами на фоне АА, средний возраст составил $51,6 \pm 14,5$ лет. Медиана размера аневризмы, по данным КТ-ангиографии, была 9,0 (7,0-11,0) мм. При анализе времени возникновения эпилептических приступов установлено следующее: у 17 (81%) чел. приступы предшествовали выявлению аневризм, у 4 (19%) чел. они возникли после оперативного лечения в сроки от 0 до 4 дней. 95% пациентов оперированы. Выключение аневризмы из кровотока у 67% пациентов выполнено путем клипирования, у 19% проведено эндоваскулярное лечение, у 14% осуществлено наложение анастомоза.

Контрольную группу составили пациенты с АА без эпилептических приступов в возрасте $49,1 \pm 13,1$ года. Медиана размера аневризмы – 6,0 (5,0-13,0) мм. 95% пациентов оперированы. Выключение АА из кровотока у 28% пациентов выполнено путем клипирования, у 72% проведено эндоваскулярное лечение.

Нормальные значения биохимических и микрогемодинамических показателей получены у 27 практически здоровых лиц ($47,4 \pm 13,8$ года), $p > 0,05$ относительно возраста пациентов.

Определяли концентрации лактата, пирувата и коэффициент лактат/пируват (Л/П). Изучали содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П), активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, антиоксидантную активность (АОА) в сыворотке, отражающую неферментативное звено антиоксидантной системы.

Функциональное состояние кожной микрогемодинамики в области лба с оценкой вазодилататорного и вазоконстрикторного резервов изучали спеклооптическим методом в условиях проведения дыхательных проб на гипервентиляцию и задержку дыхания. Определяли мощность спектра S , равную площади под спектральной кривой, и среднюю частоту спектра $\langle f \rangle$.

При статистической обработке полученных данных применяли программу «Statistica 10.0».

Результаты и их обсуждение. На момент госпитализации у пациентов основной и контрольной групп установлено статистически значимое повышение концентрации лактата ($p=0,006$) и ($p=0,03$), соотношения Л/П ($p=0,002$) и ($p=0,0001$), соответственно, по сравнению с данными здоровых лиц, что косвенно указывает на наличие гипоксических изменений в церебральных структурах, развивающихся при АА. В то же время в основной группе выявлено статистически значимое возрастание содержания ТБК-П ($p=0,0009$) и уменьшение АОА сыворотки ($p=0,008$) при увеличении активности каталазы ($p=0,007$). В контрольной группе пациентов не выявлено нарушений в про-, антиоксидантной системе крови. После нейрохирургического лечения у пациентов основной группы сохранялись высокая концентрация лактата ($p=0,036$) и значение соотношения Л/П ($p=0,04$) относительно нормальных значений. В то же время выявлена четкая тенденция к уменьшению концентрации ТБК-П ($p_1=0,07$) и достоверное увеличение активности СОД ($p_1=0,04$) относительно данных до лечения. При этом сохранялось снижение АОА крови по сравнению с нормой ($p=0,026$). Каталазная активность уменьшилась и

достоверно не отличалась от данных у здоровых лиц. На момент выписки в контрольной группе соотношение Л/П также оставалось повышенным ($p=0,039$), но была выявлена позитивная динамика относительно исходных данных ($p_1=0,046$).

По результатам спекл-оптического исследования сосудистой реактивности с проведением дыхательных тестов у пациентов основной группы установлены нарушения механизмов вазодилатации и в меньшей степени – вазоконстрикции. Комплексное лечение приводило к снижению выраженности и уменьшению межполушарных различий постгиповентиляционных сосудистых реакций, возрастанию числа пациентов с адекватными реакциями на задержку дыхания, независимо от наличия эпилептических приступов.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о значительной роли свободнорадикальных нарушений в развитии эпилепсии у пациентов с АА головного мозга, которые провоцируют прогрессирование заболеваний сосудов головного мозга и, кроме того, способны снижать индивидуальный судорожный порог. Установлено нарушение вазодилататорных механизмов регуляции сосудов микрогемодикуляторного русла кожных покровов лобной области с формированием парадоксальных сосудистых реакций у пациентов с АА и эпилепсиями.

Литература

1. Starke R. M., Chalouhi N., Ali M.S. et al. The Role of Oxidative Stress in Cerebral Aneurysm Formation and Rupture // *Curr Neurovasc. Res.* – 2013. – Vol. 10, № 3. – P. 247-255.
2. Саватеев А. В., Назаров П. Г., Любимов Ю.А. Окислительные и митохондриальные механизмы в иммунопатогенезе эпилепсии // *Обзоры по клин, фармакол. и лек. терапии.* – 2003. – Т. 2, № 1. – С. 46-65.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПЛАСТОХИНОНА И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ

Осочук С. С., Борисова-Мубаракшина М. М., Орехова Н. И.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
фундаментальных проблем биологии Российской академии наук Пущино, Россия

nadyushka3@mail.ru

Под свободнорадикальным окислением (СРО) понимают биохимический процесс превращений кислорода, липидов, белков, нуклеиновых кислот и других соединений при действии свободных радикалов [1]. По данным авторов, характер повреждений тканей и органов, а также протекание биохимических процессов в организме во многом зависит от степени выраженности СРО. Таким образом обеспечивается нормальное течение биохимических

процессов, однако повышение его уровня оказывает повреждающее действие на клеточные структуры. Патологическое СРО приводит к нарушению деятельности органов и функциональных систем [1, 5].

Большое количество данных свидетельствует об участии свободнорадикальных процессов в патогенезе воспалительных заболеваний [6]. Например, при перитоните угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов ассоциировано с усилением карбонилирования белков и приростом содержания гептан-растворимых продуктов перекисного окисления липидов в головном мозге. Установлено, что тяжелое течение перитонита проявляется выраженной активацией процессов окисления липидов в сочетании со снижением антиоксидантной функции [3]. Синдром системного воспалительного ответа сопровождается органной дисфункцией, возникающей в результате значительного снижения уровня антиоксидантной защиты и развития окислительного стресса [7]. В литературе представлены данные о патогенном влиянии СРО на конформацию липопротеинов. Под действием свободных радикалов изменяется структура и функция апопротеина-В, что запускает формирование антигенных детерминант образование соответствующих антител. Формирующиеся при этом иммунные комплексы оказывают патогенное действие, особенно если нарушаются процессы их деструкции и/или выведения из организма. Ускорение свободнорадикального окисления также вызывает повреждение компонентов клетки фосфолипазами и протеазами [2].

Исходя из изложенного выше, можно заключить, что регуляция активности СРО – важнейшее направление исследований в современной науке.

Одно из наиболее перспективных направлений в создании новых лекарственных форм – это использование пластохинона, впервые выделенного из люцерны Кофлером в 1946 г., являющегося 2,3-диметил-1,4-бензохиноном с боковой цепью из 9 изопрениловых единиц [11]. Пластохинон – переносчик электронов в фотосинтетической электрон-транспортной цепи, участвует во многих метаболических путях, включая клеточное дыхание, а также обладает выраженными антиоксидантными свойствами и определяет адаптацию системы к изменениям окружающей среды [4, 9]. На основе децилпластохинона был синтезирован ряд митохондриально-адресованных соединений «ионы Скулачёва», обладающих высокой антиоксидантной активностью, а также другими значимыми эффектами [10]. Известно, что митохондриальные антиоксиданты снижают выраженность инфильтрации тканей макрофагами при остром воспалении, ингибируют развитие фиброза и гипертрофии миокарда, гемолитической анемии и метастатического распространения лимфом [8]. Благодаря таким свойствам, пластохинон и его производные могут быть использованы в медицине для создания новых лекарственных форм с высокой антиоксидантной активностью.

Литература

1. Абакумова Ю.В., Ардаматский Н.А. Свободнорадикальное окисление при атеросклерозе как патогенный фактор // Медико-биологический вестник им. Я.Д. Витевского. – 1996. – Т. 21, № 2. – С. 15-21.

2. Воробьева Е.Н., Симонова Г.И., Воробьев Р.И. и др. Свободнорадикальное окисление и атеросклероз // Атеросклероз. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 20-27.
3. Ермола Ю.А. Изменение показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при развитии экспериментального перитонита // Патология. – 2012. – Т. 2, № 25. – С. 92-94.
4. Иванов Б.Н., Ветошкина Д.В., Козулева М.А., Борисова-Мубаракшина М.М. Активные формы кислорода в хлоропласте: продукция, детоксикация и сигнальная функция // Материалы II международного симпозиума «молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и международной научной школы «роль активных форм кислорода в жизни растений» Уфа, 26 июня – 1 июля 2017 г. – С. 115-119.
5. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 16-29.
6. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. – М.: Наука. – 2001. – 78 с.
7. Мухачева С.Ю., Руднов В.А., Галян С.Л. и др. Состояние свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты организма при сепсисе с позиций тяжести системной воспалительной реакции // Интенсивная терапия. – 2005. – № 3. – С. 32-34.
8. Antonenko Y.N., Roginsky V.A., Pashkovskaya A.A. et al. Protective effects of mitochondria-targeted antioxidant SkQ in aqueous and lipid membrane environments // Membr. Biol. – 2008. – Vol. 222. – P. 141-149.
9. Kruk J., Trebst A. Plastoquinol as a singlet oxygen scavenger in photosystem II // Biochim. Biophys. Acta. – 2008. – Vol. 1777. – P. 154-162.
10. Skulachev V.P. Prevention of cardiolipin oxidation and fatty acid cycling as two antioxidant mechanisms of cationic derivatives of plastoquinone (SkQs) // Biochim. Biophys. Acta. – 2010. – Vol. 1797, № 6. – P. 878-889.
11. Van Eerden F.J., Melo M.N., Frederix P.W.M. et al. Exchange pathways of plastoquinone and plastoquinol in the photosystem II complex // Nat. Commun. – 2017. – Vol. 8. – P. 15214.

ФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И СОДЕРЖАНИЕ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ВНЕГОСПИТАЛЬНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ

Парфёнова И. В., Максимович Н. А.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь
drmaximovich@mail.ru

Острая внегоспитальная пневмония – одна из частых форм острого инфекционного воспалительного процесса в легких у детей, и по-прежнему остается важнейшей проблемой современной педиатрии. Воспалительные заболевания легких характеризуются резким усилением окислительных процессов в их тканях. Считают, что инфекционные агенты своей непосредственной инвазией оказывают повреждающее действие на легочную ткань, а также

запускают процессы свободнорадикального окисления путем активации фагоцитов с выделением активных форм кислорода [1]. В норме внутриклеточные антиоксидантные ферменты нейтрализуют свободные радикалы и подавляют выработку медиаторов воспаления, препятствуя повреждению клеток и тканей. Доказано, что преобладание продукции свободных радикалов над их нейтрализацией вызывает повреждение паренхимы лёгкого, повышая риск инфицирования [2]. Полагают, что процессы деструкции паренхимы лёгкого усиливаются при дефиците факторов антиоксидантной защиты.

Цель – установить уровень церулоплазмينا как фактора антиоксидантной защиты у детей с острыми внегоспитальными пневмониями и дисфункцией эндотелия.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 65 детей в возрасте от 8 до 18 лет, из них 50 пациентов на стационарном лечении в УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» по поводу острой пневмонии и 15 относительно здоровых детей.

Состояние эндотелия оценивали в тесте с реактивной гиперемией по степени прироста максимального пульсового кровотока в предплечье в первые 2 минуты восстановления кровотока после 4-минутной окклюзии плечевой артерии, которая достигалась путем наложения манжеты тонометра и повышения в ней давления на 50 мм рт. ст., превышающего значения систолического давления обследуемого. Увеличение пульсового кровотока менее 10% расценивали как наличие у пациентов дисфункции эндотелия (ДЭ).

У всех детей проводилась оценка концентрации церулоплазмينا как фактора антиоксидантной защиты, в плазме крови с использованием классического метода [3].

Полученные результаты обработаны статистически с использованием непараметрического метода: критерия Манна-Уитни при уровне значимости $p < 0,05$, данные представлены как медиана (Me) 25 и 75 перцентиль.

Результаты и их обсуждение. По результатам теста с реактивной гиперемией были сформированы 2 группы пациентов. В 1 группе ($n=20$) с острыми внегоспитальными пневмониями с дисфункцией эндотелия прирост максимального пульсового кровотока в предплечье составил 7,1 (4,9-8)% и был ниже, чем во 2-й ($p < 0,05$) и контрольной группах детей ($p < 0,05$). Во 2 группе детей ($n=30$) с острыми пневмониями без дисфункции эндотелия прирост максимального пульсового кровотока составил 15,3 (12,5-18,1)%. В контрольной группе детей ($n=15$) максимальный прирост пульсового кровотока – 18 (16-19)%.

Уровень церулоплазмينا как фактора антиоксидантной защиты в плазме крови у пациентов с острыми внегоспитальными пневмониями с дисфункцией эндотелия был ниже [272 (256-289) мг/мл ($p < 0,001$)], чем у пациентов с острыми внегоспитальными пневмониями без дисфункции эндотелия [308 (298-315) мг/мл; $p < 0,001$] и у здоровых детей [320 (294-365) мг/мл; $p < 0,01$].

Выводы. Таким образом, установлено, что у 60% пациентов с острыми внегоспитальными пневмониями на фоне депрессии эндотелий-зависимой вазодилатации сосудов наблюдается снижение уровня церулоплазмينا в плазме

крови как одного из важнейших факторов антиоксидантной защиты. Предполагается, что наличие окислительного стресса при острых пневмониях может играть выраженную роль в нарушении функции эндотелия, что требует дальнейших исследований.

Литература

1. Пащенко И.Г., Камнев М.С., Марковцева М.В. О корреляции функционального состояния лейкоцитов и показателей системы перекисного окисления липидов у больных с внебольничной пневмонией // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2013. – № 1. – С.43-49.
2. Соодаева С.К. Свободно-радикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания // Пульмонология. – 2012. – № 1. – С 5-10.
3. Зинчук В.В. Прооксидантно-антиоксидантное состояние организма при введении липополисахарида в условиях коррекции сродства гемоглобина к кислороду и L-аргинин-NO-системы // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 2001. – Т.131, №1. – С. 39-42.

ОСОБЕННОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ РАЗРЫВЕ АРТЕРИАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Пашковская И. Д., Новицкая Т. А., Нечипуренко Н. И.

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии,
Минск, Беларусь, *irenapass@mail.ru*

Из всех внутримозговых кровоизлияний на долю аневризматического генеза приходится 85% [1]. Прямое воздействие крови на паренхиму головного мозга или её попадание в субарахноидальное пространство проявляется общей реакцией организма на локальное повреждение и протекает с повышением кровяного давления, уровня глюкозы в крови и активацией свободнорадикальных и воспалительных реакций в организме [2].

Цель – выявить изменения показателей свободнорадикальных и воспалительных реакций с установлением корреляционных зависимостей при разорвавшихся артериальных аневризмах (АА).

Материалы и методы. Обследованы 23 пациента с разорвавшимися АА до нейрохирургического вмешательства, средний возраст которых составил $48,5 \pm 12,6$ лет. В первую группу вошли 9 пациентов с эпилептическими приступами на фоне разрыва АА, вторую группу составили 14 пациентов без эпилепсии.

Нормальные значения изучаемых показателей получены у 27 практически здоровых лиц (возраст $47,4 \pm 13,8$ года, $p > 0,05$ относительно возраста пациентов).

Показатели общего анализа крови (ОАК) определяли на гематологическом анализаторе «Sysmex XT 2000 i», рассчитывали нейтрофильно-лимфоцитарный индекс, измеряли СОЭ методом Вестергрена. Определение

высококочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ) проводили на биохимическом анализаторе AU 400 фирмы Olympus (Япония-США).

Вычисляли концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П), по методике, модифицированной В. А. Костюком. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в цельной крови определяли по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина.

При статистической обработке результатов применяли программу Statistica 10.0, использовали непараметрические методы. Корреляционный анализ выполняли по методу Спирмена.

Результаты и их обсуждение. Из таблицы видно, что у пациентов 1-й и 2-й групп происходит смещение показателей воспалительного ответа (по данным ОАК) к верхней границе нормы за счет нейтрофильного сдвига ($p=0,02$ и $p=0,0001$, соответственно), повышение СОЭ ($p=0,01$ и $p=0,00002$) относительно аналогичных показателей у здоровых лиц. Во второй группе обнаружено увеличение индекса Н/Л в 1,6 раза ($p=0,004$). В первой группе имеется увеличение концентрации вчСРБ в 4,3 раза ($p=0,08$) относительно нормы.

Таблица. – Показатели ОАК, СРБ, про-, антиоксидантной системы в крови здоровых лиц и у пациентов с разорвавшимися АА

Показатель	Здоровые лица	Разорвавшиеся АА с эпилриступами (1-я группа)	Разорвавшиеся АА без эпилриступов (2-я группа)	p
	1	2	3	
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	5,10 (4,50-5,30)	6,85 (5,18-8,70)	7,42 (5,50-11,17)	$p_{1,2}=0,002$ $p_{1,3}=0,0001$
Нейтрофилы, $\cdot 10^9/\text{л}$	2,65 (2,24-3,17)	3,93 (2,59-4,98)	4,50 (3,30-7,46)	$p_{1,2}=0,02$ $p_{1,3}=0,0001$
Лимфоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	1,61 (1,29-1,98)	1,86 (1,73-2,02)	1,56 (1,28-2,00)	$p_{1,2}=0,24$ $p_{1,3}=0,92$
Н/Л	1,65 (1,12-2,25)	1,93 (1,50-2,83)	2,64 (1,80-4,83)	$p_{1,2}=0,27$ $p_{1,3}=0,004$
СОЭ, мм/ч	5,00 (3,00-10,00)	13,50 (7,50-31,50)	18,50 (13,00-29,50)	$p_{1,2}=0,01$ $p_{1,3}=0,00002$
вчСРБ, мг/л	1,19 (0,51-2,35)	5,10 (0,80-8,90)	3,00 (1,00-12,00)	$p_{1,2}=0,08$ $p_{1,3}=0,21$
ТБК-П, мкмоль/л	1,80 (1,60-2,69)	3,31 (2,23-7,80)	3,12 (2,38-4,38)	$p_{1,2}=0,01$ $p_{1,3}=0,0002$
СОД, Е/мл	99,60 (85,80-117,60)	75,00 (62,20-95,00)	78,30 (70,70-115,10)	$p_{1,2}=0,007$ $p_{1,3}=0,02$
АОА, ммоль/л	2,38 (1,90-3,37)	1,90 (1,80-2,20)	2,20 (2,00-2,20)	$p_{1,2}=0,018$ $p_{1,3}=0,43$

У пациентов 1-й и 2-й групп выявлено статистически значимое возрастание содержания ТБК-П ($p=0,01$ и $p=0,0002$, соответственно), снижение активности СОД ($p=0,007$ и $p=0,02$) относительно нормы. В то же время в 1-й группе установлено уменьшение АОА сыворотки до 1,90 (1,60-2,20) ($p=0,018$) против 2,38 (1,90-3,37) ммоль/л в группе здоровых лиц.

По результатам корреляционного анализа до лечения у пациентов 1-й группы выявлена положительная сильная корреляционная связь между СОЭ и индексом Н/Л ($r=0,73$, $p=0,04$); установлена отрицательная зависимость СОЭ от АОА сыворотки ($r=-0,83$; $p=0,04$), что указывает на наличие обратной линейной зависимости между возрастанием СОЭ крови и ухудшением её антиоксидантной защиты при аневризматических кровоизлияниях с эпилепсиями.

У пациентов 2-й группы установлена положительная корреляционная связь между вЧСРБ и нейтрофилами ($r=0,62$, $p=0,05$); положительная сильная взаимосвязь между СОД и лимфоцитами ($r=0,81$, $p=0,004$) и отрицательная – между СОД и СОЭ ($r=-0,58$, $p=0,08$) на уровне тенденции.

Выводы. Таким образом, при внутричерепных кровоизлияниях аневризматического генеза в головном мозге установлен относительный нейтрофильный лейкоцитоз, возрастание СОЭ; выявлены нарушения про-, антиоксидантного равновесия. В группе пациентов с эпилепсиями процессы воспаления сопровождались увеличением концентрации вЧСРБ и снижением ферментативной и неферментативной антиоксидантной активности. Установленные корреляционные зависимости указывают на взаимообусловленность изученных показателей антиоксидантных и воспалительных реакций крови у пациентов с разорвавшимися АА.

Литература

1. Бывальцев В.А., Белых Е.Г., Жданович Г.С., Шепелев В.В. Нетравматические внутричерепные кровоизлияния // Здоровье, медицинская экология, наука. – 2015. – Т. 61, № 3. – С. 76-87.
2. Chalouhi N., Ali M.S., Jabbour P.M. et al. Biology of intracranial aneurysms role of inflammation // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2012. – Vol. 32, № 9. – P. 1659-1676.

ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГРЯЗЕРАЗВОДНЫХ ВАНН

Пирогова Л. А.¹, Болбатовский Г. Н.², Тюненкова Е. В.³

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно

²Республиканский центр по оздоровлению и

санаторно-курортному лечению населения, Минск

³УО «Гродненский государственный университет им. Я. Купалы»,

Гродно, Беларусь

pirogovalar@rambler.ru

Санаторно-курортное лечение является этапом не только для предотвращения прогрессирования заболеваний, но и предупреждения рецидивов [1, 3, 4]. Помимо природных, климатических факторов, диетотерапии общеизвестно, что физические методы являются важной составной частью санаторных лечебных комплексов, формирующих программы реабилитации пациентов.

Высокий уровень общесоматической заболеваемости населения в определенной мере обусловлен интенсивностью воздействия экологических факторов, которые в своем проявлении, как правило, неспецифичны. В этой ситуации важную роль играет санаторно-курортная помощь, так как только в условиях санатория в полном объеме обеспечивается использование природных курортных факторов [3, 5]. При этом спектр лечебно-оздоровительных мероприятий должен быть достаточно широким и комплексным, адекватным поставленной цели при строгом соблюдении принципа индивидуализации.

В нашей республике профильными санаториями для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, патологии опорно-двигательного аппарата, нервной системы, нарушения обмена веществ считаются: «Поречье», «Криница», «Сосны», «Пралеска», «Свислочь», «Беларусь» (г. Друскининкай, Литва) и другие.

Месторождение минеральных вод на территории санатория «Поречье» Гродненского района Гродненской области Республики Беларусь находится в 17 км от г. Друскининкай. Лечебная вода этого месторождения по химическому составу, согласно ГОСТ 13273-88, приближается к типу друскининкайских минеральных вод. Аналогами являются минеральные воды «Бируте», «Витаутас», «Друскининкайская» (Литва) и «Валмиерская», «Юрмала» (Латвия).

Минеральная вода «Поречье» применяется как лечебно-столовая в виде питья и как бальнеологический фактор – для ингаляций, орошений и ванн.

Особенностью данного санатория является использование лечебных сапропелевых грязей озера Дикое Дятловского района Гродненской области смешанного и карбонатного типов [2, 6, 7].

В санатории «Поречье» внедрён новый метод сочетанного использования минеральной воды, смешанной с сапропелевой лечебной грязью, в виде ванн. Это дает возможность одновременно воздействовать на организм пациента двумя природными факторами и таким образом повысить физическую работоспособность. Кроме того, такой подход экономически более эффективен, т.к. позволяет пациентам принять большее количество процедур за курс санаторно-курортного лечения.

Цель исследования: на основе разработки и внедрения дифференцированной системы применения грязеразводных ванн повысить физическую работоспособность пациентов и улучшить качество их жизни.

Обследованы 122 пациента, преимущественно с патологией органов пищеварения в стадии ремиссии и сопутствующими заболеваниями (деформирующий остеоартроз позвоночника и суставов, артериальная гипертензия (АГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), болезни обмена веществ), которые проходили санаторно-курортное лечение в условиях санатория «Поречье». В зависимости от методов применения естественных природных факторов, характера заболевания, функциональных возможностей и пола пациенты были разделены на 3 группы: 1-я группа – получившие ГРВ 1:1; 2-я группа – пациенты, получавшие ГРВ 1:2; 3-я группа – пациенты, получавшие ГРВ в виде «болтушки» – это разведение сапропелевой грязи в минеральной воде «Поречье», из расчета 10 кг грязи на 400 л воды.

При обследовании полученные данные сравнивали с нормами показателей физического развития и функционального тестирования, которые были получены при исследовании практически здоровых людей, не получавших курс ГРВ. Они составили контрольную группу – 40 практически здоровых человек, из них 20 женщин и 20 мужчин трудоспособного возраста.

С целью изучения толерантности к физической нагрузке у пациентов применили велоэргометрический тест. При его проведении пациенту предлагали две последовательные нагрузки мощностью (N) 50-75 Вт и 100 Вт, соответственно, с интервалом отдыха 3 минуты, время работы 5 минут, скорость – 50-60 оборотов в 1 минуту. Толерантной N считали ту величину, при которой ЧСС у пациента была в зоне 150-170 и 120-130 ударов в минуту, соответственно возрастным группам (20-40 лет и 40-60 лет). Оценивали работоспособность по Astrand. Полученные данные сравнивали со средними показателями у здоровых лиц работоспособного возраста – контрольная группа.

