

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра нормальной физиологии

КИСЛОРОД И СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

Сборник материалов
научно-практической конференции с международным участием

26-27 мая 2022 года

Под редакцией профессора В. В. Зинчука

Гродно
ГрГМУ
2022

УДК 612.014.464:005.745(06)

ББК 28.707я431

К 44

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ (протокол № 11 от 11.05.2022).

Редакционная коллегия:

ректор ГрГМУ, д-р мед. наук, проф. И. Г. Жук;
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. фармакологии им. проф. М. В. Кораблева ГрГМУ, д-р биол. наук, доц. В. И. Козловский;
зав. каф. биологической химии ГрГМУ, д-р мед. наук, проф.
В. В. Лелевич.

Кислород и свободные радикалы : сборник материалов научно-практической конференции с международным участием, 26-27 мая 2022 г. / под ред. проф. В. В. Зинчука. – Гродно : ГрГМУ, 2022. – 217 с.
ISBN 978-985-595-695-3.

В сборнике представлены работы сотрудников научных и учебных учреждений Республики Беларусь и стран зарубежья по фундаментальной и клинической медицине: патогенез и коррекция гипоксических состояний; кислородное обеспечение организма и окислительный стресс; молекулярно-генетические аспекты системных механизмов транспорта кислорода. Представленные работы будут полезны широкому кругу научных сотрудников медико-биологического профиля и работников здравоохранения.

УДК 612.014.464:005.745(06)

ББК 28.707я431

ISBN 978-985-595-695-3

© ГрГМУ, 2022

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНОЙ L-АРГИНИН-NO-СИСТЕМЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РАЗНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ ПАРЦИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ КИСЛОРОДА

Акулич Н. В.¹, Зинчук В. В.²

¹Национальная антидопинговая лаборатория, а/г Лесной, Беларусь

²Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Гипоксия – состояние, которое характеризуется дефицитом кислорода в тканях, возникающее вследствие недостаточности системы внешнего дыхания и/или кислородтранспортной функции крови. В изучении механизмов адаптации к гипоксическим состояниям в последнее время активно исследуется роль газотрансмиттера монооксида азота (NO) [1]. В большинстве работ используются экспериментальные модели гипоксии на уровне целого организма. Так в ряде работ содержатся сведения, касающиеся участия L-аргинин NO-системы эритроцитов в поддержании гомеостаза и адаптации к гипоксии [1-3]. Для изучения клеточных и молекулярных механизмов возникающих изменений требуется проведение исследований на уровне отдельных клеток.

В качестве объекта для изучения эффектов гипоксии *in vitro* могут быть выбраны эритроциты (RBC) периферической крови млекопитающих, основная функция которых заключается в транспорте газов [2]. Представляется важным уточнить динамику образования и потребления NO при разных значениях парциального давления кислорода.

Методы исследования. Исследования проводилось на базе Учреждения здравоохранения «Национальная антидопинговая лаборатория». Для создания различных значений содержания кислорода в атмосфере (1, 4, 7 и 12% O₂) использовали перчаточный бокс. Для оценки L-аргинин-NO-системы эритроцитов в суспензию клеток вносили молсидомин и неселективный ингибитор фермента NO-синтазы L-NAME. Контролем служила кровь без добавления донора NO или ингибитора фермента NO-синтазы. Определения внутриклеточного NO проводили методом проточной цитометрии (FACS ARIA) и спектрофлуориметрии (Biotek, Synergy H1) с использованием диацетильного производного 4-амино-5-метиламино-2',7'-дифторфлуоресцеина (DAF-FM DA) (Molecular Probes). Уровень внутриклеточного содержания NO коррелирует с флуоресценцией DAF-FM. Оценку нитритов проводили с использованием Measure-iT™ High-Sensitivity Nitrite Assay Kit (Molecular Probes). Количественный анализ проводили после калибровки при титровании 11 мМ нитрита натрия. Оценку флуоресценции набора проводили при возбуждении с длиной волны 365 нм, эмиссия регистрировалась на длине волны 450 нм.

Полученные данные были проанализированы при помощи корреляционного и многофакторного дисперсионного анализа.

Результаты и их обсуждение. Анализ уровня NO суспензии эритроцитов, измеренный по интенсивности флуоресценции DAF-FM, без внесения доноров и ингибиторов NO (группа контроля) показал, что величина NO зависит как от содержания кислорода, так и от времени инкубации. Так, начиная с 30-ой мин инкубации зафиксирован рост содержания NO в эритроцитах.

Применение модельных газовых смесей по-разному влияло на содержание газотрансмиттера. В частности, инкубация крови в условиях 12%-ного содержания кислорода в перчаточном боксе сопровождалась достоверным ростом NO через 60 и 90 мин наблюдения. 30-минутная инкубация не вызывала изменений флуоресценции DAF-FM.

Инкубация крови в условиях 7%-ного содержания кислорода в атмосфере привела практически к 10-кратному (со $201,4 \pm 24,1$ до $1235,6 \pm 113,6$ и $1323,0 \pm 116,4$ о.е.) повышению интенсивности флуоресценции DAF-FM эритроцитов через 30 и 60 мин и 20-кратному ($2261,12 \pm 197,0$) – через 90 мин инкубации соответственно.

При 4%-ном содержании кислорода в эритроцитах группы контроля также зарегистрирован статистически значимый прирост содержания NO в клетках. Интенсивность DAF-FM эритроцитов на 30-й, 60-й и 90-й мин составляла $612,3 \pm 34,4$; $1330,3 \pm 53,6$ и $2288,8 \pm 110,9$ о.е. соответственно.

Такой характер изменений указывает на фоновую активность NO-синтезирующих ферментов в эритроцитах периферической крови, накоплении NO-производных гемоглобина в красных кровяных тельцах в условиях нормоксии. Это подтверждается значительным ростом флуоресценции внутриклеточного зонда при использовании молсидомина (см. далее) в условиях нормоксии *in vitro*.

Содержание нитритов также имело зависимость от содержания кислорода и времени инкубации. Начиная с 30-ой минуты инкубации содержание нитритов снижалось с $12,6 \pm 1,1$ μM до $11,2 \pm 0,7$ μM ($p < 0,05$). В условиях 7%-го содержания кислорода в атмосфере привела практически к снижению содержания нитритов до $8,2 \pm 0,5$ μM ($p < 0,05$), при 4%-ном содержании кислорода до $6,7 \pm 0,6$ μM ($p < 0,05$). Наименьшее содержание O₂ в газовой среде сопровождалось более выраженным снижением количества нитритов: $4,5 \pm 0,1$ μM ($p < 0,05$).

Донор NO молсидомина вызывал рост флуоресценции DAF-FM в зависимости от всех выбранных нами концентраций кислорода газовой среды. Следует отметить, что наибольший рост флуоресценции зонда отмечался при 1- и 7%-ных концентрациях O₂ на 90-й мин наблюдения, а наименьший – при 4%-ном концентрации кислорода в газовой смеси.

К особенностям, выявленным в ходе наблюдения, следует отнести прямо пропорциональную зависимость флуоресценции DAF-FM от времени наблюдения, а также нелинейный характер зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации кислорода в газовой смеси.

Добавление ингибитора NO L-NAME в пробы крови приводило к росту флуоресценции DAF-FM эритроцитов, которая в большей степени зависела от времени наблюдения, чем от инкубации. В абсолютных значениях интенсивность флуоресценции зонда не превышала значения, которые были зарегистрированы в контрольной группе за исключением проб, находившихся в условиях 1%-ного содержания кислорода в атмосфере. В последнем случае содержание NO составляло $736,5 \pm 54,1$, $1260,5 \pm 129,3$ и $1830,3 \pm 92,8$ о.е. на 30-й, 60- и 90-й мин соответственно. Сопоставимые значения флуоресценции отмечались при моделировании гипоксии на уровне 7% кислорода газовой среды.

В ходе проведенного исследования установлено, что в условиях нормоксии *in vitro* при кинетических исследованиях внутриклеточного содержания NO методом проточной цитометрии выявлен феномен спонтанного роста флуоресценции внутриклеточного зонда, который блокировался предварительным введением ингибитора фермента NO-синтазы. Оценка флуоресценции DAF-FM эритроцитов в условиях гипоксии, проведенная на планшетном спектрофлуориметре, выявила зависимость флуоресценции DAF-FM и от содержания кислорода, и от времени инкубации.

Аппликация донора NO и введение неселективного ингибитора фермента NO-синтазы L-NAME при изучении функционирования L-аргинин-NO-системы эритроцитов в условиях различного парциального давления кислорода выявила изменения внутриклеточного NO и при 1%, и при 12% содержании кислорода.

Выявлена обратно пропорциональная зависимость между парциальным давлением кислорода и уровнем нитритов плазмы. Вероятно это связано с их восстановлением дезоксигемоглобином в анаэробных условиях.

Выводы. На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Парциальное давление кислорода и экспозиция воздействия гипо-/гипероксических экспериментальных газовых смесей влияет на внутриклеточное содержание NO эритроцитов.

2. При гипоксии L-аргинин-NO-система красных кровяных телец сохраняет свою активность.

3. Содержание нитритов плазмы зависит от парциального давления кислорода.

ЛИТЕРАТУРА

1. D'Alessandro A., Xia Y. Erythrocyte adaptive metabolic reprogramming under physiological and pathological hypoxia // *Curr. Opin. Hematol.* – 2020. – Т. 27, № 3. – С. 155–162.
2. Gladwin M.T. How Red Blood Cells Process Nitric Oxide // *Circulation.* – 2017. – Vol. 135, № 2. – P. 177–179.
3. Zhao Y., Wang X., Noviana M. et al. Nitric oxide in red blood cell adaptation to hypoxia // *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai).* – 2018. – Vol. 50, № 7. – P. 621–634.

ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ МОНООКСИД АЗОТА И СЕРОВОДОРОДА У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ АСПРОСИНА

Аль-Джебур Джаафар Шати Оваид

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

Введение. Адипокины, являясь эндогенными активными медиаторами воспаления, секретлируемыми висцеральными адипоцитами, регулируют межклеточные и межсистемные взаимодействия, определяют выживаемость клеток, стимуляцию или подавление их роста, дифференциацию, функциональную активность клеток и процессы их апоптоза, обеспечивают согласованность действия иммунной, эндокринной и нервной систем в ответ на различные воздействия [6]. Эти вещества участвуют в регуляции сигнального пути L-аргинин-NO-системы [3], влияя на экспрессию и активность эндотелиальной NO-синтазы, что имеет значение для формирования определенного уровня метаболических процессов. Показано значение адипокинов, а именно лептина, для процессов транспорта кислорода кровью у пациентов с инфарктом миокарда в сочетании с метаболическим синдромом как за счет прямого действия (механизмы внешнего дыхания, кровообращение, L-аргинин-NO-система, энергетика), так и опосредованно через модификацию кислородтранспортной функции крови (гемопоез) [5].

Газотрансмиттеры монооксид азота и сероводорода, синергически взаимодействуя друг друга, вовлечены во внутри- и межклеточную коммуникацию с высокой специфичностью во многих клетках, тканях и органах, обеспечивая через центральные и периферические механизмы регуляции процессов транспорта кислорода кровью [2]. В связи с этим, можно предположить вклад и других адипокинов в данные процессы, в частности, аспросина.

Цель. Оценка содержания газотрансмиттеров монооксид азота и сероводорода у лиц с различным содержанием аспросина.

Методы исследования. Объектом исследования были мужчины в возрасте 30-60 лет с различной массой тела. Проведение данного исследования одобрено Регионарным этическим комитетом. Интерпретация индекса массы тела осуществлялась по рекомендациям Всемирной организации здравоохранения. В полученных образцах цельной крови определяли аспросин методом иммуноферментного анализа при помощи тест-системы ELISA Kit For Asprosin (Biobase, China). Концентрация нитрат/нитритов в плазме определялась с помощью реактива Грисса, сероводорода (H₂S) – спектрофотометрическим методом на реакции между сульфид-анионом и раствором N,N-диметил-парафенилендиамина солянокислого в присутствии хлорного железа.

Статистическая обработка цифровых данных произведена с использованием программы Statistica. Нормальность распределения полученных результатов оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Результаты считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Содержание аспросина в крови лиц с нормальным индексом массы тела составило 8,6 (8,00; 9,20) пмоль/л $p < 0,05$. У исследуемых с более высоким индексом массы тела его содержание имело значение 13,225 (11,85; 15,65) пмоль/л, $p < 0,05$, а у лиц с избыточной массой тела – величина была равной 29,86 (28,16; 32,83) пмоль/л, $p < 0,05$. Были получены данные об увеличении концентрации монооксида азота и снижении сероводорода в крови при у лиц с избыточной массой тела и с высоким уровнем аспросина. У лиц с нормальным и высоким индексом массы тела (а также с меньшим содержанием аспросина) достоверных различий в содержании данных газотрансмиттеров не выявлено.

Висцеральную жировую ткань рассматривают как интегральное связующее звено между формированием метаболических нарушений и сердечно-сосудистыми заболеваниями, демонстрируя, что адипокиновый дисбаланс в большой степени сопряжен с повышенным риском развития кардиометаболических заболеваний и их осложнений [6]. Возможно, влияние данного гормона не только на функциональное состояние организма, но и на кислородное обеспечение, в частности, механизмы транспорта кислорода крови.

Относительно недавно установлено, что газотрансмиттеры эндогенно синтезируются клетками организма и являются сигнальными молекулами, выполняющими как аутокринную, так и паракринную регуляцию во многих тканях и органах, участвуя в регуляции кровообращения, включая сосудистый компонент, а также и текущую по сосудам кровь, управляя ее текучестью и транспортным потенциалом, особенно, эритроцитов [4]. Модификация гемоглобина за счет взаимодействия с газотрансмиттерами участвует в формировании оптимального кислородного режима, внутриэритроцитарной системы регуляции кислородсвязывающих свойств крови наряду с рН, 2,3-дифосфоглицератом [2].

Состояние системы микроциркуляции зависит как от статуса сосуда, так и от реологических свойств крови, свойств мембраны эритроцитов, функциональных свойств гемоглобина, что может приводить к последствиям проявляющихся нарушением микроциркуляции и, как следствие, изменением метаболизма и функций органов и тканей [1]. Эффекты газомедиаторов могут быть опосредованы их взаимодействием друг с другом, осуществляемое как на уровне регуляции ферментов синтеза, так и мишеней их действия: сероводород может ингибировать активность ферментов, синтезирующих NO – эндотелиальный фактор расслабления стенок сосудов, а донор NO (нитропруссид натрия), усиливать экспрессию цистатионин- γ -лиазы и цистатионин- β -синтазы [7]. Система газотрансмиттеров оказывает модулирующее действие на кислородтранспортную функцию крови при различных условиях кислородного обеспечения, сопровождающихся развитием гипоксии [2]. Эти эффекты реализуется через различные уровни регуляции эритроцитарных и системных механизмов.

Пересечение на тех или иных уровнях NO- и H₂S-зависимых сигнальных каскадов может приводить как к взаимному активированию, так и к ингибированию этих сигнальных систем, в результате чего может быть

вариативность физиологических реакций со стороны отдельных клеток, органов и систем. Выявленные в нашем исследовании изменения концентрации газотрансмиттеров у лиц с различным содержанием аспросина может быть связано с дисбалансом синтеза различных гормонов жировой ткани (адипокинов).

Выводы. Таким образом, на основании проведенных исследований установлено, что у лиц с высоким содержанием аспросина отмечается увеличение концентрации монооксида азота и снижение сероводорода, что может иметь значение для обеспечения процессов переноса кислорода к тканям, развития метаболических нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голубева М.Г. Стрессогенные нарушения эритроцитов и их коррекция с помощью регуляторных пептидов // Успехи физиологических наук. – 2018. – Т. 49, № 1. – С. 3–10.
2. Зинчук В.В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород // Успехи физиологических наук. – 2021. – Т. 52, № 3. – С. 41–55.
3. Кузнецова Л.А. Метаболический синдром: влияние адипокинов на L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальный путь // Acta Biomedica Scientifica. – 2021. – Vol. 6, № 2. – С. 22–40.
4. Муравьев А.В. Роль газовых медиаторов (CO, NO и H₂S) в регуляции кровообращения: анализ участия микрореологии клеток крови // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20, № 1. – С. 91–99.
5. Пырочкин В.М., Глуткина Н.В. Механизмы транспорта кислорода и свободнорадикального окисления липидов при инфаркте миокарда в сочетании с метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2-го типа. – М.: Новое знание, 2014. – 136 с.
6. Рагино Ю.И., Щербакова Л.В., Облаухова В.И. др. Адипокины крови у молодых людей с ранней ишемической болезнью сердца на фоне абдоминального ожирения // Кардиология. – 2021. – Т. 6, № 4. – С. 32–38.
7. Тихомирова И.А., Петроченко Е.П., Петроченко А.С. Сероводород как сигнальная молекула в сердечно-сосудистой системе // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20, № 1. – С. 5–16.

МНОГОФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ПЕРЕМЕННЫХ СРЕДЫ НА ОБМЕН ВЕЩЕСТВ ЛЕГОЧНЫХ ПРЕСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ

Балаева-Тихомирова О. М.

Витебский государственный университет имени П. М. Машерова, Витебск, Беларусь

Введение. Аллостаз является адаптивным механизмом, при котором стабильность организма достигается посредством физиологических, поведенческих изменений в меняющихся условиях окружающей среды. Данный процесс у животных контролирует внутреннюю жизнеспособность,

приспосабливаясь к предсказуемым и непредсказуемым изменениям, создает хронические реакции. Хроническая активация реакции на стресс при воздействиях внешних факторов среды обитания нарушает гомеостаз системы и создает перенапряжение физиологической системы. Перегрузка аллостазом может быть измерена химическим дисбалансом в вегетативной нервной системе, центральной нервной системе, нейроэндокринной и иммунной системах [1]. Любые воздействия окружающей среды вызывают стандартную стресс-реакцию. При кратковременном воздействии стрессов умеренной интенсивности происходит усиление функционирования органов и мобилизация организма. При интенсивной или длительной стресс-реакции в клетках происходит активация процесса свободно-радикального окисления, внутриклеточная кальциевая перегрузка, угнетение энергопродукции, снижение синтеза белка и денатурация белковых структур. Одними из перспективных объектов для биологического мониторинга являются водные моллюски (*Pl. corneus* и *L. stagnalis*), которые быстро реагируют на изменения окружающей среды, вызываемые как естественными, так и антропогенными факторами. В настоящее время возросла необходимость оценки влияния различных факторов окружающей среды на жизнеспособность организма.

Цель. Оценка влияния физико-химических показателей воды и почвы на биохимические показатели моллюсков используя многофакторный анализ.

Методы исследования. Материалом исследования были почва прибрежной зоны, вода и легочные пресноводные моллюски из 5 водоемов Витебской области, которые отбирались 27 раз из каждого водоема, в течение 3-х сезонов (весна-лето-осень) 2019-2021 годов, по 9 проб в сезон. Общее количество исследований для каждого показателя составляет 135 проб. Исследовались основные диагностические показатели состояния почвы и воды. Спектрофотометрическими и титрометрическими методами были определены 21 показатель среды обитания: в воде 11 показателей (ионы Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , NH_4^+ , Ca^{2+}), карбонатная жесткость, общая жесткость, сульфат-ионы (SO_4^{2-}), pH; в почве концентрации ионов (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+}) и активность ферментов (каталазы, уреазы, протеазы). У моллюсков *L. stagnalis* и *P. corneus* определялись спектрофотометрическими методами 27 показателей: содержание общего белка, мочевой кислоты, мочевины, глюкозы), общего холестерина, холестерина липопротеинов высокой плотности, триглицеридов, а также активности супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, аланин-аминотрансферазы, аспартат-аминотрансферазы, гамма-глутамилтрансферазы. В гепатопанкреасе определяли 14 показателей обмена веществ: содержание общего белка, ДНК, РНК, гликогена, восстановленного глутатиона, ТБК-позитивных веществ, а также активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы, аланин-аминотрансферазы, аспартат-аминотрансферазы и лактатдегидрогеназы. В 5 обследованных водоемов Витебской области в течение 3-х сезонов были определены 315 показателей переменных среды обитания и 810 показателей метаболизма у двух видов моллюсков. Общая база составила 2 835 для показателей окружающей среды и

7 290 – для обмена веществ *L. stagnalis* и *P. corneus*. Анализы выполнены в статистической среде R (пакеты *vegan*, *labdsv* и *car*) [2].

Результаты и их обсуждение. Для выбора соответствующей модели, наиболее адекватно характеризующей отношение между биохимическими показателями моллюсков и физико-химическими показателями почвы и воды, был проведен разведочный анализ. Он включал проверку на выбросы, однородность дисперсии, на соответствие закону нормального распределения, мультиколлинеарность и отношение между зависимой и независимыми переменными. Следующим этапом разведочного анализа была проверка на нормальность распределения, так как это является необходимым условием для линейных регрессионных моделей. Для проверки соответствия зависимой переменной закону нормального распределения использовался тест Шапиро-Уилка. Для выявления переменных с высоким уровнем взаимной корреляции (мультиколлинеарность) был рассчитан фактор инфляции дисперсии (Variation Inflation Factors – VIF). Для устранения этой проблемы одна или более переменных, между которыми выявлена зависимость, исключаются из анализа. В частности, в случае $VIF > 5$ (высокая корреляция), переменные должны быть исключены из анализа. При построении модели с несколькими независимыми переменными следует выяснить тип взаимосвязи каждой из них с зависимой переменной отклика, так как многие статистические анализы требуют линейных связей. Для визуализации данных взаимосвязей использованы диаграммы рассеяния [3]. В ходе разведочного анализа данных выявлено несоответствие зависимых переменных закону нормального распределения, нелинейные отношения между зависимыми и независимыми переменными, а также мультиколлинеарность отдельных независимых переменных. Это обусловило выбор обобщенной модели множественной регрессии (Generalized Linear Models – GLM) с распределением Пуассона (Poisson distribution).

Для оценки влияния физико-химических показателей воды и почвы на биохимические показатели моллюсков, применен регрессионный анализ (обобщенная модель множественной регрессии Generalized Linear Models – GLM) с распределением Пуассона (Poisson distribution). В целях избегания мультиколлинеарности объясняющих переменных был рассчитан фактор инфляции дисперсии (variation inflation factors – VIF), который позволил выявить те из них, которые обладают высокой взаимной корреляцией. В случае $VIF > 5$, переменные исключены из анализа [2]. Переменными, использованными в моделях, были содержание ионов тяжелых металлов и активность ферментов в почве прибрежной зоны водоемов, а также физико-химические характеристики воды. Модель наилучшим образом, описывающую выявленные зависимости, выбирали методом пошагового исключения переменных, основываясь на значении информационного критерия Акаике (Akaike information criterion – AIC). Кроме того, была выполнена проверка на избыточную дисперсию (overdispersion), которая может исказить ход анализа. Если таковая была обнаружена, стандартная ошибка корректировалась выбором распределения квази-Пуассона (quasi-Poisson). Многофакторный анализ

переменных среды на обмен веществ легочных пресноводных моллюсков позволяет сделать выводы: 1. Липидный обмен – обнаружена положительная корреляционная зависимость содержания холестерина в гепатопанкреасе и отрицательная корреляционная зависимость уровня холестерина в гемолимфе от величины рН у обоих видов моллюсков. 2. Углеводный обмен – изучаемые факторы не оказали влияния на содержание глюкозы в гемолимфе, но содержание гликогена в гепатопанкреасе положительно коррелировало с цинком почвы у обоих видов моллюсков. 3. Белковый обмен – между содержанием цинка в почве и количеством общего белка в гемолимфе выявлена прямая зависимость, между активностью каталазы почвы и содержанием белка в гемолимфе – отрицательная зависимость у обоих видов моллюсков. 4. Активность ферментов – содержание цинка в почве прямо пропорционально активности АЛАТ гепатопанкреаса у обоих видов моллюсков. 5. Антиоксидантная система – содержание цинка в почве прямо пропорционально концентрации восстановленного глутатиона в гепатопанкреасе, а активность каталазы почвы и уровень рН обратно пропорциональны содержанию восстановленного глутатиона в гепатопанкреасе; снижение величины рН водной среды обитания и концентрации цинка в почве повышают активность каталазы и содержание малонового диальдегида гепатопанкреаса.

Выводы. Экологическое состояние поверхностных вод, оцененное с использованием обитающих в них легочных пресноводных моллюсков, определяется как минимум: величиной рН, содержанием железа, меди и цинка, активностью каталазы, а в гепатопанкреасе моллюсков – содержанием холестерина, гликогена, общего белка, восстановленного глутатиона, малонового диальдегида, активности АЛАТ. Многофакторный дисперсионный анализ ANOVA позволяет сделать выводы об экологическом состоянии водоемов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куприянов Р.В., Жданов Р.И. Стресс и аллостаз: проблемы, перспективы и взаимосвязь // Журнал высшей нервной деятельности. – Т. 4, № 1. – 2014. – С. 21–31.
2. Zuur A.F., Ieno E.N., Elphick C.S. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems // Methods. Ecol. Evol. – 2010. – Vol. 1. – P. 3–14.
3. Сушко Г. Г. Дисперсионный анализ с использованием программного обеспечения PAST 4.04 // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя П.М. Машэрава. – 2021. – № 1. – С. 64–73.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В ЭРИТРОЦИТАХ ИНДУЦИРОВАННЫЙ ОЗОНОМ

Билецкая Е. С., Шалесная С. Я, Володина А. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Эритроциты выполняют важную роль в развитии окислительного стресса, влияя на биодоступность монооксида азота (NO) [1]. Клетки крови продуцируют внутриклеточные активные формы кислорода (АФК) в основном за счет аутоокисления гемоглобина с последующим образованием метгемоглобина и супероксид-аниона, впоследствии дисмутирующих до пероксида водорода [2]. В связи с наличием высокоактивных оксидантов эритроциты хорошо оснащены антиоксидантными системами [3], в иерархии данных процессов особое место занимают газотрансмиттерные механизмы.

Воздействие озоном (O_3) на кровь приводит к образованию АФК, вызывая активацию процессов перекисного липидов клеточных мембран и способствует синтезу пероксида водорода [4]. Сероводород может предотвращать развитие окислительного стресса у мышей, которым вводили O_3 [5]. Другой газотрансмиттер NO также участвует в восстановлении окислительно-восстановительного баланса в условиях введения озона [6]. Ранее нами было показано, что инкубация крови с озонированным изотоническим раствором хлорида натрия приводит к увеличению содержания диеновых конъюгатов (ДК), малонового альдегида (МДА) и активности каталазы в эритроцитарной массе [7]. В связи с этим особый интерес вызывает изучение особенностей эритроцитарного ответа на действие озона при добавлении доноров газотрансмиттеров.

Цель. Оценить степень развития окислительного стресса, индуцированного озоном в эритроцитарной суспензии в опытах *in vitro*.

Методы исследования. Опыты были выполнены на суспензии эритроцитов. Исследование проводилось в соответствии рекомендациями комитета по биомедицинской этике и деонтологии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет».

Образцы крови ($n=10$) были разделены на 4 аликвоты по 1,2 мл, которые были получены, путём центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10 минут для разделения плазмы и эритроцитов, затем дважды промывали охлаждённым изотоническим раствором. К эритроцитарной массе добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объёме 1 мл (в контроль без озонирования) и 0,1 мл растворов, содержащих газотрансмиттеры (в 3-ю – нитроглицерин в конечной концентрации 0,05 ммоль/л, 4-ю – гидросульфид натрия в конечной концентрации 0,38 ммоль/л), в остальные группы – изотонический раствор хлорида натрия, после чего пробы перемешивались. Время инкубации составляло 60 мин. Изотонический раствор хлорида натрия барбатировался озono-кислородной смесью, которая создавалась озонотерапевтической установкой УОГА-60-01-Медозон (Россия).

Активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных – диеновые конъюгаты (ДК) и промежуточных – малоновый диальдегид (МДА) продуктов ПОЛ. Уровень ДК в эритроцитарной массе определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232-234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов. Оптическую плотность измеряли на спектрофлуориметре СМ 2203 «Солар» (Беларусь) при длине волны 233 нм по отношению к контролю. Содержание МДА оценивали по взаимодействию с 2-тиобарбитуровой кислотой, которая при высокой температуре в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически на спектрофотометре РV1251С «Солар» (Беларусь) при длине волны 540 нм по отношению к контролю. Активность каталазы оценивали по способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс при длине волны 410 нм на спектрофотометре РV1251С «Солар» (Беларусь).

Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом этого была использована непараметрическая статистика 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 квартильный размах. Уровень статистической значимости принимали за $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Содержание МДА в эритроцитарной суспензии при добавлении озона возрастает на 85% ($p < 0,05$), ДК на 77% ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой. Активность каталазы уменьшается на 44% ($p < 0,05$). Добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия приводит к увеличению активности фермента на 46 % ($p < 0,05$) и на 44% ($p < 0,05$) соответственно, в сравнении с группой эритроцитарная суспензия с добавлением озона. Значимых изменений показателей перекисного окисления липидов в данных группах не выявлено.