Показатель максимального потребления кислорода (МПК) надежно характеризует физическую работоспособность человека. Между МПК и физической работоспособностью имеется высокодостоверная корреляция. У пациентов с патологией ССС индивидуальная величина МПК отражает их состояние (функциональный класс) и поэтому используется при решении таких медицинских задач, как уточнение диагноза, прогноз состояния, оценка эффективности лечебно-профилактических мероприятий и т.п. Всемирная организация здравоохранения рекомендует определение МПК как одного из наиболее точных методов оценки работоспособности человека. МПК отражает функциональную мобилизацию системы транспорта и утилизации кислорода при достижении максимальных значений. Результаты теста у нетренированных людей оценивали по таблице.

Оценка функционального состояния дыхательной системы у пациентов, проходящих санаторно-курортное лечение, имеет чрезвычайно большое значение в плане переносимости общих нагрузочных процедур, к которым относятся ГРВ. Следует отметить, что традиционное разведение сапропелевой грязи минеральной водой «Поречье» 1:1 не всегда хорошо переносится пациентами. Это проявляется общей усталостью, сердцебиением, одышкой, головной болью, повышением артериального давления. Следовательно, необходимо уменьшить механическое воздействие на организм пациентов (нагрузочность) процедуры ГРВ путем снижения концентрации сапропелевой грязи в ваннах: 1:2 (одна часть сапропелевой грязи и две части минеральной воды) и «болтушка» (10 кг сапропелевой грязи на 400 л минеральной воды). Для определения необходимого разведения требуется индивидуальный подход к пациенту, учитывающий его физическое развитие, функциональное состояние дыхательной и сердечно-сосудистой системы, состояние скелетной мускулатуры, а также возраст, пол и наличие сопутствующих заболеваний.

При проведении велоэргометрического тестирования выявлена низкая переносимость физической нагрузки у обследованных пациентов, проходивших восстановительное лечение в условиях санатория «Поречье». Эти данные легли

в основу определения необходимого разведения сапропелевой грязи в минеральной воде «Поречье». Чем ниже переносимость нагрузки, тем больше разведение.

Выводы:

1. Дифференцированный подход с учетом физического развития, функционального состояния, МПК и сопутствующих заболеваний позволяет одновременно воздействовать на организм пациента двумя природными факторами, не вызывая при этом побочных явлений.
2. Предложенный метод более физиологичен и экономически эффективен.

Литература

1. Адилов В.Б., Давыдова О.Б., Зотова В.И. и др. Минеральные воды и пилониды – основа лечебной базы курортов // Сборник материалов междунар. конгр. – М., 1998. – С.113-129.
2. Антонов И.П., Кашицкий Э.С., Улащик В.С. Сапропелевые грязи Белоруссии и их лечебное использование // Метод. рекомендации. – Минск, 1980. – 13 с.
3. Боголюбов М.В. Курортология и физиотерапия (в 2-х томах). – М., Медицина, 1985. – 560 с., 638 с.
4. Боголюбов М.В. Медицинская реабилитация (том I). – Пермь, 1998. – С. 96-121, 166-193.
5. Вальчук Э.А., Мазур Н.В. Медицинская реабилитация в санаторных учреждениях. Медицинская, социальная, профессиональная реабилитация больных и инвалидов: Матер. междунар. конф. – Мн., 1996. – С. 94.
6. Карабанов А.М., Мазур Н.В., Йода В.М. Сапропель озера Дикое. Состав, свойства, использование: монография. – Могилев: МГУ им. А.А. Кулешова, 2004. – 48 с.
7. Кирьянова В.В., Трубин Л.А. Новые направления и технологии в грязелечении // Труды V Всероссийского съезда физиотерапевтов и курортологов и Российского научного форума «Физические факторы и здоровье человека». – М.: Авиаиздат, 2002. – С. 169-170.

**ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ
 ФУНКЦИЮ КРОВИ, ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ И
 ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС
 ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ**

Полуян И. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
igorrodno78@mail.ru

Физические нагрузки (ФН) опосредуют выраженные изменения аэробного обмена в организме за счет увеличения уровня легочной вентиляции, потребления кислорода, скорости его доставки от легких к работающим мышцам, суммарной скорости кровотока. Представляется важным поиск средств, которые позволят улучшить функциональные возможности организма, в частности, его аэробный потенциал. Мелатонин, участвуя в гуморальной регуляции метаболизма в организме, способен улучшать функционирование разных органов и систем [4]. Эта субстанция оказывает регулирующее влияние на процесс образования и функцию основных клеточных элементов крови [1].

Цель исследования – оценить влияние мелатонина на кислородтранспортную функцию крови, газотрансмиттеры и прооксидантно-антиоксидантный баланс у лиц мужского пола при выполнении ими субмаксимальной ФН.

Материалы и методы. Объектом исследования были здоровые лица мужского пола в возрасте 18-21 год. Испытуемые ($n=20$) принимали мелатонин по 3 мг 1 раз в сутки в течение 2-х месяцев. У исследуемых проводился забор 8,0 мл крови из кубитальной вены до и после субмаксимальной ФН в начале и после приема курса мелатонина. Выполнялся тест PWC_{170} на велотренажере в объеме двух нагрузок по 5 минут с интервалом между ними 3 минуты и частотой педалирования 60 об/мин. Показатели кислородтранспортной функции крови измеряли с помощью микрогазоанализатора «Syntesis-15». Парциальное напряжение кислорода в крови (pO_2) при 50% насыщении ее кислородом измерялось при стандартных условиях ($p50_{\text{станд}}$), а $p50_{\text{реал}}$ рассчитывалось для реальных значений этих факторов по формуле Severinghaus J. W. Уровень эндогенного сероводорода (H_2S) и продукцию монооксида азота (NO) измеряли на спектрофотометре по реакции между сульфид-анионом и кислым раствором реактива N.N-диметил-парафенилендиамина солянокислого [3] и по суммарному содержанию нитрат/нитритов (NO_x) в плазме крови с использованием реактива Грисса, соответственно. Величину показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса (малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК), восстановленный глутатион, активность каталазы, церулоплазмина, α -токоферола и ретинола) измеряли на спектрофотометре по общепризнанным методикам [2].

Результаты и их обсуждение. После субмаксимальной ФН у лиц опытной группы в начале исследования выявлено повышение pO_2 на 30,2% ($p<0,001$), степени оксигенации (SO_2) на 46,1% ($p<0,01$), что сопоставимо с характером изменений у лиц контрольной группы. При этом отмечается рост значения $p50_{\text{реал}}$ на 6,3% ($p<0,01$), что отражает сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных условиях циркуляции вправо. После приема мелатонина при субмаксимальной ФН наблюдается увеличение pO_2 на 7,7% ($p<0,005$), SO_2 – на 28,9% ($p<0,03$). Величина значений $p50_{\text{реал}}$ при этом вырастает на 10,5% ($p<0,01$), что отражает больший сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных условиях циркуляции вправо. У лиц контрольной группы было определено также, что выполнение ФН приводит к повышению концентрации газотрансмиттеров в плазме: NO – на 54,1% ($p<0,001$), H_2S – на 32,8% ($p<0,001$), а проведение курса мелатонина способствует более высокой концентрации газотрансмиттеров в плазме при ФН: NO – на 74,9% ($p<0,001$), H_2S – на 46,5% ($p<0,001$).

В начале исследования после субмаксимальной ФН установлено также увеличение уровня МДА и ДК в эритроцитах – на 42,8 ($p<0,001$) и 30,5% ($p<0,004$), в плазме – на 45,3 ($p<0,001$) и 43,1% ($p<0,001$), соответственно. Наблюдается снижение в эритроцитах концентрации восстановленного глутатиона на 21,8% ($p<0,024$) и увеличение активности каталазы на 6,4% ($p<0,01$). В плазме выявлено снижение концентрации α -токоферола на 24,4% ($p<0,002$), ретинола – на 49,1% ($p<0,001$), увеличение уровня церулоплазмина на 9,6%

($p < 0,001$). После проведенного курса приема мелатонина отмечено менее значительное увеличение уровня МДА и ДК в эритроцитах на 25,6 ($p < 0,001$) и 21,5% ($p < 0,002$), в плазме – на 19,9 ($p < 0,001$) и 26,7% ($p < 0,001$), соответственно. Снижение в эритроцитах концентрации восстановленного глутатиона на 14,5% ($p < 0,002$) менее выражено, чем в исходных данных, как и увеличение активности каталазы на 12,5% ($p < 0,01$). В плазме выявлено снижение концентрации α -токоферола на 14,6% ($p < 0,002$), ретинола – на 29,1% ($p < 0,001$) и увеличение уровня церулоплазмина на 24,7% ($p < 0,001$).

Выводы. Таким образом, мелатонин обеспечивает больший сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо после выполнения физических упражнений, что улучшает доставку кислорода к тканям и его использование, а также прооксидантно-антиоксидантное состояние. Выявленный рост уровня газотрансмиттеров (монооксид азота и сероводород) после приема мелатонина имеет значение для формирования кислородтранспортной функции крови и поддержания прооксидантно-антиоксидантного баланса организма при ФН.

Литература

1. Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. Мелатонин и система крови // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69, № 3. – С. 74.
2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Мн.: Беларусь, 2002. – Т. 1. – 495 с.
3. Norris E.J., Culbertson C.R., Narasimhan S., Clemens M.G. The Liver as a Central Regulator of Hydrogen Sulfide // Shock. – 2011. – Vol. 36, № 3. – P. 242.
4. Reiter R.J., Mayo J.C., Tan D.X. et al. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers // J. Pineal. Res. – 2016. – Vol. 61, № 3. – P. 253.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА G681A ГЕНА CYP2C19 НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛОПИДОГРЕЛА У ПАЦИЕНТОВ СТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИИ НАПРЯЖЕНИЯ, ПОДВЕРГШИХСЯ ПРОЦЕДУРЕ ПЛАНОВОГО ЧРЕСКОЖНОГО КОРОНАРНОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Пронько Т. П.¹, Степура Т. Л.¹, Снежицкий В. А.¹, Ускова И. В.²,
Дольник И. А.²

¹Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно

²Гродненский областной клинический кардиологический центр, г. Гродно, Беларусь
tanya_pronko@mail.ru

В последние годы в лечении пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) растет доля чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ), требующих применения двойной антитромбоцитарной терапии (ДАТТ) ацетилсалициловой кислотой (АСК) и ингибитором P2Y₁₂ рецепторов – клопидогрелем. Одна из существенных проблем применения антитромбоцитарной терапии у пациентов с ИБС заключается в развитии

CYP2C19 (MIM ID 124020). Описаны полиморфные варианты этого резистентности к указанным средствам (5-48% к АСК и 20-30% к клопидогрелу) у пациентов со стабильными формами ИБС и с острым коронарным синдромом [1, 2]. Резистентность к действию АСК и клопидогрела ассоциирована с высоким риском смерти, инфаркта миокарда или инсультов у пациентов, страдающих разными формами ИБС [1, 2, 3].

Клопидогрел является пролекарством, всасывающимся в желудочно-кишечном тракте и метаболизирующимся в печени при участии белков системы цитохрома-P450, в частности белка 2C19 (CYP2C19). Активный метаболит необратимо ингибирует связывание АДФ с рецепторами P2Y₁₂. Это приводит к уменьшению активации комплекса GPIIb/IIIa и угнетению агрегации тромбоцитов. Существует значительная межиндивидуальная вариабельность в скорости трансформации и эффективности клопидогрела, которая зависит от полиморфизмов генов, кодирующих изоформы цитохрома P450 [4]. Известно, что наибольшую роль в метаболизме клопидогрела играет ген гена, результатом которых является синтез белка с низкой метаболической активностью. Один из них, CYP2C19*2 (rs4244285), заключается в замене гуанина (G) на аденин (A) в 681 (681G-A) положении в экзоне 5, что приводит к синтезу нефункционального белка [4].

Цель – изучить влияние полиморфного варианта G681A гена CYP2C19 на эффективность клопидогрела у пациентов Гродненского региона со стабильной стенокардией напряжения, подвергшихся процедуре планового ЧКВ.

Материалы и методы. Обследован 71 пациент со стабильной стенокардией, от 40 до 72 лет, 18 женщин и 53 мужчины. Генотипирование образцов ДНК, выделенных из крови, выполнено методом ПЦР-РВ с использованием набора реагентов «SNP-экспресс» («ЛИТЕХ», РФ). Для выявления чувствительности к клопидогрелу проводили оценку агрегации тромбоцитов при помощи мультиэлектродной агрегометрии с индуктором агрегации АДФ (ADP-test) на импедансном 5-канальном агрегометре «Multiplate» (Verum Diagnostica GmbH, Германия). Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы STATISTICA 10.0.

Результаты и их обсуждение. Распределение распространенности генотипов полиморфного локуса G681A гена CYP2C19 в исследуемой группе не соответствовало ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга, $\chi^2=7,0$ $p=0,008$.

Носители «дикого типа» аллеля CYP2C19 GG составили 70,4% (50 чел.), носители гетерозиготного аллеля CYP2C19 GA составили 21,1% (15 чел.), носители гомозиготного аллеля CYP2C19 AA составили 8,5% (6 чел.). Частота встречаемости аллели G соответствовала 80,9%, частота встречаемости аллели A – 19,1%. Распространенность носительства по крайней мере одной мутантной аллели CYP2C19A (GA+AA), ассоциированной с резистентностью к клопидогрелу, среди пациентов со стабильной стенокардией составила 29,6%.

Включенные в исследование пациенты были разделены на подгруппы. Подгруппу 1 (ПГ1) составили носители доминантного генотипа GG гена CYP2C19 (50 чел.), в подгруппу 2 (ПГ2) был включен 21 чел., обладатели генотипов GA и

АА. При анализе агрегатограмм у пациентов ПГ1 значения ADP-test составили 35,0 [26,0; 45,0] U, в ПГ2 – 50,0 [35,0; 64,5] U, $p < 0,05$. В ПГ1 со сниженной чувствительностью к клопидогрелу было 6 чел. (12%), в ПГ2 – 9 чел. (42,9%), $p < 0,05$. При корреляционном анализе выявлены взаимосвязи между значениями ADP-test и полиморфным маркером G681A гена CYP2C19, $R_s = 0,26$, $p < 0,05$.

Выводы:

1. Среди пациентов Гродненского региона со стабильной стенокардией напряжения частота встречаемости мутантного аллеля А гена CYP2C19, ассоциированного с резистентностью к клопидогрелу, составляет 29,6%.

2. Пациенты со стабильной стенокардией напряжения, подвергшиеся процедуре чрескожного коронарного вмешательства, являющиеся носителями генотипов GA и AA гена CYP2C19, характеризуются более высокими значениями ADP-test и частоты встречаемости лабораторной резистентности к клопидогрелу.

Литература

1. Combescure C. et al. Clinical implications of clopidogrel nonresponse in cardiovascular patients: a systematic review and meta-analysis // *J. Thromb. Haemost.* – 2010. – Vol. 8. – P. 923-933.
2. Грацианский Н.А. Антитромбоцитарная терапия при коронарной болезни сердца. Некоторые проблемы и достижения // *Атеротромбоз.* – 2010. – Т. 4, № 1. – С. 2-54.
3. Simon T. et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events // *N Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360 – P. 363-375.
4. Реброва Т.Ю. и др. Резистентность к клопидогрелу и полиморфизмы генов P2RY12 и GPIIIa у больных ишемической болезнью сердца // *Клиническая медицина.* – 2013. – № 8. – P. 29-31.

УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ТРОМБОЦИТАРНОМ КОНЦЕНТРАТЕ КАК СПОСОБ ОЦЕНКИ ЕГО КАЧЕСТВА

Рахманкулова З. К.¹, Абрамов В. Ю.², Проскурнина Е. В.³

¹Московский физико-технический институт (государственный университет),

²ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В.Склифосовского» Департамента здравоохранения города Москвы,

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
Москва, Россия, rakhmankulova@phystech.edu

В настоящее время трансфузия тромбоцитарных концентратов широко применяется при лечении ряда заболеваний кроветворной системы. В процессе заготовки и хранения происходит изменение функциональной активности тромбоцитов, поэтому для их эффективного применения требуется возможность быстрой и надежной оценки их качества. Перспективным с этой точки зрения представляется изучение свободно-радикальных процессов, играющих значимую роль при нормальных и патологических состояниях клетки.

Цель. Определить с помощью новой методики изменение уровня продукции активных форм кислорода (АФК) в тромбоцитарном концентрате при хранении и оценить потенциальную возможность использования данного параметра для характеристики функциональной активности тромбоцитов и оценки качества тромбоцитарного концентрата.

Материалы и методы. Были исследованы 12 образцов лейкоредуцированных тромбоцитарных концентратов, полученных от здоровых доноров (5 мужчин и 7 женщин от 27 до 53 лет) методом аппаратного цитафереза. Образцы хранили при температуре от 22 до 24°C и при постоянном перемешивании в течение 5 суток. Ежедневно, начиная с первого дня хранения, в течение 30 минут регистрировали хемиллюминесцентный ответ от тромбоцитарного концентрата и выделенной из него плазмы на стимул НАДН в присутствии специфичного для супероксидного анион-радикала зонда люцигенина. На основании полученных хемиллюминограмм рассчитывали светосумму как интегральный показатель, характеризующий интенсивность генерации супероксидного анион-радикала.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что в свечение тромбоцитарного концентрата вносят вклад две составляющие: собственно тромбоциты и плазма. В отсутствие НАДН хемиллюминесценция полностью обусловлена плазматической составляющей, а после воздействия стимула в основном тромбоцитарной. Кроме того, стимул вызывает многократное усиление сигнала, величина которого у разных доноров колеблется в пределах $(3 \div 15) \times 10^3$ имп/с.

При помощи ингибиторного анализа показано, что хемиллюминесцентный сигнал плазмы обусловлен ксантиноксидазой, а клеточный сигнал, по данным литературы, обусловлен НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазой.

В первые 2-3 дня хранения хемиллюминесцентный ответ тромбоцитов на стимул НАДН нарастает, а затем начинает убывать до значения ниже исходного. Что касается плазмы, интенсивность свечения имеет максимальное значение в начале срока хранения, затем неуклонно падает и к 4-5 суткам хранения становится предельно низкой, на уровне фона. Таким образом, интенсивность люцигенин-активированной хемиллюминесценции плазмы, отражающую активность ксантиноксидазы, можно использовать как параметр, характеризующий качество тромбоцитарного концентрата.

Выводы:

1. При хранении тромбоцитарного концентрата в описанных условиях наблюдается характерное изменение уровня продукции АФК.
2. НАДН-стимулированная люцигенин-активированная хемиллюминесценция тромбоцитов достигает максимума на 2-3 сутки и впоследствии снижается; собственное люцигенин-активированное свечение плазмы максимально в первые сутки и к 4-5 убывает до фонового значения.
3. Наличие динамики в изменении величины хемиллюминесцентного сигнала с течением времени, а также сопоставление полученных результатов с результатами агрегометрии позволяет предположить, что метод активированной хемиллюминесценции имеет перспективу применения для оценки качества ТК при хранении.

ВОВЛЕЧЕНИЕ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВОЙ СИСТЕМЫ (РААС) В СТИМУЛЯЦИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Родионов Ю. Я.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск, Беларусь, *yu_rodionov@mail.ru*

Первые экспериментальные и клинические исследования структуры и функции РААС в физиологии и патофизиологии сердечно-сосудистой системы (КВС), а также в патогенезе позднего токсикоза беременных были начаты в Республике Беларусь (в то время БССР) в 1961 г. на кафедре патофизиологии Витебского медицинского института [1]. Был выделен и очищен ренин из почек собак, крыс, кроликов, крупного рогатого скота, свиней и человека. Степень чистоты и активности ренина человека практически соответствовала международному стандарту (Code 68/356, WHO/BS Document 74.1089, 0,1 IU/amproule). Препарат проверялся и в Лаборатории патофизиологии Института педиатрии АМН СССР профессором Пинелисом В. Г. Проведены уникальные исследования кинетики реакции ренина с ангиотензиногеном и сделаны следующие выводы, имеющие мировой приоритет. Доказано, что не только хроническая ишемия почек (по Гольдблатту) вызывает развитие устойчивой артериальной гипертензии, но и острая кратковременная ишемия и венозная гиперемия почек, что в 1969 г. подтверждено McCabe в США [1]; впервые установлено, что ренин и ангиотензин II могут активировать систему свертывания крови, фибринолиз и динамические свойства тромбоцитов; что РААС участвует в мобилизации иммунной системы через активацию альтернативного пути комплемента [1]; что РААС участвует в патогенезе позднего токсикоза беременных, взаимодействуя с системой простагландиногенеза. Теоретически нами доказано, что эссенциальная гипертензия и токсемия беременных (поздний токсикоз беременных) могут быть следствием истощения депрессорных реакций, в частности на уровне простагландиногенеза [1]. Отсюда впервые в мировой клинической практике именно в нашей республике было рекомендовано включение в схемы комплексного лечения позднего токсикоза беременных предшественников простагландинов депрессорного действия, входящих в состав льняного масла и его производного – линетола [4]. Почти через 40 лет после этого в США, Китае, Индии, Японии, в Европейских странах начали интенсивно экспериментально и клинически исследовать значение льняного масла в лечении артериальной гипертензии и других форм патологии КВС. Наряду с эффективной прогипертензивной функцией РААС в последние десятилетия обнаружены сложные альтернативные пути и механизмы активации этой системы. Оказалось, что наряду с генерализованной РААС существует местная РААС, локализованная в самых разных органах и тканях. Конечные продукты активации РААС, ангиотензины, взаимодействуя

со своими рецепторами, например, АТ1 и АТ2, играют главную роль в осуществлении функций РААС на уровне КВС, почек, сердца, эндотелия, мозга и других тканей и клеток. Мультифункциональные компоненты РААС пополняются новыми фрагментами ангиотензинов, энзимов, их образующих, рецепторов к этим фрагментам. Это не только ангиотензин I (АнгI), АнгII, но и Анг(1-12), Анг(1-7), АнгIII, АнгIV, Анг(1-9); аламандин и рецептор аламандина MrgD; Mas-рецептор Анг(1-7); рецептор АнгIV - AT4/IRAP; прорениновый рецептор – PRR; ангиотензин-конвертирующий энзим 2 - ACE2, и многие другие энзимы. Так, связь АнгII с АТ1-рецептором активирует NAD(P)H-оксидазу и вызывает продукцию реактивных форм кислорода (РФК или АФК). В состав NAD(P)H-оксидазы входят компоненты клеточных мембран типа p22^{phox}, gp91^{phox} (Nox2), а также внутриклеточные компоненты p47^{phox}, p40^{phox}, p67^{phox}; Rac, G-белок с малой молекулярной массой. АнгII может стимулировать двухфазную реакцию продукции РФК: 1) активация протеинкиназы C; 2) мобилизация фосфатидилинозитол3'-киназы, Rac, эпидермального фактора роста (EGF) и c-Src-киназы. Под влиянием РФК возрастает активность NAD(P)H-оксидазы и активируется Rho/Rho-киназа, что приводит к сокращению гладких мышц сосудов.

Окислительный стресс, стимулированный активностью РААС, играет важную роль в патофизиологии почечного фиброза [2, 3]. Следует ожидать, что антиоксидантные препараты и средства, снижающие активность РААС, будут способствовать антифибротическому действию, замедляющему скорость прогрессирования хронической почечной недостаточности. В доклинических и клинических испытаниях, например, известную полезность показали такие антиоксиданты, как битартрат цистеамина, эпоксиэйкозатриеновые кислоты и цитоглобин [3].

Кстати, лизиноприл и сартаны (лозартан, тельмисартан) подавляют продукцию РФК (например супероксид-аниона). Поэтому смягчаются отрицательные эффекты РААС, опосредствованные продукцией РФК, тормозится скорость и распространённость развития атеросклеротических бляшек и подавляется активность NAD(P)H-оксидазы.

Литература

1. Родионов Ю.Я. Многофункциональная роль эндотелия в регуляции сосудистого тонуса // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования. – 2014. – С. 166-172.
2. Murakami K. New components of the renin-angiotensin-aldosterone system and oxidative stress // Journal of Hypertension. – 2015. – Vol. 4, № 4. – P. 1-6.
3. Lv Wenshan, Booz G.W., Fan Fan et al. Oxidative stress and renal fibrosis: recent insights for the development of novel therapeutic strategies // Frontiers in Physiology. – 2018. – Vol. 9, № 105. – P. 1-11.
4. Лызиков Н.Ф., Мацуганова Т.Н. Комплексное лечение больных поздним токсикозом беременных с применением средств стимуляции образования простагландинов депрессорного действия: методические рекомендации / Министерство здравоохранения БССР, Управление лечебно-профилактической помощи детям и матерям. – Минск, 1979.

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ КОНТРОЛЯ РАВНОВЕСИЯ У ПАЦИЕНТОВ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ ИЗМЕНЕНИЯ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО КРОВОТОКА

Рубахова В. М.

Институт физиологии НАН Беларуси
rubakhova@mail.ru

Система контроля положения тела человека в пространстве сложно организована и включает множество структурных элементов: ретикулярную формацию головного и спинного мозга, экстрапирамидную и пирамидную, руброспинальную, нигроспинальную, мозжечковую и вестибулярную системы [1-3]. Нарушение поддержания равновесия свидетельствует о развитии патологического процесса, например, об изменении церебрального кровотока в одном из звеньев системы контроля равновесия. Используемые в настоящее время в клинике тесты позволяют установить выраженность нарушения равновесия и координации движений, но не оценивают их количественно. Использование неинвазивной, высокоточной диагностической аппаратуры является одним из путей решения проблемы. К одной из таких методик относится компьютерная стабیلлография на основе биологической обратной связи, являющаяся одним из наиболее перспективных подходов в реабилитации пациентов.

Цель исследования – оценка с использованием стабیلлографической платформы эффективности восстановления нарушенного контроля статических рефлексов у пациентов после нарушения кровоснабжения головного мозга разной степени тяжести.

Обследовались 34 пациента с нарушениями церебрального кровотока (группа 1) и 22 практически здоровых лица (группа 2) с применением компьютеризированной стабیلлографической платформы путем регистрации положения, отклонения и других характеристик проекции общего центра тяжести на плоскость опоры. Анализировался процесс поддержания человеком вертикальной позы, на который влияет функционирование многих систем организма (вестибулярной, зрительной, проприоцептивной, опорно-двигательной и высших отделов центральной нервной системы). Все наблюдения осуществлялись с письменного разрешения обследуемых.

На предварительном этапе фиксировали основные жалобы пациентов: повышенная утомляемость и хроническая усталость, эмоциональная лабильность, нарушение сна (поверхностный сон, сонливость в дневное время), головные боли, чувство нехватки воздуха, специфические жалобы на нарушение координации вертикальной позы и координации движений. Первые три-четыре установочные пробы проводили без регистрации показателей с целью обучения пациента к нахождению на стабیلлографической платформе. Для этого, а также предотвращения возможной потери равновесия, рядом всегда находились врач и научный сотрудник. Систематические обучающие сеансы с

целью контроля характера реализации статических и статокинетических рефлексов осуществляли не менее двух раз в неделю. Устойчивость испытуемых на платформе выражали в расчетных показателях (РП) от 0 до 1Е (1Е – максимальный показатель, отражающий высокий уровень контроля равновесия). Экспозиция на платформе составляла от 30 до 60 секунд и зависела от состояния пациента, его возраста, пола, стадии заболевания.

Расчетные показатели эффективности поддержания равновесия на первом этапе у лиц группы 2 в среднем составили от 0,1 до 0,74, а при завершении обследования после трех-пяти проб однократного сеанса – от 0,7 до 0,95. Таким образом, РП приближался к оптимуму после кратковременного обучения у практически здоровых лиц. У всех обследованных наблюдали возрастание РП по мере увеличения числа попыток.

У лиц в группе 1 преобладающим диагнозом был инфаркт мозга в левом или правом каротидном бассейне артерий (КБА) разной степени тяжести. В данной группе через четыре сеанса стабиллографии на протяжении недели стационарного лечения выявили прирост РП с 0,18 до 0,74. Следует отметить, что тренировки на стабиллографической платформе, проводимые в течение даже одного дня с интервалом в 10-20 мин., у ряда пациентов с нарушениями церебральной гемодинамики выявляли положительную динамику РП. В процессе обследования разных пациентов на стабиллографической платформе выяснено, что у лиц с осложненными энцефалопатиями, кистами мозга и обширными кровоизлияниями фактически не наблюдается положительного прироста РП.

Таким образом, в результате проведенного комплекса лечебных мероприятий (терапия по схеме сосудистыми препаратами, применение нейропротекторов, антикоагулянтов, антигипертензивных средств) в сочетании со стабиллографией функция поддержания равновесия нормализуется. При этом положительную динамику поддержания равновесия можно выразить количественно, применяя расчетные показатели. В отдельных примерах прослеживается возможность в течение сравнительно короткого периода времени обучить пациента поддерживать равновесие и вертикальную позу на стабиллографической платформе. Эта способность может явиться реальным фактором, направленным на профилактику травматизма у пациентов с нарушениями церебрального кровотока разного генеза.

Литература

1. Zehr E.P., Carroll T.J., Chua R. et al. Possible contributions of CPG activity to the control of rhythmic human arm movement // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 82. – P. 556-568.
2. Famuła A., Nowotny-Czupryna O., Brzek A., et al. Telereceptive and proprioceptive control of balance vs. body stability in elderly people // *Ortop. Traumatol Rehabil.* – 2008. – Vol. 10, № 4. – P. 384-395.
3. Ustinova K.I., Chernikova L.A., Matveev E.V., et al. Use of a bilateral stabilographic platform in the diagnosis and rehabilitation of movement disorders at the clinic of nervous system diseases // *Med. Tekh.* – 2000. – Vol. 6. – P.35-40.

**ВОЗБУДИМОСТЬ СПИНАЛЬНЫХ МОТОНЕЙРОНОВ КРЫСЫ ПОД
ДЕЙСТВИЕМ ИНГИБИТОРА СИНТАЗЫ МОНООКСИДА АЗОТА****Руткевич С. А., Люзина К. М., Чумак А. Г.**Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
rutkevitch@inbox.ru

Регистрация Н-рефлекса является универсальным «инструментом», позволяющим оценить функциональное состояние нейронов общего конечного пути соматической рефлекторной дуги. В модуляции возбудимости мотонейронов принимают участие афферентные входы, вставочные нейроны дорсального рога, гомонимные мотонейроны (синергисты), премоторные нейроны стволовых структур и кортикоспинальные нисходящие проекции. Согласно данным литературы [3], каждый мотонейрон получает около 140 000 синаптических «входов», 70% из которых являются глицин- и ГАМК-ергическими, около 18% – глутаматергическими, остальные относятся к серотонин-, адреналин- и норадреналин-, дофамин-, АТФ-, ацетилхолинергическим, а также способным воспринимать сигнальные молекулы пептидной природы. Во многих нейронитах, конвергирующих на мотонейронах спинного мозга, экспрессируется нейрональная NOS [4; 5]. Кроме того, известно, что NO модулирует выделение многих медиаторов (ацетилхолина, катехоламинов, возбуждающих и тормозных аминокислот, серотонина, аденозина и другие) [2, 3]. Полагают, что в спинном мозге монооксид азота, выделяемый нейронами дорсального рога (I, II пластины, по Рекседу) [2, 5], задействован в контроле входящих ноцицептивных сигналов. Вместе с тем об участии NO в регуляции возбудимости сегментарных мотонейронов, сведений недостаточно.

Цель исследований – выяснение влияния эндогенного монооксида азота на возбудимость сегментарных мотонейронов крысы.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 16 взрослых крысах (250-350 г) обоего пола, наркотизированных уретаном (1г/1 кг внутривенно). Эксперименты проводились в соответствии с требованиями Женевской конвенции о гуманном обращении с лабораторными животными. Были сформированы 2 группы: контрольная группа (n=8) и группа, в которой всем животным однократно вводили неселективный ингибитор NOS (L-NNA 2,5 мг/кг внутривенно, n=8).

Активный электрод располагали в мышцах подошвенной поверхности стопы, референтный вводили подкожно в фаланги пальцев, заземляющий располагали на контрлатеральной конечности. Стимулирующий электрод помещали над сосудисто-нервным пучком медиальной лодыжки. Напряжение стимулов (прямоугольные импульсы длительностью 0,1 мс, частота 0,5 Гц) плавно увеличивалось – от 0 В до 6-7 В. Анализировали порог возникновения ответов (В), амплитуду (измеряли от негативного до позитивного пиков, мВ), латентный период и длительность ответов (мс). Комплекс приборов включал стимулятор ЭСУ-2, осциллограф С1-83, компьютер *Pentium-III*, работающий в

режиме «на линии». Сигналы регистрировали на жестком диске, анализировали и затем воспроизводили для иллюстраций с помощью программы «Inputwin», разработанной в Институте физиологии НАН Беларуси. Статистическую обработку данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента после проверки соответствия данных нормальному распределению. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У всех животных динамика возникновения и развития Н- и М-ответов при постепенном увеличении интенсивности раздражающего стимула соответствовала описанной в литературе [1]. В контрольной группе Н-рефлекс появлялся при напряжении тока ($0,3 \pm 0,02$ В), которое было подпороговым для М-ответа. По мере роста напряжения стимулов и амплитуды Н-рефлекса появлялся пороговый М-ответ (напряжение тока $0,6 \pm 0,04$ В). Затем амплитуда Н-ответа достигала своего максимума ($3,1 \pm 0,1$ мВ). По мере увеличения интенсивности стимуляции амплитуда М-ответа достигала максимальных значений ($6,7 \pm 0,4$ мВ), а Н-рефлекс почти полностью подавлялся. Длительность ($2,2 \pm 0,1$ мс) и латентный период ($9,8 \pm 1,6$ мс) Н-рефлекса, а также длительность ($2,3 \pm 0,1$ мс) и латентный период ($2,1 \pm 0,2$ мс) М-ответа были стабильны в течение всего опыта.

Во второй (опытной) группе животных регистрацию Н- и М-ответов выполняли после интраперитонеального введения неселективного ингибитора NOS (L-NNA $2,5$ мг/кг). Порог возникновения Н-рефлекса ($0,6 \pm 0,04$ В; $P = 0,005$) был достоверно выше этого показателя в контрольной группе, в то время как порог М-ответа ($0,6 \pm 0,05$ В) не изменялся. Амплитуда моносинаптического рефлекса у животных после инъекции ингибитора синтазы NO также отражала снижение возбудимости мотонейронов ($2,1 \pm 0,1$ мВ) и была достоверно меньше, чем в контроле ($3,1 \pm 0,1$ мВ; $P = 0,03$). Амплитуда М-ответа в этой группе животных достоверно не изменялась по сравнению с контролем.

Повышение порога возбудимости в сочетании со снижением амплитуды Н-ответов в группе животных после введения L-NNA указывает на ключевую роль монооксида азота в осуществлении контроля возбудимости сегментарных мотонейронов.

Литература

1. Бадалян Л.О., Скворцов И.А. Клиническая электронейромиография. – Москва: Медицина, 1986. – 368 с.
2. Cervero F., Jensen T.S. Pain and the spinal cord // Handbook of Clinical Neurology. – 2006. – Vol. 81. – P. 77-92.
3. Maisky V.A., Mankivska O.P., Maznychenko A.V., Vlasenko O.V., Dovgan O.V., Schomburg E.D., Steffens H. NADPH-diaphorase reactivity and Fos-immunoreactivity within the ventral horn of the lumbar spinal cord of cats submitted to acute muscle inflammation induced by injection of carrageenan // Acta. Histochem. – 2016. – Vol. 118, № 7. – P.659-664.
4. Prast H., Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function // Prog. Neurobiol. – 2001. – Vol. 64, № 1. – P. 51-68.
5. Rekling J.C., Funk G.D., Bayliss D.A., Xiao-Wei D., Feldman J.L. Synaptic control of motoneuronal excitability // Physiological reviews. – 2000. – Vol. 80, № 2. – P. 767-852.

АНТИ- И ПРООКИСЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ В ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ ПРИ РАЗВИТИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА, ВЫЗВАННОГО ПРИСТАНОМ

Свергун В. Т., Коваль А. Н., Грицук А. И., Громыко М. В.

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь
svergun_vt@mail.ru

Ревматоидным артритом (РА) страдает около 1% населения земли. Это системное, хроническое, аутоиммунное заболевание с тяжелым исходом. РА протекает на фоне поражения синовиальной оболочки суставов, гиперплазии, увеличения объема синовиальной ткани, с дальнейшей деструкцией хрящевой и костной ткани.

Цель исследования – оценка состояния анти/прооксидантной активности в тканях лабораторных животных с вызванным пристаном РА. В качестве экспериментальной модели рассматривался пристан-индуцированный РА у крыс [1, 3]. Модель позволяет изучить стадии и аутоиммунный механизм развития заболевания.

Материалы и методы. В эксперимент вводились самки белых крыс в возрасте от 9 до 12 мес., массой 180-230 г. Требования к содержанию и соблюдению санитарно-гигиенических норм у животных были направлены на минимизацию воздействий, вызывающих боль и страдание животных. Артрит был индуцирован путем внутрикожной инъекции в основание хвоста 0,15 мл пристана (2,6,10,14-тетраметилпентадекан) (Aldrich, Milwaukee). Развитие артритагогенного процесса контролировалось путем визуального клинического осмотра.

Изучение анти/проокислительной активности в плазме животных, гомогенатах скелетной мышцы и миокарда проводилось с количественной оценкой скорости автоокисления адреналина [2]. Анти/проокислительную активность выражали в виде тангенса угла наклона прямой, рассчитанной по методу линейной регрессии экспериментальных данных скорости окисления адреналина. Статистическую обработку полученных данных производили с использованием программы GraphPad Prism v. 5.00, непараметрических (Манна-Уитни) критериев, так как результаты теста Колмогорова-Смирнова не выявили нормальное распределение экспериментальных данных.

Результаты и их обсуждение. Распространение пристана по организму приводит к ранней местной реакции в лимфатических узлах и к системным реакциям. На 2-3 сутки после иммунизации пристаном развивалась первичная реакция, которая клинически протекала в виде общей гипертермии, отсутствия аппетита, снижения поведенческой активности животных. По прошествии 6-9 суток состояние животных становилось удовлетворительным, восстанавливался аппетит, возрастала двигательная активность. У животных отмечались воспалительная реакция в местах введения препарата, воспаление кожных покровов вдоль позвоночника, передние конечности были изъязвленными, развивались геморрагии у основания носа. Это соответствовало литературным

данным [1], подтверждавшим, что через несколько дней после адьювантной инъекции наблюдалось повышение уровня белков острой фазы в крови, фибриногена, α_1 -кислых гликопротеинов, IL-6. Ответ может быть связан с прямым влиянием адьюванта на печень и косвенным действием цитокинов. На десятые сутки после иммунизации пристаном проводилась оценка окислительной активности плазмы крови, гомогенатов тканей скелетной мышцы и миокарда. Результаты эксперимента представлены в таблице.

Таблица – Анти- и проокислительная активность в тканях животных при экспериментальном ревматоидном артрите

Ткань	Контроль, n=8	Опыт, n=18	Достоверность
Плазма крови	0,04614 ± 0,008645	0,09686 ± 0,007133	p < 0,001
Скелетная мышца	0,04988 ± 0,006805	0,09972 ± 0,007778	p < 0,001
Миокард	0,05181 ± 0,004548	0,1103 ± 0,008363	p < 0,001

Во всех тканях отмечается увеличение интенсивности автоокисления адреналина, что указывает на значительное усиление окислительного стресса после введения пристана животным.

Выводы. Увеличение анти- и проокислительной активности в плазме крови, скелетной мышце и миокарде является количественной оценкой воздействия пристана при моделировании РА у экспериментальных животных.

Литература

1. Грицук А.И., Громько М.В. Экспериментальные модели ревматоидного артрита // Проблемы здоровья и экологии. – 2012. – № 2. – С. 115-118.
2. Грицук А.И., Сирота Т.В., Дравица Л.В., Крэдок Ю.Б. Оценка состояния антиоксидантной активности слезной жидкости // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 6. – С. 601-607.
3. Fischer B.D., Adeyemo A., Leary M.E. et al. Animal models of rheumatoid pain: experimental system and insights // Arthritis Research & Therapy. – 2017. – № 19. – P. 146.

НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ D-ПАНТЕНОЛА ПРИ ИНИЦИАЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ТРЕТ-БУТИЛГИДРОПЕРОКСИДОМ IN VITRO

Семенович Д. С.

Гродненский государственный университет им. Я. Купалы
Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси
Гродно, Беларусь
semenovich@ibiochemistry.by

Интенсификация свободнорадикальных процессов является одним из ведущих патогенетических факторов в развитии повреждений при нейродегенеративных заболеваниях (болезнь Альцгеймера, Паркинсона и другие),

однако степень выраженности этих нарушений в значительной мере зависит от сдвига редокс баланса [1]. Поэтому одно из перспективных направлений исследований в нейрофармакологии – поиск потенциальных нейропротекторных соединений, обладающих редокс-модулирующим действием. D-пантенол (ПЛ) является предшественником биосинтеза кофермента А, способен хорошо проникать через гематоэнцефалический барьер и, как полагают, оказывать редокс-модулирующее действие в ЦНС [2].

Цель исследования – изучение нейропротекторного действия ПЛ при инициации окислительного стресса трет-бутилгидропероксидом (тБГП) *in vitro*.

Эксперименты были проведены на первичной нейрональной культуре больших полушариев головного мозга 18-дневных эмбрионов крыс. Жизнеспособность клеток оценивали по выходу лактатдегидрогеназы (ЛДГ) во внеклеточную среду. В начале эксперимента клетки преинкубировали с ПЛ (5, 10, 25, 50 и 100 мкМ) в течение 30 минут при 37⁰С. Окислительный стресс в клетках вызывали путем добавления в клеточную среду тБГП с конечной концентрацией 50 мкМ и проводили инкубацию в течение 30 минут при 37⁰С [3]. Продукцию активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) определяли с помощью 2',7'-дихлорфлуоресцеиндиацетата. Содержание ТБК-реагирующих соединений (ТБКРС) измеряли спектрофлуориметрическим методом [4]. Общую антиоксидантную активность (ОАА) оценивали по восстановлению АВТС⁺ спектрофотометрическим методом [5].

Наши исследования, проведенные на нейрональной культуре больших полушариев головного мозга 18-дневных эмбрионов крыс, показали (таблица), что добавление тБГП в среду инкубации привело к снижению жизнеспособности клеток на 35%, однако преинкубация клеток с ПЛ способствовала защите клеток от окислительного действия тБГП, о чем свидетельствует восстановление жизнеспособности клеток. Присутствие ПЛ в концентрациях 50 и 100 мкМ привело к почти полному восстановлению жизнеспособности клеток до уровня значений в контрольной группе.

Индукция окислительного стресса, обусловленная присутствием тБГП, характеризовалась интенсификацией генерации АФК и АФА более чем в 5 раз по сравнению с контролем. Действие 50, 100 мкМ ПЛ привело к снижению образования АФК и АФА в 2 раза.

Нами отмечена также активация образования ТБКРС в присутствии тБГП и снижение уровня ТБКРС при действии ПЛ. Преинкубация клеток с 50 и 100 мкМ ПЛ была наиболее эффективной и способствовала снижению уровня ТБКРС в 3 раза.

Таблица – Жизнеспособность клеток и показатели окислительного стресса в первичной культуре больших полушарий 18-дневных эмбрионов крыс, M±SD

Экспериментальные группы	Жизнеспособность клеток, %	Продукция АФК и АФА, нмоль/мг белка	ОАА, усл. ед/мг белка	ТБКРС, нмоль/мг белка
Контроль	97,00±1,00	0,163±0,015	0,42±0,01	1,20±0,10
50 мкМ тБГП	62,00±2,00*	0,847±0,020*	0,23±0,04*	6,53±0,15*

Экспериментальные группы	Жизнеспособность клеток, %	Продукция АФК и АФА, нмоль/мг белка	ОАА, усл. ед/мг белка	ТБКРС, нмоль/мг белка
5 мкМ ПЛ + тБГП	68,33±1,53*	0,630±0,020*#	0,24±0,01*	5,23±0,15*
10 мкМ ПЛ + тБГП	73,33±1,53*#	0,563±0,015*#	0,28±0,01*	4,67±0,21*#
25 мкМ ПЛ + тБГП	80,00±2,01*#	0,493±0,015*#	0,32±0,03*#	3,07±0,15*#
50 мкМ ПЛ + тБГП	86,33±1,53*#	0,463±0,067*#	0,38±0,02#	2,67±0,21*#
100 мкМ ПЛ + тБГП	87,33±2,08*#	0,460±0,020*#	0,39±0,01 #	2,43±0,15*#

Примечание – * – $p < 0,05$ по отношению к контролю; # – $p < 0,05$ по отношению к тБГП

Наряду с активацией окислительных процессов в инкубированных клетках нами отмечена модуляция антиоксидантной системы защиты. Так, ОАА при действии тБГП снизилась в 2 раза. Присутствие ПЛ с увеличением его концентрации в инкубационной среде способствовало существенному повышению ОАА практически до уровня значений в контрольной группе.

Таким образом, действие тБГП на нейрональные клетки *in vitro* приводит к снижению жизнеспособности инкубируемых клеток и выраженному усилению окислительных процессов, проявляющемуся в активации генерации АФК и АФА, интенсификации пероксидного окисления липидов и снижению общей антиоксидантной активности. Действие ПЛ проявляется в существенном повышении выживания инкубируемых клеток и снижении окислительных процессов, вызванных присутствием тБГП, что свидетельствует о перспективах использования ПЛ как нейропротектора при нейродегенеративных процессах.

Литература

1. Дубинина Е.Е. и др. Окислительный стресс и его влияние на функциональную активность клеток при болезни Альцгеймера // Биомед. химия. – 2015. – Т. 61, вып. 1. – С. 57-69.
2. Степанчев М.Ю. и др. Производные пантотеновой кислоты при применении с мемантином снижают вызванную скополамином амнезию у крыс: участие редокс-состояния тиолов и кофермента А // Нейрохимия. – 2016. – Т. 33, № 2. – С. 128-139.
3. Abe K. Characterization of t-butyl hydroperoxide toxicity in Cultured Rat Cortical Neurons and Astrocytes // Pharm. Toxicol. – 1998. – Vol. 83. – P. 40-46.
4. Williamson K.L. et al. Fluorometric and Colorimetric Assessment of Thiobarbituric Acid-Reactive Lipid Aldehydes in Biological Matrices // Methods in Biological Oxidative Stress. – 2003. – P. 57-65.
5. Katalinic V. et al. Gender Differences in Antioxidant Capacity of Rat Tissues Determined by 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate; ABTS) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays // Comparative Biochemistry and Physiology. – 2005. – Vol. 140. – P. 47-52.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ В ПЛАЗМЕ КРОВИ И СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ХЛОРИДА АЛЮМИНИЯ И КОРРЕКЦИИ ПРОИЗВОДНЫМИ ПАНТОТЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

Семенович Д. С.¹, Лукиенко Е. П.², Тарасюк О. А.¹, Алнури Али
Салман Шабиб¹, Титко О. В.², Канунникова Н. П.¹

¹Гродненский государственный университет им. Я. Купалы,

²Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси
Гродно, Беларусь, *n.kanunnikova@grsu.by*

Характерными проявлениями метаболических нарушений, развивающихся при нейродегенеративных заболеваниях (болезнь Альцгеймера – БА, болезнь Паркинсона и другие), являются окислительный стресс (ОС) и нарушения процессов энергетического метаболизма [2]. Нами изучены изменения показателей ОС (уровень ТБКРС [3] и свободнорадикальных продуктов, реагирующих с N,N-диметил-p-фенилендиамином (ДФАРС) [5] и энергетического метаболизма (активность сукцинатдегидрогеназы) [1] в плазме крови и структурах мозга (большие полушария, гиппокамп, ствол и мозжечок) крыс на фоне введения хлорида алюминия ($AlCl_3$, 200 мг/кг, per os в течение 6 недель) как экспериментальной модели БА. В качестве модуляторов нейротоксикоза были изучены производные пантотеновой кислоты, так как они обладают выраженным защитным действием в отношении нарушений метаболических процессов при окислительном стрессе [4]. Препараты вводили per os в дозах 200 мг/кг: D-пантенол, D-пантетин и гомопантотенат кальция (ГПК) в последние 2 недели эксперимента.

Исследования показали развитие ОС после введения хлорида алюминия на уровне целого организма, о чем свидетельствуют достоверное повышение уровня ТБКРС и ДФАРС в плазме крови (табл. 1).

Пантенол и ГПК приводили к возвращению содержания ТБКРС к уровню контроля, тогда как пантетин действовал слабее. Содержание ДФАРС снизилось до контрольных значений только на фоне действия ГПК.

Таблица 1. – Изменения ТБКРС и ДФАРС в плазме крови крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$; $n=7$; * - $p < 0,05$)

Группы	ТБКРС, нмоль/мг белка	ДФАРС, ед/мл
Контроль	1,12±0,09	375,64±23,91
$AlCl_3$	1,65±0,13*	406,67±21,32*
$AlCl_3$ + пантенол	1,31±0,05	417,43±23,76*
$AlCl_3$ + пантетин	1,39±0,17*	443,86±30,77*
$AlCl_3$ + ГПК	1,10±0,05	321,43±12,48

Основные структуры мозга, в которых происходят явления нейродегенерации в ходе развития БА, – это большие полушария и особенно гиппокамп.

Однако в нашей модели было показано, что повышение содержания конечных продуктов ПОЛ наблюдается во всех изученных структурах мозга (табл. 2). Так, уровень ТБКРС повысился в больших полушариях и гиппокампе на 18%, в стволе мозга – на 30% и в мозжечке – на 43%.

Таблица 2. – Изменения ТБКРС (нмоль/мг белка) в структурах мозга крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты (M±SD; n=7; * - p<0,05)

Группы	Большие полушария	Гиппокамп	Ствол	Мозжечок
Контроль	3,76±0,19	1,25±0,07	1,30±0,14	1,34±0,12
AlCl ₃	4,44±0,11*	1,47±0,05*	1,87±0,18*	1,92±0,15*
AlCl ₃ +пантенол	3,74±0,17	1,28±0,08	1,32±0,17	1,29±0,12
AlCl ₃ + пантетин	3,92±0,23	1,32±0,05	1,35±0,11	1,37±0,11
AlCl ₃ + ГПК	4,16±0,11*	1,27±0,07	1,40±0,10	1,38±0,16

Пантенол и пантетин способствовали снижению уровня ТБКРС до значений контрольной группы во всех структурах мозга, тогда как корректирующее влияние ГПК в больших полушариях было более слабым, чем у пантенола и пантетина.