Постоянное воздействие на эритроциты множества различных оксидантов способствует формированию у них мощной системы внутриклеточной антиоксидантной защиты [2]. При нейтрализации АФК образуется пероксид водорода, что и приводит к возрастанию активности каталазы [8], однако в наших исследованиях активность фермента снизилась, данный факт свидетельствует о перегрузке антиокислительных механизмов. В мембранной фракции эритроцитов озон, как источник кислорода, реагирует с NO, приводя к образованию сильнодействующего окислителя пероксинитрита [9]. Последующее окисление метгемоглобина пероксинитритом может привести к синтезу глобиновых радикалов, которые усиливают прооксидантную

активность в эритроцитах [10]. В свою очередь NO и сероводород также способны влиять на метаболизм антиоксидантов за счёт газотрансмиттерных ферментов и продуктов их реакций [11].

Таким образом, полученные нами данные демонстрируют свободнорадикальное повреждение клеток озоном, добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия в эритроцитарную суспензию приводит к увеличению активности каталазы.

Выводы. Инкубация эритроцитарной суспензии с озонированным изотоническим раствором хлорида натрия обуславливает развитие окислительного стресса, проявляющееся ростом концентраций ДК, МДА, а также снижением активности каталазы, что свидетельствует о перегрузке механизмов антиоксидантной системы. Доноры газотрансмиттеров (нитроглицерин, гидросульфид натрия) не меняют активирующего действия озона на процессы свободнорадикального окисления, однако активируют ферментативное звено антиоксидантной защиты каталазу.

Работа выполнена в рамках проекта ГПНИ № 30-24/549-21.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kahn M.J., Maley J.H., Lasker G.F., Kadowitz P.J. Updated role of nitric oxide in disorders of erythrocyte function // *Cardiovasc. Haematol. Disord. Drug Targets.* – 2013. – Vol. 13, № 1. – P. 83–87.
2. Franco R., Navarro G., Martínez-Pinilla E. Antioxidant Defense Mechanisms in Erythrocytes and in the Central Nervous System // *Antioxidants (Basel).* – 2019. – Vol. 8, № 2. – P.46.
3. George A., Pushkaran S., Konstantinidis D.G. et al. Erythrocyte NADPH oxidase activity modulated by Rac GTPases, PKC, and plasma cytokines contributes to oxidative stress in sickle cell disease. *Blood.* – 2013. – Vol. 121, № 11. – P. 2099–2107.
4. Coen H. Wiegman, Feng L., Bernhard R. Oxidative Stress in Ozone-Induced Chronic Lung Inflammation and Emphysema: A Facet of Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *Frontiers in immunology.* – Vol. 11. – 2020. – P. 1–13.
5. Zhang P., Li F., Wiegman C.H. et al. Inhibitory effect of hydrogen sulfide on ozone-induced airway inflammation, oxidative stress, and bronchial hyperresponsiveness // *Am J Respir Cell Mol Biol.* – 2015. – Vol. 52. – P. 129–37.
6. Moreno-Fernández A., Macías-García L., Valverde-Moreno R. et al. Autohemotherapy with ozone as a possible effective treatment for Fibromyalgia // *Acta Reumatol Port.* –2019. – Vol. 44, № 3. – P. 244–249.
7. Зинчук В.В., Билецкая Е.С., Гуляй И.Э. Эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на по-генерирующую систему в опытах *in vitro* // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.* – 2021. – Т. 107, № 1. – С. 16–27.
8. Dei Zotti F., Verdoy R., Brusa D. et al. Redox regulation of nitrosyl-hemoglobin in human erythrocytes // *Redox Biol.* – 2020. – Vol. 34. – P. 101399.
9. Dei Zotti F., Lobysheva I.I., Balligand J.L. Nitrosyl-hemoglobin formation in rodent and human venous erythrocytes reflects NO formation from the vasculature in vivo // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, № 7. – P. 1–20.
10. Rifkind J.M., Nagababu E. Hemoglobin redox reactions and red blood cell aging // *Antioxidants Redox Signal.* – 2013. – Vol. 18, № 17. – P. 2274–2283.
11. Guerra D.D., Hurt K.J. Gasotransmitters in pregnancy: from conception to uterine involution // *Biol. Reprod.* – 2019. – Vol. 101, № 1. – P. 4–25.

АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-ПРОИЗВОДНЫХ ЦИТИЗИНА

Богdevич Е. В.¹, Шляхтун А. Г.¹, Турсунходжаева Ф. М.²

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

²Институт химии растительных веществ АН Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

Введение. Гипоксия является универсальным общебиологическим сигналом в регуляторных процессах жизнедеятельности; важным, а нередко и основным, проявлением разнообразных патологий. Дефицит энергии, лежащий в основе любой формы гипоксии, приводит к однотипным метаболическим и структурным сдвигам в различных тканях: возникновению ацидоза, активации процессов свободнорадикального окисления, повреждению биологических мембран.

Терапевтические подходы к ишемии, инфарктам в значительной степени связаны с повышением устойчивости к гипоксии. Патогенетически обоснованным считается применение антигипоксических средств не только в качестве основных средств против ишемических повреждений, но и в составе комплексной, и в том числе профилактической, терапии различных патологических состояний. Действие антигипоксантов в условиях гипоксии направлено на коррекцию доставки кислорода к тканям или его утилизации клеткам организма, в результате чего происходит восстановление или снижение нарушений энергосинтезирующей функции, а также коррекция энергозависимых процессов в клетках и ее функциональной активности. Поиск новых эффективных антигипоксантов является важной задачей современной фармакологии. Нами исследованы новые перспективные в этом отношении соединения, N-производные цитизина. Цитизин представляет собой природный алкалоид хинолизидинового ряда. Для исследования возможного антигипоксического действия нами выбраны N-производные цитизина – достаточно широко распространенный N-метилцитизин, встречающийся в природном сырье из растений родов песчаная акация (*Ammodendron sp.*), Кладрастис (*Cladrastis sp.*), раkitник (*Cytisus sp.*) софора (*Sophora sp.*) и ряда других, а также полностью синтетический – N-бензилцитизин.

Цель. Исследование антигипоксической активности N-производных цитизина при моделировании гемической и цитотоксической гипоксии у мышей.

Методы исследования. Эксперименты проведены на мышцах-самцах линии C57BL/6 массой 20-22 г., содержащихся в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. Антигипоксическую активность препаратов оценивали в соответствии с «Методическими рекомендациями по доклинической активности лекарственных средств». Цитотоксическую (тканевую) гипоксию вызывали у мышей однократным внутрибрюшинным введением нитропруссид натрия в дозе 20 мг/кг массы тела, а гемическую (транспортную) гипоксию – введением нитрита натрия внутрибрюшинным в

дозе 300 мг/кг. Исследуемые препараты вводили за 30 мин до воздействия гипоксанта внутривентриально (в другую половину брюшной полости), контрольные животные получали физиологический раствор в соответствующем объеме. В качестве препаратов выбраны N-метил- и N-бензилцитизин (ИХРВ, Узбекистан). Препараты вводили в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали коммерческий препарат Мексидол (Белмедпрепараты, Беларусь), представляющий собой 5 % раствор 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината, в дозах 25 и 50 мг/кг. Для выяснения возможных механизмов действия N-производных цитизина животным вводили смеси Мексидол (50 мг/кг)+N-метилцитизин (5,0 мг/кг) и Мексидол (50 мг/кг)+ N-бензилцитизин (5,0 мг/кг). В каждой экспериментальной группе было по 6 животных. Критерием оценки антигипоксического действия исследуемых веществ при гипоксии служила продолжительность жизни экспериментальных животных.

Все процедуры с животными проведены в соответствии с требованиями международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей.

Для выявления значимости отличий между группами использовали дисперсионный анализ и тест средневзвешенного Тьюки. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$). Данные представлены как «среднее \pm стандартная ошибка среднего».

Результаты и их обсуждение. Полученные данные показывают, что все исследованные N-производные цитизина оказывали разной степени выраженности антигипоксическое действие как при гемической, так и при цитотоксической гипоксии. Эффекты соединений носили дозозависимый характер (таблица).

Возможно несколько механизмов действия антигипоксических средств: улучшение кислородтранспортной функции крови, снижение расхода энергии в организме, снижение потребности кислорода тканями, повышение эффективности использования кислорода для продукции макроэргических соединений, сохранение высших психических функций и вегетативного контроля за гиперактивацией симпатoadренальной системы в условиях гипоксии.

Выбранный в качестве препарата сравнения Мексидол обладает антигипоксическим, антиоксидантным и мембранопротекторным действием. Механизм антигипоксического действия Мексидола связан с усилением компенсаторной активности аэробного гликолиза и снижением степени угнетения окислительных процессов в цикле Кребса в условиях гипоксии, с увеличением содержания АТФ, креатинфосфата и активацией энергосинтезирующих функций митохондрий, а также стабилизацией клеточных мембран [1].

Синергизм антигипоксического действия мексидола в сочетании с N-метилцитизином или N-бензилцитизином при гипоксии указывает на то, что механизмы, лежащие в основе наблюдаемых протекторных эффектов N-производных цитизина отличаются от таковых у Мексидола.

Таблица – Влияние N-производных цитизина на длительность жизни мышей после введения гипоксанта при моделировании гемической и цитотоксической гипоксии у мышей (n=6)

№	Группы	Доза мг/кг	Продолжительность жизни, сек			
			Гемическая гипоксия		Цитотоксическая гипоксия	
			t, сек	% к контролю	t, сек	% к контролю
1	Физиологический раствор (контроль)	–	926,5±32,6	0,0	628,8±33,4	0,0
2	Мексидол	25,0	1254,8±52,5 ^a	35,4	786,8±69,5	25,1
		50,0	1476,7±92,3 ^a	59,4	1355,7±70,6 ^{ab}	115,6
3	N-метилцитизин	1,0	1193,8±46,8 ^a	28,9	854,7±74,9 ^c	35,9
		5,0	1385,2±62,0 ^a	49,5	974,5±64,0 ^{ac}	55,0
4	N-бензилцитизин	1,0	1421,2±86,6 ^a	53,4	1051,3±53,3 ^a	67,2
		5,0	1557,0±61,7 ^{ab}	68,1	1147,8±43,4 ^{ab}	82,5
5	Мексидол + N-метилцитизин	50+5,0	1778,3±38,9 ^{abc}	91,9	1274,8±92,7 ^{abc}	102,7
6	Мексидол + N-бензилцитизин	50+5,0	1863,0±20,3 ^{abc}	101,1	1449,2±59,9 ^{abc}	130,5

Примечание: a – p < 0,05 по сравнению с контрольной группой животных;
 b – p < 0,05 по сравнению с группой Мексидол (25 мг/кг);
 c – p < 0,05 по сравнению с группой Мексидол (50 мг/кг);

Выводы. Наличие высокой активности у исследованных N-производных цитизина при моделировании гемической гипоксии свидетельствует о том, что действие веществ может быть обусловлено либо протекторным действием на гемоглобин (ингибированием образования метгемоглобина под действием нитрита) и сохранением кислородной емкости крови, либо на процессы отдачи кислорода тканям и его утилизации в реакциях клеточного дыхания. В то же время, наличие у N-производных цитизина протекторной активности на моделях цитотоксической гипоксии может свидетельствовать о том, что исследованные соединения способны ограничивать степень повреждения транспорта электронов по дыхательной цепи митохондрий или шунтировать этот процесс. Кроме того, возможно действие соединений обусловлено снижением расхода энергии в организме, которое может достигаться за счет опосредованного влияния через холинэргические системы [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Оковитый С.В., Суханов Д.С., Заплутанов В.А., Смагина А.Н. Антигипоксантаы в современной клинической практике // Клиническая медицина. – 2012. – № 9. – С. 63–68.
2. Conceicao EPS, Madden CJ, Morrison SF. Tonic inhibition of brown adipose tissue sympathetic nerve activity via muscarinic acetylcholine receptors in the rostral raphe pallidus // J Physiol. – 2017. – Vol. 595. – P.7495–7508.

ИЗМЕНЕНИЯ ПРООКСИДАНТНО-ОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У КРЫС С ТОТАЛЬНОЙ И СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Бонь Е. И., Максимович Н. Е., Дремза И. К., Маркова А. Д.,
Родцевич А. Г., Валько Н. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. При ишемии головного мозга (ИГМ) развивается цепь патогенетических нарушений в его структурах, среди которых одним из ведущих является энергодефицит, что приводит к развитию клеточной патологии из-за нарушений гомеостаза, активности ферментов, целостности мембран. В условиях ИГМ избирательно нарушаются механизмы синаптической передачи, что способствует нарушению ауторегуляции местного кровотока, развитию вазоспазма, усилению агрегации тромбоцитов и развитию внутрисосудистого стаза, углубляя гипоксию и усиливая энергодефицит. Нарушается работа ферментов, в том числе, натрий-калиевой АТФазы, приводя к дисбалансу ионов и отеку головного мозга [1,2,3,4,5].

Образование активных форм кислорода (АФК) имеет важное значение в жизнедеятельности клеток всего организма. В небольших количествах кислородные радикалы выполняют функции мессенджера, отвечая за нейрональную активность, регулируют мозговой кровоток, апоптоз и другие процессы функционирования головного мозга.

Однако, избыток наработки АФК может приводить к повреждению мембран, накоплению продуктов окисления липидов, белков и нуклеиновых кислот, дефициту восстановленных пиридиннуклеотидов и фосфолипидов митохондриальных мембран, а затем – к электролитному дисбалансу, набуханию митохондрий, разобщению процессов окисления и фосфорилирования и гибели нейронов при ишемии. Повреждение АФК незащищенной гистонами митохондриальной ДНК приводит к ингибированию синтеза белков-переносчиков электронов.

Цель. Изучить изменения прооксидантно-оксидантного баланса у крыс с ишемическим повреждением головного мозга различной степени тяжести с субтотальной (одномоментной двухсторонней перевязкой обеих общих сонных артерий, ОСА) и тотальной (полным прекращением мозгового кровотока) ИГМ.

Методы исследования. Эксперименты выполнены на 24 самцах беспородных белых крыс массой 260 ± 20 г. Контрольную группу составили ложно оперированные крысы аналогичных пола и веса.

Для определения прооксидантно-антиоксидантного состояния головного мозга в его гомогенатах (20% разведение в PBS (pH-7,2)) определяли активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), содержанию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), концентрация

восстановленного глутатиона (GSH), общих тиоловых групп (TSH) и активности глутатионпероксидазы.

Результаты и их обсуждения. Базовый прооксидантно-антиоксидантный статус коры головного мозга характеризовался параметрами, установленными в контрольной группе (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса головного мозга крыс с тотальной церебральной ишемией, Me(LQ;UQ)

Группы	SH, ммоль/л	GSH, ммоль/л	ГП, ммоль GSH/мин.×л	ТБКРС, ммоль/л
Контроль	5,5(5,4;5,6)	4,6(4,4;4,8)	70(70;72)	19,9(13,8;22,7)
ТИГМ 1 час	1,0(1,0;1,1) *	1,1(1,0;1,2) *	0(0;0) *	12,3(11,7;14,1)
ТИГМ 1 сутки	0,7(0,6;0,7) * ⁺	0,5(0,2;0,7) * ⁺	0(0;0) *	5,9(2,1;10,9) *

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с группой контроль, ⁺ – p<0,05 по сравнению с 1-часовой ТИГМ, ТИГМ – тотальная ишемия головного мозга, ГП – глутатионпероксидаза, ТБКРС – продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, GSH – восстановленный глутатион

В условиях 1-суточной ТИГМ отмечено более значительное, чем при 1-часовой ТИГМ уменьшение общих SH-групп белков и глутатиона – на 34(29;38) %, p<0,05, концентрации GSH – на 55(48;61)%, p<0,05 и ТБКРС – на 53(47;59)%, p<0,05.

Таким образом, по мере удлинения ишемического периода у крыс с ТИГМ происходит усугубление нарушений показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса – уменьшение общих SH-групп белков и глутатиона, концентрации GSH и активности глутатионпероксидазы. Снижение содержания ТБКРС связано с отсутствием притока кислорода при тотальной ишемии головного мозга.

Низкий уровень неферментативных и ферментативных механизмов защиты указывает на общее снижение функциональной активности нейронов и невозможность запуска компенсаторных механизмов при ТИГМ.

Таблица 2 – Показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса головного мозга крыс с субтотальной церебральной ишемией, Me(LQ;UQ)

Группы	SH, ммоль/л	GSH, ммоль/л	ГП, ммоль GSH/ мин.×л	ТБКРС, ммоль/л
Контроль	5,5(5,4;5,6)	4,6(4,4;4,8)	70(70;72)	19,9(13,8;22,7)
СИГМ 1 час	2,4(2,3;2,4) *	1,94(1,7;2,0) *	80(80;82)*	29,4(28,7;30,5)*
СИГМ 1 сутки	1,0(0,9;1,1) * ⁺	1,4(1,3;1,5) * ⁺	18(12;18)* ⁺	35,1(34,3;35,8)* ⁺

Примечание – * – p<0,05 по сравнению с группой контроль, ⁺ – p<0,05 по сравнению с 1-часовой СИГМ, СИГМ – субтотальная ишемия головного мозга, ГП – глутатионпероксидаза, ТБКРС – продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, GSH – восстановленный глутатион

Изменения активности глутатионпероксидазы были в данных моделях разнонаправленными – при 1-часовой СИГМ ее активность повышалась на

12(9;18)%, $p < 0,05$, по отношению к уровню контроля, а при 1-суточной – снижалась на 74(67;81)%, $p < 0,05$.

Данные изменения свидетельствуют о меньшей выраженности окислительного стресса при СИГМ, чем при ТИГМ.

Выводы. Таким образом, у крыс с СИГМ при продолжительности ишемического периода 1 сутки отмечались более выраженные нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса (уменьшение общих SH-групп белков и глутатиона, концентрации GSH и увеличение содержания ТБКРС), чем при 1-часовой СИГМ. Изменения активности глутатионпероксидазы были разнонаправленными – при 1-часовой СИГМ ее активность повышалась, а при 1-суточной – снижалась, что отражает усугубление дефицита антиоксидантных механизмов при данном способе моделирования церебральной ишемии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Сравнительный анализ морфологических нарушений нейронов теменной коры и гиппокампа крыс при различных видах экспериментальной ишемии головного мозга // Оренбургский медицинский вестник. – 2021. – № 2. – С. 29–36.
2. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга // Биомедицина. – 2018. – № 2. – С. 59–71.
3. Bon L.I., Maksimovich N.Ye. Vasoprotective Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Cerebral Ischemia // International Journal of Cardiology and Cardiovascular Disorder. – 2021. – Vol. 2 – P. 1–5.
4. Bon L.I., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M. Morphology of rat brain neurons in subtotal ischaemia and introduction of L-NAME and omega-3 polyunsaturated fatty acids // Journal of Medical Science. – 2020. – P. 1–8.
5. Бутин А.А. Закономерности изменений сосудисто-капиллярной сети коры большого мозга в ответ на острую церебральную ишемию // Омский научный вестник. – 2004. – № 26. – С. 46–57.
6. Chen H., Sun D. The role of Na-K-Cl co-transporter in cerebral ischemia // Neurol. Res. 2005. – Vol. 27, № 3. – P. 280–286.
7. Clemens J.A. Cerebral ischemia: gene activation, neuronal injury, and the protective role of antioxidants // Free Radic. Biol. Med. – 2000. – Vol. 28. – P. 1526–1531.
8. Максимович Н.Е., Бонь Е.И., Зиматкин С.М. Головной мозг крысы и его реакция на ишемию: монография. – Гродно: ГрГМУ, 2020. – 240 с.

СОСТОЯНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ И ОКСИДАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЕГО ИШЕМИИ

Бонь Е. И., Максимович Н. Е., Дремза И. К.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Энергодефицит и окислительный стресс являются этапами биохимического каскада при повреждении головного мозга ишемического генеза [3, 4]. В литературе имеются сведения об их изменении при некоторых

видах ишемии, но отсутствуют данные об особенностях и сравнительной характеристике при ишемии головного мозга различной степени тяжести.

Цель. Оценить состояние энергетических и оксидативных процессов головного мозга при его ишемии различной степени тяжести.

Методы исследования. Эксперименты выполнены на 60 самцах беспородных белых крыс массой 260 ± 20 г с соблюдением требований Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей.

В исследованиях использованы модели частичной, тотальной, субтотальной и ступенчатой субтотальной ишемии головного мозга [2]. Частичную ишемию головного мозга (ЧИГМ) моделировали путем перевязки одной ОСА справа. Тотальную ишемию головного мозга (ТИГМ) моделировали путем декапитации животных. Субтотальную ишемию головного мозга (СИГМ) моделировали путем одномоментной перевязки обеих общих сонных артерий (ОСА). Ступенчатую субтотальную ИГМ (ССИГМ) осуществляли путем последовательной перевязки обеих ОСА с интервалом 7 суток (подгруппа 1), 3-е суток (подгруппа 2) или 1 сутки (подгруппа 3). Контрольную группу составили ложно оперированные крысы аналогичных пола и веса.

Моделирование ишемии головного мозга (ИГМ) осуществляли в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40-50 мг/кг). Забор материала осуществляли спустя 1 час после декапитации. Изучены энергетические и оксидативные процессы, осуществлена оценка выраженности морфологических изменений нейронов головного мозга при его ишемии различной степени тяжести.

Состояние энергетики оценивали по активности митохондриального дыхания с использованием в качестве субстратов сукцината и комплекса малата/глутамат, что позволяет оценить степень функциональной активности цепи переноса электронов (ЦПЭ) в митохондриях в целом, в особенности – I и II комплекса ЦПЭ. Регистрировали следующие показатели дыхания митохондрий: V_1 – скорость базального дыхания, V_2 – скорость субстрат-зависимого дыхания, V_3 – скорость дыхания, сопряженного с фосфорилированием (после внесения АДФ), V_4 – скорость дыхания после завершения фосфорилирования добавленного АДФ. Определяли показатели, характеризующие сопряжение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях: коэффициент акцепторного контроля ($AK = V_3/V_2$), коэффициент дыхательного контроля ($DK = V_3/V_4$) и коэффициент фосфорилирования – АДФ/О. Изучения митохондриального дыхания головного мозга осуществляли после его гомогенизации в среде выделения согласно модифицированному методу [1].

Для оценки выраженности оксидативных процессов в гомогенатах головного мозга определяли уровень антиоксидантной защиты (показатели общих SH-групп, концентрации GSH, активность глутатионпероксидазы), и состояние перекисного окисления липидов (содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой) на спектрофотометре PV 1251C (Солар, Беларусь) [5].

С целью изучения последствий энергетических нарушений и изменений активности окислительного стресса осуществляли морфологическое

исследование нейронов теменной коры головного мозга крыс с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (LeicaDFC 320, Германия) и программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США). В гистологических исследованиях осуществляли определение размеров и формы перикарионов нейронов головного мозга крыс, изучали изменение хроматофилии цитоплазмы общепринятыми методами [4].

Статистическое исследование. Так как в эксперименте использованы малые выборки, которые имели ненормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – значение нижнего квартиля; UQ – значение верхнего квартиля. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$ (тест Крускаллы-Уоллиса с поправкой Бонферони).

Результаты и их обсуждение. Изучение дыхания митохондриальной фракции гомогенатов головного мозга у крыс с ЧИГМ продолжительностью 1 час не выявило изменений показателей митохондриального дыхания и прооксидантно-антиоксидантного баланса по сравнению с контролем ($p > 0,05$). Также отсутствовали морфологические изменения.

В группе «ТИГМ», при полном прекращении кровообращения, отмечались наиболее выраженные изменения изучаемых показателей. При исследовании дыхания митохондриальной фракции гомогенатов головного мозга, по сравнению с показателями в группе «контроль», в присутствии малат/глутамата V_1 уменьшилась на 65(58;67)%, $p < 0,05$, V_2 – на 41(38;48)%, $p < 0,05$, V_3 – на 25(22;38)%, $p < 0,05$, коэффициент фосфорилирования – на 78(71;84)%, $p < 0,05$. Коэффициенты акцепторного контроля и дыхательного контроля не изменялись ($p > 0,05$). В присутствии сукцината отмечали уменьшение V_1 – на 44(38;52)%, $p < 0,05$, V_2 – на 60(48;64)%, $p < 0,05$, V_3 – на 59(38;65)%, $p < 0,05$, V_4 – на 32(28;46)%, $p < 0,05$. Коэффициент дыхательного контроля (V_3/V_4) уменьшился на 45(42;48)% ($p < 0,05$), коэффициент фосфорилирования (АДФ/О) при ТИГМ равнялся нулю. Уменьшение скорости базального дыхания V_1 было более выражено при использовании субстрата сукцината (на 21%, $p < 0,05$), что свидетельствует о большем повреждении II-го комплекса (сукцинатдегидрогеназного). Изменения энергообмена сопровождались наиболее выраженными изменениями прооксидантно-антиоксидантного баланса. Так, по сравнению с уровнем в группе «контроль», отмечали уменьшение показателей механизмов антиоксидантной защиты – общих SH-групп белков и глутатиона на 82 (79;87)%, $p < 0,05$, концентрации GSH – на 75(71;81)%, $p < 0,05$, а также нулевую активность глутатионпероксидазы, что может быть связано как с нарушением экспрессии фермента, так и с повреждением его радикалами. Содержание ТБКРС не изменялось ($p > 0,05$), из-за полного отсутствия кислорода, необходимого для их наработки. Нарушения энергетики и оксидативных процессов нашли отражение на морфологическом уровне: большую долю клеточной популяции составляли гиперхромные сморщенные нейроны, отсутствовали как нормохромные, так и гиперхромные нейроны, наблюдалось уменьшение размеров перикарионов

нейронов (на 74(68;78)%, $p < 0,05$), усугубление их вытянутости (на 35(28;39)%, $p < 0,05$).

В группе «СИГМ», предусматривающей выключение 90% кровотока, по сравнению с группой «контроль», в присутствии малата/глутамата отмечалось увеличение V_2 на 24(18;27)%, $p < 0,05$, коэффициенты акцепторного контроля и фосфорилирования уменьшились на 25(17;29)%, $p < 0,05$. В присутствии субстрата сукцината также отмечено увеличение V_1 – на 38 (34;42)%, $p < 0,05$, V_2 – на 13(9;18)%, $p < 0,05$, V_3 – на 26(21;32)%, $p < 0,05$. При этом коэффициент акцепторного контроля, коэффициенты дыхательного контроля и фосфорилирования уменьшились на 35(31;39)%, $p < 0,05$, 20(18;28)%, $p < 0,05$ и на 36(30;41)%, $p < 0,05$, соответственно, что свидетельствует о снижении наработки энергии. Увеличение показателей V_1 и V_2 и уменьшение коэффициента фосфорилирования (АДФ/О) свидетельствует о переносе протонов минуя АТФ-синтазный комплекс. Ферменты митохондриального матрикса и цитохромы при данной модели ИГМ еще не имеют ярко выраженных повреждений, о чем свидетельствуют высокие скорости V_1 и V_2 , однако уменьшение коэффициентов акцепторного контроля, дыхательного контроля и фосфорилирования указывает на разобщение процессов окисления и фосфорилирования и снижение наработки АТФ. Более выраженные нарушения при использовании сукцината, чем при использовании малата/глутамата, как и при ТИГМ, свидетельствуют о большем повреждении сукцинатдегидрогеназного комплекса ЦПЭ. Однако, изменения ряда показателей митохондриального дыхания (V_1 , V_2 , и V_3) при 1-часовой СИГМ и 1-часовой ТИГМ были разнонаправлены. Их увеличение при СИГМ связано с разобщением окисления и фосфорилирования, в то время как уменьшение при ТИГМ – с недостатком субстратов для митохондриального дыхания, в обоих случаях приводя к уменьшению энергопродукции. Энергетические нарушения в группе «СИГМ» сопровождались уменьшением, по сравнению с группой «контроль», показателей неферментативных механизмов антиоксидантной защиты – общих SH-групп белков и глутатиона на 56(49;61)%, $p < 0,05$, концентрации GSH – на 57(51;63)%, $p < 0,05$, а также высокой напряженностью ферментативных механизмов (активность глутатионпероксидазы возросла на 12(9;18)%, $p < 0,05$). Кроме того, происходило увеличение содержания ТБКРС – на 32(27;38)% $p < 0,05$, являющихся маркером окислительного стресса. По сравнению с ТИГМ, уменьшение содержания общих SH-групп белков, глутатиона и концентрации GSH было менее значительным (разница составила 26%, $p < 0,05$ и 18%, $p < 0,05$, соответственно). На гистологическом уровне при СИГМ отмечалось увеличение доли гиперхромных сморщенных нейронов, уменьшение количества нормохромных и гиперхромных нейронов, однако, в отличие от ТИГМ они сохранялись. Размеры перикарионов нейронов уменьшились на 52(47;58)%, $p < 0,05$, в то время как их вытянутость возросла на 20(18;29)%, $p < 0,05$. Уменьшение размеров нейронов было менее значительным чем при ТИГМ (на 22%, $p < 0,05$)

По сравнению с группой «контроль» в 1-й подгруппе ССИГМ с интервалом между перевязками обеих общих сонных артерий 7 суток, в

присутствии малата/глутамата в 1-й подгруппе ССИГМ наблюдалось увеличение V_2 на 46(39;56)%, $p < 0,05$ и коэффициента дыхательного контроля на 56(51;63)%, $p < 0,05$, указывая на активацию транспорта протонов водорода через АТФ-синтазный комплекс. В присутствии сукцината отмечалось увеличение показателей V_1 , V_4 на 45(39;52)%, $p < 0,05$ и на 47(37;55)%, $p < 0,05$, соответственно, коэффициента дыхательного контроля – на 48(41;56)%, $p < 0,05$. В этой подгруппе происходило уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона на 8(4;12)%, $p < 0,05$, концентрации GSH на 20(17;28)%, $p < 0,05$, а также увеличение активности глутатионпероксидазы – на 5(3;9)%, $p < 0,05$. Содержание ТБКРС при этом увеличилось на 23(18;29) % $p < 0,05$.

Во 2-й подгруппе ССИГМ с интервалом между перевязками 3 суток, по сравнению с группой «контроль» в присутствии субстрата «малат/глутамат» отмечалось только уменьшение V_4 на 49(32;54)%, $p < 0,05$. Показатели V_2 и V_4 были меньше на 58(42;69)%, $p < 0,05$, а коэффициент фосфорилирования – на 50(41;65)%, $p < 0,05$. В присутствии сукцината, происходило уменьшение скоростей V_2 , V_3 и V_4 на 61(51;69)%, $p < 0,05$, 48(40;52)%, $p < 0,05$ и 30(28;39)%, $p < 0,05$, соответственно. Помимо этого, при изучении прооксидантно-оксидантного баланса отмечалось уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона на 30(25;37)%, $p < 0,05$, концентрации GSH на 31(27;38)%, $p < 0,05$, а также увеличение активности глутатионпероксидазы – на 8(5;13)%, $p < 0,05$. Содержание ТБКРС при этом возросло на 29(23;37)% $p < 0,05$.

В 3-й подгруппе ССИГМ с минимальным интервалом между перевязками обеих ОСА 1 сутки, по сравнению с группой «контроль» в присутствии сукцината, происходило уменьшение скоростей V_2 , V_3 и V_4 на 52(43;65)%, $p < 0,05$, 61(52;69)%, $p < 0,05$ и 65(58;71)%, $p < 0,05$, соответственно. Уменьшились также коэффициент дыхательного контроля на 42(37;49)%, $p < 0,05$ и коэффициент фосфорилирования на – 37(28;45)%, $p < 0,05$. Уменьшение показателей V_2 , V_3 , V_4 и коэффициента дыхательного контроля в 3-й подгруппе ССИГМ свидетельствует о повреждении переносчиков электронов в митохондриях и ферментов цикла Кребса, что, в свою очередь привело к уменьшению образования энергии, о чем свидетельствует низкий коэффициент фосфорилирования. При изучении оксидативных процессов было установлено, что в данной подгруппе происходило уменьшение содержания общих SH-групп белков и глутатиона на 46(35;52)%, $p < 0,05$, концентрации GSH на 57(49;65)%, $p < 0,05$, а также увеличение активности глутатионпероксидазы – на 9(4;15)%, $p < 0,05$. Содержание ТБКРС возросло на 31(26;39)%, $p < 0,05$.

В целом, наибольшие нарушения энергетических и оксидативных процессов головного мозга наблюдались во 2-й и 3-й подгруппах ССИГМ, что свидетельствует о наиболее высокой активности окислительного стресса. При этом, показатели митохондриального дыхания и прооксидантно-антиоксидантного баланса в этих подгруппах были наиболее близки к показателям в группе СИГМ, в то время как 1-й подгруппе ССИГМ с интервалом между перевязками обеих общих сонных артерий 7 суток – к показателям в группе ЧИГМ. На морфологическом уровне, ступенчатая СИГМ с интервалом 1 и 3 суток между перевязками обеих ОСА приводили к

повреждению нейронов, что проявляется в уменьшении их размеров, деформации перикарионов, увеличении количества сморщенных нейронов и клеток-теней. Наиболее выраженные изменения наблюдались в подгруппе с интервалом между перевязками 1 сутки. Эти изменения были аналогичны изменениям при СИГМ ($p > 0,05$). ССИГМ с интервалом между перевязками ОСА 7 суток, напротив, проявляется меньшей выраженностью гистологических изменений: размеры перикарионов нейронов и соотношение нейронов по степени хроматофилии цитоплазмы незначительно отличались от показателей в группе «ЧИГМ».

Таким образом, наиболее выраженные морфофункциональные нарушения (угнетение митохондриального дыхания, подавление антиоксидантной защиты, сморщивание нейронов) происходят при моделировании ТИГМ. Субтотальная ишемия, моделируемая путем одномоментной перевязки обеих ОСА, и ступенчатая перевязка обеих ОСА с интервалом в 1 сутки, также приводят к тяжелым необратимым повреждениям нейронов: увеличение количества гиперхромных сморщенных нейронов соответствовало ингибированию дыхания митохондриальной фракции гомогенатов головного мозга и активации перикисных процессов. При моделировании ЧИГМ происходит компенсация кровообращения по виллизиевому кругу, чем объясняется незначительное, по сравнению с ТИГМ и СИГМ, снижение показателей дыхания митохондриальной фракции гомогенатов головного мозга, а также сохранение прооксидантно-антиоксидантного баланса. При перевязке ОСА с интервалом 7 суток соотношение нейронов по степени хроматофилии цитоплазмы и размеры перикарионов нейронов не отличались от значений показателя в контрольной группе. У этих же животных параметры дыхания митохондриальной фракции гомогенатов головного мозга и прооксидантно-антиоксидантного баланса были незначительными. Отмечалось сохранение антиоксидантной защиты головного мозга, как проявления активации компенсаторных механизмов: повышение эффективности процессов утилизации кислорода и субстратов окисления и доставки их к митохондриям нейронов вследствие эффектов нейроглобина, увеличение синтеза нуклеиновых кислот и белков, транспорта O_2 и субстратов обмена веществ, доминирование активности анаболических процессов над катаболическими [4], что уменьшает выраженность окислительного стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Морфофункциональная характеристика митохондрий и иммуногистохимические подходы к их изучению // Сибирский медицинский журнал. – 2019. – № 4. – С. 5–11.
2. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга // Биомедицина. 2018. – № 2. – С. 59–71.
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 327с.
4. Максимович Н.Е., Бонь Е. И., Зиматкин С. М. Головной мозг крысы и его реакция на ишемию: монография. – Гродно : ГрГМУ, 2020. – 240 с.
5. Барковский Е.В. и др. Современные проблемы биохимии: методы исследований // Минск: Вышэйшая школа, 2013. – 491 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВНОСТЬ AQP1 МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Босякова Е. В., Титовец Э. П.

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии,
Минск, Беларусь

Введение. Водные каналы представляют единое функциональное целое с интерстициальным пространством, нанофлюидным доменом, головного мозга [1-4]. AQP1 – водный канал, который экспрессируется в ряде тканей организма, в том числе и в нервной системе. При многих патологиях обнаруживается нехарактерная локализация AQP1. Экспрессия AQP1 значительно повышается в эндотелии микрососудов опухоли и коррелирует с уровнем злокачественности опухоли, интенсивностью ее ангиогенеза, инвазивности и инфильтрации. Локальное подавление экспрессии AQP1 представляет интерес как вероятный способ борьбы с новообразованиями. Эпитоп полипептидной цепи аквапорина AQP1 представляет собой групповой антиген крови и обозначается как “фактор Колтона”. Установлены две аллели Co(a) и Co(b). 99,8% людей имеют аллель Co(a). Исключительно редко обнаруживается полное отсутствие AQP1, т. е. Co(A-B-). В мембране эритроцитов AQP1 участвует в газообмене и обеспечивает передвижение воды через клеточную мембрану в направлении осмотического градиента. Функциональный анализ водной проницаемости эритроцитов с Co(A-B-) показал, что AQP1 обеспечивает более чем 85% осмотической проницаемости эритроцитарной мембраны. AQP1, помимо обеспечения водного обмена, принимает активное участие в газообмене эритроцитов. Ингибирование AQP1 ртутьсодержащими препаратами снижает скорость переноса CO₂ на 60% [5-9]. Различные вещества при попадании в кровь могут воздействовать непосредственно на AQP1 мембраны эритроцитов. Таким образом, возникает практически важный вопрос, как действуют препараты, которые так или иначе попадают в кровь, на активность этого канала. Эритроциты не способны к самостоятельному синтезу AQP1, поэтому представляют собой идеальный модельный объект.

Цель. Изучение влияния применяемых в клинике препаратов на активность AQP1 мембран эритроцитов человека.

Методы исследования. Исследование кинетики водной проницаемости мембраны эритроцитов проводилось методом остановленного потока на дифференциальном спектрофотометре UV-VIS-NIR Cary 5000 (Великобритания) в комплексе с модулем для быстрого смешения растворов (RX2000), длина волны $\lambda=540$ нм. Использовали эритроциты крови доноров, взятой с добавлением гепарина или цитрата. Использовали изотонический буферный раствор следующего состава: NaCl – 84 mM, Na₂HPO₄ – 21 mM, NaH₂PO₄ – 8,3 mM, CaCl₂ – 10 μ M, глюкоза – 4 mM, pH=7,38, температура 24°C. Эритроциты отмывали и разводили до конечной концентрации

0,15 млн/л. Определение количества эритроцитов, содержания гемоглобина и других гематологических параметров крови осуществляли на гематологическом анализаторе Nihon Kohden MEK 7222 (Япония).

Изучалось действие следующих препаратов:

Атропин, Эмоксипин, Дексаметазон, Преднизолон, Допамин, Норадреналин, Димедрол, Пропофол, Севофлуран, Кеторол, Фуросемид.

Концентрацию препарата рассчитывали, исходя из средней терапевтической дозы. Эритроциты в изотоническом буфере 15 минут инкубировали с препаратом в соответствующей концентрации. В качестве контроля использовалась чистая суспензия эритроцитов в буферном растворе. Для контроля ингибирования водного обмена использовался HgCl_2 в концентрации 10мМ. Обработка полученных результатов, представленных в цифровом формате (ASCII.txt) проводилась с использованием программ MS Excel, TableCurve 2D, Graph.

Результаты и их обсуждение. AQP1 содержит в своей структуре тиольные группы $-\text{SH}$, располагающиеся внутри просвета водной поры. Было показано, что HgCl_2 снижает проницаемость мембраны эритроцитов на 95% относительно контроля. Этот вполне ожидаемый эффект объясняется образованием комплекса ртути с тиольной группой канала, что сопровождается торможением переноса воды.

В клинике широко используются гормональные препараты, такие как преднизолон, дексаметазон, допамин и норадреналин. Наши исследования показали, что все четыре исследуемых препарата гормональной природы значительно снижают водную проницаемость эритроцитов. (Дексаметазон 18,3%, Норадреналин 27,9%, Допамин 29,6%, Преднизолон 46,3%), при этом наибольшим ингибирующим действием обладает Преднизолон.

Препарат Фуросемид, петлевой диуретик, широко используются в качестве противоотечного средства [10]. Проведенные исследования показывают, что Фуросемид снижает водную проницаемость мембран эритроцитов на 47,8%.

Пропофол – препарат, используемый для внутривенного наркоза. Снижает водную проницаемость эритроцитов на 24,7%, что вполне совпадает с данными мировой литературы [11, 12]. Севофлуран применяется для ингаляционного наркоза. При непосредственном введении в кровь этот препарат не оказал какого-либо значительного влияния на водную проницаемость мембраны эритроцитов (снизил на 3,8%).

Димедрол, антигистаминный препарат, значительно снижает водную проницаемость мембраны эритроцитов (на 32,6%). Эмоксипин применяется в качестве антиоксиданта и мембранопротектора, обладает восстановительными свойствами и может использоваться для обращения действие окислителей, ингибирующих AQP1 [13]. При непосредственном воздействии на эритроциты снижал их водную проницаемость на 12,2%. Кеторол, нестероидный противовоспалительный препарат, снизил водную проницаемость эритроцитов на 22,9%. Атропин — блокатор м-холинорецепторов, также в значительной степени тормозит водный обмен эритроцитов (на 24,5%). Среди всех

исследованных препаратов наиболее выраженным ингибирующим действием обладают Преднизолон и Фуросемид, что представляет интерес ввиду широкого применения этих препаратов в клинической практике.

Выводы. Полученные результаты показывают, что исследованные препараты в терапевтических концентрациях оказывают разной степени выраженности ингибирующее влияние на водную проницаемость мембраны эритроцитов. В фармакологических справочниках еще нет информации о действии лекарственных средств на AQP1. Аквапорин AQP1 представляет собой важное регулирующее звено в газообмене эритроцитов, активность которого влияет на системные физиологические функции. В связи с этим возникает необходимость располагать информацией о влиянии фармакологических препаратов на активность аквапоринов и принимать эту информацию во внимание при проведении терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Titovets E. Novel computational model of the brain water metabolism: introducing an interdisciplinary approach // *J. Comp. Syst. Biol.* – 2018. – Vol. 2, № 1. – P. 103.
2. Titovets E. Nanofluidic Approach to Brain Water Metabolism // *Adv Nanomed Nanotechnol Res.* – 2019. – Vol. 1, № 2. – P. 49–56.
3. Lei, Y., Han, H., Yuan, F., Javeed, A. and Zhao, Y., The brain interstitial system: Anatomy, modeling, in vivo measurement, and applications // *Prog Neurobiol.* – 2017. – Vol. 157. – P. 230–246.
4. Lei Y., Han H. et al. The brain interstitial system: Anatomy, modeling, in vivo measurement, and applications // *Prog. Neurobiol.* – 2017. – Vol. 157. – P. 230-246.
5. Simon M.J., Iliff J.J. Regulation of cerebrospinal fluid (CSF) flow in neurodegenerative, neurovascular and neuroinflammatory disease. *Biochim Biophys Acta.* – 2016. – Vol. 1862, № 3. – P. 442–451.
6. Ducza E., Csanyi A., Gaspar R. Aquaporins during Pregnancy: Their Function and Significance // *Int J Mol Sci.* – 2017. – Vol. 18, № 12. – P. 1-9.
7. Zelinski T., Kaita H., Lewis M. et al. Colton blood group locus. A linkage analysis // *Transfusion.* – 1988. – Vol. 28, № 5. – P. 435-438.
8. Endeward V., Musa-Aziz R., Cooper G.J. et al. Evidence that aquaporin 1 is a major pathway for CO₂ transport across the human erythrocyte membrane // *FASEB J.* – 2006. – Vol. 20, № 12. – P. 1974–1981.
9. Boron W.F. Sharpey-Schafer lecture: gas channels // *Exp Physiol.* – 2010. – Vol. 95, № 12. – P. 1107–1130.
10. Verkman A.S. Does aquaporin-1 pass gas? An opposing view // *J. Physiol.* – 2002. – Vol. 542, Pt 1. – P. 31.
11. Yool A.J. et al., AqF026 is a pharmacologic agonist of the water channel aquaporin-1 // *J. Am Soc Nephrol.* – 2013. – Vol. 24, № 7. – P. 1045–1052.
12. Voigtlaender J., Heindl B., Becker B.F. Transmembrane water influx via aquaporin-1 is inhibited by barbiturates and propofol in red blood cells // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* – 2002. – Vol. 366, № 3. – P. 209–217.
13. Ding Z., Xu J., Sheng G., Huang G. Propofol administration modulates AQP-4 expression and brain edema after traumatic brain injury // *Cell Biochem Biophys.* – 2013. – Vol. 67, № 2. – P. 615–622.
14. Смяянович А.Ф., Титовец Э.П., Лукашейко Ю.Н. и др. Антиоксидантная терапия при лечении перитуморального отека головного мозга // *Достижения медицинской науки Беларуси*, 2008.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Вронин Е. И., Алексеева Р. А.

Казанская государственная медицинская академия, Казань, Россия

Введение. В настоящее время одной из актуальных проблем медицинской биохимии является исследование и коррекция молекулярных механизмов патогенеза ревматоидного артрита (РА) – системного аутоиммунного заболевания, характеризующегося преимущественным поражением суставов с развитием эрозивно-деструктивного полиартрита. [1, 2, 6]. Некоторые данные свидетельствуют в пользу того, что в процессе патогенеза данного заболевания активизируется генерация активных форм кислорода (АФК). Однако результаты, касающиеся исследований активности антиоксидантной системы организма (АОС), весьма противоречивы. Так, в некоторых работах было показано увеличение, а в других – уменьшение активности ряда антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза (СОД), глутатионпероксидаза (GPX), каталаза, в крови пациентов, страдающих РА. Кроме того, в некоторых исследованиях было выявлено разнонаправленное изменение активности СОД и каталазы у пациентов [4, 5]. В терапии РА в настоящее время выделяют две основные группы препаратов – нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и глюкокортикостероиды (ГКС) [1, 2, 8].

Цель. Охарактеризовать воздействия комбинации диклофенака натрия (ДН) и тиоктовой кислоты (ТК) на активность СОД и каталазы и глутатионовой системы (GSH) у крыс с индуцированным РА.

Методы исследования. РА вызывали путём подкожного введения в подушечку лапки полного адьюванта Фрейнда – комплекса соединений, вызывающего развитие данной патологии, в объёме 100 мкл. В ходе работы было создано пять экспериментальных групп животных: крысы 1-ой группы (n=24) содержались на стандартном режиме вивария; животным 2-ой группы (n=32) индуцировали РА введением полного адьюванта Фрейнда; 3-я группа (n=8) – животные, которым с 7 дня развития РА внутрибрюшинно вводили ТК (Sigma-Aldrich, США) в 0,9% хлориде натрия, в дозе 16 мг/кг каждые 24 часа в течение последующих 8 дней; в 4-й (n=12) и 5-й (n=10) группах крысам после индуцирования РА вводили внутрибрюшинно ДН и ТК в дозе 8 и 50 мг/кг веса животного соответственно [3, 6, 7].

Результаты и их обсуждение. В ходе работы было проведено исследование динамики изменения активности каталазы – одного из ключевых антиоксидантных ферментов, участвующих вместе с СОД в элиминации первичных АФК. Исходя из полученных данных, активность каталазы, выраженная в Е/мл и Е/г сырой массы, наиболее интенсивно увеличивалась на 15 день эксперимента в сыворотке крови, сердце, печени и мышцах крыс – в

1,7, 1,4, 1,2 и 1,3 раза соответственно. Подобная тенденция наблюдалась также и для удельной активности фермента, возросшей в указанных тканях в 2,6, 1,7, 1,6 и 1,5 раза.

В ходе исследования был проведен анализ динамики изменения концентрации в тканях животных GSH – одного из важнейших соединений, относящегося к неферментативному звену АОС и участвующего в работе глутатионовой системы [3, 8, 9]. Было показано, что у животных с РА наблюдалось снижение содержания данного тиола во всех исследуемых тканях, связанное, по-видимому, с его расходом в процессе детоксикации АФК. Так, концентрация GSH уменьшалась на 6, 13, 15 и 17 день эксперимента в сыворотке крови крыс на 10, 11, 19 и 12%; в сердце крыс снижение происходило в 1,6, 1,9, 2,2 и 2,0 раза; в печени животных – на 13, 14, 21 и 14%. В мышцах крыс содержание исследуемого соединения на 6 и 13 сутки падало на 22%, а на 15 и 17 сутки – на 24 и 23% соответственно. Таким образом, наиболее явные изменения активности каталазы и содержания GSH происходили на 15 день после индукции РА, что соответствовало максимальной интенсивности протекания СО. Исходя из полученных результатов, оценка свободнорадикального гомеостаза при развитии РА и воздействии ТК в тканях крыс проводилась на 15 день после индукции патологии.

Было показано, что развитие РА у крыс сопровождалось возрастанием активности СОД и каталазы в исследуемых тканях. Так, при индукции патологии активность СОД, выраженная в Е/мл сыворотки крови, увеличивалась в 1,7 раза, а активность фермента, представленная в виде Е/г сырой массы ткани, возросла в печени животных в 2,8 раза, в сердце и мышцах крыс – в 1,4 раза относительно контроля (рис. 22). Аналогичный характер носили изменения удельной активности данного фермента, возросшей в сыворотке крови, сердце, печени и мышцах крыс в 2,7, 1,7, 2,9 и 1,8 раза соответственно. Вместе с тем, развитие РА сопровождалось возрастанием активности каталазы в исследуемых тканях.

Так, в сыворотке крови крыс активность данного фермента увеличивалась в 1,7 раза, а в сердце, печени и мышцах животных – в 1,4, 1,2, 1,3 раза относительно контрольной группы. Таким же образом изменялась и удельная активность каталазы, возрастая в указанных тканях соответственно в 2,6, 1,7, 1,6 и 1,5 раза

Выводы. Наблюдаемые изменения активности СОД и каталазы могут быть следствием активизации защитных функций организма адаптационного характера на чрезмерное образование АФК и интенсификацию окислительного стресса при развитии патологии. Известно, что важнейшим фактором развития РА выступает процесс воспаления. Одним из первичных звеньев системы иммуногенеза, участвующих в развитии воспалительного процесса, являются гранулоцитомacroфагальные клетки, способные в ответ на внешний сигнал индуцировать генерацию АФК. Данные соединения, образовавшиеся в процессе патогенеза, вызывают деструкцию биомолекул и инициируют ПОЛ, результатом чего являются морфо-функциональные нарушения клеточных структур, деградация коллагена, повреждение соединительной ткани. Кроме

того, рост активности СОД и каталазы в сыворотке экспериментальных животных может быть результатом их выхода из клеток в кровь вследствие нарушения транспортных и барьерных свойств биомембран при интенсификации ПОЛ в условиях развития окислительного стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Современные стандарты лабораторной диагностики ревматических заболеваний // Научно-практическая ревматология. – 2013. – Т. 51, № 4. – С. 368–376.
2. Волоскова А.В., Попова Т.Н., Матасова Л.В. Исследование влияния различных доз тиоктовой кислоты на активность глутатионовой системы в печени крыс в норме и 164 при экспериментальном токсическом гепатите // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация – 2005. – №1. – С. 87–90.
3. Гладких Ф.В., Степанюк Н.Г. Вплив вінборону на анальгетичну активність ібупрофену на моделі ад'ювантного артриту у щурів // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2015. Т. 22, № 1. – С. 47–50.
4. Гладких Ф.В., Степанюк Н.Г. Характеристика терапевтичного ефекту ібупрофену та його комбінації з вінбороном за даними гематологічних показників на моделі ад'ювантного артриту у щурів // Львівський медичний часопис. – 2015. – № 4. – С. 64–70.
5. Гладких Ф.В., Чиж М.О. Нестероїдні протизапальні засоби: сучасне уявлення про механізми ушкодження травного тракту, недоліки препаратів патогенетичного лікування та перспективи біологічної терапії НПЗЗ-індукованої езофагогастроентероколонопатії // Гастроентерологія. – 2020. – № 4. – С. 253–266.
6. Меньшикова В.В. Справочник Лабораторные методы исследования в клинике. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. Gardner P.R., Nguyen D.M., White C.W. Aconitase is a sensitive and critical target of oxygen poisoning in cultured mammalian cells and in rat lungs // Proc. Nat. Acad. Sci. – 1994. – Vol. 91, № 25. – P. 12248–12252.
8. James M.J., Gibson R.A., Cleland L.G. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production // Am. J. Clin. Nutr. – 2000. – Vol. 71. – P. 343S–348S.
9. Khan F., Siddiqui A.A. Prevalence of anti-3-nitrotyrosine antibodies in the joint synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis and systemic lupus erythematosus // Clinica Chimica Acta. – 2006. – Vol. 370, № 1-2. – P. 100–107.

АНАЛИЗ ПСИХОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА В ОТВЕТ НА СТРЕСС-РЕАКЦИЮ

Гладкая А. А., Крупская Е., Миклашевич О. С., Глуткин С. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Возможности организма адаптироваться к тем или иным условиям в значительной степени определяются реактивностью его нервной системы, ее способностью воспринимать, передавать, перерабатывать поступающую информацию, принимать решение и посылать к исполнительным

органам управляющие сигналы [2]. Обучающиеся составляют особую социальную группу не только по возрасту, специфическим условиям труда, быта и отдыха, но и повышенного риска вследствие высокого и длительного психоэмоционального напряжения [1]. Уровень функциональной подвижности нервных процессов важен для формирования индивидуального подхода к студентам с целью прогнозирования успешности обучения. У лиц, имеющих низкий уровень функциональной подвижности нервных процессов, преобладают симпатические влияния, что объясняется более высокой чувствительностью нервной системы, которая имеет более интенсивную стимуляцию симпатико-адреналовой системы. При чрезмерной функциональной активности организма в условиях нарастания интенсивности воздействия стресс-иницирующих факторов, может возникнуть состояние дезадаптации [3].

Цель. Проанализировать функциональное состояние организма в ответ на стресс-реакцию.

Методы исследования. В исследовании приняли участие добровольцы мужского пола, студенты 2-го курса Гродненского государственного медицинского университета. Эксперимент проводился в условиях наибольшей продолжительности темной части суток (зимнее солнцестояние), в период сдачи итогового занятия. Определяли исходный уровень нейротизма (личностный опросник Айзенка (EPI) и тревожности (тест «Самооценка психических состояний» по Айзенку). С помощью кластерного анализа обследуемые были разделены на 3 группы в зависимости от уровня нейротизма и тревожности: 1- низкий (16 человек), 2 – средний (35 человек) и 3 – высокий (29 человек).

В каждой группе оценку показателей функционального состояния добровольцев до и после нагрузочной пробы осуществляли с помощью компьютерного комплекса для психофизиологического тестирования «НС-Психотест» фирмы «Нейрософт», на котором исследовались значение времени реакции, стрессоустойчивость, подвижность нервных процессов, коэффициент силы нервной системы, коэффициента асимметрии внимания (КАВ) и индекс утомляемости (ИУ). Для анализа полученных результатов использовали методы непараметрической статистики – Н-критерий Краскела-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни. Проводили многофакторный анализ параметров в группах, корреляционный анализ Спирмена. Результаты представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25-75%). Критический уровень значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Достоверных различий между исследуемыми группами до и после интеллектуальной нагрузки не было выявлено.

Внутригрупповое сравнение выявило, что после нагрузочной пробы происходит уменьшение показателя КАВ в 1-ой и 2-ой группах с 1 [0;1,75] до 0,25 [0;1], $p < 0,05$, и с 0,77 [0;1] до 0 [0;0,8], $p < 0,05$, соответственно. В этих же группах прослеживается тенденция к понижению ИУ ($p < 0,09$). В 3-ей группе наблюдается снижение значения среднего времени реакции ($p < 0,05$) в ответ на активизацию мыслительной деятельности мозга.

Факторный анализ параметров 1-ой группы расположил в один фактор КАВ (-0,7), показатель возбуждения (0,66) и лабильности (-0,48) до нагрузки. Во 2-ой группе в одном факторе находятся ИУ до нагрузки (-0,71) и показатель стрессоустойчивости после нагрузки (0,73). Для 3-ей группы характерна взаимосвязь в первом факторе значения среднего времени реакции (-0,49), стрессоустойчивость (-0,45), лабильность (0,7), выносливость (0,8) до нагрузки и стрессоустойчивость (-0,41), лабильность (0,67), выносливость (0,85) после нагрузки, а во втором – стрессоустойчивость (-0,7) и КАВ (-0,53).

Метод изучения взаимосвязи между случайными величинами выявил в 1-ой группе зависимость между КАВ после нагрузки с показателями выносливости (-0,51) до и стрессоустойчивости (-0,4) после интеллектуального воздействия. Во 2-ой группе КАВ до коррелирует с коэффициентом силы нервной системы (-0,45) до и лабильностью (-0,37) после нагрузки. Значение среднего времени реакции после нагрузки в 3-ей группе имеет взаимосвязь с одноименным параметром (0,54) до, лабильностью (-0,38) и ИУ (0,46) после нагрузки.

В нашем исследовании влияние интеллектуальной нагрузки и сезонной напряженности систем организма показало готовность лиц с различным уровнем нейротизма и тревожности к стрессовым жизненным ситуациям. Низкий и средний уровень психической активности способствует формированию более низкого порога эмоционального дискомфорта до осуществления умственной деятельности, снижению асимметрии внимания. Высокое значение эмоционального реагирования на происходящие события приводит к изменению стрессоустойчивости, утомляемости и лабильности.

Выводы. Таким образом, уровень нейротизма и тревожности определяет готовность к выполнению интеллектуальной работы, более высокое значение возбудимости нервной системы предполагает увеличение времени реализации проделываемой работы либо использование методом снижения нервной возбудимости до её проведения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А., Ружникова И.В., Старшинов Ю.П. и др. Особенности адаптации сердечнососудистой системы юношеского организма // Физиология человека. – 1997. – Т. 23, № 1. – С. 93–97.
2. Вейн А.М. Вегетативные расстройства. Клиника, диагностика, лечение // М.: Медицина. – 2003. – № 2. – С. 752–756.
3. Tomova L., Saxe R., Klobl M. et al. Acute stress alters neural patterns of value representation for others // Neuroimage. – 2020. – № 209. – P. 1–12.