Исследования показали, что введение AlCl₃ сопровождалось развитием изменений энергетического метаболизма в ткани мозга, о чем свидетельствует тенденция к снижению активности СДГ в больших полушариях мозга, но повышению активности СДГ в гиппокампе на 28% (табл. 3). Все изученные нами производные пантотената приводили к возвращению активности СДГ до значений в контрольной группе.

Таблица 3. – Активность сукцинатдегидрогеназы (нмоль/мг белка/мин) в больших полушариях и гиппокампе мозга крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты (M±SD; n=7; * - p<0,05)

Группы	Большие полушария	Гиппокамп
Контроль	42,53±5,83	30,5±1,7
AlCl ₃	32,80±3,85	39,1±1,6*
AlCl ₃ + пантенол	41,37±6,62	31,1±1,9
AlCl ₃ +пантетин	38,54±5,02	34,3±1,6
AlCl ₃ + ГПК	42,41±2,10	32,7±1,2

Таким образом, длительное введение хлорида алюминия сопровождается развитием выраженных явлений окислительного стресса не только в головном мозге, но и на уровне целого организма. Активация ПОЛ наблюдалась во всех изученных нами структурах мозга, причем она сопровождалась определенными изменениями интенсивности энергетического метаболизма.

Пантенол, пантетин и ГПК, вводимые на фоне AlCl₃, проявили выраженное нейропротекторное действие в отношении показателей активности ПОЛ и энергетического метаболизма и в плазме крови, и в структурах мозга.

Литература

1. Ещенко Н.Д., Вольский Г.Г. Определение количества янтарной кислоты и активности СДГ // Методы биохим. исследований. – Л.: изд-во ЛГУ. – 1982. – С. 207-212.
2. Канунникова Н.П. Окислительный стресс и амилоидоз в болезни Альцгеймера // Веснік ГрДУ імя Я.Купалы. Сер.5. – 2017. – Т. 7, № 3. – С. 146-157.
3. Durfinova M. et al. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determination of lipid peroxidation products in Rat Brain Tissues // Chem. Pap. – 2007. – Vol. 61, № 4. – P. 321-325.
4. Kanunnikova N.P., Bashun N.Z., Moiseenok A.G. Use of CoA biosynthesis modulators and selenoprotein model substances in correction of brain ischemic and reperfusion injuries // Lipid Peroxidation. Ch.23. – Intechopen. – 2012. – P. 492-513.
6. Verde V. et al. Use of N,N-dimethyl-p-phenylenediamine to evaluate the oxidative status of human plasma // Free Radical Research. – 2002. – Vol. 36, № 8. – P. 869-873.

КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИНТЕРВАЛЬНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИТЕРАПИИ В НЕВРОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Солкин А. А., Кузнецов В. И., Белявский Н. Н., Николаева А. Г.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет», г. Витебск, Беларусь
solkinsa@mail.ru

Нормобарическая гипокситерапия осуществляется с использованием гипоксических газовых смесей, подаваемых для дыхания из баллонов или гипоксикаторов – специальных приборов, способных точно дозировать содержание кислорода во вдыхаемой газовой смеси. В настоящее время широко используются газовая гипоксическая смесь с содержанием кислорода (10-12%) и разные временные промежутки (интервалы) ее воздействия. При использовании интервальной нормобарической гипокситерапии (ИНГ) имеется возможность строгой дозировки лечебного фактора и адекватного непосредственного контроля функционального состояния пациента. ИНГ хорошо зарекомендовала себя в лечении широкого спектра различной соматической и неврологической патологии [1, 2].

Цель. Оценить использование интервальной нормобарической гипокситерапии при нарушениях мозгового кровообращения и мигрени без ауры.

Материалы и методы. ИНГ была применена у 26 пациентов в возрасте от 51,5 до 60,5 лет с ишемическим инсультом в раннем восстановительном периоде. Группу сравнения составили 32 пациента в возрасте от 49,0 до 56,5 лет с ишемическим инсультом в восстановительном периоде, получавших стандартную терапию.

Группа с транзиторными ишемическими атаками (ТИА) включала 35 пациентов (средний возраст $54,4 \pm 1,8$ года), у которых в комплексном лечении

на фоне медикаментозной патогенетической терапии была применена ИНГ спустя 6-10 дней от начала заболевания. Группу сравнения составили 25 пациентов с ТИА сопоставимого возраста (средний возраст $53,6 \pm 1,9$ года), получавших только медикаментозную терапию. Контролем служили 20 здоровых добровольцев (средний возраст $52,9 \pm 1,8$ года).

Оценка эффективности профилактического действия ИНГ при мигрени была осуществлена у 15 пациентов с мигренью без ауры в возрасте от 19 до 45 лет (11 женщин, 4 мужчин), которые получали курс ИНГ на фоне медикаментозной терапии. Группа сравнения составляла 15 сопоставимых по полу, возрасту и форме заболевания пациентов, принимавших сосудорегулирующие и нестероидные противовоспалительные средства.

Процедура ИНГ осуществлялась на мембранной газоразделительной установке волоконного типа фирмы «Био-Нова-204» (г. Москва). Курс лечения состоял из 12-15 сеансов, которые проводили ежедневно.

У пациентов с мигренью без ауры для количественной оценки выраженности субъективных нарушений применялись: визуальная аналоговая шкала (ВАШ), тест Спилбергера-Ханина, тест Бека, шкала MIDAS.

Спектральный анализ ЭЭГ у пациентов с инсультом осуществлялся с помощью программы «Нейрон-Спектр.NET».

У пациентов с ТИА анализировали волну P300 зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) на электроэнцефалографе EEG 16S.

Статистический анализ выполняли с помощью программы Statistica 10.0.

Результаты и их обсуждение. На благоприятное терапевтическое воздействие ИНГ в восстановительном периоде ишемического инсульта указывали данные спектрального анализа ЭЭГ: происходило усиление спектральной мощности альфа-колебаний ($p < 0,05$), бета-1-колебаний ($p < 0,05$) и уменьшение мощности дельта-колебаний ($p < 0,05$).

При применении ИНГ у пациентов с ТИА только в начале курса лечения во всех анализируемых отведениях наблюдалось достоверное увеличение средних значений латентности компонента P300 ЗВП по сравнению с контролем. Уже на второй неделе после начала терапии средние величины латентности статистически достоверно не отличались от контрольных значений. В то же время средние значения амплитуды компонента P300 ЗВП в середине курса лечения оставались достоверно меньше контрольных параметров. Достоверность различий средних величин амплитуды данного компонента по сравнению с контролем исчезала к концу лечения.

При использовании ИНГ происходило более значительное уменьшение частоты и тяжести мигренозных приступов (по шкалам MIDAS и ВАШ), чем при применении только медикаментозной профилактики, также наблюдалось достоверное снижение показателей личностной тревожности и уменьшение степени выраженности депрессивной симптоматики.

Выводы. Применение ИНГ в комплексном лечении способствует улучшению функционального состояния центральной нервной системы у пациентов с ишемическим инсультом в раннем восстановительном периоде и ТИА.

При использовании ИНГ у пациентов с мигренью без ауры существенно снижается также частота и тяжесть мигренозных приступов.

Литература

1. Кузнецов В.И., Белявский Н.Н. Механизмы терапевтического действия интервальной гипоксической тренировки у больных с транзиторными ишемическими атаками на фоне артериальной гипертензии и церебрального атеросклероза // Прерывистая нормобарическая гипокситерапия: доклады Международной академии проблем гипоксии: сб. науч. ст.; под ред. Р.Б. Стрелкова. – М.: «Бумажная галерея», 2005. – Т. IV. – С. 48-54.
2. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. – М.: Нурохиа Medical, 1993. – 331с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА

Станько Д. Э., Борис О. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
363den@mail.ru

Актуальность проблемы рецидивирующего бактериального вагиноза определяется ростом заболеваемости, тенденцией к рецидивированию и недостаточной эффективностью применяемых традиционных методов лечения, а также кофакторной связью БВ и цервикальных неоплазий [1]. По данным ряда исследователей, бактериальный вагиноз (БВ) после первого случая манифестации способен проявляться вновь спустя месяц у 30% женщин, а в течение полугода эти цифры могут достигать 70% [2, 3, 4]. При бактериальном вагинозе основным фактором резистентности к проводимому лечению и склонности к ранним рецидивам является формирование полимикробной биопленки, основную долю в которой составляет *G. vaginalis*, меньшую – *Atopobium vaginiae* и даже некоторые виды лактобактерий. Перекись водорода уже в концентрации 1.7%, достоверно является эффективным средством не только в устранении биопленки, но также предотвращает ее реформацию без формирования устойчивости, характерной для других методов лечения, а эффект гипербарической оксигенации приводит к гибели патогенов. Избыточное количество перекиси водорода при наличии пероксидазы и нейтрофилов приводит к образованию хлорноватистой кислоты, являющейся важным фактором защиты [5]. Снижение рН влагалищной жидкости несовместимо с протеканием бактериального вагиноза, также способствует разрыву бактериальных биопленок, может служить маркером благополучия влагалищного биотопа [6, 7].

Цель исследования – оценка эффективности использования 3% перекиси водорода в комплексном лечении рецидивирующего бактериального вагиноза.

Материалы и методы. Обследованы 42 женщины в возрасте от 22 до 40 лет с клинически подтвержденным диагнозом «Бактериальный вагиноз». Клинический диагноз рецидивирующего бактериального вагиноза подтверждали наличием не менее 3 из 4 критериев Амсея и наличия эпизода БВ в ближайшие 6 месяцев до лечения. Пациентки были распределены на 2 группы:

- группа 1 – 18 пациенток, пролеченных согласно двухэтапному методу лечения, включающему прием нитроимидазола (НИМЗ) и местного применения пробиотика;
- группа 2 – 24 пациентки, пролечены согласно разработанной нами противорецидивной схеме лечения БВ с применением гинекологических ванночек с 3% перекисью водорода.

Критерии включения в исследуемые группы: патологические бели при сумме критериев Амсея не менее 3 из 4; согласие пациентки на половой покой на период лечения; отсутствие беременности; готовность женщины соблюдать предписания и регулярное посещение врача на период исследования; отсутствие сопутствующих инфекций, передаваемых половым путем (ИППП); отсутствие предварительного лечения другими антисептиками или антибактериальными препаратами не менее чем за 7 дней до проведения исследования.

Результаты и их обсуждение. По нашим данным, основными жалобами обследованных женщин были обильные водянистые жидкие выделения без характерного неприятного специфического запаха, сильно выраженным лишь в 11,9% случаев. У пациенток обеих групп было отмечено защелачивание pH влагалищных выделений: в 100% случаев наблюдалось повышение pH влагалищного отделяемого более 4,5 со средним значением $5,42 \pm 0,3$ единиц без достоверных различий ($p > 0,05$). Спустя 3 месяца после лечения зафиксировано наличие жалоб на обильные жидкие выделения лишь у 16,7% женщин первой группы. При оценке стабильности биотопа и значений pH двухэтапная схема лечения в 44,4% случаев не позволила получить стойкий результат в нормализации кислотно-щелочного баланса вагинальной микросреды по сравнению со 2 группой, где защелачивание произошло только у 2 (8,3%) пациенток. Динамика наличия ключевых клеток спустя 3 месяца показала отсутствие элементов биопленки у пациенток 2 группы, и ее восстановление в 16,7% случаев 1 группы, причем лишь у пациенток с защелачиванием pH влагалищного содержимого. Побочных эффектов, связанных с использованием 3% перекиси водорода, не зафиксировано ни в одном случае.

Выводы. Разработанная нами схема комплексной противорецидивной терапии (орнидазол, ванночки гинекологические с 3% перекисью водорода, пробиотик) является более предпочтительной для восстановления протективного потенциала влагалищного биотопа женщин репродуктивного возраста ввиду выраженной направленности противобиопленочного эффекта ее компонентов.

Литература

1. Gillet E. et al. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis // PloS one. – 2012. – Vol. 7, № 10. – P. e45201.

2. Усова М.А. Клинико-диагностические аспекты дисбиоза влагалища и терапия бактериального вагиноза у женщин в ранние сроки беременности: Автореф. дисс...канд. мед. наук. – Самара, 2010. – 24 с.
3. Hay P. Recurrent bacterial vaginosis // Curr. opin. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 22, № 1. – P. 82-86.
4. Ya W., Reifer C., Miller L.E. Efficacy of vaginal probiotic capsules for recurrent bacterial vaginosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled study // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2010. – Vol. 203, № 2. – P. 120.
5. Sam C.H., Lu H.K. The role of hypochlorous acid as one of the reactive oxygen species in periodontal disease // Journal of Dental Sciences. – 2009. – Vol. 4, № 2. – P. 45-54.
6. Маклецова С.А., Рябинкина Т.С. Опасная связь // StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. – 2013. – № 5. – С. 44-50.
7. Нагорная В.Ф., Москаленко Т.Я., Гриценко А.А. и др. pH влагалищного секрета в оценке влагалищной микробиоты во время беременности // Здоровье женщины. – 2016. – № 6. – С. 90-93.

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСНЫХ РЕДОКС-АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КРЫС К ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Сурменёв Д. В., Евсеев А. В., Тишкова Я. В., Евсеева М. А.

Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск, Россия
surmenevd@rambler.ru

Изыскания новых фармакологических средств, способных защитить организм от последствий остро нарастающей гипоксии (ОНГ), оказались неожиданно перспективными в ходе тестирования на разных моделях ОНГ редокс-активных металлокомплексных соединений [1, 3]. В основе такого рода веществ, как правило, лежит переходный металл, выступающий в качестве комплексообразователя и один или более лигандов, являющихся, как правило, природными антиоксидантами [1].

Целью исследования стало тестирование на мышах новых металлокомплексных (Zn^{2+}) селенсодержащих соединений в условиях ОНГ для выявления антигипоксического эффекта с последующей оценкой защитного действия активных веществ в опытах на крысах.

Материалы и методы. ОНГ у мышей ($n=266$) и крыс ($n=50$) вызывали путём помещения их в стеклянные герметичные ёмкости объёмом 0,25 л (мышь) и 1,0 л (крыса) [2]. На мышах тестировались 11 новых селенсодержащих металлокомплексных соединений, обозначенных шифром πQ , а именно $\pi Q2717$, $\pi Q2718$, $\pi Q2719$, $\pi Q2720$, $\pi Q2721$, $\pi Q2759$, $\pi Q2834$, $\pi Q2835$, $\pi Q2841$, $\pi Q2882$, $\pi Q2886$. В опытах на крысах сравнивали эффект наиболее активных соединений с активностью известных аминотиоловых антигипоксантов – амтизол, суназол. Вещества растворяли в 0,9% NaCl (0,3 мл – мыши, 2,0 мл –

крысы) и вводили в/б однократно до ОНГ в дозах 10, 25 и 50 мг/кг (мышь); 25, 50 и 100 мг/кг (крысы). Период инкубации составлял 60 минут. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 7.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что защитное действие селеносодержащих металлокомплексных соединений после их введения мышам в условиях ОНГ проявлялось в разной степени – от нулевого до ярко выраженного. Искомый эффект продемонстрировали всего 4 соединения (π Q2719, π Q2720, π Q2721, π Q2882). Следует отметить, что все, за исключением π Q2882, оказывали угнетающее действие на поведение и общее состояние животных в дозах 25, 50 мг/кг.

Из 4-х активных соединений наиболее выраженный эффект по показателю продолжительности жизни продемонстрировало вещество π Q2721. Отмечали положительную зависимость между дозой и результатом. В частности, дозы 10, 25 и 50 мг/кг обеспечивали прирост продолжительности жизни на 25,1; 81,7 ($p < 0,05$) и 186,1% ($p < 0,005$), соответственно, в сравнении с контролем. Менее существенным, но дозозависимым явилось действие вещества π Q2882, которое обеспечивало в соответствии с выбранным диапазоном доз следующую последовательность эффектов – 7,7; 35,8 ($p < 0,05$), и 129,0% ($p < 0,05$). В свою очередь, вещества π Q2719 и π Q2720 проявляли себя лишь в одной из трех использованных дозировок. Так, π Q2719 в дозе 50 мг/кг увеличило продолжительность жизни мышей в условиях ОНГ на 67,0% ($p < 0,05$) при полном отсутствии эффекта в меньших дозах. Что касается вещества π Q2720, то в дозе 25 мг/кг оно увеличило изучаемый показатель на 79,8% ($p < 0,05$), но было неэффективным в «крайних» дозах – 10 и 50 мг/кг.

Следует отметить, что в большинстве случаев антигипоксический эффект соединений обнаруживал себя на фоне индуцированного ими гипотермического действия, которое в наибольшей степени выявлялось у вещества π Q2721. Например, после введения указанного соединения в дозе 25 мг/кг наблюдали снижение ректальной температуры почти на 3°C ($p < 0,005$), а на фоне дозы 50 мг/кг температура падала более чем на 5°C ($p < 0,005$). Тем не менее, из спектра положительно зарекомендовавших себя веществ наиболее отчетливый гипотермический эффект продемонстрировало соединение π Q2719.

Испытание наиболее активного вещества π Q2721 из линейки изученных в сравнении с антигипоксантами амтизолом и суназолом показало, что статистически достоверный эффект во всех группах обнаруживал себя лишь в дозах 50 и 100 мг/кг. Причём, введённое в/б в дозе 50 мг/кг π Q2721 заметно превосходило по показателю снижения температуры оба вещества сравнения. При контроле температуры $37,2 \pm 1,46^\circ\text{C}$ и резистентности в $38,3 \pm 4,85$ минут после применения π Q2721 отмечали через 60 минут снижения температуры на $3,7^\circ\text{C}$ с приростом продолжительности жизни в условиях ОНГ на 60,8% ($p < 0,005$), в то время как суназол обеспечивал лишь 30% прирост резистентности ($p < 0,05$), несмотря на снижение ректальной температуры $3,2^\circ\text{C}$. Эффекты амтизола были ещё более скромными.

Тем не менее, доза 100 мг/кг выравнивала эффекты эффективных соединений с выведением в лидеры суназола. Так, $\pi Q2721$ обеспечивал 73,6±6,10 минут (+92,2%) выживание крыс в условиях ОНГ; амтизол – 65,4±4,99 минут (+70,6%); суназол – 91,7,4±6,48 минут (+139,4%). Температура в первых 2-х группах снижалась почти на 5°C, а после введения суназола – на 6,2±1,97°C.

Выводы:

1. Результатом тестирования 11 новых металлокомплексных соединений стало обнаружение у вещества $\pi Q2721$ отчетливых антигипоксических свойств.
2. Сравнение антигипоксического эффекта соединения $\pi Q2721$ с такими амтизола и суназола позволяет расценивать его действие как высокоэффективное, превышающее в дозе 50 мг/кг эффект эталонных веществ.

Литература

1. Парфёнов Э.А., Смирнов Л.Д., Дюмаев К.М. Стратегические направления медицинского применения антиоксидантов // Человек и лекарство: Тез. докл. IX Рос. нац. конгресса. – М., 2002. – С. 765.
2. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Новиков В.Е., Цыган В.Н. Метаболические корректоры гипоксии. – СПб: Информ-Новигатор, 2010. – 912 с.
3. Sarsour E.H., Kumar M.G., Chaudhuri L. et al. Redox control of the cell cycle in health and disease // Antioxidants and Redox Signaling. – 2009. – Vol. 11, № 12. – P. 2985-3011.

ВЛИЯНИЕ ФЛАВОЛИГНАНОВ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

**Сутько И. П., Шляхтун А. Г., Титко О. В., Янкевич Н. В.,
Телегин П. Г., Колодко А. В., Зверинская Н. Г., Зверинский И. В.**

Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», Гродно, Беларусь
irina_sutsko@list.ru

Известно, что развитие токсических поражений печени сопровождается интенсификацией процессов свободно-радикального окисления и истощением антиоксидантной системы организма, что в итоге приводит к окислительному стрессу. Этим объясняется широкое применение для профилактики и лечения токсических поражений печени гепатопротективных лекарственных средств, в основе действия которых лежат их антиоксидантные свойства и способность стимулировать регенерацию клеток печени.

Хорошо известны своими гепатопротективными свойствами и широко используются флаволигнаны расторопши пятнистой, известные под общим названием силимарин [1]. Однако флаволигнаны расторопши отличает относительно низкая биодоступность при пероральном применении из-за плохой растворимости в воде и, как следствие, недостаточно полной абсорбции

в кишечнике [2]. Одним из приемов увеличения биологической доступности и терапевтической эффективности лекарственных средств является их применение в составе самоэмульгирующихся композиций, которые при контакте с водной средой, в том числе и со средой желудочно-кишечного тракта, спонтанно формируют эмульсию «масло-в-воде».

Цель исследования заключалась в оценке действия флаволигнанов расторопши пятнистой в составе самоэмульгирующейся композиции и в виде крахмальной суспензии на активность антиоксидантных ферментов печени в условиях экспериментального токсического гепатита.

Эксперимент выполнен на крысах-самцах линии Wistar массой 210–240 г. Животные получали при свободном доступе к воде стандартный рацион вивария. Эксперимент проведен с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (2000 г.).

Модель острого токсического гепатита создавали путем однократного внутрибрюшинного введения четыреххлористого углерода (CCl_4) в дозе 1 мл/кг в виде 20% (по объему) раствора на растительном масле. Животным первой и второй экспериментальных групп предварительно вводили внутривентрикулярно флаволигнаны расторопши пятнистой 100 мг/кг в день, соответственно, в виде 1% крахмальной суспензии и в составе самоэмульгирующейся композиции (масло расторопши, Твин-80, ПЭГ-400) в течение 6 суток. Животные третьей экспериментальной группы в это же время внутривентрикулярно получали 1% крахмальную суспензию. Контрольную группу составили крысы, получавшие растительное масло и раствор крахмала в объемах, эквивалентных при введении CCl_4 и флаволигнанов расторопши. Оценку действия флаволигнанов расторопши на активность антиоксидантных ферментов печени проводили через 24 часа после введения четыреххлористого углерода. Определяли активности глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (GST), глутатионпероксидазы (ГПО), супероксиддисмутазы (СОД) в гомогенате печени крыс. Дополнительно изучали активности НАДФН-генерирующего фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы Г6ФДГ. Величины показателей рассчитывали на 1 мг белка, определяемого по методу Lowry.

Флаволигнаны расторопши получали спиртовой экстракцией из семян расторопши пятнистой, используя в качестве экстрагента 70% этиловый спирт. Сушку флаволигнанов проводили под вакуумом при температуре 30°C.

Полученные данные подвергали статистической обработке с определением среднего арифметического (M), ошибки среднего арифметического ($\pm m$) и достоверности различий с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием теста множественного сравнения Tukey при использовании программы GraphPad Prism. Различия между сравниваемыми величинами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Согласно полученным результатам, токсическое поражение печени CCl_4 (1 мл/кг в виде 20% (по объему) раствора, внутрибрюшинно, однократно) вызвало дисбаланс в активности антиоксидантных ферментов: на 28% относительно контроля снизилась активность ГР, на 20% – активность СОД;

на 33% повысилась активность ГПО; на исходном уровне осталась активность GST. Предварительное введение животным флаволигнанов расторопши в составе самоэмульгирующейся композиции предотвратило изменение активности изучаемых ферментов, их уровень статистически не отличался от контрольных значений. Действие флаволигнанов расторопши пятнистой в виде крахмальной суспензии характеризовалось меньшей эффективностью: из изучаемых показателей лишь активность GST соответствовала таковой в контрольной группе. Мы полагаем, что нормализующее действие флаволигнанов расторопши в определенной степени может быть опосредовано действием силимарина на активность ферментов, генерирующих НАДФН, необходимого для функционирования ГР/ГП системы. Так, в случае введения экспериментальным животным флаволигнанов расторопши в составе самоэмульгирующейся композиции активность Г6ФДГ была на уровне контроля и на 49% превышала ее значения в группе, получавшей только CCl₄. Более выраженный эффект флаволигнанов расторопши в составе самоэмульгирующейся композиции по сравнению с их применением в виде крахмальной суспензии, вероятно, связан с их большей биодоступностью.

Литература

1. Оковитый С.В., Безбородкина Н.Н., Улейчик С.Г., Шуленин С.Н. Гепатопротекторы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 112 с.
2. Basaga H. Poll G., Tekkaya C., Aras I. Free radical scavenging and antioxidative properties of «silibin» complexes on microsomal lipid peroxidation // Cell. Biochem. Funct. – 1997. – Vol. 15. – P. 27-33.

ЭКСПРЕССИЯ ШАПЕРОНОВ GRP 78 И GRP94 В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПЛАЦЕНТЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ *IN VITRO* И ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В СРЕДЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Сухан Т. О., Костюк В. А., Потапович А. И., Сандаков Д. Б.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

tanyasuhan@mail.ru

Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) является местом синтеза и модификации белков. Процессы фолдинга белков находятся под контролем шаперонов (Ni and Lee, 2007). Изменения конформации белков – это основная причина нарушения клеточного гомеостаза (Schroder and Kaufman, 2005). Если ЭПР подвергается воздействию стрессовых факторов (гипоксии, изменению уровня глюкозы, кальция и другие), срабатывает адаптивный механизм, получивший название – реакция несвернутых белков (РНБ), работа которого направлена на поддержание клеточного гомеостаза. Основными регуляторами РНБ являются шапероны. Наиболее изучены в настоящее время белки

grp (glucose regulated proteins), которые регулируют фолдинг и деградацию белков. Последние исследования показали, что эти белки могут перемещаться на поверхность клетки, где принимают участие в трансдукции сигнала, регуляции пролиферации, апоптоза и иммунного ответа клетки.