ИСТОЩЕНИЕ ПУЛА ГЛУТАТИОНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «АМИКАЦИН»

Гладкий М. Л., Курбат М. Н., Дорошенко Е. М., Горева Д. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Глутатион (GSH) является важным антиоксидантом, принимающим участие в различных физиологических процессах, включая баланс окислительно-восстановительных реакций и антиоксидантную защиту организма от эндогенных и экзогенных токсических агентов таких как активные формы кислорода (АФК) и активные формы азота. GSH представляет собой антиоксидантный метаболит, состоящий из аминокислот: глутаминовой кислоты (Glu), цистеина (Cys) и глицина (Gly), и синтезируется в ходе двухстадийной реакции, катализируемой АТФ-зависимыми ферментами. На первом этапе Glu соединяется с Cys с помощью γ -глутамилцистеинсинтетазы (или глутаматцистеинлигазы (GCL)) с образованием γ -глутамилцистеина (γ -Glu-Cys). Этот дипептид далее соединяется с Gly с помощью глутатионсинтетазы (GS) с образованием GSH. Важная роль GSH заключается в детоксикации и удалении ксенобиотиков и других эндогенных соединений, которые конъюгированы с GSH глутатион-S-трансферазой для экспорта из клетки через насосы множественной лекарственной устойчивости (MRP), которые являются основными переносчиками GSH [1].

Лекарственный препарат «Амикацин» представляет собой полусинтетический аминогликозидный препарат III-го поколения, который является продуктом ацетилирования канамицина А (аминогликозид I-го поколения). Данная структурная характеристика делает лекарственный препарат «Амикацин» устойчивым к бактериальным ферментам, которые инактивируют природные аминогликозиды, такие как гентамицин, канамицин и тобрамицин; таким образом, амикацин имеет самый широкий спектр активности среди аминогликозидных препаратов [2]. Введение лекарственного препарата «Амикацин» вызывает генерацию свободных радикалов кислорода. Также в литературных источниках сообщается об эксайтотоксическом эффекте лекарственного препарата «Амикацин», что заключается в деградации синтеза митохондриального белка, а именно в нарушении синтеза комплексов электрон-транспортной цепи в митохондриях, что приводит к их разрушению, а также дополнительному выходу свободных радикалов в клетку; и чрезмерной активации глутаматэргических NMDA-рецепторов, блокаде активируемых кальцием калиевых каналов, повреждении клеточной мембраны, что, наконец, влечет за собой гибель клеток в результате апоптоза [3].

Цель. Определить изменение концентрации глутатиона в плазме крыс после введения лекарственного препарата «Амикацин».

Методы исследования. Исследования выполнены на 16 белых крысах-самцах массой 200-220 г (5 крыс группы контроля и 5 крыс опытной группы) линии Вистар. Животных содержали в стандартных условиях вивария Гродненского государственного медицинского университета на полноценном рационе. Соблюдались все требования Директивы Европейского Парламента и Совета №2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей. На данное исследование получено разрешение Комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол №5 от 27.02.2020). Введение лекарственного препарата «Амикацин» проводилось крысам опытной группы однократно внутрибрюшинно в дозе 200 мг/кг в течение 14 дней. Крысам из контрольной группы также однократно внутрибрюшинно вводился физиологический раствор 500 мг/кг в течение 14 дней. По истечении 14 дней проводили декапитацию и осуществляли забор крови животных. Плазму крови отделяли центрифугированием при 2000 g. Определение цистеина (Cys), гомоцистеина (Hcy), цистеинилглицина (CysGly), γ -глутамилцистеина (γ GluCys) и глутатиона (GSH) в плазме крови и тканях крыс проводили по методу [4].

Достоверность различий между группами проверяли медианным тестом Манна-Уитни. Результаты выражали в виде медианы, нижней и верхней квартили (Me [Q25; Q75]).

Результаты и их обсуждение. У крыс опытной группы после введения лекарственного препарата «Амикацин» отмечается тенденция к снижению уровня цистеина в плазме крови ($p < 0,07$), однако не достигает статистически достоверных изменений. Уровень глутатиона также ниже в плазме крови крыс опытной группы и достигает достоверных изменений ($p < 0,05$). Вероятно, снижение уровня глутатиона следует вслед за снижением его предшественника – цистеина. Также истощение запаса восстановленного глутатиона является важным маркером при избыточной продукции форм свободных радикалов, что может быть вызвано инъекциями аминогликозида [5].

Таблица – Уровни серосодержащих соединений в плазме крови крыс контрольной и опытной групп.

	Cys	CysGlu	gGluCys	GSH
Контроль	275,09 [206,76; 318,15]	4,27 [3,69; 4,67]	13,33 [11,45; 16,91]	49,85 [40,23; 63,11]
Опыт	209,97 [174,5; 306,8]	3,37 [2,79; 4,27]	14,09 [12,91; 16,91]	46,51* [37,28; 51,30]

Примечание: статистически достоверные изменения по сравнению с контролем, $p < 0,05$

Выводы. 1. Введение внутрибрюшинно аминогликозидного лекарственного препарата «Амикацин» вызывает снижение уровня предшественника глутатиона цистеина.

1. Введение внутрибрюшинно аминогликозидного лекарственного препарата «Амикацин» вызывает снижение уровня глутатиона, что является маркером развития окислительного стресса у крыс опытной группы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bottino F. et al. In Vivo Brain GSH: MRS Methods and Clinical Applications // Antioxidants (Basel). – 2021. – Vol. 10, № 9. – P. 1–28.
2. Fadlullah A., Dogan R., Ozturan O. An evaluation of the protective effects of thymoquinone on amikacin-induced ototoxicity in rats // Clinical and Experimental Otorhinolaryngology. – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 312–319.
3. Jung S.Y., Kim S.S., Yeo S.G. Impact of endoplasmic reticulum stress in otorhinolaryngologic diseases // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21, № 11. – P. 1–26.
4. Дорошенко Е.М., Новгородская, Я.И. Лабораторно-диагностическая технология одновременного определения в пробе анализируемого материала (ткани, биологической жидкости) гомоцистеина и других физиологически активных аминотиолов с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2020. – Т. 9, № 1-2. – С. 135–143.
5. Бабак О.Я. Глутатион в норме и патологии: биологическая роль и возможности клинического применения // Гастроэнтерология. Гепатология. Колопроктология. – 2015. – № 1. – С. 1–3.

АПОПТОТИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ЯДЕРНОЙ ДНК В КЛЕТКАХ НЕРВНЫХ ГАНГЛИЕВ МОЛЛЮСКА LYMNAEA STAGNALIS ПРИ ДЕЙСТВИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА

Глинская Н. Д., Сидоров А. В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Введение. Нервные клетки беспозвоночных характеризуются высокой степенью устойчивости к действию различных чрезвычайных раздражителей химической или физической природы – их способность к генерации электрических импульсов, например при колебаниях температуры или pH, сохраняется в гораздо большем диапазоне значений, нежели это свойственно нейронам позвоночных [1]. Такому положению дел может способствовать хорошо развитая система антиокислительной защиты в клетках нервных узлов беспозвоночных [2], препятствующая развитию окислительного стресса и вызываемых им функциональных нарушений. В то же время, многие беспозвоночные, особенно водные организмы очень чувствительны к содержанию различных тяжёлых металлов в окружающей среде, в особенности переходных, таких как медь и железо [3], что и позволяет использовать такие виды животных в качестве биоиндикаторов загрязнения окружающей среды. Известно, что переходные металлы способны инициировать образование высоко реакционноспособных молекул, например гидроксильного радикала (OH) из относительно устойчивых соединений, являющихся участниками нормальных метаболических процессов в клетке. К их числу можно отнести и пероксид водорода, образующегося в цепочке метаболических превращений, сопровождающих процессы окислительного фосфорилирования в

митохондриях, которыми относительно богата нервная ткань [4]. Его высокая стабильность, особенно во внеклеточном пространстве, по крайней мере на протяжении минутных интервалов, позволяет рассматривать данную молекулу в качестве сигнальной в процессах межклеточной коммуникации [5], однако накопление значительных порций пероксида водорода создаёт потенциальную угрозу для образования из него более реакционноспособных молекул, обладающих существенно бóльшими радикальными свойствами. Как известно, одной из мишеней действия свободных радикалов внутри клетки являются молекулы нуклиновых кислот (ДНК и РНК), повреждение которых приводит к фатальным последствиям на клеточном уровне, что в случае нейронов означает неизбежную гибель всего организма, принимая во внимание ведущую роль нервной системы в процессах регуляции и координации физиологических функций.

Цель. Изучить устойчивость ядерной ДНК в клетках центральных нервных ганглиев моллюска *Lymnaea stagnalis* при действия перекиси водорода, в том числе и в условиях, связанных с действием ионов меди (II), инициирующих продукцию гидроксильного радикала.

Методы исследования. В работе использовали препараты ДНК, выделенной из центральных нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis*. Изолированные нервные системы (по 3–4 на пробу) предварительно инкубировали в течение 2-х ч, в темноте, в нормальном растворе Рингера (контроль) содержащем (конечная концентрация): пероксид водорода, 1 мМ; пероксид водорода (1 мМ) и OH^- -генерирующую смесь (0,5 мМ CuCl_2 + 0,5 мМ аскорбата); OH^- -генерирующую смесь. По окончании инкубации препараты ЦНС помещали в нормальный раствор Рингера для последующего (по прошествии 18 ч) выделения ДНК (экстракция смесью хлороформ : изоамиловый спирт, добавление РНК-азы А в течение последнего часа инкубации препарата ЦНС в смеси для лизиса клеток), проводили гель-электрофорез (агароза, 1%), анализируя полученную картину посредством приложения Image Lab (Bio-Rad Laboratories Inc., 2017).

Результаты и их обсуждение. Установлено, что 2-х часовая инкубация ЦНС в среде, содержащей пероксид водорода, приводит к появлению следовых продуктов деградации ДНК, без чётко выраженных полос, в диапазоне от 100 до 200 п.н., в сравнении с контрольными условиями, где таковые практически не наблюдались (рисунок). Других низкомолекулярных фрагментов ДНК обнаружено не было, что может свидетельствовать о достаточной степени устойчивости клеток нервных ганглиев к окислительному стрессу такого рода.

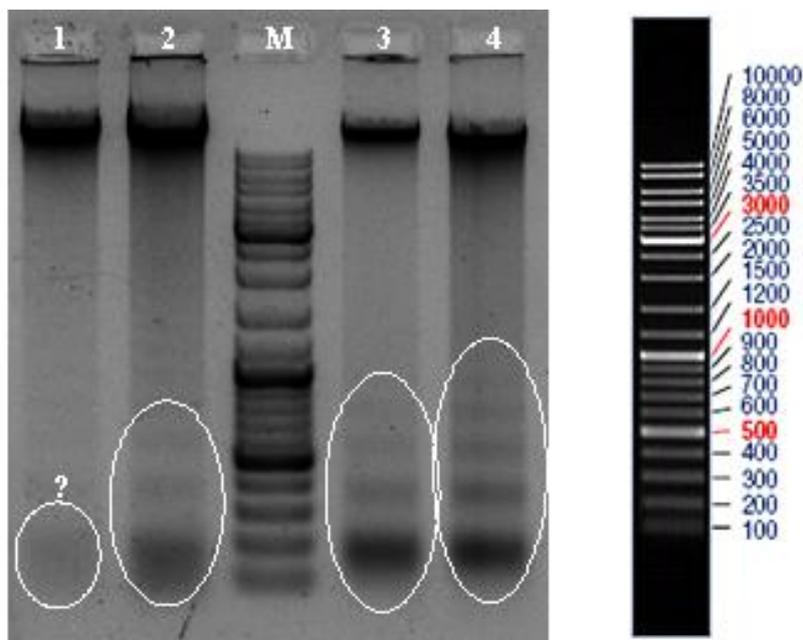


Рисунок. – Гель-электрофорез (инвертированное изображение) с образцами ДНК, выделенными из клеток нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis*, после 2-х часовой инкубации препаратов ЦНС в экспериментальных растворах
 Дорожки геля: 1 – контроль (раствор Рингера), 2 – пероксид водорода (1 мМ), 3 – \cdot ОН-генерирующая смесь (0,5 мМ CuCl_2 + 0,5 мМ аскорбата), 4 – \cdot ОН-генерирующая смесь и пероксид водорода (1 мМ), М – маркер молекулярного веса (подробная характеристика дана на вставке справа). Участки геля, содержащие следы апоптотической деградации ДНК, отмечены овалом

Использование одной только \cdot ОН-генерирующей смеси, без добавления в среду инкубации пероксида водорода, также приводило к появлению полос низкомолекулярных фрагментов ДНК размером ~180, 360 и 540 п.н. (хорошо заметны 3 последовательные полосы) интенсивность которых была несколько ниже в сравнении с препаратами, подвергшихся действию одного лишь пероксида водорода. Можно предположить, что центральные нервные ганглии *Lymnaea stagnalis* изначально содержат пероксид водорода в количестве, достаточном для наработки гидроксильного радикала в токсических концентрациях при создании соответствующих условий. Наибольшая степень деградации ДНК отмечена при использовании пероксида водорода в сочетании с \cdot ОН-генерирующей смесью. Действие этих веществ ассоциируется с появлением полос продуктов деградации ДНК размером ~180 п.н. или кратным ему, т.е. ~360, 540, 720 и 900 п.н. (заметны не менее 5-ти полос), что позволяет говорить об апоптотической деградации молекулы ДНК клеток нервной ткани в этих условиях, т.е. нарушении нормального функционирования и последующей гибели нейронов.

Выводы. Сдвиг окислительно-восстановительного баланса в клетках нервной ткани, под влиянием переходных металлов, в сторону образования высоко реакционноспособных соединений радикальной природы, существенно изменяет (снижает) устойчивость нервных центров беспозвоночных к окислительному стрессу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сидоров А.В. Функциональная активность нервных центров беспозвоночных. Минск: БГУ, 2011. – 247 с.
2. Sidorov A.V., Maslova G.T. State of antioxidative protection in central nervous ganglia of the mollusc *Lymnaea stagnalis* at modulation of activity of the NO-ergic system // J. Evol. Biochem. Physiol. – 2008. – Vol. 44, № 5. – P. 435–441.
3. Xin Z., Wenchao Z., Zhenguang Y. et al. Species sensitivity analysis of heavy metals to freshwater organisms // Ecotoxicology. – 2015. – Vol. 24, № 7–8. – P. 1621–1631.
4. Harris J.J., Jolivet R., Attwell D. Synaptic energy use and supply // Neuron. – 2012. – Vol. 75. – P. 762–777.
5. Giniatullin A.R., Giniatullin R.A. Dual action of hydrogen peroxide on synaptic transmission at the frog neuromuscular junction // J. Physiol. – 2003. – Vol. 552. – P. 283–293.

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА И ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС ПРИ ФОРМИРОВАНИИ АЛЛОСТАТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ

Глуткин С. В., Зинчук В. В., Гуляй И. Э., Марковский М. Г.,
Яблуновский Г. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Стресс, возникающий, при многочисленных воздействиях, вызывает изменение многих систем, задействованных в формировании гомеостаза. При гомеостазе механизм обратной связи направлен на снижение изменчивости и поддержанию постоянства в системе. В то время как при аллостазе данная изменчивость является благоприятной, т.к. внутренняя среда способна адаптироваться к различным стрессовым факторам, чтобы поддержать систему организма [2, 3]. При повышении определенного допустимого уровня стресс может создавать условия стабилизации параметров гомеостаза, в то время как аллостатический процесс определяет путь восстановления исходного функционального состояния организма. Аллостатическая нагрузка, как результат избыточной реакции на стресс, является обязательной составляющей многих патологических состояний [1].

Цель. Проанализировать показатели транспорта кислорода и поведенческую активность крыс при формировании аллостатического состояния в ответ на стрессовое воздействие.

Методы исследования. Исследование проводилось на беспородных крысах-самцах с соблюдением принципов гуманного обращения с животными. На протяжении 14 дней животные находились в условиях различного чередования светлой и темной частей суток, что характеризует сформированные экспериментальные группы: 1 группа – одинаковая длительность дня и ночи, 2 – наибольшая продолжительность светлой части

суток, 3 – наибольшая продолжительность темной части суток. Поведенческую реактивность крыс оценивали путем тестирования в установке «Открытое поле». Тест «Открытое поле» проводили в круглой арене. Животное помещали в центр арены и позволяли свободно перемещаться по ней. Изучали двигательную и исследовательскую активности, груминг; количество болюсов; количество актов замирания. Регистрацию поведения крыс осуществляли в течение 4,15 мин.

Далее в условиях адекватного наркоза проводили забор смешанной крови из правого предсердия. На анализаторе газов крови «Stat Profile рНОх plus L» (USA) определяли показатели кислородтранспортной функции крови и кислотно-основного состояния.

Для анализа полученных результатов использовали методы параметрической и непараметрической статистики – t-критерий Стьюдента, H-критерий Краскела-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У крыс общая горизонтальная двигательная активность имеет более высокое значение после периода наибольшей длительности темного времени дня относительно 1-ой группы ($p < 0,05$). Повышение исследовательской активности наблюдается как в условиях самой продолжительной светлой, так и темной частей суток. Также в этих же группах отмечается меньшее и количество актов замирания, чем у животных 1-ой группы ($p < 0,05$). Крысы, находящиеся в условиях наименьшей продолжительности темной части дня, имеют меньшее количество болюсов.

Различий по показателям кислородтранспортной функции крови и кислотно-основного состояния между 1-ой и 2-ой группами не выявлено. Увеличение продолжительности темной части суток характеризуется меньшим значением $p50$ при реальных условиях среды (26,5 [25,7;27,5] мм рт. ст., $p < 0,05$) и pCO_2 (50,6 [45,7;52,7] мм рт. ст., $p < 0,01$), большим – pH (7,465 [7,437;7,489]., $p < 0,01$) и альвеолярным напряжением кислорода (91,4 [89,3;96,2] мм рт. ст., $p < 0,001$), чем в 1-ой группе (27,6 [27,1;28,4] мм рт. ст., 55,9 [54;59,2] мм рт. ст., 7,409 [7,396;7,431], 83 [78,2;83,4] мм рт. ст., соответственно).

Сравнение животных, находящихся в условиях с наибольшей продолжительностью светлой части дня, с крысами, находящимися в условиях с наибольшей продолжительностью темной части суток, выявило различия по следующим параметрам в крови: pH, pCO_2 , концентрация гемоглобина, уровень гематокрита, альвеолярное напряжение кислорода, концентрация натрия.

Во 2-ой группе установлены корреляционные связи между pH и $p50$ при реальных условиях среды ($r = -0,75$), pCO_2 ($r = -0,66$), альвеолярным напряжением кислорода ($r = 0,66$), насыщением крови кислородом ($r = 0,78$), между концентрацией гемоглобина и $p50$ при стандартных условиях среды ($r = -0,77$), pO_2 ($r = -0,72$), гематокритом ($r = 0,98$), концентрацией натрия ($r = 0,68$) и насыщением крови кислородом ($r = -0,6$).

В 3-ей группе выявлена взаимосвязь между pH и $p50$ при реальных условиях среды ($r = -0,52$), pCO_2 ($r = -0,84$) и альвеолярным напряжением

кислорода ($r=0,8$), между концентрацией натрия и pO_2 ($r=-0,67$) и насыщением крови кислородом ($r=-0,69$).

Выводы. Разница между временем наступления темноты и светового дня приводит к напряжению физиологических реакций в организме. Дополнительное воздействие стресс-фактора перестраивает работу не только нервной системы, но и приводит к сдвигу параметров КТФ и КОС в пределах допустимых значений.

ЛИТЕРАТУРА

1. McEwen B.S., Karatsoreos I.N. What Is Stress? In: Choukèr A. (eds) Stress Challenges and Immunity in Space // Springer, Cham. – 2020. – P. 19–42.
2. Logan J.G., Barksdale D.J. Allostasis and allostatic load: expanding the discourse on stress and cardiovascular disease // J. Clin. Nurs. – 2008. – Vol. 17, № 7B. – P. 201–208.
3. Stress, self-regulation, and context: Evidence from the Health and Retirement Survey / Mezuk B. [et al.] // SSM Popul Health. – 2017. – Vol. 3. – P. 455–463.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС У ПАЦИЕНТОВ С САРКОИДОЗОМ БЕКА

Глуткина Н. В.¹, Гуляй И. Э.¹, Зинчук Вл. В.², Гузаевская О. И.²,
Велисейчик А. А.¹

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

²Гродненская университетская клиника, Гродно, Беларусь

Введение. Редокс-равновесие оказывает значительное влияние на широкий спектр физиологических процессов, при которых баланс смещается в сторону повышенного количества свободных радикалов, ведущих к возникновению патологических явлений в тканевом микроокружении или в системном кровообращении [2]. Окислительный стресс, вызывая смещение прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону повышения уровня активных форм кислорода, приводит к изменениям организма, изменяя редокс-равновесие.

В нормальных условиях эритроциты хорошо снабжены антиоксидантными молекулами и детоксицирующими ферментами для борьбы с окислительным стрессом, однако при некоторых патологических состояниях, включая саркоидоз, наблюдается повреждение эритроцитов, что может иметь значение в патогенезе данного заболевания [3]. Саркоидоз представляет собой заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся развитием гранулематозного воспаления в различных органах и тканях, патогенез которого объясняется генетическими и иммунными теориями [1]. Однако в его генезе недостаточное внимание уделяется развитию окислительного стресса, что и предполагает интерес к этой проблеме в данном аспекте.

Цель. Оценить показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови у пациентов с саркоидозом Бека.

Методы исследования. Объектом исследования были 30 пациентов (жителей Гродненской области) с саркоидозом Бека (2-ая стадия, легочно-медиастинальная форма, активная фаза), не получавшие патогенетической терапии. Патологические изменения на рентгенографии были выявлены при прохождении планового медицинского осмотра. У всех пациентов заболевание было подтверждено по результатам данных биопсии гистологического исследования легочной ткани.

Оценка показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса крови у данных пациентов осуществлялась путем определения активности ПОЛ (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) и факторов антиоксидантной защиты (альфа-токоферол, ретинол, восстановленный глутатион, активность каталазы). Уровень диеновых конъюгатов определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232–234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [4]. Концентрацию малонового диальдегида оценивали по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой, которая при нагревании в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета [4]. Интенсивность окраски измеряли на спектрофотометре РV1251С «СОЛАР» (Беларусь) при длине волны 535 нм. Для определения активности каталазы использовали метод М. Королюк [6], основанный на спектрофотометрической регистрации количества окрашенного продукта реакции H_2O_2 с молибденовокислым аммонием, имеющим максимальное светопоглощение при длине волны 410 нм. Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах изучали по модифицированному методу J.Sedlak и R.Lindsay [8]. Концентрацию альфа-токоферола и ретинола определяли по методу S.L. Taylor [9], основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта при длине волны возбуждения 286 нм и испускания 350 нм (для альфа-токоферола) и при длине волны возбуждения 325 нм и испускания 470 нм (для ретинола) на спектрофлуориметре СМ 2203 «СОЛАР» (Беларусь).

Статистическая обработка цифровых данных произведена с использованием программы Statistica 10.0. Нормальность распределения полученных результатов оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Результаты считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В ходе проведенных исследований были получены результаты в соответствии с которыми установлено увеличение концентрации основных показателей перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид в плазме и эритроцитарной массе) и снижение факторов антиоксидантной защиты (альфа-токоферол, ретинол в плазме и восстановленный глутатион, активность каталазы в эритроцитарной массе) в крови при этой форме саркоидоза Бека (2-ая стадия, легочно-медиастинальная форма, активная фаза).

Выявлены существенные изменения в системе антиоксидантной защиты у пациентов с саркоидозом, что свидетельствует об истощении пула эндогенных антиоксидантов в условиях их повышенного расходования при свободнорадикальном стрессе. Нами установлено, что срыв компенсации в системе антиоксидантной защиты совпадает с периодом обострения заболевания, что предполагает участие изученных нами звеньев системы антиоксидантной защиты в обеспечении продолжительности ремиссии при этой патологии. Вполне вероятно, что несостоятельность системы антиоксидантной защиты является одним из факторов, ведущих к обострению саркоидоза. Состояние компонентов системы антирадикальной защиты предопределяет специфику мембрано-дестабилизирующих процессов и, вероятно, может корректироваться медикаментозными методами, что в конечном итоге может привести к «управляемости» процесса дестабилизации клеточных мембран [5].

Важным механизмом развития саркоидоза является взаимодействие оксида азота (NO) и супероксидных радикалов. Развитию окислительного стресса предшествует активации различных изоформ NO-синтазы, что позволяет интерпретировать усиление продукции NO в качестве адаптационного механизма, направленного на поддержание определенного уровня физиологического активного NO в клетке [7], но его чрезмерное образование и дисбаланс в генерации может приводить к нарушению прооксидантно-антиоксидантного баланса.

Выводы. Таким образом, на основании проведенных исследований установлено, что при саркоидозе отмечается увеличение концентрации показателей перекисного окисления липидов и снижение факторов антиоксидантной защиты в крови, что может иметь значение для развития окислительного стресса при этой патологии. Возникающий прооксидантно-антиоксидантный дисбаланс имеет важное значение для патогенеза данной нозологической формы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахлыкова Е.А., Матусевич С.Л., Соловьева О.Г. и др. Клинические случаи саркоидоза кожи в сочетании с шизофренией и легочной патологией // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2021. – № 1. – С. 53–63.
2. Вьюшина А.В., Ордян Н.Э. Некоторые аспекты современного состояния проблемы пренатального стресса и роль окислительного стресса в реализации его последствий // Успехи современной биологии. – 2021. – Т. 141, № 2. – С. 133–148.
3. Кенгайя Дж., Нандиш С.К.М., Рамачандрайя Ч. и др. Этанольный экстракт оболочки семян тамаринда эффективно защищает эритроциты от эриптоза, вызванного окислительным стрессом // Биохимия. – 2020. – Т. 85, № 1. – С. 139–152.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. – 2-е изд. – Мн.: Беларусь, 2002. – Т. 1. – 465 с.
5. Кичерова О.А., Рейхерт Л.И., Кичерова К.П. Вред и польза окислительного стресса // Медицинская наука и образование Урала. – 2019. – № 4. – С.193-196.
6. Королюк М.А. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

7. Тиманн К., Шнекенбургер Ю., Шик В. и др. Окислительный стресс и образование NO при церулеин-индуцированном панкреатите у крыс // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2019 – Т. 8, № 1. – С. 68–76.
8. 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.
9. Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis // Lipids. – 1976. – Vol. 11, № 7. – P. 530–538.

ЗНАЧЕНИЕ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ГОМЕОСТАЗА В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Гусакова Е. А., Городецкая И. В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Введение. Развивающаяся в результате воздействия стрессоров реакция изменяет гомеостаз. Это измененное состояние – аллостаз (греч. «другое состояние») инициирует физиологические реакции, конечный смысл которых – адаптация к стрессу. Они опосредованы активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и вегетативной нервной системы, а также их влиянием на метаболизм и иммунную систему. При нарушении регуляции указанных взаимодействий развивается изнашивание систем, ответственных за адаптацию, т.е. аллостатическая нагрузка может привести к перегрузке [2]. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы (ЙГЩЖ) являются эндокринными посредниками, необходимыми для нормального развития и функционирования каждого позвоночного животного. Механизмы действия ЙГЩЖ позволяют предположить возможность их участия в поддержании гомеостаза при стрессе.

Цель. Определить роль йодсодержащих тиреоидных гормонов в реакции организма на стресс.

Методы исследования. Работа выполнена на 40 белых половозрелых беспородных крысах-самцах массой 220-240 г. Было сформировано 4 группы животных: «Контроль», «Стресс», «Тироксин», «Тироксин+стресс», «Мерказолил», «Мерказолил+стресс». Для воспроизведения эмоционального стресса использовали помещение животных в ситуацию «дефицита времени» (СДВ) [1]. Тиреоидный статус изменяли путем внутрижелудочного введения «Мерказолила» (25 мг/кг 20 дней) или L-тироксина в малых, близких к физиологическим, дозах (1,5–3 мкг/кг 28 дней). Интенсивность стресс-реакции изучали по: 1) изменениям относительной массы надпочечников, тимуса, селезенки (определяли по отношению абсолютной массы органов к массе тела); 2) состоянию слизистой оболочки желудка (СОЖ) (определяли по частоте поражения (отношение числа животных, имевших кровоизлияния в слизистой, к общему количеству крыс в группе, выраженное в %); тяжести (в баллах: 0 –

отсутствие кровоизлияний; 0,5 – гиперемия; 1 – единичные (1 или 2) точечные кровоизлияния; 2 – множественные (более 3) незначительные (площадью около 1 мм^2) кровоизлияния; 3 – множественные значительные (площадью более 1 мм^2) кровоизлияния; 4 – массивные кровоизлияния, охватывающие практически всю поверхность слизистой; индексу поражения (ИП) (произведение частоты и средней тяжести поражения (общее число баллов в группе, деленное на количество животных в ней) в группе, деленное на 100). Уровень ЙГЩЖ – трийодтиронина (T_3) и тироксина (T_4), их свободных фракций ($T_{3\text{св}}$ и $T_{4\text{св}}$), тиреотропного гормона (ТТГ) в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом. Для статистической обработки данных применяли программу «Statistica 10.0» (StatSoftinc., STA999K347156-W). Критическим уровнем значимости был принят $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. СДВ вызвал повышение концентрации ЙГЩЖ в крови: T_3 на 18%, T_4 на 22%, $T_{3\text{св}}$ на 30%, $T_{4\text{св}}$ на 32% ($p < 0,01$ во всех случаях). В ответ на это сывороточный уровень ТТГ снижался на 36% ($p < 0,05$). У животных, подвергнутых СДВ, относительная масса надпочечников увеличивалась на 31% ($p < 0,01$), тимуса и селезенки падала – на 26 и 14% ($p < 0,01$). У 80% животных, перенесших СДВ, наблюдалось поражение СОЖ с тяжестью 1 балл у 20% крыс, 2 у 30% и 3 балла у 30% ($p < 0,01$). ИП был равен 1,36.

Введение мерказолила сопровождалось уменьшением сывороточного уровня ЙГЩЖ: T_3 на 21%, T_4 на 15%, $T_{3\text{св}}$ на 27%, $T_{4\text{св}}$ на 30% и, напротив, возрастанием концентрации ТТГ – на 49% ($p < 0,01$ во всех случаях). У таких крыс наблюдалось падение относительной массы надпочечников на 17% ($p < 0,05$), таковой тимуса и селезенки на 18 и 15% ($p < 0,01$). У 20% гипотиреоидных крыс развивалось повреждение СОЖ с тяжестью 1 балл. ИП был равен 0,04.

СДВ у крыс, получавших мерказолил, не приводил к увеличению концентрации ЙГЩЖ в крови, как у подвергнутых стрессу эутиреоидных животных. Их уровень, напротив, падал: по отношению к группе «Мерказолил» T_3 на 22%, T_4 на 14%, $T_{3\text{св}}$ на 21%, $T_{4\text{св}}$ на 13% ($p < 0,01$ во всех случаях). Несмотря на это, сывороточное содержание ТТГ не увеличивалось, а, напротив, снижалось – на 16% ($p < 0,01$). В результате по отношению к его величине в контроле уровень ЙГЩЖ в крови был ниже: T_3 на 43%, T_4 на 29%, $T_{3\text{св}}$ на 48%, $T_{4\text{св}}$ на 43%, тогда как концентрация ТТГ, напротив, выше – на 33% ($p < 0,01$ во всех случаях). По сравнению с его значением у стрессированных эутиреоидных крыс сывороточное содержание T_3 было меньше на 98%, T_4 на 43%, $T_{3\text{св}}$ на 71%, $T_{4\text{св}}$ на 61% ($p < 0,01$ во всех случаях), ТТГ – больше на 81% ($p < 0,05$).

У гипотиреоидных животных, перенесших СДВ, в отличие от эутиреоидных, подвергнутых такому же воздействию, по отношению к их величинам в группе «Мерказолил» относительная масса надпочечников и селезенки не изменялась ($p > 0,05$), а тимуса незначительно снижалась – на 7% ($p < 0,05$). Повреждение СОЖ развивалось у всех гипотиреоидных животных, перенесших СДВ, то есть на 80% чаще, чем в группе «Мерказолил», и имело тяжесть – 2 балла у 20% крыс, 3 балла у 80%. В результате ИП был наиболее высоким – 2,8. Вследствие описанных изменений по отношению к их

величинам у контрольных животных относительная масса изученных нами стресс-сенситивных органов была меньше: надпочечников на 20% ($p < 0,05$), тимуса на 25% ($p < 0,01$), селезенки на 16% ($p < 0,01$). Поражение СОЖ, напротив, было большим ($p < 0,001$), вследствие чего ИП существенно превышал его величину в группе «Контроль». По сравнению со значениями аналогичных показателей у эутиреоидных крыс, подвергнутых СДВ, относительная масса надпочечников была меньше на 51% ($p < 0,01$), тимуса и селезенки такой же ($p > 0,05$). Повреждение СОЖ, напротив, было большим: частота на 20%, ИП в 2,1 раза, тяжесть поражения также была более значительной ($p < 0,01$).

Введение L-тироксина в избранных нами дозах не изменяло уровень ЙГЩЖ в крови, относительную массу стресс-сенситивных органов, состояние СОЖ ($p > 0,05$).

У крыс, получавших L-тироксин и перенесших СДВ, содержание ЙГЩЖ в крови (за исключением T_3 общего, уровень которого не изменялся) увеличивалось, как и у животных, стрессированных без L-тироксина, но в меньшей степени: по отношению к группе «Тироксин» концентрация T_4 повышалась на 13% ($p < 0,05$), $T_{3св}$ на 15% ($p < 0,01$), $T_{4св}$ на 18% ($p < 0,01$). Сывороточный уровень ТТГ падал, как и в группе «Стресс», но также менее существенно – только на 21% ($p < 0,05$). По сравнению с его величиной в контроле содержание ЙГЩЖ в крови было выше: T_3 на 13% ($p < 0,01$), T_4 на 14% ($p < 0,05$), $T_{3св}$ на 17% ($p < 0,01$), $T_{4св}$ на 20% ($p < 0,05$), ТТГ, напротив, ниже – на 27% ($p < 0,01$). По отношению к значению этих показателей в группе «Стресс» сывороточная концентрация ЙГЩЖ была незначительно меньше: T_3 на 5% ($p < 0,05$), T_4 на 8% ($p < 0,05$), $T_{3св}$ на 13% ($p < 0,01$), $T_{4св}$ на 12% ($p < 0,01$), содержание ТТГ было таким же ($p > 0,05$).

После стресса у крыс, которым вводили L-тироксин, относительная масса стресс-сенситивных органов изменялась в меньшей степени, чем у животных, перенесших СДВ без указанного препарата: по отношению к группе «Тироксин» таковая надпочечников повышалась на 14% ($p < 0,05$), тимуса и селезенки падала – на 13 и 8% ($p < 0,05$). Повреждение СОЖ наблюдалось у 30% животных, однако его тяжесть (1 балл у 20% крыс, 2 у 10%) не отличались от таковых в группе «Тироксин» ($p > 0,05$). ИП составил 0,12. По отношению к контролю относительная масса надпочечников была выше только на 20% ($p < 0,05$), относительная тимуса и селезенки была ниже лишь на 10 и 6% ($p < 0,05$). Частота поражения СОЖ была больше на 20%, ИП в 12 раз. По сравнению с их величиной у подвергнутых СДВ эутиреоидных животных: относительная масса надпочечников была меньше на 11% ($p < 0,05$), тимуса и селезенки, напротив, выше – на 16% ($p < 0,01$) и 8% ($p < 0,05$). Тяжесть поражения СОЖ также была меньше ($p < 0,05$), как и частота – на 50%, и ИП – в 11,3 раза.

Выводы. ЙГЩЖ делают процесс адаптации к действию стрессовых факторов более «совершенным», возможно, за счет ограничения изменений эмоциональной сферы животного, которая имеет значение в формировании аллостатической нагрузки и перегрузки в связи с тем, что ситуация «дефицита времени» вызывает появление отрицательных эмоций, которые, согласно

современным представлениям, являются основным механизмом развития стресс-реакции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусакова Е.А., Городецкая И.В. Способ моделирования эмоционального стресса «дефицита времени» // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2019. – Vol. 105, № 4. – P. 520–530.
2. Agorastos A., Chrousos G. The neuroendocrinology of stress: the stress-related continuum of chronic disease development // Mol. Psychiatry. – 2022. – Vol. 27, № 1. – P. 502–513.

РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ДИНАМИКЕ ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРИТОНИТА

Гусаковская Э. В., Максимович Н. Е., Шигатов Г. О.,
Олизарович М. Ю., Сидоренко Я. Э., Коршун А. Н.,
Валаханович П. Д.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Несмотря на внедрение в клинику современных методов диагностики и лечения распространенного перитонита, значительного снижения летальности при данной патологии не наблюдается. Так, общая летальность при распространённом перитоните составляет 27,8-53,4%, а при развитии септического шока и полиорганной недостаточности достигает 85-90% [1-4]. Недостаточность знаний о патогенезе воспалительного процесса в брюшной полости может являться основополагающим фактором неэффективности проводимой терапии.

Цель. Изучение развития окислительного стресса в динамике острого экспериментального перитонита.

Методы исследования. Эксперименты выполнены на 36 лабораторных крысах-самцах, разделенных на 2 равные серии, которым внутрибрюшинно из расчета 0,6 мл/100 г вводили: 1-й серии (контроль) – 0,85 %-й раствор хлорида натрия, 2-й серии – 15 % каловую взвесь (экспериментальный перитонит). Исследования по изучению уровня нитрит/нитратов (NO_x), показателей окислительного стресса, состояния эндотелия кровеносных сосудов проводили спустя полсуток, 1 сутки и 3 суток перитонита. Определение $[\text{NO}_x]$ осуществляли в плазме крови и в перитонеальной жидкости, с использованием реактива Грисса и кадмия на спектрофотометре SOLAR PV 1251C [5]. Активность окислительного стресса оценивали по концентрации вторичного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (MDA) и показателя антиоксидантной защиты – восстановленного глутатиона (GSH) в плазме крови и в перитонеальной жидкости. Содержание MDA определяли путем измерения экстинкции раствора, содержащего триметилловый комплекс

MDA с тиобарбитуровой кислотой, окрашенный в розовый цвет, а определение [GSH] – с использованием трихлоруксусной кислоты и реактива Элмана, на основании проведения спектрофотометрии (SOLAR PVC 1251) [6]. Состояние эндотелия кровеносных сосудов оценивали путем подсчета количества циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) крови в гемоцитометре [7]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США) после проверки на нормальность распределения с использованием непараметрического критерия Краскелла-Уоллиса и апостериорных сравнений по критерию Данна; данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ и UQ – значения нижнего и верхнего квартилей, соответственно.

Результаты и их обсуждение. Развитие острого экспериментального перитонита у крыс характеризовалось повышением уровня NO_x в плазме крови и перитонеальной жидкости спустя полсуток – в 5,6 раза ($p < 0,01$) и в 12,2 раза ($p < 0,01$), спустя 1 сутки – в 6,6 раза ($p < 0,01$) и в 15 раз ($p < 0,01$), спустя 3 суток – в 4 раза ($p < 0,01$) и в 9,9 раза ($p < 0,01$), соответственно, указывая на существенное увеличение продукции NO индуцируемой NO-синтазой. Также наблюдалось повышение концентрации продукта перекисного окисления липидов – MDA в плазме крови и перитонеальной жидкости спустя полсуток экспериментального перитонита – в 4,7 раза ($p < 0,01$) и в 9,8 раза ($p < 0,01$), спустя 1 сутки – в 6,1 раза ($p < 0,01$) и в 11,8 раз ($p < 0,01$), а спустя 3 суток – в 4,4 раза ($p < 0,01$) и в 9 раз ($p < 0,01$), соответственно, наряду с уменьшением содержания показателя антиоксидантной защиты GSH в плазме крови и перитонеальной жидкости спустя полсуток – в 2,3 раза ($p < 0,01$) и в 3,3 раза ($p < 0,01$), спустя 1 сутки – в 3,7 раза ($p < 0,01$) и в 5,8 раза ($p < 0,01$), спустя 3 суток – в 2,4 раза ($p < 0,01$) и в 3,1 раза ($p < 0,01$), соответственно, что указывает на развитие окислительного стресса. Кроме того, у крыс с перитонитом отмечено увеличение числа ЦЭК в крови как показателя повреждения сосудистого эндотелия спустя полсуток, 1 сутки и 3 суток – в 3,4 раза ($p < 0,001$), в 6,6 раза ($p < 0,001$) и в 6,4 раза ($p < 0,001$), по сравнению со значением показателя в контрольной группе.

Выводы. Течение острого экспериментального перитонита у крыс характеризовалось высокой активностью окислительного стресса с увеличением процессов липопероксидации и ослаблением антиоксидантной защиты. Одновременное возрастание содержания нитритов/нитратов, косвенно свидетельствующее об уровне продукции NO – молекулы со свободнорадикальными свойствами, может являться одной из причин окислительного стресса, а повреждение эндотелия кровеносных сосудов – его следствием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Керимов Э.Я., Костырной А.В., Керимов Э.Э. Послеоперационный перитонит: практический взгляд на некоторые вопросы / Э. Я. Керимов, // Современ. проблемы науки и образования. – 2017. – № 6. – С. 2–6.
2. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р. Сепсис: классификация, клинко-диагностическая концепция и лечение: практическое руководство. – М. : МИА, 2013. – 360 с.

3. Budamala S. et al. Evaluation of various prognostic factors in perforative peritonitis management // J. of Evidence Based Medicine and Healthcare. – 2015. – Vol. 2, № 3. – P. 6027–6035.
4. Todd O.A., Fidel P.L. Jr., Harro J.M. et al. Candida albicans augments Staphylococcus aureus virulence by engaging the Staphylococcal agr quorum sensing system // mBio. – 2019. – Vol. 10, № 3. – 910–919.
5. Granger D.L. et al. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction // Methods Enzymol. – 1996. – Vol. 268. – P. 142–151.
6. Rice-Evans C.A. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research. – London, Elsevier, 1991. – 291 p.
7. Hladovec J., Rossman P. Circulating endothelial cells isolated together with platelets and the experimental modification of their counts in rats // Thromb. Res. – 1973. – Vol. 3. – P. 665–674.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЭНДОТЕЛИНА-1 У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Давыдчик Э. В., Мониц А. С., Ярошевич Е. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Ишемическая болезнь сердца (ИБС), сахарный диабет (СД) 2 типа в настоящее время являются глобальной медико-социальной проблемой, несмотря на успехи как фундаментальной, так и практической медицины [1]. Сочетание ИБС и СД 2 типа характеризуется многососудистым диффузным атеросклеротическим поражением коронарного русла с вовлечением дистальных отделов, сложной морфологией стенозов, слабой выраженностью коллатерального кровотока, малым диаметром артерий, частым поражением ствола левой коронарной артерии, а кроме того высокой частотой рестенозирования в результате избыточного неинтимального ответа и нарушений эндотелиальной функции при СД 2 типа [3]. Основным звеном патогенеза эндотелиальной дисфункции является нарушение синтеза эндотелиальных факторов в ответ на повреждение эндотелиоцитов. Одними из важнейших эндотелиальных факторов являются оксид азота и эндотелин-1, дисбаланс которых приводит к дисфункции эндотелия [2,4,6,]. Интенсивность образования и поступления эндотелина-1 в кровь отчасти зависит от варианта гена, определяющего выработку данного фактора [4,5]. Ген эндотелина-1 (EDN1), кодирующий эндотелин-1, находится на хромосоме 6p24-23. Предполагают, что однонуклеотидный полиморфизм этого гена, приводящий к замене аминокислот лизина (Lys) на аспарагин (Asn) в положении 198 полипептидной цепи, обуславливает белковую структуру и активность фермента [3].

Цель. Изучить частоту встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма Lys198Asn гена эндотелина-1 у пациентов с хронической

ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом 2 типа, а также у практически здоровых лиц.

Методы исследования. Обследовано 108 пациентов. 1 группа – пациенты с наличием хронической ИБС и СД 2 типа (n=78). Средний возраст пациентов 1 группы – 59 (56;61) лет. 2 группа – относительно здоровые пациенты без ИБС и СД 2 типа (n=30). Средний возраст пациентов – 54 (52;56) года. Критерии исключения: наличие СД 1 типа, почечной и печеночной недостаточности, заболеваний щитовидной железы с нарушением функции, острого коронарного синдрома.

Определение полиморфизма Lys198Asn гена EDN1 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 проводили на амплификаторе Rotor Gene-Q («Qiagen», Германия).

Статистический анализ проводился с помощью непараметрических методов в программе Statistica 10.0. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В общей выборке пациентов частоты генотипов полиморфизма Lys198Asn гена EDN1 были следующими: гомозиготный генотип LysLys был выявлен у 60 (55,6%) пациентов, гетерозигота LysAsn – у 37 (34,2%), гомозигота AsnAsn – у 11 (10,2%) пациентов. Частота аллели Lys составила 72,7%, аллели Asn – 27,3%.

По результатам генотипирования пациентов 1 группы по полиморфизму Lys198Asn гена EDN1 получены следующие результаты: гомозиготный генотип LysLys выявлен у 41 (52,6%) пациента, генотип AsnAsn – у 11 (14,1%), гетерозиготный генотип LysAsn – у 26 (33,3%). Частота встречаемости аллели Lys составила 69,2%, аллели Asn – 30,8%.

Гомозиготный генотип LysLys полиморфизма Lys198Asn гена EDN1 выявлен у 19 (63,3%) пациентов 2 группы, гетерозиготный генотип LysAsn – у 11 (36,7%) пациентов. Гомозиготный генотип AsnAsn у пациентов 2 группы не выявлен. Аллель Lys встречалась в 81,7%, аллель Asn – в 18,3%.

Выводы. В результате исследования установлено распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма Lys198Asn гена EDN1 у пациентов с наличием хронической ИБС в сочетании с СД 2 типа, а также у практически здоровых лиц. При выполнении сравнительного анализа частот генотипов и аллелей полиморфизма Lys198Asn гена EDN1 выявлены достоверные различия между группами пациентов по гомозиготному генотипу AsnAsn.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калугина О.Ю. Влияние сопутствующего сахарного диабета 2 типа на отдаленные результаты коронарного стентирования // Медицина и образование в Сибири. – 2014. – № 4. – С. 4–10.
2. Котюжинская С.Г., Уманский Д.А. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе сосудистых катастроф при сердечно-сосудистых заболеваниях // Запорожский медицинский журнал. – 2017. – Т. 19, № 4 (103). – С. 525–530.

3. Феоктистова В.С. и др. Полиморфизм генов эндотелиальной NO-синтазы, эндотелина-1 и параоксоназы -1 как фактор риска кардиального синдрома Х у женщин // Проблемы женского здоровья. – 2012. – Т. 7, № 3. – С. 24–29.
4. Ягода А.В., Боева О.И., Щеглова Е.В. Полиморфизм гена эндотелина-1 у больных ишемической болезнью сердца // Новые технологии, методы диагностики, лечения и профилактики. – 2007. – № 1 (8). – С. 78–81.
5. Gozhenko A., Kovalevskaya L., Kotiuzhynskaya S. et al. Atherosclerosis: new achievements and failures // J. of Health Sciences. – 2014. – Vol. 4, № 4. – P. 101-114.
6. Habib S., Ali A. Biochemistry of nitric oxide // Ind. J. Clin. Biochem. – 2011. – Vol. 26. – P. 3–17.

ПОЛИМОРФИЗМЫ С677Т И А1298С ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Давыдчик Э. В., Мартинкевич О. Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Ключевым ферментом фолатного цикла является метилентетрагидрофолатредуктаза (МТНFR), который переводит фолиевую кислоту в ее активную форму 5-метилтетрагидрофолат [1,2]. Фермент МТНFR относится к группе флавопротеинов и состоит из двух одинаковых субъединиц. Ген МТНFR локализуется на коротком плече хромосомы 1 (1p36.3) и состоит из 11 экзонов [3].

Цель. Изучить распространенность генотипов и аллелей полиморфизмов С677Т, А1298С гена МТНFR у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС) и сахарным диабетом (СД) 2 типа, а также у практически здоровых лиц.

Методы исследования. Обследовано 95 пациентов. 1 группа – 65 пациентов с наличием хронической ИБС и СД 2 типа. 2 группа – 30 относительно здоровых пациентов без ИБС и СД 2 типа. Определение полиморфизмов С677Т, А1298С гена МТНFR осуществляли с помощью метода полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени с применением наборов реагентов производства «Литех», РФ. Статистический анализ проводился в программе Statistica 10.0. Значения считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ распределения частот генотипов по полиморфизму С677Т гена МТНFR показал, что в группе 1 гомозигота СС выявлена в 35,4%, гетерозигота СТ – в 41,5%, генотип ТТ – в 23,1%. Аллель С встречалась в 56,2%, аллель Т – в 43,8%. Гомозигота СС выявлена у 50% пациентов группы 2, генотип СТ – в 46,7%, гомозигота ТТ – в 3,3%. Частотное распределение аллелей в группе 2 составило: С-аллель – 73,3%, аллель Т – 26,7%.

По результатам генотипирования пациентов 1 группы по полиморфизму A1298C гена MTHFR получены следующие результаты: гомозиготный генотип AA составил 40%, генотип CC – 21,5%, гетерозигота AC – 38,5%. Частота встречаемости аллели А составила 59,2%, аллели С – 40,8 %. Проведенное генотипирование полиморфизма A1298C гена MTHFR выявило распределение генотипов AA и AC как 60% и 40% у пациентов группы 2. Гомозиготный генотип CC в группе 2 не выявлен. Аллель А составила 80%, аллель С – 20%.

Выводы. В результате проведенного исследования установлена распространенность генотипов и аллелей полиморфизмов C677T и A1298C гена MTHFR у пациентов с хронической ИБС и СД 2 типа, а также в контрольной группе. При выполнении сравнительного анализа частот генотипов и аллелей полиморфизма C677T гена MTHFR выявлены достоверные различия между группами по генотипу TT, аллелям С и Т. Достоверно чаще встречался генотип CC полиморфизма A1298C гена MTHFR у пациентов с хронической ИБС и СД 2 типа по сравнению с пациентами контрольной группы. Достоверные различия получены также и по аллелям А и С между исследуемыми группами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wotherspoon F. et al. Homocysteine, endothelial dysfunction and oxidative stress in type 1 diabetes mellitus // Br J Diabetes Vasc Dis. – 2003. – Vol. 3, № 5. – P. 334–405.
2. Tsai M.Y. et al. Polygenic Association with Total Homocysteine in the Post Folic Acid Fortication Era: the CARDIA Study // Mol.Genet. Metab. – 2009. – Vol. 98 (1–2). – P. 181–186.
3. Quere I. et al. Red blood cell methylfolate and plasma homocysteine as risk factors for venous thromboembolism: a matched case-control study // Lancet. – 2002. – Vol. 359 – P. 747–752.

СИСТЕМНЫЙ И ТКАНЕВОЙ КИСЛОРОДНЫЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ ПРИ КАРОТИДНОЙ ЭНДАРТЕРАТОМИИ

Дорохин К. М.¹, Балла А. А.², Орехов С. Д.¹, Стасевич Е. В.¹

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

²Гродненская университетская клиника, Гродно, Беларусь

Введение. Атеросклеротическое поражение экстракраниальных артерий является причиной развития инсульта в 30% случаев [1, 2]. Эндovasкулярная и хирургическая реваскуляризации брахиоцефальных артерий доказали свою эффективность в профилактике и лечении пациентов с поражением каротидных артерий. При выполнении эндартерэктомии важно контролировать системный кислородный статус. А учитывая, что на этапе выключения кровотока на стороне операции может развиваться инсульт, необходим интраоперационный мониторинг уровня регионарной сатурации (rSO₂), то есть церебральной оксигенации (ЦО). Актуальность работы заключается в неоднозначной оценке

эффективности мониторинга системного и тканевого кислородного статуса при каротидной эндартерэктомии [3, 4].

Цель. Изучить параметры системного кислородного статуса и изменения ЦО пораженной и контрлатеральной сторон на различных этапах эндартерэктомии.

Методы исследования. Для достижения поставленной цели проведено ретроспективное когортное исследование. Критерием включения служил факт проведенной операции – каротидной эндартерэктомии. Показаниями к оперативному вмешательству явились: сужение просвета сосуда на 70 и более процентов, без клинических симптомов; стеноз сонных артерии на 50% и более с клиническими проявлениями; транзиторные ишемические атаки. Критерием исключения послужил факт отсутствия в медицинской документации данных об интраоперационном кислородном статусе пациентов. Проведен ретроспективный анализ 39 протоколов анестезий пациентов сосудистых отделений Гродненской университетской клиники и Гродненского клинического кардиологического центра, которым в 2021 году выполнена каротидная эндартерэктомия по поводу атеросклеротического поражения сонных артерий. Возраст обследованных от 51 до 78 лет и в среднем составил $63,74 \pm 4,6$ года. Среди них 34 пациента мужского пола (87,18%) и 5 женского (12,82%). В ходе операции проводился мониторинг системной и регионарной оксигенации при помощи анализаторов GEM Premier 3000 и INVOS-4100 («Somanetics», США). В качестве показателя системной оксигенации использовали PO_2 артериальной крови (PaO_2). Изучали корреляцию PaO_2 (мм Hg) и rSO_2 (%) у пациентов первой группы (G1) с меньшей регионарной сатурацией (56 [42;70]) и 2 группы (G2) с большей rSO_2 (79 [66;92]). Для мониторинга регионарной оксигенации у пациентов определяли rSO_2 лобно-височной области на стороне поражения (ЦОп). У 17 оперированных (43,6%) одновременно измерялся этот показатель на контрлатеральной стороне (ЦОк). Для анализа использовали показатели PaO_2 и ЦО в наиболее значимые этапы операции. 1 PaO_2 , ЦО1 – до разреза кожи, 2 PaO_2 , ЦО2 – после пережатия стенозированной артерии, 3 PaO_2 , ЦО3 – спустя 1-2 минуты после возобновления кровотока в причинной артерии и в конце операции (4 PaO_2 , ЦО4). Выкопированные из медицинской документации данные подвергнуты статистической обработке с использованием программы «Statistica 10.0». Результаты представлены Me – медиана, 25 и 75 квартиль. Достоверность оценивали с использованием непараметрического критерия Sign Test. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Периоперационных критических событий (инфаркт, инсульт), как и летальности до 30 дней, у обследованных не было. Парциальное давление кислорода у пациентов двух групп в ходе операции было высоким. Только в начале операции отмечалась достоверная разница между G1 и G2 (1 PaO_2 – 227 [190;230] и 185 [106;205]; $p=0,03$). При пережатии а. carotis показатели достоверно не различались: G1 172 [157;185] и G2 90 [86,8;98,6]; $p=0,14$. После восстановления кровотока G1 186,5 [184;211] и

G2 160 [150;170]; $p=0,07$, а в конце операции G1 121,5 [95,6;194] и G2 116,5 [98,9;184,5]; $p=0,96$.

Степень насыщения гемоглобина кислородом в сосудистом русле коры головного мозга до начала операции на пораженной стороне у всех пациентов была в нормальных пределах (ЦОп1- Ме 70,5 [64,5;76]) и после пережатия сонной артерии достоверно не изменялась (ЦОп2 – Ме 71,5 [61,5;80,5]; $p=0,86$). При возобновлении кровотока наблюдалось повышение регионарной сатурации, но оно не достигало уровня значимости (ЦОп3 – Ме 72,5 [63,5;81]; $p=0,059$). В конце операции изменения кислородного статуса по отношению к исходному уровню также не наблюдалось (ЦОп4 – Ме 74 [69,5;82,5]; $p=0,123$). Таким образом, признаков нарушения перфузии зафиксировано не было. Исходный кислородный статус коры головного мозга на пораженной стороне в ходе и непосредственно после эндартерэктомии не менялся.

Сравнение ЦО пораженной и контралатеральной сторон выявил, что перед операцией они достоверно не различались (ЦОп1- Ме 68 [62;72] и ЦОк1 – Ме 71 [68;75]; $p=0,21$). После прекращения кровообращения по причинной артерии разница rSO_2 между двумя сторонами становилась высоко достоверной (ЦОп2- Ме 64 [57;71] и ЦОк2 – Ме 73 [71;75]; $p=0,004$) и сохранялась таковой после восстановления кровотока (ЦОп3 – Ме 66 [59;73] и ЦОк3 – Ме 73 [69;77]; $p=0,004$). В конце операции различие в регионарной оксигенации двух сторон теряло достоверность (ЦОп4 – Ме 70 [65;74] и ЦОк4 – Ме 74 [70;78]; $p=0,121$). Из вышесказанного видно, что достоверная разница ЦО контралатеральных сторон выявляется на этапах прекращения-возобновления кровообращения в пораженной артерии.

Анализ динамики rSO_2 на здоровой стороне показывает, что временное пережатие пораженной сонной артерии приводит к достоверному увеличению ЦО (ЦОк1 – Ме 71 [68;75] и ЦОк2 – Ме 73 [71;75]; $p=0,027$). После восстановления кровотока сохраняется достоверная разница между показателями регионарной сатурации (ЦОк1 – Ме 71 [68;75] и ЦОк3 – Ме 73 [69;77]; $p=0,024$). В момент окончания операции разница в кислородном статусе становится недостоверной (ЦОк4 – Ме 73 [70;78]; $p=0,08$).

Выводы. Системный кислородный статус в ходе эндартерэктомии сохраняется на высоком уровне, что обусловлено проводимой ИВЛ. Корреляция между PaO_2 и rSO_2 выявлена только в начале операции. Кислородный статус коры головного мозга на стороне поражения в ходе эндартерэктомии не меняется, что может свидетельствовать об адекватности коллатерального кровотока и отсутствии нарушения перфузии. Достоверные различия rSO_2 контралатеральных сторон на этапах прекращения-возобновления кровообращения в пораженной артерии демонстрируют активизацию компенсаторных антигипоксических механизмов, что подтверждается динамикой регионарной сатурации на здоровой стороне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л.А., Парцхалаишвили З.К., Сигаев И.Ю. и др. Современные подходы к диагностике и хирургическому лечению брахиоцефальных артерий у больных ишемической болезнью сердца // Вестник РАМН. – 2012. – № 10. – С. 4–11.
2. Карпенко А.А., Кужугет Р.А., Каменская О.В. и др. Прогностическое значение церебральной оксигенации и ретроградного давления при каротидной эндартерэктомии // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2016. – Т. 20, № 3. – С. 95–103.
3. Jeevarethinam A. Usefulness of carotid plaques as redpictors of obstructive coronary artery disease and cardiovascular events in asymptomatic individuals with diabetes mellitus // Am. J. Cardiol. – 2018. – Vol. 121, № 8. – P. 910–916.
4. Hametner C., Stanarcevic P., Stampfl S. 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.