Цель исследования – изучить *in vitro* уровень экспрессии белков теплового шока grp78 и grp94 в эндотелиальных клетках микроциркуляторного русла плаценты человека в условиях гипоксии и повышенного уровня глюкозы в среде культивирования.

Материалы и методы. Работа выполнена на эндотелиальных клетках плаценты человека. Культивирование проводили в среде, приготовленной на основе базовой среды для эндотелиальных клеток (Promo Cell, Германия) с добавлением 15 % телячьей сыворотки, 100 МЕ/мл пенициллина 100 мкг/мл стрептомицина, 3нг/мл bFGF, 0.02 % Na-Нер. Клетки контроля растили в 6-луночных планшетах в CO₂-инкубаторе в стандартных условиях (37°C, 5% CO₂, 95% воздух). В условиях гипоксии клетки растили в условиях пониженного содержания кислорода (37°C, 5% CO₂, ≤1% O₂), для моделирования гипергликемии в среду культивирования добавляли глюкозу до конечной концентрации 15 ммоль/л.

Лизис клеток выполняли с использованием RIPA-буфера с добавлением ингибиторов протеаз. Концентрацию белков определяли с помощью коммерческого набора Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific) согласно инструкции.

Белки разделяли при помощи электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия по Лэммли. Перенос белков с геля на мембрану, изготовленную из нитроцеллюлозы, осуществляли с помощью электроблоттинга. Неспецифические связывания блокировали добавлением раствора бычьего сывороточного альбумина. В работе использовали первичные поликлональные кроличьи антитела к белкам grp78, grp94, ERK1/2 и вторичные анти-кроличьи антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (Santa Cruize, Германия).

Результаты иммуноблоттинга обрабатывали с использованием программы «ImageJ». Экспрессию изучаемого белка (целевого) нормировали по экспрессии контрольных белков (ERK1/2).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного комплекса Microsoft XP. Результаты представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего. Чтобы выявить достоверность различий между экспериментальной и контрольной группами, использовали Т-тест Стюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Через 24 ч культивирования показано снижение уровня экспрессии grp78 (по сравнению с контролем) как в клетках, которые росли в условиях гипоксии, так и в клетках, которые культивировали в среде с повышенным содержанием глюкозы. В условиях гипоксии наблюдали увеличение экспрессии grp78 через 48 ч в 3 раза ($p \leq 0,05$), а через 72 ч в 5 раз ($p \leq 0,05$) по сравнению с соответствующим контролем (48 ч и 72 ч).

В условиях повышенного содержания глюкозы в среде культивирования повышение экспрессии шаперона grp78 обнаружили через 72 ч ($p \leq 0,05$).

Снижение экспрессии шаперона grp94 в 1,7 раз ($p \leq 0,05$) выявлено через 24 ч культивирования клеток в условиях повышенного содержания глюкозы, а в условиях гипоксии через 48 ч культивирования наблюдали увеличение экспрессии в 9 раз ($p \leq 0,05$).

Все больше появляется данных о том, что плацента участвует в фетальном программировании (Myatt L, 2006). Адекватное развитие плаценты и ее адаптивные возможности определяют нормальное развитие плода. Известно, что белки семейства Hsp70, к которому принадлежат шапероны grp78 и grp94, являются высоко консервативными, их основная функция у разных организмов – адаптация клетки к условиям стресса за счет восстановления нарушенной структуры белков. Накопление белков с нарушенной структурой запускает реакцию несвернутых белков, основными сенсорами которого являются IRE1 (inositol requiring protein-1), PERK (protein kinase RNA-like ER kinase) и ATF6 (activating transcription factor-6). В результате запускаются несколько механизмов, способствующих снижению стрессовой нагрузки на клетку: 1) ингибирование трансляции, что снижает уровень белков в эндоплазматическом ретикулуме, 2) активация белков-шаперонов, которые способствуют восстановлению белковой структуры.

Выводы. В условиях гипоксии эндотелиальные клетки плаценты реагируют увеличением экспрессии шаперонов grp78 (через 48 ч и 72 ч) и grp94 (через 48 ч) по сравнению с клетками контроля. В условиях повышенного содержания глюкозы в среде культивирования (15 ммоль/л) уровень экспрессии grp78 по сравнению с контролем (через 24 ч) снизился, а через 72 ч вырос. Экспрессия grp94 была ниже контроля через 24 часа.

КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ СПОНТАННОГО ПНЕВМОТОРАКСА

Сушко А. А., Иоскевич Н. Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
alexshushko@tut.by

Значимая проблема в торакальной хирургии – совершенствование методов лечения спонтанного пневмоторакса [2]. В последнее время возможности диагностики и лечения пневмоторакса существенно улучшились благодаря использованию видеоторакокопии [2]. Однако при выборе варианта операции при спонтанном пневмотораксе необходимо учитывать закономерности течения дистрофических и адаптационно-восстановительных процессов в коллабированном и расправленном лёгком.

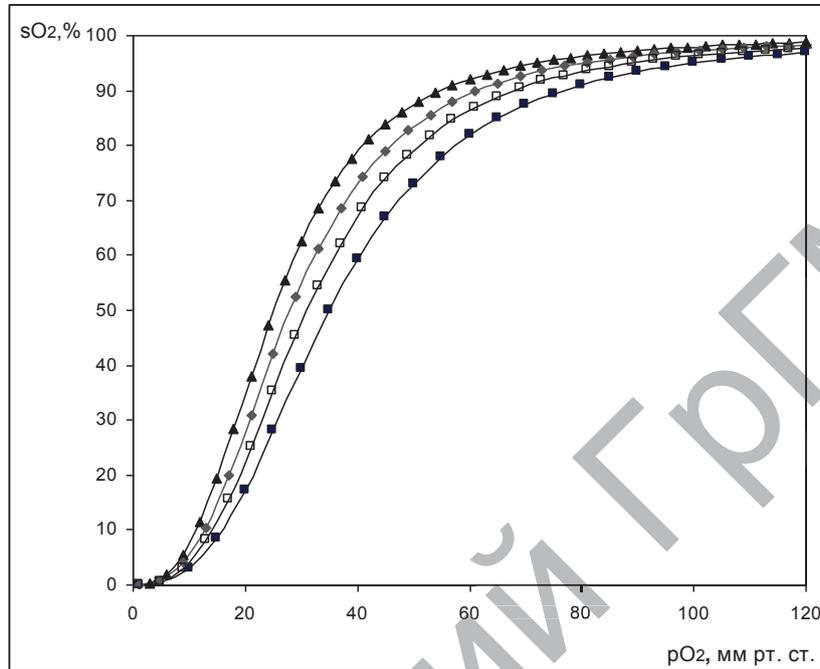
Цель. Изучение кислородтранспортной функции крови у пациентов со спонтанным пневмотораксом на основе анализа исходов как традиционных хирургических, так и видеоторакоскопических вмешательств.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением с 2006 по 2016 гг. находились 442 пациента со спонтанным пневмотораксом, проходивших стационарное лечение в торакальном отделении УЗ «Гродненская областная клиническая больница» клиники 1-й кафедры хирургических болезней Гродненского государственного медицинского университета. Из них мужчин – 384 (86,88%), женщин – 58 (13,12%). У 360 (81,5%) пациентов пневмоторакс наблюдался 1 раз, у 54 (12,2%) – 2 раза, у 28 (6,3%) – 3 и более раз. Рецидивы пневмоторакса диагностированы: на той же стороне в 77 (83,7%) случаях, на противоположной – в 3 (3,3%). Полный коллапс лёгкого наблюдался у 57 (12,9%) пациентов. Изучались основные показатели кислородтранспортной функции крови (КТФК): p_{vO_2} – парциальное давление кислорода в венозной крови; p_{vCO_2} – парциальное давление углекислого газа в венозной крови; $p_{v50_{\text{реальн}}}$ – показатель полунасыщения кислородом венозной крови при реальном рН крови; $p_{v50_{\text{станд}}}$ – показатель полунасыщения кислородом венозной крови при рН = 7,4; MetHb, КЕК – кислородная емкость крови; C_{vO_2} – концентрация кислорода в венозной крови; рН – показатель концентрации водородных ионов; АВЕ, SBC, HCO_3^- на микрогазоанализаторе «Synthesis-15» и анализаторе газов «Stat Profile Ultrac», по номограммам Siggaard-Andersen [1, 3]. Показатели КТФ изучали в венозной крови из локтевой вены. Забор крови осуществлялся до операции, на 2-е и 7-е сутки послеоперационного периода. Используемый диагностический алгоритм в 100% случаев включал анализ клинического течения заболевания, физикальную оценку состояния органов дыхания, стандартные методы изучения функции внешнего дыхания, полипозиционное рентгенологическое исследование. У 60 (13,6%) пациентов для установления причины пневмоторакса использовали рентгеновскую компьютерную томографию органов грудной клетки.

Для лечения пациентов с пневмотораксом применялись консервативные методы, пункция, дренирование, торакотомия и видеоторакоскопия.

Результаты и их обсуждение. Консервативному лечению подвергнуто 66 (14,9%) пациентов. Трансторакальная пункция плеврального выпота выполнялась при коллабировании лёгкого до 1/3 его объёма и как экстренная манипуляция при напряжённом пневмотораксе перед другими видами вмешательств. Плевральный выпот выполнялся 52 (12,2%) пациентам. Результатом манипуляции явилось: расправление лёгкого у 50 (92,3%) пациентов, без положительного эффекта – у 2 (7,7%) пациентов. Дренирование плевральной полости у 242 (54,8%) пациентов проводилось в течение: 1-10 сут. – у 203 (83,8%) пациентов, 11-20 сут. – у 35 (14,4%) пациентов, свыше 21 сут. – у 4 (1,7%) пациентов. Торакотомия для лечения пневмоторакса применялась у 2 (0,4%) пациентов как метод лечения осложнённого пневмоторакса. Видеоторакоскопия выполнялась у 82 (18,2%) пациентов при неэффективности пункционной аспирации или дренирования в течение первых 48-72 ч и при рецидиве пневмоторакса.

Коллапс легкого у пациентов со спонтанным пневмотораксом сопровождался развитием сложного гипоксического синдрома, включающего гипоксическую, циркуляторную, тканевую и гемическую гипоксию [1, 3]. Механизмом компенсации нарушений КТФК у пациентов со спонтанным пневмотораксом явилось изменение сродства гемоглобина к кислороду (СГК) (рисунок).



Примечание: ◆ – здоровые лица (n=18); ■ – неосложненный РСП (n=18); □ – РСП осложненный бронхоплевральным свищом (n=17); ▲ – РСП осложненный бронхоплевральным свищом и пиотораксом (n=27)

Рисунок – Кривые диссоциации оксигемоглобина крови из кубитальной вены при реальных условиях циркуляции у пациентов с неосложненным и осложненным рецидивирующим спонтанным пневмотораксом

Так, для неосложненного спонтанного пневмоторакса типично ослабление кооперативного взаимодействия гемоглобина (Hb) и кислорода. Однако при пневмотораксе, осложненном бронхоплевральным свищом и пиотораксом, отмечается повышение СГК, по сравнению с группой здоровых лиц ($p < 0,01$).

Выводы:

1. Применение соответствующего диагностического и лечебного алгоритмов у пациентов со спонтанным пневмотораксом позволяет уменьшить послеоперационные функциональные нарушения органов дыхания, избежать рецидива заболевания, восстановить функцию внешнего дыхания.
2. Снижение травматичности видеоторакоскопического вмешательства по предложенной методике достигается малой кровопотерей, сокращением времени операции, уменьшением сроков стационарного лечения пациентов, нормализацией КТФК.

Литература

1. Глуткина Н.В., Зинчук В.В. Кривая диссоциации оксигемоглобина: физиологическое значение // Новости медико-биологических наук. – 2009. – № 4. – С. 90-98.
2. Батвинков Н.И., Сушко А.А., Олейник А.О. Видеоторакоскопическая хирургия спонтанного пневмоторакса // Эндоскопическая хирургия. Перспективы развития: материалы I Республиканской науч.-практ. конф. с междунар. участием, Минск 21-22 мая 2015 г. / Акад. упр. при Президенте Респ. Беларусь; редкол.: И.С. Абельская и др. – Минск, 2015. – С. 73-74.
3. Зинчук В.В., Шульга Е.В., Гуляй И.Э. Влияние эритропоэтина на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние у кроликов при введении липополисахарида // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2010. – Т. 96, № 1. – С. 43-49.

АНТИОКСИДАНТНАЯ РОЛЬ МЕЛАТОНИНА И ЭРИТРОПОЭТИНА ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Фираго М. Э., Сорока А. С.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

rainbow@grodno.net

Активные формы кислорода необходимы для обеспечения многих жизненно важных процессов: обновление состава липидов биологических мембран, участие в механизмах апоптоза и другие [1], однако их чрезмерное образование приводит к развитию окислительного стресса (ОС). Одним из важных гормонов, участвующих в гуморальной регуляции организма, является мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин) [2]. Однако влияние мелатонина на степень развития окислительных повреждений, в условиях развития ОС, индуцированного длительным действием липополисахарида (ЛПС), недостаточно исследовано.

В связи с этим **целью** нашего исследования является изучение антиоксидантной роли мелатонина и эритропоэтина при окислительном стрессе, индуцированном трехкратным введением липополисахарида.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на лабораторных крысах-самцах. Введение веществ осуществляли путем внутрибрюшинной инъекции (в объеме 1 мл) в течение трех суток с интервалом 24 часа. Животным 1-й (контрольной) группы вводили стерильный 0,9% раствор NaCl. Во 2-4-й группах моделировали ОС путем введения ЛПС *Escherichia coli* в дозе 5 мг/кг. Коррекцию проводили с помощью мелатонина в дозе 5 мг/кг (3-я группа) и эритропоэтина в дозе 1000 Ед/кг (4-я группа). В условиях анальгезии через 12 часов после последней инъекции ЛПС осуществляли забор образцов тканей (сердце, легкие, печень и почки) и хранили их в жидком азоте.

Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гомогенатах определяли по содержанию диеновых (ДК) конъюгатов и концентрации

малонового диальдегида (МДА). Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности каталазы, содержанию восстановленного глутатиона и концентрации α -токоферола.

Полученные результаты обрабатывали с применением пакетов прикладных программ MS Excel и «Statistica». Результаты представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25-75%). Различия считали достоверными при уровне значимости ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. После трехкратного введения ЛПС отмечается увеличение в исследуемых тканях уровня ДК и МДА. Так, через 12 часов после последнего введения ЛПС уровень ДК и содержание МДА увеличивается на 510,7% ($p < 0,05$) и 80,1% ($p < 0,05$) в сердце, на 252,5% ($p < 0,05$) и 44,7% ($p < 0,05$) в легких, на 421,9% ($p < 0,05$) и 86,8% ($p < 0,05$) в печени и на 109,0% ($p < 0,05$) и 82,5% ($p < 0,05$) в почках, соответственно, по отношению к контрольным величинам. Инъекция мелатонина в условиях ОС сопровождается снижением данных параметров. Так, уровень ДК и содержание МДА в сердце уменьшается на 56,7% ($p < 0,05$) и 20,7% ($p < 0,05$), в легких на 52,3% ($p < 0,05$) и 19,4% ($p < 0,05$), в печени на 64,9% ($p < 0,05$) и 23,8% ($p < 0,05$) и в почках на 39,0% ($p < 0,05$) и 39,1% ($p < 0,05$), соответственно, в сравнении с группой, получавшей только ЛПС.

Одновременно с процессом активации ПОЛ введение ЛПС приводит к угнетению антиоксидантной системы в тканях. Так, активность каталазы и концентрация восстановленного глутатиона снижается в сердце на 58,7 ($p < 0,05$) и 86,1% ($p < 0,05$), в легких на 56,1 ($p < 0,05$) и 49,1% ($p < 0,05$), в печени на 24,1 ($p < 0,05$) и 36,0% ($p < 0,05$) и в почках на 33,5 ($p < 0,05$) и 47,0% ($p < 0,05$), соответственно, в сравнении с контролем. Наблюдается также уменьшение содержания α -токоферола на 56,0% ($p < 0,05$) – в сердце, на 54,4% ($p < 0,05$) – в легких, на 60,6% ($p < 0,05$) – в печени и на 53,0% ($p < 0,05$) – в почках по отношению к контрольным величинам.

Применение мелатонина увеличивает активность каталазы и концентрацию восстановленного глутатиона на 79,0 ($p < 0,05$) и 128,6% ($p < 0,05$) в сердце, на 88,9 ($p < 0,05$) и 84,1% ($p < 0,05$) в легком, на 21,8 ($p < 0,05$) и 33,3% ($p < 0,05$) в печени и на 35,1 ($p < 0,05$) и 50,2% ($p < 0,05$) в почках, соответственно, а также повышает содержание α -токоферола в сердце на 55,3% ($p < 0,05$), в легком на 59,6% ($p < 0,05$), в печени на 79,9% ($p < 0,05$), в почках на 61,5% ($p < 0,05$) по сравнению с группой животных, получавших только ЛПС.

При введении эритропоэтина в данной модели ОС уменьшаются проявления прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса в крови по сравнению с группой, получавшей только один эндотоксин. Так, инъекция эритропоэтина после введения ЛПС приводит к уменьшению уровня в эритроцитах на 28,1% ($p < 0,01$), а в плазме на 33,5% ($p < 0,01$). Также наблюдается снижение концентрации МДА на 50,3% ($p < 0,01$) в эритроцитах и на 23,8% ($p < 0,01$) в плазме крови. При этом повышается активность каталазы в эритроцитах на 12,8% ($p < 0,01$), а содержание восстановленного глутатиона, и увеличивается концентрация церулоплазмина, α -токоферола и ретинола.

Результаты нашей работы показывают, что трехкратное введение ЛПС приводит к развитию ОС, который характеризуется увеличением активности свободнорадикальных процессов и уменьшением факторов антиоксидантной системы. Применение мелатонина и эритропоэтина приводит к значительному снижению окислительных повреждений.

Таким образом, мелатонин способен снижать интенсивность свободно-радикального окисления при ОС, индуцированном инъекцией ЛПС, выступая в роли адаптогена, регулирующего клеточный гомеостаз.

Литература

1. Du H., Xiao X., Stiles T. et al. Novel mechanistic interplay between products of oxidative stress and components of the complement system in AMD pathogenesis // *Open J. Ophthalmol.* – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 43-50.
2. Klimentova J., Cebova M., Barta A. et al. Effect of melatonin on blood pressure and nitric oxide generation in rats with metabolic syndrome // *Physiol. Res.* – 2016. – Vol. 24, № 65. – P. 373-380.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Халепо О. В., Молотков О. В.

Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск, Россия
halepo71@mail.ru

В России летальность от сердечно-сосудистых заболеваний составляет около 1 млн 200 тысяч человек в год, из которых на ишемическую болезнь сердца (ИБС) приходится 52-53%. Возникла так называемая популяционная вилка – старение населения, характерное для экономически развитых стран сопровождается высоким уровнем смертности пациентов работоспособного возраста. С другой стороны, люди, достигшие 60-65 лет, имеют хороший шанс дожить до 75 лет.

По мере старения организма включаются адаптационные механизмы, которые, несмотря на наличие кардиоваскулярной патологии, обеспечивают достаточную продолжительность жизни [3]. В этой связи важным представляется вопрос о резервных возможностях периферического кровообращения, обеспечивающего тканевой метаболизм и поддерживающей определенное время гомеостаз [2].

Цель исследования – изучить особенности состояния периферического кровообращения и функции эндотелия у пациентов с хроническими формами ИБС разного возраста.

В 1 группу вошли пациентов (n=24) среднего возраста (45-60 лет) со стабильной стенокардией напряжения (ССН) II и III ФК, во 2 – здоровые лица

того же возраста ($n=25$), 3 группу составили пациенты пожилого и старческого возраста (от 62 до 90 лет) с атеросклеротическим кардиосклерозом и ССН II и III ФК ($n=18$), а 4 – пациенты пожилого и старческого возраста без признаков тяжелой хронической патологии ($n=14$).

Состояние микроциркуляции в кожных покровах изучали с помощью аппарата ЛАКК-М, функциональные нагрузочные пробы – с помощью блока «ЛАКК-Тест». Для оценки резервных возможностей функции эндотелия выполняли пробы на эндотелий-независимую вазодилатацию (ЭНВД) (локальное ионофоретическое введение натрия нитропрусида) и эндотелий-зависимую вазодилатацию (ЭЗВД) (введение ацетилхолина) [1].

Обнаружено, что у пациентов с ССН среднего возраста уровень перфузии кожных покровов существенно не различался с показателями 2 группы, а величина среднеквадратичного отклонения, характеризующая вазомоторную активность микрососудов, у них была снижена на 29% ($p<0,05$).

Выявлено увеличение (в 1,5 раза) амплитуды дыхательных колебаний ($p<0,05$), что, в соответствии с литературными данными, может служить признаком венозного застоя.

Прирост величины перфузии в ответ на ионофорез натрия нитропрусида у пациентов 1 группы оказался в 1,5 раза меньше ($p<0,05$), чем у здоровых лиц, однако состояние активных и пассивных механизмов регуляции в период ЭНВД у них существенно не различалось.

Прирост величины перфузии в процессе ЭЗВД у пациентов 1 группы оказался меньше, чем у здоровых лиц на 25%, а величина нейрогенного тонуса (НТ) – на 16% ($p<0,05$ в обоих случаях).

У пациентов 4 группы уровень перфузии был в 2,4 раза меньше, а коэффициент вариации, характеризующий вазомоторную активность микрососудов, в 3,2 раза больше ($p<0,05$ в обоих случаях). При этом значения НТ и эндотелиально-зависимого компонента тонуса (ЭЗКТ) в группе пожилых оказались соответственно в 1,6 раза и 1,3 раза меньше, а амплитуда дыхательных ритмов в 1,7 раза больше, чем у лиц среднего возраста ($p<0,05$ во всех случаях).

При ионофорезе натрия нитропрусида у лиц 4 группы практически полностью отсутствовал прирост величины перфузии, а показатели ЭЗКТ и амплитуда кардиоритмов оказались меньше, чем во 2 группе соответственно в 1,5 раза и в 1,4 раза ($p<0,05$ в обоих случаях).

В ответ на ионофорез ацетилхолина у таких пациентов вазодилатация происходила, но прирост величины перфузии оказался в 2,2 раза меньше, чем во 2 группе, при этом амплитуда кардиоритмов оказалась в 1,7 раза меньше, а дыхательных колебаний – в 1,8 раза больше ($p<0,05$ во всех случаях).

У пациентов 3 группы состояние перфузии и активных механизмов регуляции не различались с показателями 4 группы, но выявлено увеличение амплитуды сердечных и дыхательных ритмов соответственно в 1,8 и в 1,5 раза ($p<0,05$ в обоих случаях).

У пациентов 3 группы (ИБС, пожилой и старческий возраст) микрососуды практически полностью утратили способность к ЭНВД и ЭЗВД,

однако выявлено нарастание активных и пассивных механизмов регуляции: амплитуда дыхательных ритмов в период ЭНВД была больше, чем в контрольной группе в 1,4 раза, НТ и ЭЗКТ – в 1,5 и 2,9 раза, а при ЭЗВД – в 1,4 и 2 раза, соответственно ($p < 0,05$ во всех случаях).

Таким образом, у пациентов пожилого и старческого возраста без признаков тяжелой патологии по сравнению со здоровыми лицами среднего возраста выявлено снижение перфузии, ЭЗКТ и НТ, относящихся к активным механизмам контроля, а также способности микрососудов к ЭНВД и ЭЗВД, что сопровождалось признаками венозного застоя.

У пациентов ИБС пожилого и старческого возраста обнаружено увеличение артериального притока и признаки венозного застоя, практически полное отсутствие способности микрососудов к ЭНВД и ЭЗВД. Нарастание активных механизмов контроля, по нашему мнению, может способствовать стабилизации их здоровья и увеличению продолжительности жизни.

Литература

1. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: Колебания, информация, нелинейность (руководство для врачей). – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2013. – 496 с.
2. Микроциркуляция и функция эндотелия: теоретические основы, принципы диагностики нарушений, значение для клинической практики: научно-методическое пособие / Под ред. О.В. Молоткова, О.В. Халепо. – Смоленск, 2015. – 111 с.
3. Фролькис В.В. Старение и увеличение продолжительности жизни. – Л.: Наука, 1988. – 239 с.

ЭФФЕКТЫ РЕДОКС-АКТИВНЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕДИ (II) С ОРГАНИЧЕСКИМИ ЛИГАНДАМИ В КЛЕТКАХ МИЦЕЛИЯ ПАТОГЕНА *RHYTORHITHORA INFESTANS*

**Ходосовская А. М., Кивчун Е. В., Викторovich В. Н.,
Евтушенков А. Н., Корик Е. О., Горбацевич Г. И.,
Осипович Н. П., Ксендзова Г. А., Логинова Н. В.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
hodosovskaya@bsu.by

Соединения, способные оказывать влияние на окислительно-восстановительные процессы, могут быть потенциальными антимикробными агентами, поскольку при повышении уровня активных форм кислорода, таких как пероксиды и свободные радикалы, повреждаются основные биополимеры клетки, и происходит нарушение клеточного метаболизма либо, в случае значительных повреждений, – гибель клетки.

Благодаря разработанному методу синтеза металлокомплексов с пространственно экранированными производными ароматических дигидроксисоединений получены новые комплексы редокс-активных *O,N*-донорных лигандов с

ионами Cu (II) в твердом состоянии. В соединениях Cu-RN2 и Cu-BN2 лигандами являются циклоаминометильные производные *орто*- (BN2) и *мета*-дифенолов (RN2). Установлена способность этих соединений подавлять рост некоторых грамположительных бактерий, плесневых грибов и дрожжей рода *Candida* [1].

Целью исследования стала оценка способности комплексов Cu-RN2 и Cu-BN2 оказывать влияние на развитие оомицета *Phytophthora infestans in vitro*, а также исследование активности каталазы в гомогенате клеток данного микроорганизма при культивировании в присутствии исследуемых соединений. Необходимость поиска новых биоцидных препаратов против *P. infestans* связана с высокой генетической изменчивостью данного патогена, вызывающего фитофтороз растений семейства Пасленовые, и быстрым приобретением им резистентности к имеющимся фунгицидам [2].

Материалы и методы. В работе использован штамм *P. infestans* (Mont.) de Vary из коллекции кафедры молекулярной биологии БГУ. Блоки с мицелием *P. infestans* засеивали в чашки со средой РyeA, содержащей тот или иной металлокомплекс в определенной концентрации, и спустя 21 сутки культивирования при 18°C оценивали площадь зон роста мицелия. Контрольные и опытные чашки содержали 0,5% раствор диметилсульфоксида, необходимого для растворения комплексов. Исследования проводили в трехкратной повторности.

Для получения клеточного гомогената мицелий, выращенный в жидкой питательной среде, разрушали в 0,5 М Na-фосфатном буфере (pH=7,0) с 1 мМ ФМСФ механически, обрабатывали ультразвуком и осветляли центрифугированием. Активность каталазы в гомогенате определяли с помощью методики М. А. Королюка с соавт. [3]. Концентрацию белка определяли методом Брэдфорда.

Результаты и их обсуждение. Культивирование *P. infestans* на агаризованной среде, содержащей исследуемые комплексы, приводило к угнетению развития микроорганизма в зависимости от концентрации соединений. Комплекс Cu-BN2 в концентрациях 6,25; 12,5; 25,0 и 50,0 мкг/мл уменьшал площадь зон роста мицелия на 34,6; 43,4; 59,7 и 91,8% соответственно. Комплекс Cu-RN2, используемый в аналогичных концентрациях, сдерживал рост мицелия *P. infestans* на 41,7; 51,0; 75,6 и 93,8% соответственно. Оба комплекса полностью прекращали развитие *P. infestans in vitro* в концентрации 100 мкг/мл.

Исследованные соединения обладают высокой липофильностью и, следовательно, биодоступностью. Данные комплексы содержат редокс-активные *O,N*-донорные лиганды, поэтому они способны активно вмешиваться в окислительно-восстановительные реакции, протекающие в клетках. Анализ активности каталазы – фермента антиоксидантной защиты, разрушающего перекись водорода, в гомогенате, полученном из мицелия *P. infestans*, который в течение 21 суток выращивали в жидкой питательной среде в присутствии 25 мкг/мл Cu-RN2 или Cu-BN2, показал, что оба металлокомплекса вызывают снижение удельной активности фермента в цитозоле: соединение Cu-RN2 – в 1,5 раза, соединение Cu-BN2 – в 1,3 раза. Выявленный эффект может быть связан с тем, что комплексные соединения меди подобной структуры являются миметиками супероксиддисмутазы, превращающей супероксидный радикал в

перекись водорода [1]. Высокие концентрации образующейся перекиси могут ингибировать активность каталазы, приводить к образованию более реактивных радикалов и вызывать структурно-функциональные нарушения макромолекул. Сходный эффект уменьшения активности каталазы обнаружен в мицелии базидиомицета *Phellinus noxius* при действии дибензодиазинового антибиотика (феназин-1-карбоновой кислоты) в концентрации 20 мкг/мл [4].

Выводы. Редокс-активные комплексы меди (II) с органическими лигандами Cu-RN₂ и Cu-BN₂ являются эффективными антимикробными соединениями в отношении патогенного оомицета *P. infestans*, действуют дозозависимо и сохраняют биоцидные свойства на протяжении 21-х суток. Одно из возможных звеньев в механизме их действия – подавление активности антиоксидантного фермента каталазы, что ведет к повреждающему действию пероксидов на клетки.

Литература

1. Loginova N.V., Harbatsevich N.I., Koval'chuk T.V. et al. Redox-active metal complexes with cycloaminomethyl derivatives of diphenols: antibacterial and SOD-like activity, reduction of cytochrome *c* // *Antibacterials: Synthesis, Properties and Biological Activities* / eds. E. Collins. – Hauppauge, NY: Nova Science Publisher's, 2017. – P. 143-180.
2. Grunwald N.J., Sturbaum A.K., Montes G.R. et al. Selection for fungicide resistance within a growing season in field populations of *Phytophthora infestans* at the center of origin // *Phytopathology*. – 2006. – Vol. 96. – P. 1397-1403.
3. Королюк М.А., Иванова М.И., Майорова И.Т. Метод определения активности каталазы // *Лабораторное дело*. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
4. Huang H., Sun L., Bi K. et al. The Effect of Phenazine-1-Carboxylic Acid on the Morphological, Physiological, and Molecular Characteristics of *Phellinus noxius* // *Molecules*. – 2016. – Vol. 21, № 613. – doi:10.3390/molecules21050613.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ГИДРОСУЛЬФИДА НАТРИЯ

Ходосовский М. Н., Зиматкин С. М.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
hodosowsky@grsmu.by

Синдром ишемии-реперфузии печени (ИРП) часто встречается в клинической практике при выполнении резекций или трансплантации органа. Ведущим механизмом данной патологии считают развитие оксидативного стресса, вследствие нарушения сбалансированности процессов транспорта и утилизации кислорода в постишемическом периоде.

Цель исследования – провести оценку гистохимических показателей печени при моделировании ИРП у крыс в условиях инфузии донора сероводорода – гидросульфида натрия.

Материалы и методы. Опыты выполнены 30 белых крысах-самцах, массой 300-350 г, выдержанных в стандартных условиях вивария. Ишемию печени вызывали наложением сосудистого зажима на *a. hepatica propria* и *v. portae* (маневр Прингла) в течение 30 минут, реперфузионный период длился 120 минут. В конце эксперимента осуществляли забор тканей печени для оценки параметров морфофункционального состояния печени. Оперативные вмешательства осуществляли в условиях адекватной анальгезии в соответствии с нормами, принятыми этической комиссией по гуманному обращению с животными Гродненского государственного медицинского университета. Животных разделили на 3 группы: 1-я ($n=10$) группа – контрольная, во 2-й ($n=10$) группе моделировали ИРП, в 3-й ($n=10$) группе выполняли ИРП как 2-й группе, но за 5 минут до начала реперфузионного периода внутривенно вводили донатор сероводорода – гидросульфида натрия (NaHS , Sigma, 14 мкмоль/кг). Для изучения особенностей метаболизма гепатоцитов криостатные срезы окрашивали для определения активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАДН-дегидрогеназы (НАДН-ДГ) и кислой фосфатазы (КФ). Денсиметрию осадка хромогена проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (Leica DFC 320, Германия), а также программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). Полученные данные анализировали методами непараметрической статистики с помощью U-теста Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что активность СДГ в гепатоцитах контрольных животных умеренная, при этом в периферической части дольки она была выше, чем в центральной. В гепатоцитах средней части дольки у контрольных животных активность СДГ составляла 0,27 единиц оптической плотности. Во 2-й группе в конце реперфузии в цитоплазме гепатоцитов наблюдается повышение активности СДГ на 18,5% ($p<0,05$). Активность СДГ в 3-й группе повышалась по сравнению с контролем на 33,3% ($p<0,01$). При этом по сравнению со 2-й группой она также увеличивалась на 12,5% ($p<0,05$). В гепатоцитах контрольных животных отмечалась умеренная активность ЛДГ. Содержание фермента неравномерное по площади классической печеночной дольки; активность ЛДГ выше в периферической части дольки. В среднем активность ЛДГ составила 0,67 единиц оптической плотности. Активность ЛДГ в гепатоцитах крыс 2-й группы при ИРП понижалась на 25,4% ($p<0,001$) по сравнению с контрольными животными. Зональность в распределении фермента сохранялась, но была выражена слабее. Активность ЛДГ в гепатоцитах 3-й группы по сравнению со 2-й группой имеет тенденцию к незначительному повышению ($p=0,5995$), но остается сниженной по сравнению с контрольными животными на 17,9% ($p<0,001$). Активность НАДН-ДГ в печеночных клетках контрольных животных была высокой и составила 0,90 единиц оптической плотности. Активность фермента была примерно одинаковой как в центральной, так и в периферической части долек. Активность НАДН-ДГ при ИРП не отличается от значений у контрольных животных, тогда как в гепатоцитах 3-й группы незначительно понижалась по сравнению

с контрольной группой ($p=0,247997$) и группой с ИРП ($p=0,4008$). Активность КФ была более высокой в периферической части долек. Ярче окрашивались билиарные полюсы гепатоцитов, т.е. центр печеночной балки. Активность КФ в гепатоцитах контрольных животных составила 0,98 единиц оптической плотности. Моделирование ИРП у крыс 2-й группы приводило к снижению активности КФ на 21,4% ($p<0,05$) по отношению к контрольным животным. При ИРП использование гидросульфида натрия способствовало повышению активности КФ по сравнению со 2-й группой на 10,4% ($p<0,05$), хотя по сравнению с контролем активность КФ оставалась пониженной на 13,3% ($p<0,05$).

Полученные данные свидетельствуют, что у крыс в конце реперфузионного периода происходит усиление процессов аэробного окисления сукцината в митохондриях при сохранении высокой скорости переноса электронов с НАДН на убихинон. Вместе с тем, снижение активности ЛДГ указывает на падение доли анаэробного гликолиза в энергетическом обеспечении гепатоцитов при реперфузии. Одновременно, падение активности КФ отражает недостаточность процессов аутофагии, направленных на удаление поврежденных мембран и органелл в гепатоцитах в постишемическом периоде. Использование гидросульфида натрия при ИРП у крыс способствует усилению аэробных процессов в цикле Кребса и улучшению энергообеспечения гепатоцитов при синдроме ИРП у крыс. Вместе с тем, повышение активности КФ у животных 3-й группы свидетельствует о нарастании процессов аутофагии в гепатоцитах под воздействием донатора сероводорода, что может рассматриваться как повышение механизмов внутриклеточной защиты в условиях моделирования реперфузионного синдрома на печени крыс.

Таким образом, использование гидросульфида натрия при моделировании ишемии-реперфузии печени у крыс способствует усилению процессов аэробного окисления в цикле Кребса, улучшению энергообеспечения гепатоцитов и повышению механизмов их внутриклеточной защиты.

СУПЕРОКСИДИСМУТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПИЩЕВОЙ ЖЕЛЕЗЕ (ПЕЧЕНИ) МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS* ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОЙ ОСТРОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ

Шаденко В. Н., Сидоров А.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
sidorov@bsu.by

Постоянство внутренней среды организма – одно из условий нормального протекания многих физиологических процессов. Патологические состояния, ассоциируемые с возрастанием уровня глюкозы в межклеточной среде (метаболический синдром, сахарный диабет и т.п.), выступают в качестве основных причин преждевременной гибели индивидуума. С определённых

позиций, изменение постоянства уровня глюкозы можно рассматривать и как стрессовый фактор, потенциально способный оказать влияние на функциональную активность самых разных систем организма. Зачастую речь идёт о резких, кратковременных изменениях концентрации глюкозы в интерстиции, вызванных, например, массовым её поступлением в организм в ходе потребления высокоэнергетических пищевых субстратов. Подобный тип реакции отмечен и для беспозвоночных (моллюсков) [1]. В свою очередь развитие стресса ассоциируется с нарушением антиокислительного статуса тканей организма.

В этой связи представлялось интересным оценить отсроченные эффекты острого гипергликемического стресса в отношении активности одного из ключевых ферментов антиокислительной защиты (супероксиддисмутаза, СОД), в клетках печени моллюска *Lymnaea stagnalis*.

Материалы и методы. Работа выполнена на представителе пресноводных легочных моллюсков – прудовике обыкновенном (*Lymnaea stagnalis*). В лаборатории животные содержались в аквариумах объемом 4 л (по 5 особей в каждом), при температуре воды 20-22°C и свободном доступе к пище.

Перед началом экспериментов, животных опытной группы инкубировали в 100 мМ растворе глюкозы (приготовлен на основе отстоявшейся водопроводной воды) в течение 2 ч. Животные контрольной группы находились указанное время в аналогичных по объёму аквариумах с «чистой» водой. После этого моллюсков обеих групп переносили в аквариумы с чистой водой. Пробы гемолимфы получали по окончании инкубации в растворе глюкозы и спустя 24 ч после её окончания. Для этого проводили сильную тактильную стимуляцию ноги моллюска, сопровождавшуюся выбросом части гемолимфы. Концентрацию глюкозы определяли глюкозооксидазным методом, спектрофотометрическое определение на 520 нм (Cary 50, Variant Inc., Австралия).

По прошествии суток после 2-часовой инкубации животных в растворе глюкозы, выделяли печень индивидуально от каждого моллюска, пробы замораживали и хранили при минус 28°C, используя по мере необходимости. Гомогенаты готовили на основе холодной (4°C) дистиллированной воды. Активность СОД (КФ 1.15.1.1.) определяли спектрофотометрическим методом, основанным на оценке скорости аутоокисления флавоноида кверцетина [2] на длине волны 406 нм (длина оптического пути 1 см), в двух повторах для каждой пробы. Объём анализируемого материала – 100 мкл, в контрольной пробе – 100 мкл дистиллированной воды. Предварительно 200 мкл полученного 5% гомогената подвергали центрифугированию (5 минут при 1000 об/мин). Затем отбирали 100 мкл супернатанта, разводили его 10-кратно и центрифугировали (5 минут при 1000 об/мин). Вновь отобранные 100 мкл супернатанта использовали для анализа. Результат выражали в единицах активности фермента на мл гомогената.

Данные представлены в виде медианы (25 и 75 процентиля) или среднего \pm ошибка среднего. Достоверность различий оценивали при помощи *U*-критерия Манна-Уитни (непараметрическое распределение) или *t*-критерия Стьюдента (нормальное распределение).

Результаты и их обсуждение. Анализ концентрации глюкозы в гемолимфе *Lymnaea stagnalis* показал её многократный (более чем в 20 раз) рост у животных сразу после нахождения в 100 мМ растворе глюкозы – с 0,20 (0,16; 0,26) мМ (контроль) до 6,12 (4,13; 7,99) мМ (опыт) соответственно ($p < 0,001$). Вместе с тем, по прошествии одних суток после 2-х часовой инкубации животных в экспериментальном растворе, статистически достоверных различий в уровне глюкозы в гемолимфе выявлено не было ($p > 0,05$). Значения составили: $0,15 \pm 0,02$ и $0,14 \pm 0,02$ мМ для контрольной ($n = 36$) и опытной ($n = 36$) групп, соответственно, и фактически равнялись «нормативным» для интактных особей. Статистически значимых различий в активности СОД в отношении препаратов печени, полученных от животных опытной и контрольной групп ($p > 0,05$), также не обнаружено (таблица).

Таблица – Влияние 2-часовой инкубации в 100 мМ растворе глюкозы на супероксиддисмутазную активность в клетках печени *Lymnaea stagnalis*

Биохимический показатель	Экспериментальная группа	
	контроль ($n = 32$)	глюкоза ($n = 28$)
Активность СОД, У/мл	$32,6 \pm 1,1$	$33,6 \pm 1,6$

Усиление метаболической активности, связанное с увеличением продукции АТФ в митохондриях, приводит к увеличению концентрации активных форм кислорода, исходной формой которых является супероксид анион, – основная мишень действия СОД [3]. Тем не менее, полученные данные не позволяют сделать вывод о возрастании прооксидантной активности в тканях пищеварительной железы (печени) *Lymnaea stagnalis* в условиях острого гипергликемического стресса.

Литература

1. Karanova M.V. Seasonal variation in the content of free reducing sugars in body fluids of freshwater mollusk *Lymnaea stagnalis* // Biology Bulletin. – 2006. – Vol. 33. – P. 382-386.
2. Kostyuk V.A., Potapovich A.I. Superoxide-driven oxidation of quercetin and a simple assay for determination of superoxide dismutase // Biochem. Int. – 1989. – Vol. 19. – P. 1117-1124.
3. Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species // J. Physiol. – 2003. – Vol. 552. – P. 335-344.

КОРРЕКЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ АБСТИНЕНТНОМ СИНДРОМЕ

Шалесная С.Я., Алещик А.Ю.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно

Длительная хроническая алкогольная интоксикация сопровождается изменениями обмена веществ, которые, в конечном итоге, определяют нарушение гомеостаза [2]. Существенное преобладание продукции свободнорадикальных субстанций над эффективностью антиокислительной защиты клеток при алкогольной аддикции связано с недостаточностью их устранения антиоксидантными ресурсами организма [3]. Среди сигнальных молекул, участвующих в регуляции внутри- и межклеточных систем в различных типах клеток, особое место занимают газообразные соединения – газотрансмиттеры: оксид азота (NO), монооксид углерода (CO) и сероводород (H₂S) [1], которые участвуют в регуляции различных органов и систем организма человека в норме и при патологии.

Цель – изучить возможности коррекции окислительного стресса при алкогольном абстинентном синдроме (ААС) с помощью газотрансмиттеров, таких как NO и H₂S.

Материалы и методы. Эксперименты были выполнены на белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. В эксперименте использовалась модель создания ААС по Майхровичу в модификации Лелевича В.В. [4], согласно которой животные получали 25% раствор этанола внутрижелудочно дважды в сутки, в течение 5 суток. Остальным группам внутрибрюшинно вводили L-аргинин, гидросульфид натрия (NaHS), L-аргинин+NaHS дважды в сутки с интервалом 12 часов. Забор крови проводился на 3-и и 7-е сутки после последнего введения алкоголя и корректоров.

Уровень диеновых конъюгатов в плазме крови и эритроцитах определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232–234 нм. По взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой оценивали содержание малонового диальдегида в плазме и эритроцитах. Для определения активности каталазы использовали метод, основанный на спектрофотометрической регистрации количества окрашенного продукта реакции перекисью водорода с молибденовокислым аммонием при длине волны 410 нм. Содержание церулоплазмينا определяли методом Равина. Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах изучали по модифицированному методу J. Sedlak и R. Lindsay.

Продукцию NO оценивали по суммарному уровню нитрат/нитритов в плазме крови. Вначале плазму депротенинизировали путём внесения 1,0 мл 6% раствора цинка сульфата к 0,5 мл плазмы и инкубации (30 мин) при комнатной температуре (20-23°C). Интенсивность окраски оценивали на спектрофотометре «Солар» PV1251С при длине волны 540 нм. Концентрацию H₂S в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции между сульфид-анионом и кислым раствором р-фенилендиамина в

присутствии хлорного железа. Интенсивность окраски оценивали на спектрофотометре «Солар» PV1251С при длине волны 670 нм.

Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ «Statistica 10.0».

Результаты и их обсуждение. Было проведено исследование показателей прооксидантно-оксидантного равновесия в плазме и эритроцитарной массе при ААС: малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, церулоплазмин, восстановленный глутатион и активность каталазы. Установлено снижение активности процессов перекисного окисления липидов, увеличение факторов антиоксидантной системы вследствие введения веществ, изменяющих состояние системы газотрансмиттеров. При этом отмечено изменение показателей NO и H₂S.

Увеличение интенсивности свободнорадикальных процессов при состоянии отмены этанола у экспериментальных животных может быть обусловлено нарушением обмена глутатиона, которое выражается в уменьшении его внутриклеточной концентрации, а также в изменении активности ферментов глутатионовой системы [4]. Положительные эффекты препарата «Мексидол» подтверждают роль нарушений обмена глутатиона при алкогольной абстиненции. При включении в схему лечения алкоголизмом антиоксидантов изменяется динамика уровня сывороточного церулоплазмينا, свидетельствуя о их положительном влиянии на антиоксидантный потенциал крови в начальные стадии развития ААС [2].

Предполагается, что фармакологические эффекты введения предшественника восстановленного глутатиона могут быть связаны либо со стабилизацией дисульфидной связи в молекуле окисленного глутатиона, либо с биотрансформацией экзогенного трипептида в результате функционирования естественных метаболических путей с формированием в качестве продукта реакции восстановленной формы глутатиона, которая и оказывает эффект уменьшения интенсивности течения свободнорадикальных процессов [3].

В физиологически допустимых концентрациях NO и H₂S, как синтезируемые внутри клеток, так и экзогенные, оказывают положительное влияние при ишемии/реперфузии, стрессах, влияют на пластические перестройки в мозге, стимулируют вазодилатацию, ингибируют апоптоз, тормозят воспалительные процессы, активируют антиоксидантную систему и модулируют процессы митохондриального дыхания [1]. Полученные результаты выявили новые элементы патогенеза осложнений хронической алкогольной интоксикации, обусловленные метаболическими нарушениями в организме, которые могут быть использованы для оценки тяжести течения ААС. Результаты исследования являются основой для обоснования возможности включения в комплексную терапию ААС препаратов, корригирующих обменные процессы в системе газотрансмиттеров.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют о возможности коррекции окислительного стресса при ААС путем изменения содержания таких газотрансмиттеров, как NO и H₂S. Очевидно, их уровень газотрансмиттеров связан с их эффектом на механизмы антиоксидантной системы.

Литература

1. Гусакова С.В., Смаглий Л.В., Бирулина Ю.Г. и др. Молекулярные механизмы действия газотрансмиттеров NO, CO и H₂S в гладкомышечных клетках и влияние NO-генерирующих соединений (нитратов и нитритов) на среднюю продолжительность жизни // Успехи физиологических наук. – 2017. – Т. 48, № 1. – С. 24-52.
2. Ефременко Е.С. Метаболическая направленность терапевтических воздействий на эффективность антиокислительной защиты при алкогольном абстинентном синдроме // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2017. – № 3. – С. 47-49.
3. Ефременко Е.С., Чигринский Е.А., Золин П.П. и др. Оценка сывороточного уровня мочевой кислоты при экспериментальном синдроме отмены этанола в условиях введения предшественника восстановленного глутатиона // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 5. – С. 85-88.
4. Лелевич В.В., Веницкая А.Г., Лелевич С.В. и др. Особенности обмена гамма-аминомасляной кислоты в печени крыс при разных режимах алкогольной абстиненции // Биомедицинская химия. – 2014. – Т. 60, вып. 5. – С. 561-566.
5. Мицуля Т.П., Мороз Д.И., Диденко К.Н. Оценка воздействия этилметилгидроксипиридина сукцината на показатели обмена глутатиона при моделировании алкогольной зависимости // Биологические науки. International journal of experimental education. – 2016. – № 7. – С. 55-57.

ПРООКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ: ОЦЕНКА МЕТОДОМ АКТИВИРОВАННОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Шахова М. И.¹, Порфирьев Д. В.¹,
Созарукова М. М.², Проскурнина Е. В.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»,

²ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс»

МЗ РФ, НИИ Клинической кардиологии им. А. Л. Мясникова

Москва, Россия, *proskurnina@gmail.com*

В настоящее время большое внимание уделяется оценке свободнорадикального гомеостаза как системного (кровь), так и локального (другие биологические жидкости, такие как фолликулярная жидкость, спермоплазма). Существует много методов определения антиоксидантной активности, однако существенно меньше внимания уделяется прооксидантным свойствам плазмы крови, хотя понятие «оксидативный стресс» основано именно на нарушении баланса между прооксидантными и антиоксидантными системами.

Цель исследования. Разработать методику оценки прооксидантной активности плазмы крови с использованием метода активированной хемилюминесценции.

Материалы и методы. Было исследовано 8 образцов плазмы крови относительно здоровых доноров, полученных от здоровых доноров (4 мужчин и 4 женщин от 25 до 33 лет). В качестве стабилизатора использовали гепарин. Регистрировали интенсивность хемилюминесценции в присутствии

люцигенина как селективного зонда на супероксидный анион-радикал и НАДН как субстрата ферментов.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что из нескольких хемиллюминесцентных активаторов – люминол, люцигенин, кумарин С-334 – спонтанная хемиллюминесценция плазмы крови наблюдается только с люцигенином, что свидетельствует об образовании супероксидного анион-радикала. Это свечение многократно усиливается в присутствии НАДН.

Методом ингибиторного анализа (ингибиторы – СОД, каталаза, селективный ингибитор циклооксигеназы-1 SC-560, ингибитор липоксигеназы-5 МК-886, ингибитор ксантиноксидазы аллопуринол) показано, что в НАДН-стимулированную люцигенин-активированную хемиллюминесценцию вносят вклад в примерно равной мере циклооксигеназа-1 и ксантиноксидаза.