РЕГУЛЯЦИЯ ИОНАМИ КАЛЬЦИЯ И ФЛАВОНОИДАМИ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ

Заводник И. Б., Коваленя Т. А., Лапшина Е. А., Ильич Т. В.,
Чёрная М. Н.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

Введение. Митохондрии, динамичные и пластичные клеточные органеллы, биохимически обеспечивающие энергосистему клетки [3]. Адаптивные функциональные перестройки митохондрий обеспечивают клеточный гомеостаз и сопряжены с изменениями митохондриального метаболизма, морфологии, подвижности, локализации в цитоплазме. Ансамбль митохондрий (митохондриом) в клетке функционирует как интегрированная сеть, митохондрии перемещаются вдоль микротрубочек внутри клеток и изменяет свою морфологию путем слияния и деления, эти процессы регулируются митохондриальным Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_m$) [2]. Митохондрии выполняют функцию основного сенсора, регулятора и депо ионов кальция, интегратора и декодера кальциевого сигнала [1, 4]. Специфичность клеточных кальциевых сигналов контролируется многочисленными ионными каналами, насосами и обменниками, регулируемыми потоки ионов Ca^{2+} в клетке, центральную роль в гомеостазе клеточного Ca^{2+} играют две депонирующие органеллы: эндоплазматический ретикулум и митохондрии. Нарушения Ca^{2+} гомеостаза и митохондриальной Ca^{2+} сигнализации имеют определяющее значение в развитии нарушений митохондриальной активности и морфологии, играют важную роль в патобиохимических механизмах онкологических, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний [5]. Известен фундаментальный молекулярный механизм, обеспечивающий перенос ионов кальция через внутреннюю митохондриальную мембрану, который включает низкоаффинный электрогенный митохондриальный кальциевый унипортер (mitochondrial Ca^{2+} -

uniporter, MCU или трансмембранный белок CCDC109A), антипортеры $\text{Ca}^{2+}/n\text{Na}^{+}$ (NCLX) – и $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ (LETM1), катализирующие экспорт ионов Ca^{2+} , а также митохондриальный рианодиновый рецептор и образование пор высокой проницаемости (MPTP, mitochondrial permeability transition pore) [4].

Цель. Выяснить механизмы регуляции ионами кальция структуры и функциональной активности изолированных митохондрий печени крыс и проапоптотического процесса формирования MPTP. Мы морфометрически оценили ультраструктурные нарушения митохондрий индуцируемые ионами кальция и сопоставили эти нарушения с процессом формирования MPTP, изменением респираторной активности митохондрий. Мы также изучили возможность модулировать Ca^{2+} -зависимые эффекты в митохондриях флавоноидами, которые принадлежат к различным классам (флаванон нарингенин, его гликозид нарингин, водорастворимый флаванол (флаван-3-ол) катехин).

Методы исследования. В работе использовали: сахарозу, трис(гидроксиметил)аминометан (Трис-НСl), нарингенин, нарингин, катехин, этиленгликоль-бис (2-аминоэтиловый эфир)-N,N,N', N'-тетрауксусная кислота (ЭГТА), аденозиндифосфат (АДФ), кальция хлорид, Рутений красный, производства Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, США или Steinheim, Германия) или АО Реахим (Россия). Митохондрии изолировали методом дифференциального центрифугирования [6]. Печень крыс-самцов линии Wistar (120-140 г) быстро извлекали на холоду (4°C), осушали, взвешивали и гомогенизировали в гомогенизаторе (тефлон-стекло) (600 об/мин, 1 мин) в охлажденной среде выделения, содержащей 0,25 М сахарозы, 0,02 М Трис-НСl и 0,001 М ЭДТА, pH 7,2, при 4°C . Для осаждения митохондрий полученный супернатант центрифугировали (8500 g, 10 мин, 4°C), митохондриальный осадок ресуспендировали в среде, не содержащей ЭДТА (0,15 М КCl, 0,02 М $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, pH 7,4). Все манипуляции с животными, выполняемые в эксперименте, были одобрены Этическим комитетом Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси. Респираторную активность изолированных митохондрий (0,5 мг белка/мл) регистрировали, используя электрод Кларка (Hansatech Instruments Limited, Великобритания) при постоянном легком перемешивании в среде 0.125 М КCl, 0.05 М сахарозы, 0.01 М Tris-НСl, 0.0025 М $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, 0.005 М MgSO_4 , pH 7,2, 25°C . Ca^{2+} -индуцируемое набухание митохондрий печени крыс регистрировали как изменение величины оптической плотности суспензии митохондрий (0,5 мг белка/мл) на длине волны 520 нм. Результаты экспериментов выражали как среднее значение $S \pm \text{SEM}$. Различия между значениями параметров, измеренных в группах, анализировали с помощью t-критерия Стьюдента или непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистический анализ проводили с использованием прикладных программ STATISTICA 6.0. Уровень значимости был установлен на уровне $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Митохондрии обладали типичной ортодоксальной структурой с выраженной внутренней мембраной и кристами. В присутствии экзогенного Ca^{2+} (20-60 мкМ) выражено возрастала гетерогенность митохондрий по размерам и электронной плотности,

большинство органелл характеризовались набухшим электронно-светлым матриксом, удлинёнными кристами и уменьшенным их числом, были значительно крупнее основной популяции контрольных митохондрий и лишены нативной структуры внутренней мембраны, вплоть до ее отслоения, часть митохондрий отличалась несколько более электронно-плотным матриксом (конденсированные митохондрии). Индуцируемые ионами экзогенного кальция ультраструктурные нарушения коррелировали с эффективным ингибированием респираторной активности митохондрий печени крыс и формированием пор высокой проницаемости (МРТР).

Митохондриальный Ca^{2+} является ключевым регулятором клеточного энергетического метаболизма благодаря Ca^{2+} -зависимой регуляции митохондриальных ферментов. В среде, не содержащей ЭГТА, ионы экзогенного кальция (10-50 мкМ) эффективно ингибировали респираторную активность изолированных митохондрий печени крыс: скорость АДФ-стимулируемого потребления кислорода V_3 значительно уменьшалась, скорость субстрат-зависимого потребления V_2 возрастала, коэффициент дыхательного контроля V_3/V_2 уменьшался до 1, коэффициент фосфорилирования АДФ/О уменьшался до 0, свидетельствуя о полном нарушении сопряжения окисления и фосфорилирования, что подтверждают наши предыдущие наблюдения в случае глутамат-энергизованных митохондрий. Параллельно, используемые концентрации Ca^{2+} индуцировали выраженное набухание митохондрий, регистрируемое как изменение светорассеяния митохондриальной суспензии в результате формирования пор высокой проницаемости.

Флавоноиды катехин (10-25 мкМ), нарингенин, но не гликозид нарингин, ингибировали респираторную активность митохондрий *in vitro*, уменьшая скорость потребления кислорода V_3 , коэффициенты акцепторного контроля (V_3/V_2) и фосфорилирования (АДФ/О). Подобным образом, предварительное внесение флавоноидов (10-25 мкМ), нарингенина, нарингина, катехина, в митохондриальную суспензию дозозависимо стимулировало процесс МРТ в присутствии ионов Ca^{2+} . Рутений красный ингибирует формирование пор высокой проницаемости. Мы предполагаем, что эффект флавоноидов опосредован стимулированием Ca^{2+} унипортера.

Выводы. Таким образом, митохондриальный захват (и выброс) ионов Ca^{2+} выполняют несколько функций: регуляция локального уровня ионов Ca^{2+} в цитоплазме, регуляция скорости дыхания и продукции АТФ, проапоптотическое формирование МРТР, Ca^{2+} – зависимая секреция. Индуцируемые ионами экзогенного кальция ультраструктурные нарушения коррелировали с эффективным ингибированием респираторной активности митохондрий печени крыс и формированием пор высокой проницаемости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заводник И.Б. Митохондрии, кальциевый гомеостаз и кальциевая сигнализация // Биомедицинская химия. – 2016. – Т. 62, № 3. – С. 311–317.
2. Fatiga F.F., Wang L.-J., Hsu T. et. al. Miro1 functions as an inhibitory regulator of MFN at elevated mitochondrial Ca^{2+} levels // Journal of Cellular Biochemistry. – 2021. – Vol. 122, № 12. – P. 1848–1862.

3. Folmes C.D.L., Dzeja P.P., Nelson T.J. et. al. Mitochondria in control of cell fate // *Circulation Research*. – 2012. – Vol. 110, № 4. – P. 526–529.
4. Garbincius J. F., Elrod J.W. Mitochondrial calcium exchange in physiology and disease // *Physiological Reviews*. – 2021. – Vol. 102, № 2. – P. 893–992.
5. Gilbert G., Demydenko K., Dries E. et. al. Calcium Signaling in Cardiomyocyte Function // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. – 2020. – Vol. 12, № 3. – P. 1–29.
6. Johnson D., Lardy H. Isolation of liver or kidney mitochondria // *Methods in Enzymology*. – 1967. – Vol. 10. – P. 94–101.
7. Lagoa R., Graziani I., López-Sánchez C. et. al. Complex I and cytochrome c are molecular targets of flavonoids that inhibit hydrogen peroxide production by mitochondria // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2011. – Vol. 1807, № 12. – P. 1562–1572.

ВЛИЯНИЕ КОРВИТИНА НА ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ КРОВИ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Засимович В. Н.¹, Иоскевич Н. Н.²

¹Брестская областная клиническая больница, Брест, Беларусь

²Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Одной из основных причин недостаточной эффективности реконструктивно-восстановительных сосудистых вмешательств при облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей является развитие реперфузионно-реоксигенационного синдрома (РРС) [1]. РРС пролонгирует и усугубляет ишемию ревазуляризированных тканей вплоть до необходимости ампутации нижней конечности, не смотря на технический успех операции [2]. Одним из важных звеньев развития ишемии-реперфузии являются нарушения системы газотрансмиттеров (ГТ) и их влияние на кислородтранспортную функцию (КТФ) и прооксидантно-антиоксидантное состояние (ПАС) крови [3]. В последние годы появились сообщения об использовании биофлавоноида корвитин для метаболической защиты головного мозга и миокарда от реперфузионных повреждений [4].

Цель. Изучить влияние лекарственного средства корвитин на содержание ГТ монооксида азота (NO) и сероводорода (H₂S) в венозной крови предплечья после ревазуляризации нижней конечности при хронической атеросклеротической окклюзии поверхностной бедренной артерии (ПБА).

Методы исследования. В исследование включены 118 пациентов-мужчин. Из них 15 без проявлений атеросклероза составили контрольную группу, 103 – имели хроническую атеросклеротическую окклюзию ПБА. Средний возраст здоровых лиц 61,08±1,14 года, пациентов с атеросклерозом – 60,64±1,12 года. По классификации хронической артериальной недостаточности нижних конечностей (ХАННК) Fontaine-Покровского наблюдения разделились: ПБ стадия диагностирована в 31 случае с лодыжечно-плечевым индексом (ЛПИ) 0,55±0,03; III стадия – в 44 (ЛПИ 0,44±0,03); IV – в

28 (ЛПИ $0,33 \pm 0,04$). Для реваскуляризации применялось однотипное хирургическое вмешательство – ретроградная эверсионно-петлевая эндартерэктомия из ПБА. 52 пациента I группы получали традиционное медикаментозное сопровождение. Пациентам II группы ($n=51$), дополнительно, за 20 минут до восстановления кровообращения и далее дважды в сутки, по 8 включительно, проводилась внутривенная инфузия 500 мг корвитина. У исследуемых перед операцией, на 3 и 8 сутки после нее производился забор крови из вены локтевого сгиба для определения содержания ГТ. Продукция NO определялась с помощью реактива Грисса по суммарному количеству нитрат/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) на спектрофотометре PV1251С «СОЛАР» (Беларусь) при длине волны 540 нм по интенсивности окраски. Концентрация H_2S в плазме крови определялась спектрофотометрическим методом, основанном на реакции сульфид-аниона с кислым раствором р-фенилендиамина в присутствии хлорного железа.

Результаты и их обсуждение. По литературным данным высокая концентрация NO в плазме характерна для тяжелого патологического процесса в организме [5]. По-видимому, к таковому следует отнести и синдром ишемии-реперфузии нижней конечности. У пациентов с атеросклеротической окклюзией ПБА значения $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме венозной крови, оттекающей от предплечья до реваскуляризации нижней конечности, увеличивались пропорционально стадии ХАННК по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,05$). При IIБ стадии увеличение составило 9,2%; при III – 42,3% (рис. 1); при IV – 50,1%.

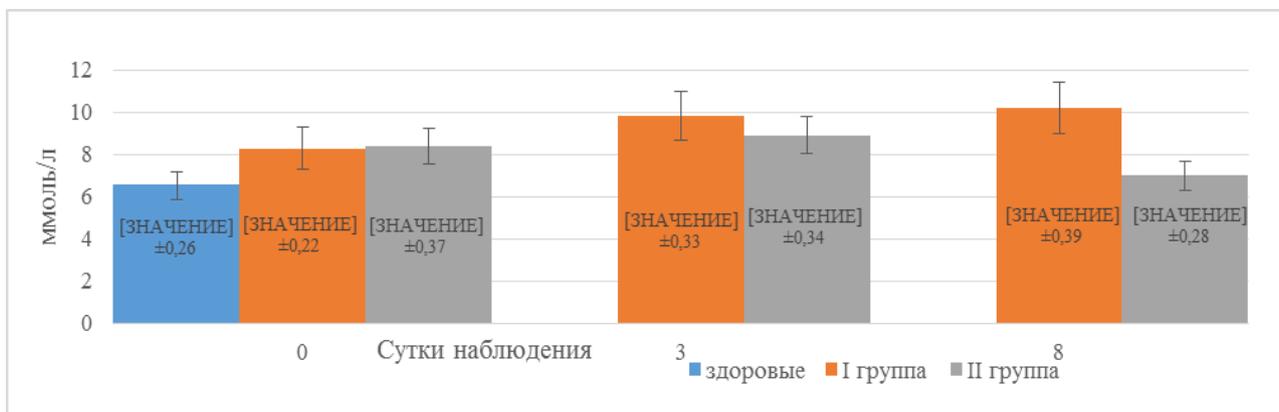


Рисунок 1. – Содержание $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в крови вены локтевого сгиба пациентов с ХАННК III стадии до и после реваскуляризации при традиционном медикаментозном сопровождении (I группа) и применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

Изменения содержания сероводорода в плазме венозной крови в ишемический период были также существенными: увеличение по отношению к здоровым лицам ($p < 0,05$) при IIБ стадии составило 9,2%; при III – 15,1% (рис. 2); при IV – 21,1%. Выявленные закономерности позволяют использовать показатели содержания ГТ в плазме крови как важные диагностические и прогностические критерии развития РРС.

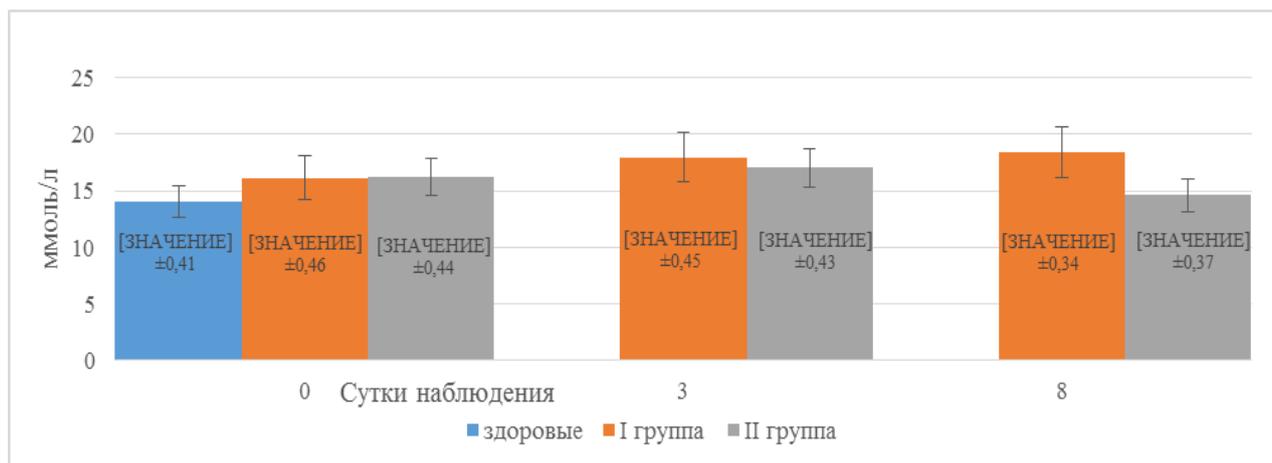


Рисунок 2. Содержание H_2S в крови вены локтевого сгиба пациентов с ХАННК III стадии до и после ревазуляризации при традиционном медикаментозном сопровождении (I группа) и применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

На 3 сутки у пациентов I группы значения NO_3^-/NO_2^- увеличивались по отношению к исходным ($p < 0,05$): при ПБ стадии на 23,8%, при III (рис. 1) – на 18,5%, при IV – на 15,7%. К окончанию раннего послеоперационного периода содержание NO_3^-/NO_2^- продолжило рост. Увеличение к дооперационным значениям составило при ПБ стадии уже 28,9%, при III – 23,0%, при IV – 19,8%. Динамика показателей H_2S имела те же закономерности ($p < 0,05$), хотя рост был не столь впечатляющим. У пациентов II группы увеличение к дооперационным значениям содержания в плазме крови NO_3^-/NO_2^- и H_2S на 3 сутки было менее значимым, чем в I группе, но достоверным ($p < 0,05$). А к окончанию раннего послеоперационного периода значения обоих ГТ не только вернулись к исходным, но и не существенно отличались от соответствующих в группе здоровых лиц и между наблюдениями с различной стадией ХАННК ($p > 0,05$).

Выводы. Таким образом, восстановление кровообращения в нижних конечностях при хронической атеросклеротической окклюзии ПБА приводит к усугублению нарушений системы ГТ, возникших при ХАННК. Выраженность повышения концентрации ГТ находится в прямой зависимости от стадии исходной ХАННК. Применение корвитина способствует нормализации показателей ГТ в системном кровотоке к окончанию раннего послеоперационного периода. Полученные результаты обосновывают применение корвитина для коррекции нарушений кислородного гомеостаза, развивающихся после ревазуляризации длительно ишемизированных нижних конечностей при облитерирующем атеросклерозе их артерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Небылицын Ю.С., Кутько Е.А. Синдром ишемии-реперфузии нижних конечностей // Вестник ВГМУ. – 2018. – Т. 17, № 6. – С. 18–31.
2. Покровский А.В., Казаков Ю.И., Лукин И.Б. Критическая ишемия нижних конечностей. Инфраингвинальное поражение. – Тверь: Твер. гос. ун-т, 2018. – 225 с.
3. Колесников С.И., Власов Б.Я., Колесникова Л.И. Сероводород как третья эссенциальная газовая молекула живых тканей // Вестник РАМН. – 2015. – Т. 70, № 2. – С. 237–241.

4. Тронько Н.Д., Кузнецова С.М., Черская М.С. Биофлавоноиды в лечении пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и церебральным атеросклерозом // Эндокринология. – 2020. –Т. 2, № 1. – С. 33–41.
5. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С. Эндотелиальная дисфункция и способы ее коррекции при облитерирующем атеросклерозе. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 152 с.

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ: ДЕСЯТЬ ЛЕТ СПУСТЯ

Зинчук В. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Мелатонин является гормоном эпифиза, открытый американским дерматологом А. Лернером в 1958 г. Кроме эпифиза, его синтез осуществляется сетчаткой и ресничным телом глаза, а также органами желудочно-кишечного тракта, причем в данной структуре его образования осуществляется в объеме более 80% от общего количества. Согласно классическим представлениям мелатонин является главным генератором циркадных (циркадианных) ритмов. Однако известно, что данная субстанция оказывает влияние на функционирование многих органов и систем. В частности, мелатонин участвует в регуляции вазодилатации [1]. Показано, что мелатонин обладает антиоксидантным, противовоспалительным, иммуномодулирующим действием, благодаря которым организм защищен от повреждения, вызванного окислительным стрессом. Как пример, применение мелатонина у недоношенных детей дополнительно к стандартной терапии при гипоксии-ишемии, синдроме дыхательных расстройств обладает положительным эффектом [2]. Выявлена взаимосвязь между утренним сывороточным мелатонином и насыщением артериальной крови кислородом во время сна и повышенной дневной сонливости у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна [5].

Нами в 2013 году в журнале «Экспериментальная и клиническая фармакология» в обзорной статье [4] были представлены данные о влиянии мелатонина на кислородзависимые процессы в различных экспериментальных моделях. В частности, было показано, что введение внутрибрюшинно мелатонина (однократно и в течение четырех суток) перед холодным воздействием и последующим отогреванием приводит к улучшению транспорта кислорода в ткани, смещению кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях рН, рСО₂ и температуры вправо. Применение мелатонина при окислительном стрессе, вызванного липополисахаридом, повышает сродство гемоглобина к кислороду, что соответствует сдвигу кривой диссоциации оксигемоглобина влево.

В условиях гипотермии и отогревания после введения мелатонина однократно 1 мг/кг значение нитрат/нитритов повышается на 15,3% ($p < 0,01$), после инъекции 1 мг/кг гормона четырёхкратно – на 29,3% ($p < 0,001$), а наибольшее увеличение содержания данного параметра по отношению к вышеуказанной группе на 41,3% ($p < 0,001$) наблюдается после введения мелатонина однократно в дозе 10 мг/кг. Также инъекции мелатонина способствуют снижению образования NO, судя по уменьшению концентрации нитрат/нитритов на 50,7% ($p < 0,05$) в условиях ведения липополисахарида. Данный гормон уменьшает дисбаланс выработки NO, судя по изменению концентрации нитрат/нитритов в плазме крови, что свидетельствует о NO-зависимом механизме формирования кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса.

Мелатонин воздействуя на различные звенья L-аргинин-NO системы, можно изменять её роль в физиологических и патологических процессах. Посредством мелатонина можно регулировать образование NO, изменяя кислородсвязывающие свойства крови, влияя на механизмы транспорта кислорода, тем самым, благоприятствуя процессам тканевой оксигенации. Эффект мелатонина, реализуемый посредством влияния на сродство гемоглобина к кислороду может быть использован для коррекции прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса по усилению антиоксидантной защиты путем модификации его сродства к кислороду через внутриэритроцитарные механизмы регуляции, кислородзависимый характер образования NO, регуляцию сосудистого тонуса, действие пероксинитрита. Эффект мелатонина и его производных на кислородзависимые процессы может быть связан не только с их прямым действием (воздействие на специфические рецепторы), но и с опосредованным влиянием (через кислородтранспортную функцию крови, прооксидантно-антиоксидантный баланс).

Влияние мелатонина на различные кислородзависимые процессы, на сродство гемоглобина к кислороду, прооксидантно-антиоксидантное равновесие может быть использован для коррекции метаболических нарушений, обусловленных действием таких факторов, как низкая температура внешней среды, липополисахарид, обеспечивая оптимизацию процессов тканевой оксигенации, снижая участие O_2 в свободнорадикальных процессах.

Спустя десятилетия наши представления по этому вопросу несколько трансформировались. Сформировалось новое понимание каким образом мелатонин может влиять на формирование кислородсвязывающие свойства крови, в частности, было продемонстрировано участие газотрансмиттера сероводорода в формировании кислородзависимых процессов.

Введение мелатонина в условиях окислительного стресса, вызванного длительным трехкратным введением липополисахарида, уменьшает активность свободнорадикального окисления и повышает уровень антиоксидантной защиты. Его применение характеризуется также увеличением степени насыщения крови кислородом и повышением сродства гемоглобина к кислороду, а введение L-аргинина, гидросульфида натрия и эритропоэтина не потенцирует эффект мелатонина на уменьшение проявлений окислительного

стресса и изменение кислородсвязывающих свойств крови. Применяемая данная физиологическая активная субстанция (мелатонин) реализует свой положительный эффект по уменьшению проявлений окислительного стресса через механизмы, связанные с участием таких газовых мессенджеров, как монооксид азота и сероводород.

Показан эффект мелатонина на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантный баланс у лиц мужского пола при выполнении ими субмаксимальной физической нагрузки. В результате приема мелатонина после выполнения физической нагрузки отмечается сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, что обеспечивает снижение гипоксических проявлений и окислительного стресса. 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 физической нагрузке. Также при ишемии-реперфузии печени также наблюдался защитный эффект мелатонина, обусловленный механизмами, связанными с газотрансмиттерами монооксид азота и сероводорода.

Согласно нашим исследованиям эффект мелатонина, обеспечивает усиление антиоксидантной защиты путем активации системы газотрансмиттеров, а именно монооксида азота и сероводорода. Кроме того, данные газотрансмиттеры вносят вклад в формирование сродства гемоглобина к кислороду через различные механизмы: образование различных дериватов гемоглобина (нитрозогемоглобин, нитрозилгемоглобин, метгемоглобин, сульфгемоглобин), модулирование внутриэритроцитарной системы формирования кислородсвязывающих свойств крови, а также опосредовано через системные механизмы [3], что может способствовать усилению согласованности функционирования антиоксидантной системы, уменьшая прооксидантно-антиоксидантный дисбаланс и развитие окислительного стресса.

Таким образом, мелатонин обеспечивает оптимальный сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина, улучшая доставку кислорода к тканям и его использование, а также прооксидантно-антиоксидантное состояние. Изменение активности системы газотрансмиттеров (монооксид азота и сероводород), вызванное приемом мелатонина, имеет значение для формирования кислородтранспортной функции крови и поддержания прооксидантно-антиоксидантного баланса организма при различных состояниях, сопровождающихся изменением кислородного обеспечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вапаев К.Б., Ирназаров Ш.О. Роль мелатонина в регуляции функции желудочно-кишечного тракта // Современные инновации. – 2019. – Т. 29, № 1. – С. 32–35.
2. Евсюкова И.И. Мелатонин в терапии перинатальной патологии // Журнал акушерства и женских болезней. – 2022. – Т. 71, № 1. – С. 119–128.
3. Зинчук В.В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород // Успехи физиологических наук. – 2021. – Т. 52, № 3. – С. 41–55.
4. Зинчук В.В., Глуткин С.В., Шульга Е.В., Гуляй И.Э. Влияние мелатонина на кислородзависимые процессы // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 2. – С. 32–36.
5. Мадаева И.М., Н.А. Курашова, Н.В. Семенова [и др.] Синдром обструктивного апноэ сна: ассоциация уровня сывороточного мелатонина, повышенной дневной сонливости и интермиттирующей ночной гипоксемии // Пульмонология. – 2021. – Т. 31, № 6. – С. 768–775.

РЕПЕРФУЗИОННО-РЕОКСИГЕНАЦИОННЫЙ СИНДРОМ В АНГИОХИРУРГИИ: СОВРЕМЕННЫЕ СОСТОЯНИЯ ПРОБЛЕМЫ

Иоскевич Н. Н., Засимович В. Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Восстановление кровообращения в длительно ишемизированных нижних конечностях сопровождается развитием сложного комплекса взаимно обусловленных патогенетических реакций которые приводят к парадоксальному, на первый взгляд, постишемическому ухудшению перфузии тканей, прежде всего мышц, с последующим их реперфузионным повреждением [1, 2]. Для лучшего понимания механизма их развития, поиска способов лечения и профилактики после артериальной реваскуляризации используется термин «реперфузионно-реоксигенационный синдром, РРС» либо «синдром постишемической реперфузии-реоксигенации».

РРС нижних конечностей – это сложная многокомпонентная реакция ишемически измененных тканей, прежде всего мышечной, на адекватное восстановление кровообращения, основными проявлениями которой являются нарушение проходимости микроциркуляторного русла на уровне посткапилляров и собирающих венул вследствие накопления в них нейтрофильных лейкоцитов, последующие лейкоцитарная адгезия к эндотелию, нарушение его морфофункционального состояния, повышение проницаемости сосудистой стенки, отек и нейтрофильная инфильтрация тканей [3, 4]. Таким образом, РРС представляет собой взаимосвязь двух патофизиологических механизмов – феномена «no-reflow» и «no-reflow»-ассоциированных повреждений, получивших название «reflow-paradox».

Считается, что пусковым фактором в развитии РРС нижних конечностей является поступление в ишемизированные ткани большого объема кислорода. Это влечет за собой возникновение несоответствия между количеством кислорода

в артериальной крови и возможностями реоксигенированных тканей к его утилизации [1, 3]. Оба указанных процесса тесно связаны с КТФК, ПАС, КОС, ЭБ, энергетическим обеспечением миоцитов нижних конечностей [5].

Развитие феномена «no-reflow» обусловлено нарушением проходимости микроциркуляторного русла, точнее, посткапилляров и собирающих венул. Активация и адгезия лейкоцитов к капиллярному эндотелию представляют собой острую воспалительную реакцию, следствием которой является увеличение сосудистой проницаемости с последующим диапедезом нейтрофилов [6].

При развитии ишемии из-за гипоксии тканей и ацидоза нейтрофилы теряют свою деформирующую способность, становятся более жесткими и менее подвижными, на их плазматических мембранах активируются рецепторы адгезии L-селектина [1]. В свою очередь активированные лейкоциты, фиксированные на эндотелии посткапиллярных венул, приводят к изменению функциональных свойств его клеток. Активация эндотелиоцитов при реперфузии-реоксигенации проявляется в приобретении ими провоспалительных свойств, включающих индукцию факторов адгезии лейкоцитов, метаболитов с прокоагулянтными и вазоконстрикторными свойствами [2]. Дисфункция эндотелиальных клеток приводит к их отеку, нарушению эндотелиального барьера, повышению микрососудистой проницаемости.