В качестве стандартного соединения для градуировки прооксидантной активности выбрана ксантиноксидаза. В качестве аналитического сигнала – светосумма за 15 минут. Градуировочная зависимость светосуммы активности была линейной в диапазоне от 2,8 до 13,8 мЕд/мл: $I = (12 \pm 2) \times a(\text{ХО, мЕд/мл}) + (105 \pm 22)$.

Оценена прооксидантная активность плазмы крови доноров – НАДН-стимулированная люцигенин-активированная хемиллюминесценция в пересчете на активность ксантиноксидазы. Она составила $8 \pm 2,6$ мЕд/мл.

Выводы:

1. НАДН-стимулированная люцигенин-активированная хемиллюминесценция плазмы крови обусловлена практически в равной мере активностью ксантиноксидазы и циклооксигеназы-1.

2. Светосумма НАДН-стимулированной люцигенин-активированной хемиллюминесценции за 15 минут может быть использована для оценки прооксидантной активности плазмы – способности к продукции супероксидного анион-радикала.

3. При использовании в качестве стандартного прооксидантного фермента ксантиноксидазы оценена прооксидантная активность плазмы крови практически здоровых доноров – $8 \pm 2,6$ мЕд/мл.

**КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ
ПРИ РАЗНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМАХ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ**

Шейфер Ю. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
jura-med@mai.ru

Сегодня туберкулез (ТБ) является ведущей инфекционной болезнью, уносящей жизни людей во всем мире. Заболеваемость ТБ является одной из самых актуальных социально-политических и медицинских проблем современного общества в мировом измерении. Эксперты ВОЗ прогнозируют,

что в случае несостоятельности взять эпидемию под жесткий контроль, к 2020 г. количество тубинфицированных достигнет 2 млрд человек, из которых 150 млн заболеют и 36 млн умрут [1]. Многие патогенетические звенья развития ТБ легких изучены не достаточно, и в частности, формирования кислородтранспортная функция (КТФ) крови. В организме сродство гемоглобина к кислороду (СГК) в значительной степени определяет диффузию кислорода из альвеолярного воздуха в кровь, а затем на уровне капилляров большого круга кровообращения в ткань. Свойство гемоглобина обратимо связывать кислород, является частным случаем общей закономерности взаимодействия протенинов с лигандами. Благодаря S-образной конфигурации кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) оксигенация крови в легких сохраняется на высоком уровне даже при относительно низком альвеолярном pO_2 , а её деоксигенация существенно изменяется даже при небольшом изменении капиллярно-тканевого градиента pO_2 [2].

Цель. Изучение показателей КТФ крови при различных клинических формах туберкулеза легких.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились 120 пациентов с разными клиническими формами ТБ легких, в возрасте от 20 до 55 лет, которые составили основную группу. Мужчин было – 97 (80,8%), женщин – 23 (19,2%), из них 18 (78,3%) находились в группе – малые формы. У 75 (62,5%) пациентов ТБ легких был диагностирован впервые, у 45 (37,5%) – повторно. В процессе обследования у ряда пациентов выявлены факторы риска развития ТБ: контакт – у 32 пациентов (26,7%), хронические неспецифические заболевания органов дыхания – у 18 (15%), беременность и роды – у 2 (1,7%), прибыли из мест лишения свободы – у 17 (14,2%), синдром зависимости от алкоголя – у 40 (33,3%), заболевания желудочно-кишечного тракта – у 19 (15,8%), сахарный диабет – у 3 (2,5%), наличие нескольких факторов одновременно – у 33 пациентов (27,5%). Были диагностированы следующие клинические формы ТБ легких: кавернозный – у 11 (9,2%) пациентов, инфильтративный – у 55 (45,8%), очаговый – у 21 (17,5%), туберкулема – у 18 (15%), диссеминированный – у 15 (12,5%). В связи с отсутствием различий в клинической картине, характером течения процесса, распространенностью и отсутствием достоверных различий между собой – туберкулема, очаговый, бронхолобулярный и округлый инфильтрат были объединены в группу малые формы (n=49).

Контрольную группу составили здоровые лица (23 чел.), мужчины в возрасте 20-30 лет.

Результаты и их обсуждение. Наиболее низкая концентрация гемоглобина наблюдается при инфильтративном (снижение на 21,11%, $p < 0,05$) и при диссеминированном (на 17,59%, $p < 0,05$) ТБ легких, изменения при малых формах недостоверны. Снижение кислородной емкости крови отмечается при малых формах ТБ легких на 16,2% ($p > 0,05$) и по мере прогрессирования этого процесса становится еще более выраженным, при инфильтративном и диссеминированном – на 22,7% ($p < 0,05$). Изменения SO_2 наиболее выражены при

диссеминированном, инфильтративном и кавернозном ТБ легких: уменьшение соответственно на 27,3% ($p < 0,05$), на 21,5% ($p < 0,05$) и на 19% ($p < 0,05$), а при малых формах этого заболевания различие недостоверно. Величина pO_2 наиболее снижена при распространенных формах – при диссеминированном на 14,3% ($p < 0,05$) и инфильтративном – на 9,4% ($p < 0,05$). Показатели кислотно-основного состояния крови менялись, но оставались в пределах нормального диапазона, развитие компенсированного ацидоза (алкалоза) не отмечалось.

Выявлено увеличение $p50_{\text{реал}}$ при диссеминированном ТБ легких отмечается на 20,1% ($p < 0,05$), при инфильтративном на 12,7% ($p < 0,05$). Наиболее выраженные изменения $p50_{\text{станд}}$ наблюдаются при диссеминированном – увеличение на 12,5 ($p < 0,05$) и инфильтративном ТБ – увеличение на 7,01% ($p < 0,05$), а при малых формах и кавернозном ТБ легких величина $p50_{\text{станд}}$ изменяется незначительно.

Увеличение показателя $p50_{\text{реал}}$ отражает сдвиг КДО при реальных условиях циркуляции (вправо) и является типичной реакцией на гипоксию в тканях, возникающую из-за недостаточности функции внешнего дыхания.

Снижение СГК у пациентов с ТБ следует расценивать, как компенсаторную реакцию на гипоксию в тканях, возникшую из-за недостаточности функционирования механизмов, обеспечивающих поддержание постоянства альвеолярного воздуха. Сдвиг КДО вправо (снижение СГК), способствует лучшей деоксигенации крови и, очевидно, оптимизации кислородного режима тканей [2] и отражает снижение нагрузки на системы кровообращения и дыхания. Так, увеличение значения $p50_{\text{станд}}$ с 28,2 до 33,1 мм рт. ст. приводит к росту экстракции O_2 на 7,9% [3].

Выводы. У пациентов с разными клиническими формами туберкулеза легких отмечается сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, направленный на улучшение оксигенации тканей. Ухудшение показателей КТФ крови происходит в зависимости от распространенности туберкулезного процесса и тяжести состояния пациентов в клиническом плане.

Литература

1. Global tuberculosis control: WHO report: 2017 W H O /H T M /T B/ – 2017. – 262 p.
2. Зинчук В.В., Глуткина Н.В. Кислородсвязывающие свойства крови и монооксид азот // Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – № 5. – С. 537-554.
3. Wagner P.D., Wagner H.E., Groves B.M. et al. Hemoglobin P50 during a simulated ascent of Mt. Everest, Operation Everest II // High. Alt. Med. Biol. – 2007. – Vol. 8, № 1. – P. 32-42.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС Фолликулярной жидкости у пациенток с бесплодием, проходящих процедуру экстракорпорального оплодотворения, и его связь с качеством эмбриона

Шестакова М. А.¹, Морозова Д. С.², Рабаданова А. К.¹,
Созарукова М. М.³, Проскурнина Е. В.²

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России,

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»,

³ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс»

МЗ РФ, НИИ Клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова, Москва, Россия

chrysolite7@gmail.com

В последнее время большое внимание уделяется патологической роли оксидативного стресса в функционировании репродуктивной системы женщины, в том числе в оогенезе и патогенезе бесплодия различной этиологии. Одним из распространенных подходов к лечению бесплодия является экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО). Согласно литературным данным, уровень локального оксидативного стресса внутри фолликулов может влиять на процесс созревания ооцитов и, как следствие, на успешность прохождения процедуры ЭКО.

Цель. Оценить антиоксидантные свойства фолликулярной жидкости новым хемилюминесцентным методом у женщин со сниженным овариальным резервом и трубным фактором бесплодия, проходящих процедуру экстракорпорального оплодотворения, а также сопоставление полученных данных с качеством эмбриона.

Материалы и методы. Образцы фолликулярной жидкости получали во время забора ооцитов у 16 женщин со сниженным овариальным резервом и 16 женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Пациентки были сопоставимы по возрасту, индексу массы тела и протоколу гормональной стимуляции (короткий протокол с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона). Измерение антиоксидантной активности фолликулярной жидкости производили методом люминол-активированной хемилюминесценции с использованием 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида в качестве источника радикалов. Определяли общую антиоксидантную активность (АОА) и антиоксидантную активность, обусловленную действием белков (АОА-б).

Результаты и их обсуждение. Кинетическая кривая хемилюминесценции фолликулярной жидкости аналогична по виду ранее полученной кривой антиоксидантной активности плазмы крови. Как и в плазме крови, антиоксидантная активность обусловлена мочевой кислотой и белками – альбуминами и глобулинами.

В результате исследования выделены три группы пациенток, АОА у которых значительно различались:

- 1) пациентки с низким качеством эмбриона и пониженной антиоксидантной активностью, АОА 11.4 ± 2.5 мМ аскорбата ($n=16$);
- 2) пациентки с эмбрионом хорошего качества, АОА 21.4 ± 3.8 мМ ($n=10$);
- 3) пациентки с низким качеством эмбриона и повышенной АОА, равной 33.7 ± 2.9 мМ ($n=6$).

Таким образом, можно предположить, что для развития качественного эмбриона требуется, чтобы в фолликуле, из которого происходит ооцит, соблюдалось оптимальное значение антиоксидантной активности, так как и уменьшение её (окислительный стресс), и увеличение (антиоксидантный стресс) отрицательно сказываются на качестве эмбриона. Эти данные соответствуют современной концепции о том, что для успешного развития ооцита требуется оптимальный уровень продукции активных форм кислорода.

Выводы. Исходя из сопоставления АОА (в единицах аскорбата) с качеством эмбриона, можно предложить три области:

- 1) зона сниженной антиоксидантной активности (менее 15 мкМ, оксидативный стресс) – у этих пациенток наблюдали эмбрионы плохого качества;
- 2) зона нормальной АОА (15-30 мкМ) – у пациенток получены эмбрионы хорошего качества;
- 3) зона повышенной АОА (более 30 мкМ, антиоксидантный стресс) – у пациенток получены эмбрионы плохого качества.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-015-00234.

Литература

1. Алексеев А.В., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Определение антиоксидантов методом активированной хемилюминесценции с использованием 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана) // Вестник Московского Университета. – 2012. – Т. 53, № 3. – С. 187-193.
2. Oyawoye O., Gadir A.A., Garner A., Constantinovici N., Perrett C., Hardiman P. Antioxidants and reactive oxygen species in follicular fluid of women undergoing IVF: relationship to outcome // Human reproduction. – 2003. – Т. 18, № 11. – С. 2270-2274.

ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НА АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ

Шолух М. В., Бондарюк Е. В., Брилевская С. И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

msholukh@mail.ru

Митохондриальный изофермент аспаратаминотрансферазы (мАспАТ) катализирует обратимый перенос аминогруппы от аспарагиновой кислоты на α -кетоглутаровую кислоту с образованием щавелевоуксусной (ЩУК) и глутаминовой кислот. Являясь ключевым ферментом азотистого обмена, он играет важнейшую роль в сопряжении углеводного, энергетического и азотистого обменов, а также выполняет функцию белка связывающего жирные кислоты

[1]. Синтезируясь в цитоплазме клетки, мАспАТ транспортируется в митохондрии [1] и способна возвращаться в цитоплазму [2]. Необходимой стадией переноса фермента между цитоплазмой и митохондриями является разворачивание белковой молекулы, в результате чего полипептидная цепь более подвержена воздействию активных форм кислорода, источником которых является митохондрия. Следствием окислительного повреждения молекулы фермента является повышенная склонность к агрегации и необратимой инактивации. То есть окислительный стресс может явиться фактором, воздействующим через АспАТ на углеводный, энергетический и азотистый обмен. В данной работе мы оценивали влияние воздействия перекисей на процессы инактивации и термоагрегации митохондриальной АспАТ.

Материалы и методы. Активность мАспАТ определяли спектрофотометрическим методом Кармен [3] по поглощению НАДН при 340 нм в сопряженной реакции восстановления оксалоацетата до малата, катализируемой малатдегидрогеназой (МДГ). Реакционная среда содержала: 50 ммоль/л фосфатного буфера (рН 7,5), 20 ммоль/л α -кетоглутарата, 20 ммоль/л L-аспартата, 10 ммоль/л НАДН, 10 единиц МДГ, 1 ммоль/л пиридоксальфосфата. Реакцию запускали добавлением препарата мАспАТ из сердца свиньи. Реакцию проводили в лунках стандартного 96-луночного планшета. Изменение оптической плотности при 340 нм регистрировали с помощью планшетного ридера Multiscan Ascent (Thermo Labsystems, Финляндия).

Для оценки влияния H_2O_2 , органических гидроперекисей кумола и трет-бутила на активность и степень агрегации АспАТ фермент инкубировали в присутствии разных концентраций перекисей – 10, 100, 200, 500 мкмоль/л при рН 6,0 или 7,5 и температуре 37⁰С.

Степень агрегации фермента оценивали при нагревании в термостатируемой кювете, регистрируя изменение оптической плотности при 340 нм на спектрофотометре Cary 100 (Varian, Австралия).

Результаты и их обсуждение. При инкубации мАспАТ из сердца свиньи с пероксидом водорода наблюдается дозо-зависимое падение активности со временем при рН 6,0: через 60 минут инкубации в присутствии 500 мкмоль/л H_2O_2 остаточная активность составляет менее 20%; при концентрации H_2O_2 10 мкмоль/л – около 40%. В более щелочной среде при рН 7,5, фермент проявляет большую устойчивость к действию H_2O_2 – остаточная активность составляет 20, 40 и 60% соответственно для концентрации H_2O_2 500, 200 и 10 мкмоль/л соответственно. Гидроперекиси кумола и трет-бутила практически не оказывали влияния на активность АспАТ независимо от рН.

Изучение влияния H_2O_2 на кинетику термоинактивации при 65 ⁰С в качестве модели воздействия окислителя на развернутый белок также показало большую устойчивость фермента при значении рН 7,5. При рН 6,0 наблюдалась практически полная инактивация фермента при любой концентрации H_2O_2 . Падение активности фермента при рН 7,5 составляло от 87 до 96% в зависимости от концентрации H_2O_2 – от 0 до 500 мкмоль/л, соответственно.

В присутствии органических гидроперекисей изменений в кинетике термоагрегации митохондриальной АспАТ при рН 6,0 не наблюдалось, в то время как при рН 7,5 имело место увеличение светорассеяния, что говорит об образовании агрегатов белка. Наибольший эффект на процесс термоагрегации при обоих значениях рН оказывал H_2O_2 .

Для изучения эффектов перекисей на кинетику термоагрегации фермента оказалось удобнее использовать более термостабильную рекомбинантную бактериальную АспАТ *Bacillus circulans*, полученную в культуре *Escherichia coli*.

Установлено, что все изученные перекиси приводят к незначительному увеличению термоагрегации рекомбинантного фермента: гидроперекиси терт-бутила на 5%, кумола и H_2O_2 – на 10%. В присутствии в среде инкубации шаперонов GroEL процессы термоагрегации как нативного, так и окисленного фермента замедляются. Однако присутствие шаперонов не может свести степень агрегации окисленного белка к контрольному уровню. То есть окислительное повреждение молекулы фермента препятствует его полному восстановлению с помощью шаперонов.

Выводы. Митохондриальный изофермент АспАТ демонстрирует большую подверженность воздействию окислительных агентов в более кислой среде, при этом наибольшее повреждающее действие оказывал H_2O_2 . Денатурация фермента делает его более подверженным процессам окисления, а окисленный фермент не может быть полностью восстановлен шаперонами.

Литература

1. Stump D.D., Zhou S.-L., Berk P.D. Comparison of plasma membrane FABP and mitochondrial isoform of aspartate aminotransferase from rat liver // Am. J. Physiol. – 1993. – Vol. 265. – G. 894-G902.
2. Шолух М.В., Пикулев А.Т. Роль адренорецепторов в регуляции активности изоферментов аспартат-аминотрансферазы сердца белых крыс // Вопр. мед. химии. – 1977. – Т. 236, № 6. – С. 808-812
4. Karmen A. A note on the spectrofotometric assay of glutamatic oxaloacetic transaminase in human blood serum // J. Clin. Invest. – 1955. – Vol. 34. – P. 131.

СПЕКТРЫ ЯМР ^{31}P КРОВИ КРЫС ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА

Яфарова Г. Г.^{1,2}, Юртаева С. В.², Волков М. Ю.²,
Силантьева Д. И.¹, Ямалитдинова Э. И.¹

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет,

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

gusadila@mail.ru

Одним из источников новых данных о патогенезе травмы спинного мозга (ТСМ) может стать ^{31}P ядерная магнитно-резонансная спектроскопия крови, позволяющая неинвазивным методом получить информацию о метаболических сдвигах при данной патологии и наблюдать за процессом в динамике.

Цель исследования – с помощью метода ^{31}P ЯМР-спектроскопии идентифицировать и оценить изменение фосфорных метаболитов и рН крови после травматического повреждения спинного мозга.

Материалы и методы. Стандартную открытую позвоночно-спинномозговую травму наносили по методике A. Allen на уровне Th9 позвонка с соблюдением биоэтических норм. Методом ^{31}P ЯМР спектроскопии обнаружены и количественно оценены фосфорсодержащие соединения крови – 2,3-дифосфоглицераты (2,3-ДФГ), неорганические фосфаты, фосфолипиды, АТФ и монофосфаты крови крыс на 3 сутки после экспериментальной травмы спинного мозга и контрольных крыс. ЯМР эксперименты были выполнены на ЯМР спектрометре «Avance400» производства фирмы Bruker (Германия). Измерения проводились при температуре 20° в стандартных 5-мм ампулах для ЯМР-измерений. Накопление и обработка спектров производились программой XWIN-NMR 3.5.

Результаты и их обсуждение. В ^{31}P ЯМР спектрах в крови наблюдалось от 4-х до 6 линий. Интенсивные сигналы 1 и 2 традиционно относят к 2,3-ДФГ (соответственно 3- и 2- дифосфоглицераты). В крови крыс с травмой спинного мозга в спектрах ЯМР ^{31}P было обнаружено увеличение интегральной интенсивности сигналов от фосфорных ядер в составе 2,3-ДФГ в среднем на 40% по сравнению с контрольной группой. Наблюдаемое нами увеличение сигналов пиков 2,3-ДФГ в спектрах ЯМР свидетельствует о развитии гипоксии тканей после травмы спинного мозга. 2,3-дифосфоглицераты образуются при недостатке кислорода как промежуточный продукт гликолиза, при этом кривая диссоциации оксигемоглобина смещается вправо, происходит увеличение поступления кислорода к тканям. Регуляция синтеза 2,3-ДФГ в эритроцитах является одним из основных адаптационных механизмов для облегчения транспорта кислорода в условиях гипоксии.

Сигналы 3 и 4 соответствовали неорганическим фосфатам (НФ): 3 – вне клеток, 4 – внутри клеток. В крови травмированных крыс наблюдалось увеличение количества неорганических фосфатов (увеличение интенсивности сигналов 3, 4) в среднем на 8-9%. Линия 5 соответствовала аденозин монофосфату (АМФ), одному из продуктов дефосфорилирования АТФ. Эта линия наблюдалась в области ~ 4.4 ppm, имела слабую интенсивность и была более заметной в крови крыс с ТСМ. Это может быть свидетельством усиления процессов дефосфорилирования органических соединений/молекул в химической среде с низкой рН. Этот факт согласуется с результатами проведенных ранее клинических исследований плазмы крови у пациентов с ТСМ, в которых обнаружено увеличение количества щелочной фосфатазы, фермента, катализирующего процессы дефосфорилирования, отщепляющей фосфат от многих типов молекул и увеличение количества неорганического фосфора.

Еще одна слабая линия, обозначенная как линия 6, регистрировалась в области отрицательных хим. сдвигов: $-0.3 \div -0.4$ ppm. Линия 6 соответствовала фосфолипидам. Данная линия наблюдалась в спектрах ЯМР преимущественно у крыс с ТСМ, у контрольных крыс она практически не регистрировалась.

Появление сигнала фосфолипидов после ТСМ в крови крыс может быть обусловлено выходом в кровь фосфолипидов мембран разрушенных клеточных структур спинного мозга и/или из мембран эритроцитов, разрушающихся в условиях гипоксии и ацидоза.

Для всех четырех интенсивных линий 1-4 ЯМР ^{31}P в образцах крови крыс с травмой спинного мозга было характерно смещение в сторону уменьшения резонансных частот. Это означает, что при ТСМ уменьшается рН крови – возникает ацидоз. Уменьшение химсдвига линий 1-4 варьировало от 0.1 до 0.4 ppm. Метод ЯМР позволил детализировать изменение рН: так, смещение линий 1, 2, 4 при травме свидетельствовало о снижении рН внутри эритроцита, а смещение линии 3 об уменьшении рН в плазме крови.

Выводы. Таким образом, информация, получаемая методом ^{31}P ЯМР-спектроскопии, позволяет судить о компенсаторно-приспособительных изменениях после травмы спинного мозга, в частности оценить степень гипоксии, ацидоза и дефосфорилирования АТФ, а сигналы ^{31}P ЯМР фосфолипидов могут служить индикатором степени разрушения клеточных структур. Сравнение параметров резонансов ^{31}P ЯМР-спектров эритроцитов у крыс с травмой спинного мозга и интактных животных позволило выявить существенные различия во всех областях спектра, что свидетельствует о значительных сдвигах в уровне и составе фосфоросодержащих соединений при развитии патологического процесса.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности №17.9783.2017/8.9.

CHOLESTEROL LOWERING THERAPY AND LOW DENSITY LIPOPROTEIN PEROXIDATION DURING ATHEROSCLEROSIS

Lankin V.Z., Tikhaze A.K.

National Medical Research Center of Cardiology,
Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
lankin941@mail.ru

To study the effect of therapy of patients with CAD by statins or PCSK9 inhibitor on the level of oxidatively modified low-density lipoprotein (LDL) from blood plasma and the activity of erythrocyte Se-containing glutathione peroxidase (GSH-Px).

Subjects and methods. Patients with CAD (9-10 men per group) were included in the study, who underwent therapy for a 6-month period including statins - 40 mg/day of pravastatin (group 1) or 0.4 mg/day of cerivastatin (group 2), as well as therapy with the inclusion of the inhibitor PCSK9 - 420 mg/month evolocoumab (group 3) for 1 year. The level of lipohydroperoxides in LDL (LOOH-LDL) was measured in groups 1 and 2 by a modified method using the Fe-xylenolorange

reagent; the content of oxidatively modified LDL (ox-LDL) in group 3 – using the immunochemical method (Mercodia kits, Sweden). GSH-Px activity in all groups was determined by a modified method with glutathione reductase system using tert-butyl hydroperoxide as a substrate.

Results. LOOH-LDL level was significantly increased in groups 1 and 2 (group 2 - in 6-7 times after 3-6 months of therapy) simultaneously with the decrease in LDL cholesterol (LDL-c). In group 2 there was a sharp drop in GSH-Px activity, starting from the 3rd month of therapy. In group 3, when there was a decrease in the concentration of LDL-c, a significant decrease in the level of ox-LDL was observed in the absence of changes in GSH-Px activity.

Conclusion. Statins, while effectively reducing the level of LDL-c, simultaneously induce oxidative modification of LDL and decrease GSH-Px activity [1-13]. The PCSK9 inhibitor not only effectively decreases the level of LDL-c, but also reduces the content of ox-LDL without decreasing in GSH-Px activity.

Literature

1. Lankin V.Z., Osis Yu.G., Tikhaze A.K. Hydroperoxy- and hydroxy-derivatives of free unsaturated fatty acids and phospholipids as modifiers of liposomal membrane structure // Dokl. Akad. Nauk. – 1996. – Vol. 351, № 2. – P. 269-271.
2. Pisarenko O.I., Studneva I.M., Lankin V.Z., Konovalova G.G., Tikhaze A.K., Kaminnaya V.I., Belenkov Yu.N. Inhibitor of beta-hydroxy-beta-methylglutaryl coenzyme A reductase decreases energy supply to the myocardium in rats // Bull. Exp. Biol. Med. – 2001. – Vol. 132, № 4. – P. 956-958.
3. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Osis Yu.G. Modeling the cascade of enzymatic reactions in liposomes including successive free radical peroxidation, reduction, and hydrolysis of phospholipid polyenoic acyls for studying the effect of these processes on the structural-dynamic parameters of the membranes // Biochemistry (Mosc). – 2002. – Vol. 67, № 5. – P. 566-574.
4. Lankin V.Z., Tikhaze A.K. Free radical lipoperoxidation during atherosclerosis and antioxidative therapy of this disease. In: Tomasi A., et al., eds. Free Radicals, Nitric Oxide and Inflammation: Molecular, Biochemical and Clinical Aspects. Amsterdam, etc.: IOS Press, NATO Science Series. – 2003. – Vol. 344. – P. 218-231.
5. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Kukharchuk V.V., Konovalova G.G., Pisarenko O.I., Kaminniyi A.I., Shumaev K.B., Belenkov Yu.N. Antioxidants decreases the intensification of low density lipoprotein in vivo peroxidation during therapy with statins // Mol. Cell. Biochem. – 2003. – Vol. 249, № 1-2. – P. 129-140.
6. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Kapel'ko V.I., Shepel'kova G.S., Shumaev K.B., Panasenko O.M., Konovalova G.G., Belenkov Yu.N. Mechanisms of oxidative modification of low density lipoproteins under conditions of oxidative and carbonyl stress // Biochemistry (Mosc). – 2007. – Vol. 72, № 10. – P. 1081-1090.
7. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Konovalova G.G., Kumskova E.M., Shumaev K.B. Aldehyde-dependent modification of low density lipoproteins. In: Handbook of Lipoprotein Research, N.Y., Nova Sci. – 2010. – Vol. 85. – P. 107.
8. Viigimaa M., Abina J., Zemtsovskaya G., Tikhaze A., Konovalova G., Kumskova E., Lankin V. Malondialdehyde-modified low-density lipoproteins as biomarker for atherosclerosis // Blood Press. – 2010. – Vol. 19, № 3. – P. 164-168.
9. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Kumskova E.M. Macrophages actively accumulate malonyldialdehyde-modified but not enzymatically oxidized low density lipoprotein // Mol. Cell. Biochem. – 2012. – Vol. 365, № 1-2. – P. 93-98.

10. Lankin V., Konovalova G., Tikhaze A., Shumaev K., Kumskova E., Viigimaa M. The initiation of free radical peroxidation of low-density lipoproteins by glucose and its metabolite methylglyoxal: a common molecular mechanism of vascular wall injury in atherosclerosis and diabetes // *Mol. Cell. Biochem.* – 2014. – Vol. 395, № 1-2. – P. 241-252.

11. Lankin V.Z., Konovalova G.G., Tikhaze A.K., Shumaev K.B., Belova-Kumskova E.M., Grechnikova M.A., Viigimaa M. Aldehyde inhibition of antioxidant enzymes in blood of diabetic patients // *J. Diabetes.* – 2016. – Vol. 8, № 3. – P. 398-404.

12. Samsonov M.V., Khapchaev A.Y., Vorotnikov A.V., Vlasik T.N., Yanushevskaya E.V., Sidorova M.V., Efremov E.E., Lankin V.Z., Shirinsky V.P. Impact of Atherosclerosis- and Diabetes-Related Dicarbonyls on Vascular Endothelial Permeability: A Comparative Assessment // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2017. – doi: 10.1155/2017/1625130.

13. Lankin V.Z., Tikhaze A.K. Role of Oxidative Stress in the Genesis of Atherosclerosis and Diabetes Mellitus: A Personal Look Back on 50 Years of Research // *Curr. Aging Sci.* – 2017. – Vol. 10, № 1. – P. 18-25.

СОДЕРЖАНИЕ

<p>ХРАНЕНИЕ КРОВИ СОПРОВОЖДАЕТСЯ ИЗМЕНЕНИЯМИ MORФОДИФРАКТОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КРАСНЫХ КРОВЯНЫХ ТЕЛЕЦ И НАКОПЛЕНИЕМ NO В ЭРИТРОЦИТАХ Акулич Н.В., Сяхович В.Э., Беляев С. А.</p>	4
<p>ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ БАЛАНС В ЭРИТРОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПА Алнури Али Салман Шабиб, И. В. Буко, Мохаммед Мустафа Луай Мохаммед, Канунникова Н. П.</p>	6
<p>ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ОГРАНИЧЕНИИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ Андрианов В. В., Зефиоров Т. Л., Зарипова Р. И., Зиятдинова Н. И., Яфарова Г. Г., Ягудин Р. Х., Шайхутдинов И. И., Ситдииков Ф. Г., Гайнутдинов Х. Л.</p>	8
<p>РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИЕ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НАНОКОМПЛЕКСА КВЕРЦЕТИНА С ГИДРОКСИПРОПИЛ-В-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ Бакунович А. А., Островский А. А., Мороз В. Л., Буко В. У.</p>	10
<p>РОЛЬ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И.М. СЕЧЕНОВА В ИЗУЧЕНИИ ТРАНСПОРТА ГАЗОВ КРОВЬЮ Балбатун О. А., Емельянчик Ю. М., Орехов С. Д., Глуткин С. В.</p>	12
<p>ВВЕДЕНИЕ РЕСВЕРАТРОЛА БЕРЕМЕННЫМ КРЫСАМ НА ФОНЕ СТРЕССА МОДУЛИРУЕТ ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СОДЕРЖАНИЕ НИТРАТОВ/НИТРИТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ИХ ПОЛОВОЗРЕЛОГО ПОТОМСТВА Беляева Л. Е., Павлюкевич А. Н., Шемет Ю. Н.</p>	14
<p>ЭФФЕКТ ОЗОНА НА МЕХАНИЗМЫ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА КРОВЬЮ Билецкая Е. С., Гурло Н. А., Тоистева Д. А.</p>	17
<p>ПРЯМЫЕ ЭФФЕКТЫ ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ Богодвид Т. Х., Андрианов В. В., Головченко А. Н., Дерябина И. Б., Муранова Л. Н., Гайнутдинов Х. Л.</p>	19
<p>РОЛЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В ОКИСЛИТЕЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МОЗГА МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА Бондарюк Е. В., Кречак В. В., Лавринович Е. Е., Фан Мин Гианг, Нгуен Ман Куонг</p>	20

ГЕПАТОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ БЕТУЛИНА ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ У КРЫС

Буко В.У., Кузьмицкая И. А., Кирко С. Н., Белоновская Е. Б., Нарута Е. Е., Лукивская О. Я., Шляхтун А. Г., Ильич Т. В., Заводник И. Б.23

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИНТРАТЕСТИКУЛЯРНОГО КРОВОТОКА ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОЙ АТЕНЗИОННОЙ ГЕРНИОПЛАСТИКИ

Визгалов С. А., Сугоняко Ю. В., Поплавская Е. А., Смотрин С. М.25

ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ДЕТЕЙ С ПИЕЛОНЕФРИТАМИ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Вильчук К. У.27

ЗНАЧИМОСТЬ АКТИВНОСТИ L-АРГИНИН-НО СИСТЕМЫ И ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МЕХАНИЗМЕ АНТИПИРЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МОЧЕВИНЫ В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ

Висмонт А. Ф., Жадан С. А., Висмонт Ф. И.29

ОБ УЧАСТИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ И L-АРГИНИН-НО СИСТЕМЫ В ПРОЦЕССАХ ДЕТОКСИКАЦИИ И РАЗВИТИИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Висмонт Ф. И., Лобанова В. В.31

ОБ УЧАСТИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ В ИЗМЕНЕНИЯХ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА, АКТИВНОСТИ L-АРГИНИН-НО СИСТЕМЫ, ПРОЦЕССОВ ДЕТОКСИКАЦИИ И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ

Висмонт Ф. И., Зенькович В. В., Висмонт А. Ф.33

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ОКСИДА АЗОТА В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО И ГЕМОМРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА: ЭПР ИССЛЕДОВАНИЕ

Гайнутдинов Х. Л., Досина М. О., Яфарова Г. Г., Пашкевич С. Г., Андрианов В. В., Богодвид Т. Х., Июдин В. С., Стукач Ю. П., Замаро А. С., Кульчицкий В. А.35

ИЗМЕНЕНИЕ ДЗЕТА-ПОТЕНЦИАЛА АЛЬБУМИНА В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ ОБЛУЧЕНИЕМ КАК МОДЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

Галкина П. А., Проскурнин М. А., Проскурнина Е. В.37

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС В ПАТОГЕНЕЗЕ ПАРАНОИДНОЙ ШИЗОФРЕНИИ И ДЕМЕНЦИИ ТИПА АЛЬЦГЕЙМЕРА

Гришина Н. К., Ханнанова А. Н., Смирнова Е. А., Долгушин Г. О., Зайцевская С. А., Созарукова М. М., Проскурнина Е. В.39

ОДНОСТОРОННЯЯ ИШЕМИЯ ЗОНЫ КАРОТИДНЫХ ТЕЛЕЦ У КРЫС ПРИВОДИТ К РАЗВИТИЮ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И ИЗМЕНЯЕТ АКТИВНОСТЬ СИМПАТИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ Давыдова М. П., Марков М. А., Тесаков И. П., Сафарова Н. Б.....	40
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ENOS У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА Давыдчик Э. В., Снежицкий В. А., Степура Т. Л.	42
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГОВ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С СИГАРЕТНЫМ ДЫМОМ Девина Е. А., Таганович А. Д.....	44
ОСОБЕННОСТИ СРОДСТВА ГЕМОГЛОБИНА К КИСЛОРОДУ У ПАЦИЕНТОВ СО СТЕНОКАРДИЕЙ И ИНФАРКТОМ МИОКАРДА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА Добродей М. А.....	46
ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ Дорохин К. М., Лыщик В. Т., Орехов С. Д., Прут С. В., Дорохина Л. В.....	48
ГЕМИЧЕСКИЙ КОМПОНЕНТ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ И МНОЖЕСТВЕННОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ СОСУДОВ Дорохин К. М., Бекиш А. Е., Орехов С. Д., Авдевич Э. М.	51
АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ДЕЙСТВИЯ ДОНОРОВ ИЛИ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ МОНООКСИДА АЗОТА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИШЕМИИ МОЗГА Досина М. О., Денисов А. А., Пашкевич С. Г., Адрианов В. В., Гайнутдинов Х. Л.	53
КОРРЕКЦИЯ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ ПРИ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ Глуткин С. В., Гуляй И. Э., Сезнев И. Г., Балбатун О. А.....	55
ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МИОКАРДЕ, С УРОВНЕМ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ В КРОВИ И ЭКСПРЕССИЕЙ РАННИХ ГЕНОВ В МИОКАРДЕ ПРИ СТРЕССЕ У ГИПОТИРЕОИДНЫХ ЖИВОТНЫХ Евдокимова О. В.....	57
КИСЛОРОДНЫЙ ГОМЕОСТАЗ С УЧЕТОМ ПОЛИМОРФИЗМА G894T ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА Жадько Д. Д., Конон И. Т.	59

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИФЕНОЛЫ И ИХ КОМПЛЕКСЫ С В-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ ПРЕДОТВРАЩАЮТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ МИТОХОНДРИЙ И ЭРИТРОЦИТОВ: ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ Заводник И. Б., Лапшина Е. А., Ильич Т. В., Вейко А. Г., Коваленя Т. А., Буко В. У.	61
КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ РЕПЕРFUЗИОННО- РЕОКСИГЕНАЦИОННОГО СИНДРОМА ПОСЛЕ ДЕЗОБЛИТЕРАЦИИ БЕДРЕННОЙ АРТЕРИИ Засимович В. Н., Иоскевич Н. Н.	63
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОРГАНИЗМА Зинчук В. В.	65
ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БАЛАНСА ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИММУНОСУПРЕССОРОВ IN VITRO И IN VIVO Зыблев С. Л., Петренко Т. С., Зыблева С. В.	68
ПРО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС И ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПЕРЕСАДКИ ПОЧКИ Зыблева С. В., Зыблев С. Л., Петренко Т. С.	70
КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ И ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ СОСТОЯНИЕ КРОВИ ПРИ КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА Иоскевич Н. Н.	72
ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У КРЫС-ОТЪЕМЫШЕЙ ПРИ АЛИМЕНТАРНОМ ДИСБАЛАНСЕ Исаев В. А., Елеусизова А. Т.	74
КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНЬЮ Карпович О. А., Шишко В. И., Шульга Е. В.	76
УРОВЕНЬ МЕЛАТОНИНА И КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНЬЮ, АССОЦИИРОВАННОЙ С СИНДРОМОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ/ГИПОПНОЭ СНА Карпович О. А., Шишко В. И., Шульга Е. В.	78
ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В СТЕНКЕ СЕРДЦА ПРИ 24-ЧАСОВОМ ПОДПЕЧЕНОЧНОМ ОБТУРАЦИОННОМ ХОЛЕСТАЗЕ Кизюкевич И. Л., Гуляй И. Э., Кизюкевич Д. Л., Кизюкевич Л. С.	80

ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ПОЛ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ 24-ЧАСОВОМ ПОДПЕЧЕНОЧНОМ ОБТУРАЦИОННОМ ХОЛЕСТАЗЕ Кизюкевич Л. С., Мармыш В. Г., Кизюкевич И. Л., Кизюкевич Д. Л., Шелудько С. М., Шелесный А. И., Хведынич С. Н., Погудо А. С.	82
ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИИАЦИИ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА G5665T ГЕНА ЭНДОТЕЛИНА-1 С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ И ПАРАМЕТРАМИ ЖЕСТКОСТИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА Киндалева О. Г., Степура Т. Л., Шулика В. Р, Пронько Т. П.	84
МОБИЛЬНАЯ ТЕЛЕМЕТРИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ O ₂ В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ В ПРОЦЕССЕ ДЫХАТЕЛЬНОГО ЦИКЛА Кисляков Ю. Я., Кислякова Л. П., Зайцева А. Ю.	86
СРАВНЕНИЕ РОЛИ ПРОСТАЦИКЛИНА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ГИПЕРПОЛЯРИЗУЮЩЕГО ФАКТОРА В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЭНДОТЕЛИЙ-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ КОРОНАРНОГО КРОВОТОКА В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО NO Козловский В. И. ¹ , Хлопицкий С. ²	88
ОЦЕНКА ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ БЕЛКОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В РАЦИОНЕ ПИТАНИЯ СМЕСИ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК Кондрашова С. Б.	91
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ЭКСТРЕННОЙ РЕНТГЕНЭНДОВАСКУЛЯРНОЙ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА Константинова Е. Э., Цапаева Н. Л., Миронова Е. В.	93
БЕСПРОВОДНЫЕ УСТРОЙСТВА ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКСИГЕНАЦИИ КРОВИ В ПАТЕНТАХ СТРАН МИРОВОГО СООБЩЕСТВА Королёв П. М.	95
НАНОСТРУКТУРИРОВАНИЕ КАК ПУТЬ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА Костюк В. А., Потапович А. И., Сухан Т. О., Шутова Т. Г.	97

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАРУШЕНИЙ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ Кухарчик Ю. В., Гутикова Л. В., Колесникова Т. А.	99
РОЛЬ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ У КРЫС, АДАПТИРОВАННЫХ К СТРЕССУ Лазуко С. С.	101
ЛОКАЛЬНЫЙ ОКСИДАТИВНЫЙ СТАТУС ЯИЧНИКОВ У ПАЦИЕНТОК С ЭНДОМЕТРИОИДНЫМИ КИСТАМИ Ларин К. В., Бугеренко К. А., Щербакова Л. Н., Панина О. Б., Проскурнина Е. В.	103
ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СИСТЕМЫ В КРОВИ И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ КОРРЕКЦИИ ПРЕРЫВИСТОЙ МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ Лелевич В. В., Виницкая А. Г.	105
МАГНИТНОЕ ПОЛЕ И МЕХАНИЗМЫ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА КРОВЬЮ Лепеев В. О., Зверко Э. В.	107
РЕЦЕПЦИЯ СОСТОЯНИЯ ГИПЕРГЛИКЕМИИ И ГИПЕРНАТРИЕМИИ КИШЕЧНЫМИ И ПОЧЕЧНЫМИ АФФЕРЕНТАМИ Люзина К. М., Ясюченя Р. Н., Чумак А. Г.	109
РОЛЬ NO В РАЗВИТИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У КРЫС С РЕПЕРФУЗИОННЫМ СИНДРОМОМ ПОСЛЕ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА Максимович Н. Е.	111
ИЗМЕНЕНИЯ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ И ВВЕДЕНИЯ L-NAME Максимович Н. Е., Бонь Е. И.	113
ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ У ДЕТЕЙ С ВЫСОКИМ НОРМАЛЬНЫМ АРТЕРИАЛЬНЫМ ДАВЛЕНИЕМ Максимович Н. А.	115
ИШЕМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ТОНКОМ КИШЕЧНИКЕ ЖИВОТНЫХ ПРИ ЭНТЕРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ Малашко В. В., Бозер В. Т., Малашко Д. В., Кулеш И. В.	117
СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЗАДНЕЙ СТЕНКЕ ГЛАЗА СПУСТЯ 5 СУТОК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОДПЕЧЕНОЧНОЙ ОБТУРАЦИОННОЙ ЖЕЛТУХИ Мармыш В. Г., Гуляй И. Э., Кизюкевич Л. С.	119

ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ Мартусевич А. А., Дерюгина А. В., Мартусевич А. К.	121
КРИСТАЛЛОСКОПИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОЗОНОТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ Мартусевич А.К., Перетягин С. П., Ковалева Л. К., Стручков А. А., Чернышов С. Н.	123
ВЛИЯНИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА СОСТОЯНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ Мартусевич А. К., Соловьева А. Г., Давыдюк А.	126
КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ УРОВНЕМ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ, ИНТЕНСИВНОСТЬЮ КАРИОЗНОГО ПОРАЖЕНИЯ ЗУБОВ И АКТИВНОСТЬЮ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В СЛЮНЕ КРЫС Масюк Н. Ю., Городецкая И. В.	128
ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ИСТОЧНИКИ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ В СПЕРМАТОЗОИДАХ ПРИ ПАТОСПЕРМИИ Мельников Н. А., Черных В. Б., Проскурнина Е. В.	131
ОПТИМИЗАЦИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У ЖЕНЩИН С ТОТАЛЬНОЙ ОВАРИЭКТОМИЕЙ Милош Т. С.	132
ПРОДУКЦИЯ ОКСИДА АЗОТА У ЖЕНЩИН С УДАЛЕННЫМИ ЯИЧНИКАМИ Милош Т. С., Гуляй И. Э.	135
ОПОСРЕДОВАННЫЙ КОФЕРМЕНТОМ А УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МЕХАНИЗМ РЕАЛИЗАЦИИ РЕДОКС-МОДУЛИРУЮЩЕГО И АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТКИ Мойсеёнок А. Г.	137
РЕДОКС-МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ Мойсеёнок ¹ А. Г., Канунникова ² Н. П.	140
КИСЛОРОДОБУСЛОВЛЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНЫМИ АНЕВРИЗМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ЭПИЛЕПТИЧЕСКИМИ ПРИСТУПАМИ Нечипуренко Н. И., Сидорович Р. Р., Пашковская И. Д., Василевская Л. А., Змачинская О. Л.	142
АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПЛАСТОХИНОНА И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ Осочук С. С., Борисова-Мубаракшина М. М., Орехова Н. И.	144

ФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И СОДЕРЖАНИЕ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ВНЕГОСПИТАЛЬНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ Парфёнова И. В., Максимович Н. А.	146
ОСОБЕННОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ РАЗРЫВЕ АРТЕРИАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМ ГОЛОВНОГО МОЗГА Пашковская И. Д., Новицкая Т. А., Нечипуренко Н. И.	148
ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГРЯЗЕРАЗВОДНЫХ ВАНН Пирогова Л. А., Болбатовский Г. Н., Тюненкова Е. В.	150
ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ, ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ И ПРООКСИДАНТНО- АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ Полуян И. А.	153
ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА G681A ГЕНА СУР2С19 НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛОПИДОГРЕЛА У ПАЦИЕНТОВ СТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИИ НАПРЯЖЕНИЯ, ПОДВЕРГШИХСЯ ПРОЦЕДУРЕ ПЛАНОВОГО ЧРЕСКОЖНОГО КОРОНАРНОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА Пронько Т. П., Степура Т. Л., Снежицкий В. А., Ускова И. В., Дольник И. А.	155
УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ТРОМБОЦИТАРНОМ КОНЦЕНТРАТЕ КАК СПОСОБ ОЦЕНКИ ЕГО КАЧЕСТВА Рахманкулова З. К., Абрамов В. Ю., Проскурнина Е. В.	157
ВОВЛЕЧЕНИЕ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВОЙ СИСТЕМЫ (РААС) В СТИМУЛЯЦИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА Родионов Ю. Я.	159
АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ КОНТРОЛЯ РАВНОВЕСИЯ У ПАЦИЕНТОВ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ ИЗМЕНЕНИЯ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО КРОВОТОКА Рубахова В. М.	161
ВОЗБУДИМОСТЬ СПИНАЛЬНЫХ МОТОНЕЙРОНОВ КРЫСЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНГИБИТОРА СИНТАЗЫ МОНООКСИДА АЗОТА Руткевич С. А., Люзина К. М., Чумак А. Г.	163
АНТИ- И ПРООКСИДЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ В ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ ПРИ РАЗВИТИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА, ВЫЗВАННОГО ПРИСТАНОМ Свергун В. Т., Коваль А. Н., Грицук А. И., Громько М. В.	165

НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ D-ПАНТЕНОЛА ПРИ ИНИЦИАЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ТРЕТ-БУТИЛГИДРОПЕРОКСИДОМ <i>IN VITRO</i> Семенович Д. С.	166
ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ В ПЛАЗМЕ КРОВИ И СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ХЛОРИДА АЛЮМИНИЯ И КОРРЕКЦИИ ПРОИЗВОДНЫМИ ПАНТОТЕНОВОЙ КИСЛОТЫ Семенович Д. С., Лукиенко Е. П., Тарасюк О. А., Алнури Али Салман Шабиб, Титко О. В., Канунникова Н. П.	169
КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИНТЕРВАЛЬНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИТЕРАПИИ В НЕВРОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ Солкин А. А., Кузнецов В. И., Белявский Н. Н., Николаева А. Г.	171
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА Станько Д. Э., Борис О. В.	173
ВЛИЯНИЕ НОВЫХ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСНЫХ РЕДОКС-АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КРЫС К ОСТРОЙ ГИПОКСИИ Сурменёв Д. В., Евсеев А. В., Тишкова Я. В., Евсеева М. А.	175
ВЛИЯНИЕ ФЛАВОЛИГНАНОВ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ Сутько И. П., Шляхтун А. Г., Титко О. В., Янкевич Н. В., Телегин П. Г., Колодко А. В., Зверинская Н. Г., Зверинский И. В.	177
ЭКСПРЕССИЯ ШАПЕРОНОВ GRP 78 И GRP94 В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПЛАЦЕНТЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ <i>IN VITRO</i> И ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В СРЕДЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ Сухан Т. О., Костюк В. А., Потапович А. И., Сандаков Д. Б.	179
КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ СПОНТАННОГО ПНЕВМОТОРАКСА Сушко А. А., Иоскевич Н. Н.	181
АНТИОКСИДАНТНАЯ РОЛЬ МЕЛАТОНИНА И ЭРИТРОПОЭТИНА ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ Фираго М. Э., Сорока А. С.	184
ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА Халепо О. В., Молотков О. В.	186

ЭФФЕКТЫ РЕДОКС-АКТИВНЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕДИ (II) С ОРГАНИЧЕСКИМИ ЛИГАНДАМИ В КЛЕТКАХ МИЦЕЛИЯ ПАТОГЕНА <i>RHYTORHYNORA INFESTANS</i> Ходосовская А. М., Кивчун Е. В., Викторovich В. Н., Евтушенков А. Н., Корик Е. О., Горбацевич Г. И., Осипович Н. П., Ксендзова Г. А., Логинова Н. В.	188
ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ГИДРОСУЛЬФИДА НАТРИЯ Ходосовский М. Н., Зиматкин С. М.	190
СУПЕРОКСИДИСМУТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПИЩЕВОЙ ЖЕЛЕЗЕ (ПЕЧЕНИ) МОЛЛЮСКА <i>LUMNAEA STAGNALIS</i> ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОЙ ОСТРОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ Шаденко В. Н., Сидоров А.В.	192
КОРРЕКЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ АБСТИНЕНТНОМ СИНДРОМЕ Шалесная С.Я., Алещик А.Ю.	195
ПРООКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ: ОЦЕНКА МЕТОДОМ АКТИВИРОВАННОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ Шахова М. И., Порфирьев Д. В., Созарукова М. М., Проскурнина Е. В.	197
КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ ПРИ РАЗНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМАХ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ Шейфер Ю. А.	198
АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС Фолликулярной жидкости У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ, ПРОХОДЯЩИХ ПРОЦЕДУРУ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ, И ЕГО СВЯЗЬ С КАЧЕСТВОМ ЭМБРИОНА Шестакова М. А., Морозова Д. С., Рабаданова А. К., Созарукова М. М., Проскурнина Е. В.	201
ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НА АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ Шолух М. В., Бондарюк Е. В., Брилевская С. И.	202
СПЕКТРЫ ЯМР 31P КРОВИ КРЫС ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА Яфарова Г. Г., Юртаева С. В., Волков М. Ю., Силантьева Д. И., Ямалитдинова Э. И.	204
CHOLESTEROL LOWERING THERAPY AND LOW DENSITY LIPOPROTEIN PEROXIDATION DURING ATHEROSCLEROSIS Lankin V.Z., Tikhaze A.K.	206

Научное издание

КИСЛОРОД И СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

Сборник материалов
международной научно-практической конференции

15-16 мая 2018 года

Под редакцией профессора В. В. Зинчука

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Компьютерная верстка М. Я. Милевской

Корректор Л. С. Засельская

Подписано в печать 10.05.2018.

Тираж 60 экз. Заказ 57.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.