После ревазуляризации клетки ишемизированных тканей интенсивно потребляют кислород, образуя избыточное количество перекисных соединений, которые не могут быть обезврежены антиоксидантной системой. [3, 4].

Ишемия-реперфузия сопровождается нарушением метаболизма и повышенной экскрецией нуклеотидов, нуклеозидов и пуриновых оснований, которые, в свою очередь, при восстановлении кровотока являются главными поставщиками свободнорадикальных молекул. За нейтрализацию свободных радикалов ответственны каталаза, глутатионредуктаза и супероксиддисмутаза, активность которых при ишемии снижена [1].

Установлено несколько источников свободных радикалов при ишемии-реперфузии скелетных мышц [5]. Их могут образовывать полиморфонуклеарные лейкоциты через NADPH – оксидазную систему и миелопероксидазу (оксидантный взрыв), которые катализируют синтез цитотоксических оксидантов (гипохлорная кислота и N-хлорамин). Одним из источников активации процессов ПОЛ является тканевая ксантооксидаза.

Важную роль в патогенезе РРС играет еще один эндогенный радикал – монооксид азота, который является сильным сосудорасширяющим веществом, предотвращающим вазоконстрикцию (фактор релаксации эндотелия, ФРЭ – EDRF) [5, 6]. При взаимодействии с кислородом NO трансформируется в пероксинитрит (ONOOH) или гидроксильный радикал. При реперфузии супероксидные радикалы разрушают ФРЭ, вызывая вазоконстрикцию и образуя свободнорадикальные продукты. NO ослабляет реперфузионные повреждения эндотелия и улучшает оксигенацию тканей. В то же время, эндотелин, противодействуя микроциркуляторному эффекту NO, опосредует развитие феномена «no-reflow» [5]. В целом реактивные формы кислорода

рассматриваются при ишемии-реперфузии, прежде всего как медиаторы «no-reflow»-ассоциированных повреждений.

Монооксид азота – газообразное соединение, относящееся к группе газотрансмиттеров наряду с монооксидом углерода и сероводородом. Все они – сигнальные молекулы, уникальной особенностью которых является способность легко проникать через клеточные мембраны в связи с хорошей растворимостью в липидах [3]. В последние годы стали появляться сообщения о важной роли газотрансмиттеров (ГТ) – NO и H₂S в обеспечении тканей кислородом [4]. Следовательно, изменение их концентрации в плазме крови может определенным образом характеризовать ишемический и реперфузионный периоды РРС. Оба эти ГТ, наряду с вазодилатирующим эффектом, снижают адгезию и агрегацию тромбоцитов и лейкоцитов, улучшают деформируемость эритроцитов и угнетают их агрегацию. Сероводород демонстрирует кардиопротекторное действие, особенно выраженное в условиях ишемии. NO и H₂S являются важнейшими регуляторами сосудистого тонуса. Они влияют на свойства эндотелия, контролируют сократимость гладких миоцитов сосудистой стенки, выступают в качестве сенсоров кислорода. Несмотря на недостаточную изученность роли ГТ, есть свидетельства об их тесном взаимодействии и синергическом эффекте при развитии РРС [3, 4].

Таким образом, сосудистая хирургия все чаще сталкивается с парадоксальным, на первый взгляд, явлением: чем выше степень хронической ишемии нижней конечности, чем продолжительнее время окклюзии артерии, чем больше ее диаметр и недостаточны коллатерали, тем вероятнее, что после восстановления кровообращения и кратковременного улучшения функции нижней конечности происходит не только возобновление ишемии, но и ее усугубление. В настоящее время происходит интенсивное изучение патогенеза ишемии-реперфузии, поиск способов профилактики и коррекции реперфузионно-реоксигенационного синдрома. Однако сведений о взаимосвязи нарушений ПАС крови, электролитного и энергетического балансов, КТФК, особенно в зависимости от степени хронической атеросклеротической ишемии нижней конечности, совершенно недостаточно для определения критериев степени тяжести РРС, выработки алгоритмов его диагностики и лечения. Не определена роль ГТ в патогенезе РРС и диагностическая ценность показателей их содержания в крови. В настоящее время выработаны лишь направления медикаментозной коррекции РРС, однако системных исследований проведено недостаточно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Геньк С.Н., Симчич А.В. Реперфузионный синдром после реваскуляризации ишемии нижних конечностей // Сердце и сосуды. – 2016. – № 3. – С. 104–108.
2. Калинин Р.Е., Сучков А.С., Пшенников А.С. Эндотелиальная дисфункция и способы ее коррекции при облитерирующем атеросклерозе // М.: ГЭОТАР–Медиа, 2014. – 152 с.
3. Муравьев А.В. Роль газовых медиаторов (CO, NO и H₂S) в регуляции кровообращения: анализ участия в микрореологии клеток крови // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20, № 1(77). – С. 91–99.

4. Тихомирова И.А., Петроченко Е.П., Петроченко А.С. Сероводород как сигнальная молекула в сердечно-сосудистой системе // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20, № 1(77). – С. 5–16.
5. Gladwin M.T. Nitric oxide for inhalation in the acute treatment of sickle cell pain crisis: a randomized controlled trial // JAMA. – 2011. – Vol. 305, № 9. – P. 893–902.
6. Orrapin S., Arwon S., Rerkasem K. Predictive Factors for Post-Ischemic Compartment Syndrome in Non-Traumatic Acute Limb Ischemia in a Lower Extremity // Ann. Vasc. Dis. – 2017. – Vol. 10, № 4. – P. 378–385.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ГИПЕРМОБИЛЬНОСТИ СУСТАВОВ

Карпович Ю. Л., Пронько Т. П., Карпович Ю. И., Горчакова О. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Мутации С677Т и А1298С гена МТНFR уменьшают активность фермента, что на фоне снижения пищевого приема фолатов приводит к гипергомоцистеинемии [1]. Высокий уровень гомоцистеина приводит к дисфункции эндотелия и является предиктором смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [2].

Цель. Изучить распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов С677Т, А1298С гена метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНFR) и оценить взаимосвязь полиморфизмов изучаемого гена с вазомоторной функцией эндотелия сосудов у пациентов с СГМС.

Методы исследования. Обследовано 122 человека, из них 44 (8 мужчин и 36 женщин) – контрольная группа (КГ) и 78 – с СГМС (12 мужчин и 66 женщины), средний возраст в обеих группах 22 года [21;23].

Всем обследуемым были проведены:

- реовазография с аппаратно-программного комплекса компьютерного реографа “Импекард” с определением показателя вазомоторной функции эндотелия – изменение максимальной скорости кровенаполнения $\Delta dz/dt$ (в процентах от исходного состояния).
- определение полиморфных вариантов С677Т, А1298С гена МТНFR осуществляли с помощью метода полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени с применением наборов реагентов производства «Синтол», Россия. Выделение геномной ДНК человека проводилось набором реагентов «ДНК-Экстран», производства «Синтол», Россия.

Для статистического анализа данных использовались программы Statistica 10.0 и Microsoft Excel. Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей,

эндотелиальной дисфункции у разных групп пациентов осуществлялся с помощью точного критерия Фишера (FET). Количественные данные, распределение которых не являлось нормальным, представлялись в виде медианы (верхняя/нижняя квартиль). Две независимые группы сравнивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Значения $\Delta dz/dt$ у пациентов с СГМС достоверно отличались от таковых у лиц КГ (соответственно 15,1% [8,8;31,5] и 21,0% [11,2;31,1]). Также среди 35 пациентов с СГМС и 11 лиц КГ были получены значения $\Delta dz/dt$ менее 12%, отражающие нарушения вазомоторной функции эндотелия (FET =0,03).

Распределение частот генотипов полиморфных локусов С677Т и А1298С гена МТНFR соответствовали ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга, как в группе контроля ($\chi^2=0,04$, $p=0,84$; $\chi^2=3,59$, $p=0,058$ соответственно), так и в группе пациентов с СГМС ($\chi^2=0,73$, $p=0,39$; $\chi^2=0,24$, $p=0,62$ соответственно).

В таблице 1 представлены результаты генотипирования исследуемых лиц по полиморфным вариантам изучаемых генов.

Таблица 1 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов С677Т и А1298С гена МТНFR у обследуемых лиц

Полиморфизм, генотип	Контрольная группа n=44	Пациенты с СГМС n=78	FET
Полиморфный locus С677Т гена МТНFR			
СС	25 (56,8%)	39 (50,0%)	0,5
СТ	16 (36,4%)	30 (38,5%)	0,8
ТТ	3 (6,8%)	9 (11,5%)	0,74
Аллель С	75%	69%	0,37
Аллель Т	25%	31%	0,37
Полиморфный locus А1298С гена МТНFR			
АА	17 (38,6%)	39 (50%)	0,25
АС	25 (56,8%)	31 (39,7%)	0,08
СС	2 (4,6%)	8 (10,3%)	0,32
Аллель А	67%	70%	0,66
Аллель С	33%	30%	0,66

Как видно из таблицы 1, общие исследуемые группы не отличались по распределению генотипов и аллелей.

Для дальнейшего анализа мы разбили исследуемые группы на подгруппы согласно рецессивной модели: подгруппы А (ПГА) составили носители генотипов СС полиморфного локуса С677Т гена МТНFR и носители генотипа АА полиморфного локуса А1298С гена МТНFR. Подгруппы В (ПГВ) составили носители генотипов СТ+ТТ полиморфного локуса С677Т гена МТНFR и носители генотипов АС+СС полиморфного локуса А1298С гена МТНFR.

В таблице 2 представлены значения $\Delta dz/dt$ у лиц контрольной группы и лиц с СГМС с различными генотипами полиморфных локусов С677Т и А1298С гена МТНFR.

Таблица 2 – Значения $\Delta dz/dt$, % в исследуемых группах в зависимости от полиморфных вариантов изучаемых генов

Группы	Полиморфный локус С677Т гена МТНFR		Полиморфный локус А1298С гена МТНFR	
	ПГА (СС) n=64	ПГВ (СТ+ТТ) n=58	ПГА (АА) n=56	ПГВ (АС+СС) n=66
Контрольная группа	20,8 [9,4;36,5]	23,7 [12,7;30,3]	23,7 [8,0;37,7]	20,8 [12,0;28;1]
Пациенты с СГМС	15,1 [9,1;35,8]	15,1 [8,3;29,5]	15,1 [9,7;33,8]	13,1 [7,5 30,8]

При выполнении сравнительного анализа не выявлены достоверные различия вазомоторной функции эндотелия между ПГА и ПГВ как у лиц КГ, так и у пациентов с СГМС.

Снижение $\Delta dz/dt$ в КГ в ПГА (СС) выявлено у 7 лиц, в ПГВ (СТ+ТТ) – у 4 лиц (FET=0,73), у пациентов с СГМС – у 18 и 16 лиц соответственно (FET=0,65); в КГ в ПГВ (АА) выявлено у 5 лиц, в ПГВ (АС+СС) – у 8 лиц (FET=1,0), у пациентов с СГМС – у 13 и 19 лиц соответственно (FET=0,17).

Таким образом, на сегодняшний день нет четкого представления о взаимосвязи между метаболическими факторами и нарушениями функции эндотелия особенно среди пациентов с СГМС, что требует дальнейшего изучения.

Выводы.

1. Частота встречаемости генотипов, предрасполагающих к гипегомоцистеинемии и дисфункции эндотелия, среди пациентов с СГМС составила 11,5% для полиморфного локуса С677Т гена МТНFR и 10,2% для полиморфного локуса А1298С гена МТНFR. Для группы практически здоровых лиц распределение указанных генотипов составило 6,8% и 4,5% соответственно.

2. Не выявлено связи между носительством мутантных аллелей и параметров вазомоторной функции эндотелия в исследуемых группах.

3. Выявлены нарушения параметров реовазографии ($\Delta dz/dt$) у пациентов с СГМС, что может свидетельствовать о ранних изменениях сосудистой стенки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klerk M. et al. MTHFR Studies Collaboration Group. MTHFR 677CT polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis // JAMA. – 2002. – Vol. 288, № 16. – P. 2023–2031.
2. Pang H., Han B., Fu Q., Zong Z. Association of High Homocysteine Levels With the Risk Stratification in Hypertensive Patients at Risk of Stroke // Clin. Ther. – 2016. – Vol. 38, № 5. – P. 1184–1192.

МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО И ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА: ВЛИЯНИЕ НА МИОКАРД ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПРЕПАРАТАМИ АНТРАЦИКЛИНОВОГО РЯДА

Карпуть И. А., Снежицкий В. А., Курбат М. Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

В последние годы отмечается значительное снижение смертности от онкологических заболеваний. Но все больше внимания уделяется негативным последствиям противораковой терапии на сердечно-сосудистую систему. Терапевтическая эффективность препаратов антрациклинового ряда сопряжена с развитием различных осложнений, среди которых наиболее распространенным является кардиотоксичность (КТ) [3].

Повреждение миокарда, как результат действия антрациклинов, начинается с миоцитолита, который прогрессирует до очагового некроза миокарда, что приводит к интерстициальному фиброзу и, наконец, к мультифокальному фиброзу миокарда. Антрациклины ингибируют топоизомеразу II и генерируют семихинон и свободные радикалы посредством железозависимого ферментно-опосредованного процесса. Присутствие хиноновых групп способствует образованию свободных радикалов, которые реагируют с кислородом с формированием супероксидных анион-радикалов, вызывая КТ. Снижение продукции аденозинтрифосфата, прямое повреждение митохондрий, митохондриально зависимый апоптоз кардиомиоцитов и перекисное окисление липидов мембраны сердечных миоцитов – дополнительные механизмы, с помощью которых антрациклины проявляют кардиотоксичность. КТ, вызванная антрациклинами, также обусловлена повреждением ДНК, опосредованным топоизомеразой II. Другие изменения в кардиомиоцитах, подвергнутые воздействию антрациклинов, включают нарушение синтеза ДНК, нарушение передачи сигналов клеток, изменение экспрессии генов, нарушение образования белка титина в саркомерах [5].

Клинические исследования и практические наблюдения показали, что антрациклиновая КТ носит прогрессирующий и необратимый характер. Таким образом, раннее выявление и профилактика антрациклиновой кардиотоксичности являются новым и весьма важным направлением [6].

Развитие дисфункции миокарда часто ассоциируется с изменениями активности некоторых матриксных металлопротеиназ (ММП), обнаруживаемых как во внеклеточном матриксе миокарда, так и в кардиомиоцитах [7]. ММП – представляют собой семейство цинк-зависимых эндопептидаз, которые впервые были обнаружены как протеазы, нацеленные на внеклеточные белки и расщепляющие их. Однако за последние 20 лет были раскрыты

внутриклеточные роли MMP, и расширились исследования этого нового аспекта в биологии. MMP-2 является первой из этого семейства протеаз, о которой сообщается, что она играет решающую внутриклеточную роль, расщепляя несколько саркомерных белков внутри сердечных миоцитов во время повреждения, вызванного окислительным стрессом. MMP-2, находясь внутри сердечных миоцитов может вызывать повреждение сердца путем расщепления сердечного тропонина I, что способствует последующей сократительной дисфункции [1]. MMP – присутствуют в клетке в неактивной форме. Активация MMP, особенно желатиназ, связана с неблагоприятным ремоделированием и дилатацией левого желудочка, что позволяет предположить, что они являются ранними маркерами кардиомиопатии [2].

Сердечная недостаточность является серьезным осложнением кардиотоксического действия противоопухолевых препаратов, особенно антрациклинов, в частности доксорубицина. Доксорубицин усиливает окислительный стресс и стимулирует MMP-2 в кардиомиоцитах, которая участвует в протеолизе саркомерных белков в сердце и ремоделировании внеклеточного матрикса. Доксорубицин повышает уровень MMP-2 в саркомере и митохондриях, т.е. активация MMP-2 является ранним событием кардиотоксичности антрациклинов. MMP-2 активируется окислительным стрессом в кардиомиоцитах, что объясняет активность MMP-2 при кардиомиопатии, индуцированной антрациклинами [2].

Рядом исследователей был предложен способ прогнозирования развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности с использованием генетических маркеров риска, в основе которого лежит участие матриксных металлопротеиназ в ремоделировании сердца и сосудов. Так матриксная металлопротеиназа-3 (MMP-3) играет значимую роль в естественных процессах ремоделирования тканей и патологических процессах, при этом полиморфный вариант 5A/6A гена MMP-3 участвует в регулировании уровня MMP-3. Для прогнозирования развития антрациклин-индуцированной кардиотоксичности ряд исследователей определили полиморфизм гена MMP-3 (полиморфного локуса 5A/6A (rs3025058)). Высокий риск развития КТ прогнозируют у носителей генотипа 5A/5A полиморфного локуса 5A/6A гена MMP-3 [4].

Роль MMP-2 в развитии антрациклиновой кардиотоксичности была исследована на экспериментальной модели. В результате исследования было выявлено, что доксорубицин увеличивает уровень и активность миокардиальной MMP-2 в сердце мышей и в кардиомиоцитах, полученных из стволовых эмбриональных клеток человека, частично за счет *de novo* экспрессии N-концевой усеченной MMP-2 изоформы, которая экспрессируется «посредством» окислительного стресса. Повышение уровня и активности MMP-2 в сердце при антрациклиновой кардиотоксичности участвует в ремоделировании левого желудочка, способствует интерстициальному фиброзу и протеолизу титина [4]. Эти данные подтверждают факт генетической связи и фенотипического сходства между дилатационной кардиомиопатией и кардиомиопатией, индуцированной антрациклиновыми антибиотиками.

Антрациклин-индуцированная кардиотоксичность является важной проблемой современной медицины, пока не имеющей четкого плана ее решения. Существует несколько стратегий для уменьшения риска антрациклин-опосредованной кардиотоксичности, хотя ни одна из них не имеет надежных подтверждений, полученных в рандомизированных клинических исследованиях или стандартизированной клинической практике. Несмотря на определенные успехи в разработке методов ранней диагностики заболевания, необходимы дальнейшие исследования для изучения диагностической точности и воспроизводимости показателей этих методов, а также их стандартизация [6]. Таким образом, опираясь на результаты исследования генотипа матриксных металлопротеиназ, которые участвуют в ремоделировании сердца при применении антрациклиновых антибиотиков, было бы целесообразным изучить активности MMP-2, MMP-3 при антрациклин-опосредованной кардиомиопатии, а также исследовать их генотипы с целью поиска возможных генетических маркеров риска антрациклин-индуцированной кардиотоксичности [4].

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор с БРФФИ № M21-098 от 01 июля 2021г.)

ЛИТЕРАТУРА

1. Bassiouni W., Schulz R., Mohammad A.M. Ali. Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease // The FEBS Journal. – 2020. – Vol. 288, № 24. – P. 7162–7182.
2. Jan M. Leerink, Maelvan de Ruit, Elizabeth A.M. Feijen, et al. Extracellular matrix remodeling in animal models of anthracycline-induced cardiomyopathy: a meta-analysis // Journal of Molecular Medicine. – 2021. – Vol. 99. – P. 1195–1207.
3. Казанцева М.Л., Ощепкова Е.В., Саидова М.А. Сердечно-сосудистые осложнения после противоопухолевой терапии у онкологических больных в отдаленные сроки (>1 года) // Евразийский кардиологический журнал. – 2019. – № 3. – С. 50–65.
4. Карпуть И.А., Снежицкий В.А., Курбат М.Н. и др. Роль полиморфизмов генов TTN, TTN-truncation, MMP-2, MMP-3 в развитии антрациклин-индуцированной кардиомиопатии // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2021. – Т. 19, № 2. – С.138–140.
5. Bhatia Smita. Genetics of Anthracycline Cardiomyopathy in Cancer Survivors: JACC: CardioOncology State-of-the-Art Review // JACC CardioOncol. – 2020. – Vol. 2, № 4. – P. 539–552.
6. Снежицкий В.А., Курбат М.Н., Карпуть И.А. и др. Возможности ранней диагностики антрациклин-индуцированной кардиомиопатии при проведении химиотерапии рака молочной железы // Кардиология в Беларуси. – 2022. – Т. 14, № 1. – С. 96–107.
7. Тепляков А.Т., Гракова Е.В., Шилов С.Н. и др. Способ прогнозирования антрациклин-индуцированной кардиотоксичности у женщин с раком молочной железы // RU patent 2714683C1. Оpubл. 2020 февраль 19.

ФАКТОРЫ ДОСТАВКИ КИСЛОРОДА К ТКАНЯМ И МЕТОДЫ ИХ ОЦЕНКИ

Кислухина Е. В.¹, Кислухин В. В.

¹Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н. В. Склифосовского
Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Введение. На доставку O_2 тканям влияют многие факторы, часть их представлена в формуле: $DO_2=1.34*CB* Ht*HbO_2$. Но есть факторы, напрямую не входящие в приведенную формулу и, среди них, зависящие от состояния микроциркуляции. Речь будет идти о трёх факторах: (1) В покое, в любой ткани перфузируется малая часть капилляров, а изменение кровотока реализуется через изменение числа открытых капилляров [6]. При этом открытые капилляры со временем закрываются а открытыми становятся закрытые сейчас капилляры, т. е. идет перемещение «открытости» по ткани [7]. Если скорость перемещения «открытости» мала, то клетки распадаются на две группы: (а) находящиеся вокруг перфузируемых капилляров и (б) клетки, получающие O_2 диффузией через другие клетки. Показано, что скорость перемещения «открытости» влияет на потребление O_2 [5]. (2) Концентрация эритроцитов в центральной циркуляции (сердце, магистральные сосуды) и концентрация эритроцитов в тканях различаются. Введена интегральная характеристика этого различия – клеточный фактор, КФ, равный Ht_b/Ht_a , где Ht_b – гематокрит всего тела, определяемый изотопами и Ht_a – гематокрит по пробе крови. В норме КФ около 0.9, но меняться от 0.6 до 1.4 [4]. Это означает, что при имеющемся, в циркулирующей крови, количестве эритроцитов, их концентрация в артериальной крови может меняться на 30-40%. Отметим, что при КФ = 0.6 почти все эритроциты несут O_2 , но за счет очень малого времени пребывания эритроцитов в микроциркуляции возможны проблемы с его отдачей. (3) Переход O_2 из крови в ткань осуществляется как диффузией, так и конвекцией. Известно, что работа пре и пост капиллярных сфинктеров определяет насыщение ткани водой и направление потоков микрососуд – ткань [3]. Если превалирует работа посткапиллярных сфинктеров, то большинство закрытых капилляров закрыты с венозной стороны и открыты с артериальной, и капиллярное давление, в среднем, возрастает. Следовательно, тканевое давление повышается, возникает отёк ткани, а тканевая жидкость оттекает, опять же в основном, через открытые капилляры. Соответственно, конвекция O_2 из сосуда в ткань при отеке снижена.

Также имеет значение, что существенной характеристикой микроциркуляции является стохастичность кровотока: прямые наблюдения за течением крови в микроциркуляции показывают нерегулярный, хаотический характер течения эритроцитов.

Цель. Привести методы оценки приведенных факторов микроциркуляции: (1) интенсивности изменения состояния открытой/закрытой

микрососуд, R; (2) величины КФ и (3) предложить оценку артериализации-веноуализации микроциркуляции ткани.

Методы исследования. (а) Исходя из нерегулярного движения крови в капиллярах, предлагается схема случайного поведения микрососудов: они могут быть или открыты или закрыты. Вероятности для эволюции открытых микрососудов – (α, β) , где α – вероятность сосуду остаться открытым, и β – вероятность открытому сосуду закрыться. Для закрытых микрососудов соответствующие вероятности имеют вид (ν, μ) , где ν – вероятность закрытому микрососуду остаться закрытым и μ – открыться. Обеспечивают открытие – закрытие пре- и пост- капиллярные сфинктеры. Такое поведение обеспечивает ротацию: часть открытых микрососудов закрываются и одновременно часть закрытых микрососудов открывается. Возникает перемещение «открытости» по ткани и скорость этого перемещения, $R = \beta + \mu$, характеризует микроциркуляцию. (б) Для нахождения R, используются лазер-доплер флоуметры, Рассеивание света движущимися эритроцитами является источником сигнала регистрируемого ЛДФ датчиком. Считается, что величина сигнала пропорциональна кровотоку [1] и, согласно Крогу, числу открытых микрососудов. Следовательно, флуктуации ЛДФ сигнала пропорциональны флуктуациям числа открытых микрососудов. Рассмотрение этих флуктуаций как случайных ведет к получению R. Фурье преобразование ЛДФ сигнала дает спектр и по спектру находим среднюю спектральную частоту, ССЧ. Поскольку открытие/закрытие капилляров, в нашей модели, задается стохастической схемой, то между ССЧ и R есть зависимость $R = 1 + \sin[9.5(\text{ССЧ} - 0.25)]$. (в) Определение КФ основано на регистрации изменения плотности крови, наступающей при заборе крови и вызванное выходом из микроциркуляции крови с другой плотностью (если КФ не равно 1). Для нахождения КФ необходимо также определить объем крови, ОК, для этого используется различие в физических характеристиках между кровью и используемыми в интенсивной терапии растворами. Речь идет об электрическом импедансе, оптической и ультразвуковой плотности крови (и растворов). Аппаратура, использовавшаяся в исследованиях, включала реографы, ультразвуковые флоуметры и оптические датчики. Датчики располагались на трубочке, соединяющей бедренную (или лучевую) артерию с яремной веной. При равномерной инфузии 0.9% NaCl, 1 мл/кг за 2-3 мин, наблюдается монотонное снижение и электрического сопротивления и плотности крови. По скорости снижения названных свойств крови находили ОК. Нахождение КФ проводили в рамках экспериментов на крысах по кровопотере и влияния на гемодинамику различных, крове восполняющих, растворов. При заборе крови наблюдалось снижение плотности, вызванное перемещением крови из микроциркуляции с меньшим гематокритом, чем центральный (венозный) гематокрит. Скорость снижения плотности характеризует разность между концентрацией эритроцитов в микроциркуляции и в полый вене, и позволяла определить КФ. (г) Наблюдения в микроскоп, показывают появление колебаний эритроцитов в такт с пульсом, когда просвет микрососуда заполнен эритроцитами, что наступает при преобладании активности посткапиллярных

сфинктеров. При этом в спектре ЛДФ появляются выраженные колебания с частотой сердечных сокращений.

Результаты и их обсуждение. Рассмотренные три фактора относятся к состоянию микроциркуляции. Конечно факторов определяющих доставку O_2 к тканям много. Назовём ещё два: насыщение гемоглобина, сдвиг кривой диссоциации O_2 тканях. Отметим также, что Крог ввел понятие тканевого цилиндра (цилиндр Крога). Размер тканевого цилиндра определяется потребностью тканей в O_2 . Появление ткани, не покрываемой цилиндрами Крога, ведет к выраженной гипоксии и является сигналом на увеличение кровотока. При этом клетки, находящиеся на границе тканевого цилиндра, находятся в пограничной ситуации. Отсюда следует значимость стохастичности движения крови, находящая подтверждение в анализе ЛДФ сигнала у пациентов диабетом 2-го типа [2]. Скорость прохождения эритроцитов по микроциркуляции, в сравнении с плазмой, определяет КФ. Если скорость высока эритроциты в основном в системной циркуляции и КФ мало. При большом КФ эритроциты находятся, в основном, в микроциркуляции. Малое R означает перфузию одних и тех же капилляров. Большое R ведет к равномерной перфузии ткани. В эксперименте было получено, что КФ меняется от 0.65 до 1.0, а R меняется от 0.02 до 2.0. В результате доставка кислорода может меняться в 2-3 раза. Отметим, что не большой забор крови (0.3 мл/кг) с её возвращением, также позволял получить КФ.

Выводы. Приведены методы оценки, факторов микроциркуляции, влияющих на доставку O_2 тканям: Это (1) интенсивность изменения состояния открытый/закрытый микрососуд, R, определяющая фракцию ткани, получившую O_2 в течении минуты (2) величины КФ, определяющей баланс между количеством эритроцитов в центральной и микроциркуляции и (3) предлагается оценка влияния насыщенности ткани жидкостью на величину сердечных частот в спектре ЛДФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: Колебания, информация, нелинейность (руководство для врачей) // Книжный дом «Либроком», М. – 2013. – 496 с.
2. Куликов Д.А., Глазков А.А., Ковалева Ю.А. и др. Перспективы использования лазерной доплеровской флоуметрии в оценке кожной микроциркуляции крови при сахарном диабете // Сахарный диабет. – 2017. – № 20 (4). – С. 279–285.
3. Perkins J.F. Circulation of the Blood – Men and Ideas Edited by Alfred P. Fishman and Dickinson W. Richards // Perspectives in Biology and Medicine. – 1964. – Vol. 8, № 1. – P. 134–135.
4. Gibson J.G, Peacock WC, Seligman A.M. et al. Circulating red cell volume measured simultaneously by the radioactive iron and dye methods // Clin. Investigation. – 1946. – Vol. 25, № 126. – P. 848–857
5. Kislukhin V.V. Regulation of oxygen consumption by vasomotion // Math Biosci. – 2004. – Vol. 1, № 191. – P. 101–108.
6. Krogh A. The Anatomy and Physiology of Capillaries // New York, Hafner Publishing CO. – 1956. – P. 270–290.
7. Zweifach B.W. Functional Behavior of the Microcirculation // Springfield, Illinois. – 1961. – P. 150–152.

ЭФФЕКТЫ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА СИНАПТИЧЕСКУЮ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗУ И ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Кличханов Н. К., Джафарова А. М.

Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

В последние годы большое внимание исследователей привлекает проблема ишемического инсульта и связанные с ней различные способы терапевтической коррекции, одним из которых является снижение температуры тела животного – гипотермия. Церебральная ишемия, возникающая вследствие дефицита кровоснабжения части мозга, инициирует каскад реакций, результатом которых может стать развитие окислительного стресса и нарушение сбалансированной работы ряда нейромедиаторных систем мозга (Lin, 2016; Awooda, 2019). Чрезмерная генерация активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) при окислительном стрессе способствует значительному повреждению структурных элементов нейронов и нарушению их функционирования (Awooda et al., 2015). Установлено, что повреждение нейронов, связанное с ишемией, сопровождается изменениями в холинергической системе мозга (Sakuma et al., 2008; Katsuki et al., 2018), ключевым ферментом которой является ацетилхолинэстераза (АХЭ).

Одним из способов защиты мозга от развития патобиохимического каскада при ишемии является терапевтическая гипотермия (Sun et al., 2019), механизмы влияния которой на холинергическую систему мозга и ацетилхолинэстеразу (АХЭ) до сих пор остаются не выясненными. Целью данной работы является выяснение характера изменения активности и кинетических параметров АХЭ синаптических мембран мозга при ишемии на фоне умеренной гипотермии, а также установление связи между активностью фермента и интенсивностью свободно-радикальных процессов в синаптических окончаниях нейронов.

Методы исследования. Опыты выполнены на белых крысах-самцах Вистар. Ишемия головного мозга осуществлялась под наркозом (тиопентала натрия) путем полной перевязки обеих сонных артерий в течение 60 мин. Для моделирования гипотермии непосредственно перед окклюзией сонных артерий температуру тела животного снижали до 33°C, обкладывая тело животного целлофановым пакетом с мелкоколотым льдом. Выделение фракции синаптосом из мозга крыс производили методом дифференциального центрифугирования в ступенчатом градиенте плотности сахарозы. Мембраны синаптосом получали после гипоосмотического шока и последующего центрифугирования при 32000 g в течение 10 мин. Надосадочную жидкость – содержимое синаптосом (разведенная синаптоплазма) использовали для определения активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы

(СОД) и каталазы (КАТ). Активность АХЭ в мембранах синапсом определяли методом Элмана по скорости гидролиза ацетилтиохолина. Кинетические характеристики: максимальную скорость (V_m), константу Михаэлиса (K_m) и константу субстратного ингибирования (K_i) находили методом наименьших квадратов в соответствии с моделью Холдейна. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) анализировали путем измерения реактивных веществ реагирующих с ТБК (ТБКРВ), в результате которого измеряется, в основном, образование малонового диальдегида. Интенсивность окислительной модификации белков (ОМБ) в мембранах синапсом оценивали по содержанию карбонильных групп. Суммарную активность СОД в синаптоплазме определяли адренохромовым методом, (Сирота, 2013). Определение активности каталазы (КАТ) в синаптоплазме производили по методу Аеби (Aebi, 1974). Статистическая обработка данных произведена с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., США). Нормальность распределения оценивали критерием Шапиро-Уилка. Достоверность различий между нормально распределенными данными определяли с помощью критерия Фишера на уровне значимости $p \leq 0,05$. Для оценки взаимосвязи между нормально распределенными переменными был использован корреляционный анализ Пирсона.

Результаты и их обсуждение. Обнаружено, что церебральная ишемия приводит к снижению активности АХЭ. Так, например, при концентрации субстрата равной 1 мМ уменьшение активности АХЭ составляет 18,8% относительно контроля (в контроле $126,16 \pm 8,79$ мкмоль/мин/мг, при ишемии – $102,55 \pm 2,54$ мкмоль/мин/мг; $p < 0,05$). При этом значение V_{max} и эффективность катализа (V_{max}/K_m) АХЭ снижаются, а K_i увеличивается, что на фоне неизменных значений K_m способствует повышению диапазона эффективных концентраций ацетилтиохолина и значений S_{opt} . Мягкая гипотермия на фоне ишемии мозга препятствует существенным изменениям активности и кинетических параметров фермента.

Поскольку АХЭ заякорена в липидную матрицу, обнаруженные изменения активности и кинетических параметров АХЭ могут быть индуцированы окислительными модификациями молекул как самого фермента, так и белков, липидов в его микроокружении. Анализ интенсивности ПОЛ в синапсосамах после острой ишемии не выявил изменения исходного уровня ТБКРВ, но установил достоверный рост их накопления в инкубируемых *in vitro* в среде Fe^{2+} -аскорбат пробах. АФК и продукты ПОЛ, образующиеся при ишемии, способствуют окислительной модификации белков синаптических мембран, о чем свидетельствует повышение уровня карбонильных групп на 128% относительно контроля. Снижение температуры тела во время ишемии предотвращает активацию ПОЛ и ОМБ.

Интенсификация свободнорадикальных процессов при ишемии может быть связана и с изменениями в активности компонентов антиоксидантной системы. Исследование показало, что активность СОД при ишемии повышается, а активность КАТ, напротив, снижается на 58%, что приводит к

значительному повышению отношения СОД/КАТ. При ишемии на фоне гипотермии активность СОД остается на уровне контроля, а активность каталазы снижается как при ишемии. В результате отношение СОД/КАТ возрастет в меньшей степени, чем при ишемии.

Между кинетическими характеристиками АХЭ, уровнями карбонильных групп и ТБКРВ, а также активностью антиоксидантных ферментов обнаружены существенные корреляционные связи. Так, между значениями V_{max} , и уровнями ТБКРВ имеет место отрицательная корреляция ($r = -0,95$, $p < 0,05$). Между концентрацией исходных карбонильных групп и эффективностью катализа также имеется отрицательная корреляция ($r = -0,85$, $p < 0,05$), а значениями K_i – положительная корреляция ($r = +0,95$, $p < 0,05$). Так коэффициенты корреляции между V_{max} , V_{max}/K_m , K_i и отношением СОД/КАТ составляют $-0,9$ ($p < 0,05$), -1 ($p < 0,05$) и $+1$ ($p < 0,05$) соответственно.

Выводы. Острая церебральная ишемия оказывает существенное влияние на активность и каталитические характеристики АХЭ мембран синаптических окончаний нейронов. Умеренная гипотермия способствует их сохранению на уровне контрольных значений. Установлено, что при церебральной ишемии существенно увеличивается уровень маркеров ОМБ и ПОЛ в синаптосомах, происходит дисбаланс ключевых антиоксидантных ферментов. Гипотермия на фоне ишемии препятствует развитию окислительного стресса в синаптосомах. Обнаружена отрицательная корреляция между кинетическими параметрами АХЭ и уровнями ПОЛ И ОМБ в синаптосомах, что указывает на важную роль АФК в модуляции активности ключевого фермента холинергической системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сирота Т.В. Использование нитросинего тетразолия в реакции автоокисления адреналина для определения активности супероксиддисмутазы // Биомед. химия. – 2013. – Т. 59, № 4. – С. 399–410.
2. Aebi H. Catalase // Methods of enzymatic analysis. Academic press. – 1974. – P. 673–684.
3. Awooda H.A. Pathophysiology of cerebral ischemia: role of oxidative/nitrosative stress // J. Biosci. Med. – 2019. – Vol. 7. – P. 20–28.
4. Awooda H.A., Lutfi M.F., Saeed A.M. Oxidative/Nitrosative Stress in Rats Subjected to Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion // Int. J. Health Sci. – 2015. – Vol. 9. – P. 17–24.
5. Katsuki H., Matsumoto K. Nicotinic Acetylcholine Receptors in Regulation of Pathology of Cerebrovascular Disorders / In Nicotinic Acetylcholine Receptor Signaling in Neuroprotection. Singapore: Springer, 2018. – P. 113–136.
6. Lin L, Wang X., Yu Z. Ischemia-reperfusion Injury in the Brain: Mechanisms and Potential Therapeutic Strategies // Biochem. Pharmacol. – 2016. – Vol. 5, № 4. – P. 1-16.
7. Sakuma M., Hyakawa N., Kato H., Araki T. Time dependent changes of striatal interneurons after focal cerebral ischemia in rats // J. Neural Trans. – 2008. – Vol. 115 – P. 413–422.
8. Sun Y.-J., Zhang Z.-Y., Fan B., Li G.-Y. Neuroprotection by therapeutic hypothermia // Front. Neurosci. – 2019. – Vol. 11. – P. 1-11.

РАССТРОЙСТВА БОЛЬ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ВНЕГОСПИТАЛЬНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ

Козловский В. И., Дубас И. О., Акулёнок А. В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Актуальность. Несмотря на постоянное совершенствование методов диагностики и лечения, внебольничные пневмонии представляют собой актуальную проблему современной медицины в связи с сохраняющейся высокой заболеваемостью и смертностью. Распространенность пневмонии среди взрослого населения России составляет 5-8 случаев на 1000 человек в год [1].

Внебольничная пневмония (ВП) в США занимает 6-е место, а в странах Европейского Союза – 4-е место в списке основных причин смерти, уступая только ишемической болезни сердца, цереброваскулярным заболеваниям, раку легкого. У лиц старших возрастных групп при сопутствующих заболеваниях, тяжелом течении пневмоний летальность достигла 15-30% [2, 3].

При пневмониях отмечается не только локальный воспалительный ответ на инфекционный агент. Токсины микроорганизмов, медиаторы воспаления из зоны пораженного легкого поступают в системный кровоток, вызывая как структурные, так и функциональные изменения эндотелия, клеточных элементов крови, системные расстройства микроциркуляции [4].

Изучение механизмов системных изменений микроциркуляции при внегоспитальной пневмонии может способствовать более успешной коррекции возникающих нарушений и предотвращению возможных сердечно-сосудистых осложнений.

Цель. Определение агрегации лейкоцитарно-тромбоцитарной суспензии и адгезии лейкоцитов у пациентов с внегоспитальной пневмонией.

Методы исследования. В условиях пульмонологического отделения Витебской городской центральной клинической больницы проведено обследование 117 пациентов с внегоспитальной пневмонией (основная группа) и 30 здоровых лиц (контрольная группа).

Контрольная группа состояла из 16 (53%) мужчин и 14 (47%) женщин. При обследовании, включающем измерение артериального давления (АД), электрокардиограммы (ЭКГ), рентгеноскопию грудной клетки, патологии не выявляли. Средний возраст составлял $53,7 \pm 1,64$ лет, индекс массы тела (ИМТ) – $25,4 \pm 0,3$ кг/м².

Основная группа насчитывала 117 человек, у которых была изолированная ВП. Мужчин было 66 (56,4%), женщин – 51 (43,6%). Средний возраст составлял $44,2 \pm 17,1$ лет. Индекс массы тела – $24,3 \pm 4,7$ кг/м². Средняя продолжительность стационарного лечения этой группы пациентов была $12,5 \pm 6,3$ койко-дней.

В стационаре пациенты проходили обследование, включающее: общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови с определением содержания мочевины, креатинина, гаптоглобина, С-реактивного протеина, общего холестерина, глюкозы сыворотки крови, регистрацию ЭКГ, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, спирографию, общий анализ мокроты, анализ мокроты на атипичные клетки и на бактерии Коха, чувствительность к антибиотикам.

Всем пациентам проведен курс этиотропной антибактериальной (препараты группы макролидов, фторхинолонов, цефалоспоринов). Исследование агрегации лейкоцитарно-тромбоцитарной суспензии проводились на 1-3 сутки после установления диагноза острой пневмонии (1-2 день пребывания в стационаре) и на 11-15 сутки стационарного лечения.

Агрегацию лейкоцитарно-тромбоцитарной суспензии (ЛТС) изучали по методу G. Vorn (1962) [1] на агрегометре «СОЛАР». В качестве индуктора агрегации лейкоцитов использовали 0,1% раствор адреналина.

Измерение адгезии лейкоцитов проводили, регистрируя изменения светопропускания их суспензии до и после инкубации вместе с волокнистым субстратом с помощью агрегометра AP 2110 «СОЛАР».

Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета программ «Statistica 10.0».

Результаты и их обсуждение. При поступлении пациенты жаловались на наличие кашля – 92,3%, 58,1% – появление мокроты, 19,7% – боли в грудной клетке, 13,7% – одышки, 91,5% – общей слабости, 10,3 %– головной боли.

На основании анализа рентгенографических снимков очаговая пневмония была выявлена у 109 человек (93,2%), из них у 24 (20,5%) воспалительный инфильтрат локализовался верхней доле, у 9 (7,7%) – в средней, у 79 (67,5%) – в нижней доле, полисегментарная – у 8 (6,8%).

Внегоспитальная пневмония легкой степени была у 20 пациентов (17,1%), средней – у 93 (79,5%), тяжелой – у 4 (3,4%). 22 пациента (34,4%) страдали дыхательной недостаточностью I степени, 2 (3,1%) – II степени.

Из сопутствующих заболеваний наиболее часто выявляли хронический бронхит (4 человека), хроническую обструктивную болезнь легких (2), бронхиальную астму (2).

У здоровых людей степень агрегации ЛТС составила $11,2 \pm 2,9\%$, скорость – $5,6 \pm 2,2 \%$ /мин., адгезивная активность лейкоцитов – $3,4 \pm 1,7$ ед.

В основной группе в процессе стационарного лечения отмечено повышение агрегации ЛТС от $34,1 \pm 19,7\%$ до $38,6 \pm 21,6\%$, и этот показатель достоверно отличается от такового в группе здоровых. При контрольном исследовании (в конце лечения) наблюдается тенденция к повышению адгезии лейкоцитов.

Все выше названные показатели у пациентов с пневмонией достоверно превышают показатели, полученные у здоровых людей ($p < 0,05$; см. таблицу 1).

Таблица 1 – Показатели степени и скорости агрегации ЛТС, адгезии лейкоцитов у здоровых и пациентов с внегоспитальной пневмонией

Показатель		Степень агрегации лейкоцитов, %	Скорость агрегации лейкоцитов, %/мин	Степень адгезии лейкоцитов, ед.
Контрольная группа (n=30)		11,2±2,9	5,6±2,2	3,4±0,4
Основная группа (n=117)	до лечения	34,1±19,7*	13,4±8*	8,7±7,6*
	после стац. лечения	38,6±21,6*	13,6±8,7*	9,3±7,6*

Примечание: * – достоверные изменения по сравнению с данными у здоровых (p<0,05)

Расстройства агрегации клеточных элементов крови, нарушения кровотока прежде всего в мелких сосудах могут быть причиной серьезных осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. Полученные данные указывают на рациональность добавления в комплекс лечения препаратов, достоверно снижающих агрегацию клеточных элементов крови, адгезию лейкоцитов, а также улучшающих деформируемость эритроцитов.

Выводы.

1. У пациентов с бактериальной внегоспитальной пневмонией наблюдается увеличение степени и скорости агрегации ЛТС, адгезии лейкоцитов.

2. Проводимое традиционное лечение бактериальной внегоспитальной пневмонии в течение 10-12 дней не обеспечивает достоверного улучшения показателей агрегации лейкоцитарно-тромбоцитарной суспензии, адгезии лейкоцитов и деформируемости эритроцитов.

3. Обоснована необходимость поиска дополнительных методов лечения для уменьшения расстройств микроциркуляции, вызванных пневмонией с целью предотвращения возможных последующих осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян Л.А., Верткин А.Л., Намазова Л.С. и др. Оптимизация эмпирической терапии внебольничной пневмонии у больных пожилого и старческого возраста // Лечащий врач. – 2005. – № 8. – С. 23–27.
2. Верткин А.Л., Вовк Е.И., Зайратьянц О.В. Возрождение клинико-морфологических сопоставлений как необходимое условие подготовки клинициста // Consilium medicum. – 2007. – Т. 9, № 3. – С. 43–45.
3. Губачев Ю.М., Симаненков В.И., Ильяшевич И.Г. Болезни системы дыхания. – Санкт-Петербург, 1999. – С. 63–73.
4. Амиров Н.Б. Показатели мембранной проницаемости, микроциркуляции, функции внешнего дыхания и содержание микроэлементов при медикаментозно-лазерной терапии пневмонии // Терапевтический архив. – 2002. – № 3. – С. 40–43.

ГИПОКСИЯ, АССОЦИИРОВАННАЯ С ОЖИРЕНИЕМ

Козловский В. И., Сергиевич А. В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Среди заболеваний, прямо связывающих ожирение с нарушениями дыхания, наиболее распространены синдром ожирения-гиповентиляции (СОГ) и синдром обструктивного апноэ во время сна (СОАС).

О нарушении дыхания, связанных с ожирением, во сне упоминается в работах Гиппократ [1]. В 1956 г. Burwell C.S. et al. описали синдром Пиквика («синдром ожирения-гиповентиляции»). Выделение СОАС в самостоятельную единицу произошло из синдрома Пиквика в 1965 г. [1]. За последние десятилетия были описаны и выделены из СОГ и СОАС множество новых более редких синдромов [1, 2].

СОГ встречается у лиц, страдающих ожирением и чрезмерной дневной сонливостью: 10% при ИМТ >30 кг/м² [3, 4], до 30% при ИМТ >35 кг/м² [3, 5], до 50% при ИМТ >50 кг/м² [3]. СОГ возникает чаще в возрасте 40-60 лет, встречается в основном у мужчин [4].

По данным Висконсинской рабочей группы от 30 до 60 лет 4% мужчин и 2% женщин имеют индекс апноэ-гипопноэ (ИАГ) ≥ 5 в сочетании с клинической симптоматикой СОАС. Однако если за основу синдрома взять только значение ИАГ, то распространённость его составит у мужчин 24%, а у женщин – 9% [1]. Приблизительно 40% лиц с ожирением имеют СОАС. 67% всех случаев заболевания СОАС вызвано ожирением [2].

На сегодняшний день весь каскад патогенетических событий, происходящих в организме пациента с ожирением, рассматривается через развитие хронической гиповентиляции.

Гиповентиляция развивается вследствие:

- Ожирение [1-4, 6].
- Рестриктивные нарушения легочной вентиляции. [3-5].
- Повышенное сопротивление дыхательных путей [1, 3, 5].
- Понижение центрального респираторного ответа на гипоксемию и гиперкапнию в состоянии сна [3, 5, 6].
- Понижение чувствительности дыхательного центра к концентрации углекислого газа в крови [4].
- Частые эпизоды обструкции верхних дыхательных путей во время сна [1, 3].
- Естественное снижение тонуса дыхательных мышц в состоянии сна [1].
- Снижение экскурсии легких [6].
- Кифоз грудного отдела позвоночника [6].
- Хроническое утомление дыхательной мускулатуры [5].
- Артериальная гипертензия [1].

- Постменопауза [2].
- Курение и употребление алкоголя [2].
- Врожденные или приобретенные дефекты верхней и нижней челюстей, избыточное разрастание лимфоидной ткани в области шеи, включая аденоиднозиллярную гипертрофию [2].
- Возможно наличие дефектов в хромосомах 2p, 8p, 19p) [2].
- Прием седативных или снотворных препаратов (бензодиазепины) [2].

Хроническая гипоксия приводит к различным заболеваниям через несколько патологических механизмов: системная воспалительная реакция [7], активация симпатической нервной системы [1, 7], оксидативный стресс, гиперкоагуляция, эндотелиальная дисфункция [7], развиваются метаболические и гормональные нарушения [1, 5, 7].

Все это приводит к развитию ряда заболеваний, связанных с ожирением:

- Сердечно-сосудистые заболевания [6, 7].
- Метаболический синдром [1, 4].
- Эндокринные заболевания [1, 2].
- Заболевания легких [7].

В диагностике гипоксии, ассоциированной с ожирением, помимо обязательного стандартного обследования проводят анализ газового состава артериальной крови для подтверждения наличия дневной гиперкапнии [3, 5], полисомнографическое исследование [2]. Широкое распространение получила пульсоксиметрия [4].

Основное направление терапии – устранение ожирения [3, 5] – диета, физические упражнения [3], медикаментозное и хирургическое лечение [5].

На сегодняшний день применение неинвазивной вспомогательной вентиляции легких является методом выбора при лечении гипоксии, ассоциированной с ожирением [1, 3, 5].

Используют контролируемые по давлению режимы

- CPAP – постоянное положительное давление в дыхательных путях [1, 3],
- BiPAP – двухуровневое положительное давление в дыхательных путях [1, 3].

У пациентов с тяжелыми и умеренными нарушениями газообмена в течение дня лечение следует начинать с CPAP-терапии, что позволяет устранить обструкцию верхних дыхательных путей во время сна [5].

Если CPAP-терапия не привела к нормализации PaCO₂ и устранению гипоксемии во время сна, то пациенту показана BiPAP-терапии (S- или ST-режим) [5].

Нами был обследован пациент Т., 1968 года рождения, находившийся на лечении в неврологическом отделении УЗ «ВГКБ №1» с диагнозом Компрессионно-ишемическое повреждение лицевого нерва справа, выраженный прозопарез. Артериальная гипертензия II риск 3. Алиментарное ожирение 3 степени.

Пациент предъявлял жалобы на внезапно возникшую асимметрию лица, иногда повышение давления в пределах 160-100 мм ртутного столба, одышку

смешанного характера при минимальной физической нагрузке, быструю утомляемость, хронический храп.

Анамнез. Отягощенная наследственность (родители пациента имели избыточную массу тела). Увеличение массы тела началось в молодом возрасте. Питание неполноценное, нерегулярное, высококалорийное. Образ жизни малоподвижный, физическая нагрузка отсутствует.

Физикальное обследование. Рост 179 см., вес 140 кг. ИМТ 43,694. Выявлено ожирение по абдоминальному типу. Отеков нет.

Аускультация легких: дыхание в легких везикулярное, ослаблено над всей поверхностью легких. Перкуссия сердца: смещение левой границы относительной тупости влево. Аускультация сердца: ритм правильный, тоны приглушены, акцент 2 тона над аортой. Живот мягкий, безболезненный.

МДКТ головного мозга, костей черепа, лицевого нерва: Очагов патологической плотности в веществе головного мозгане выявлено. Посттравматическая деформация костей носа. Незначительное утолщение мягких тканей в затылочной области слева.

Рентгенограмма ОГК: Легочные поля без инфильтративных теней. Купола диафрагмы четкие. Сердце расширено влево. Уплотнение аорты.

ЭКГ: ритм синусовый, ЧСС 88 в минуту, отклонение ЭОС влево, неполная блокада передней ветви ЛНПГ, признаки гипертрофии левого желудочка.

Биохимический анализ крови: глюкоза 6,54 ммоль/л; мочевины 5,3 ммоль/л; креатинин 108,1 мкмоль/л; общий билирубин 6,7 ммоль/л; общий белок 70,2 г/л; общий холестерин 8,3 ммоль/л; АЛТ 26 Е/л; АСТ 21 Е/л; ЛДГ 351 Е/л; СРБ 7,5 мг/л; калий 4,79 ммоль/л; натрий 140,2 ммоль/л; хлориды 107 ммоль/л.

Коагулограмма: АЧТВ 24,4 с; МНО 0,96; фибриноген А 6,69 г/л; тромбиновое время 13,8 с.

Общий анализ крови: эритроциты $4,64 \cdot 10^{12}$; гемоглобин 160 г/л; 45,4; средний объем эритроцита 97,8 фл; среднее содержание гемоглобина в эритроците 35,2 пг; анизоцитоз эритроцитов 14,7%; тромбоциты $196 \cdot 10^9$; лейкоциты $9,6 \cdot 10^9$; базофилы 1%; сегментоядерные нейтрофилы 76%; лимфоциты 21%; моноциты 2%; СОЭ 5 мм/ч.

Общий анализ мочи: цвет светло-желтый; прозрачная; относительная плотность 1018; белка нет; глюкозы нет; плоский эпителий 2-4; лейкоциты 2-4.

Проведены нагрузочные пробы. Тест 6-минутной ходьбы с контролем сатурации: АД начальное 160/100 мм рт.ст., АД конечное 180/100 мм рт.ст., ЧСС 43-74 удара в минуту, шкала Борга 4, пройденное расстояние 400 м, SpO₂ упала с 97% до 93% сразу после начала нагрузки. Проба Штанге (на вдохе): 37 с, SpO₂ 97%. Проба Генчи (на выдохе): 24 с, SpO₂ 96%. Сатурация кислорода значительно падает (до 93%) во время физической нагрузки.

После физической нагрузки была определена турбидиметрическим методом (по Борну) агрегация лейкоцитарно-тромбоцитарной суспензии под влиянием адреналина ($1 \cdot 10^{-5}$ г/л) на анализаторе агрегации тромбоцитов

«СОЛАР» AP2110: 13,7 минут – повышение агрегации лейкоцитарно-тромбоцитарной суспензии.

Можно сделать вывод, что у пациента синдромом ожирения-гиповентиляции, что усугубляет течение основного заболевания. Для подтверждения этого диагноза необходимо провести мониторинг газового состава крови и полисомнографическое исследование.

Диагностика гипоксии, ассоциированной с ожирением, представляет определенные трудности, так как пациенты зачастую недооценивают симптомы, считают храп, сонливость, повышенную утомляемость незначительными и не предъявляют соответствующих жалоб. В этой ситуации даже очевидно тяжелые формы заболевания часто остаются недиагностированными и нелечеными, что значительно ухудшает качество и прогноз жизни пациентов.

Заключение. Ожирение – это проблема, часто связанная с системной гипоксией, за которой следует каскад патофизиологических реакций, в том числе гиперкоагуляция. Как итог, с течением времени развивается множество связанных с ожирением заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фадеева М.И., Савельева Л.В., Фадеев В.В. Синдром обструктивного апноэ сна в практике врача-эндокринолога // Ожирение и метаболизм. – 2010. – № 1.
2. Галяви Р.А. Синдром обструктивного апноэ сна. определение, диагностика, лечение // Вестник современной клинической медицины. – 2010. – Т. 3, № 4. – С. 38–42.
3. Авдеев С.Н., Нуралиева Г.С. Синдром ожирения-гиповентиляции // Практическая пульмонология. – 2006. – № 3.
4. Круглякова Л.В. Парный случай синдрома пиквика у женщин – медицинская казуистика // Бюллетень. – 2019. – Т. 72. – С. 80–84.
5. Пальман А.Д. Синдром ожирения – гиповентиляции: современный взгляд // Эффективная фармакотерапия. – 2016. – № 19. – С. 68–73.
6. Качурина К.В., Дорожкина Н.С., Сухарев В.А. Ожирение – как один из предрасполагающих факторов развития синдрома пиквика. Разбор клинического случая // Смоленский медицинский альманах. – 2017.
7. Маркин А.В., Мартыненко Т.И., Цеймах И.Я. и др. Синдром обструктивного апноэ во сне у больных хронической обструктивной болезнью легких // Клиническая медицина. – 2012. – № 7.

АНАЛИЗ ЗАВИСИМОСТИ «ДОЗА-ЭФФЕКТ» ДЛЯ ДИПЕПТИДА PRO-GLY В УСЛОВИЯХ ИНТРАГАСТРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

Кравченко Е. В.¹, Жебракова И. В.¹, Бизунок Н. А.²,
Дубовик Б. В.², Зильберман Р. Д.¹

¹ Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
² Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Введение. К числу наиболее распространенных механизмов патогенеза заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) относится ишемически-гипоксическое поражение головного мозга, включающее такие звенья как поражение клеток, вызванное свободными радикалами; оксидативный стресс; эксайтотоксичность; некроз и/или апоптоз клеток; воспаление и иммунная патология; секвестрация молекул и гибель клетки [3]. Ишемическое поражение головного мозга ведет к нарушениям синаптической трансмиссии и длительному когнитивному дефициту, в т.ч. – мнестическим нарушениям [10].

Механизм действия синтетических антиоксидантов связан с влиянием на базисные звенья патогенеза заболеваний ЦНС. Антиоксидантная терапия эффективна у пациентов как с острыми, так и с хроническими формами сосудистой мозговой недостаточности [9]. В клинической практике широко применяются водорастворимые антиоксиданты биогенного типа – производные 3-оксипиридина эмоксипин и мексидол. Мексидол характеризуется доказанным ноотропным действием: предотвращает нарушения обучения и памяти, вызванные старением и различными патогенными факторами, повышает концентрацию внимания, препятствует снижению когнитивных функций (КФ) у пациентов с умеренными когнитивными расстройствами (УКР) [9].

Ноопепт – ноотропное средство, замещенный Pro-Gly-дипептид, эффективный, в частности, при УКР у пациентов, перенесших ишемический инсульт и у лиц с дисциркуляторной энцефалопатией [8]. Механизм действия ноопепта включает угнетение pSAPK/JNK и pERK1 (киназ, индуцируемых стрессом) и HIF-1-позитивное действие (HIF-1 – фактор, индуцируемый гипоксией) [2]. Ноопепт проявляет свойства антиоксиданта [6]. Циклопролилглицин (ЦПГ) – синтетический аналог эндогенного пептида с широким спектром психотропной активности, включающим анксиолитическое (Гудашева Т.А и др., 2001; Seredenin SB, et al., 2002)[1], антиамнестическое (Гудашева Т.А. и др., 1999)[1], антигипоксическое [4] и нейропротективное влияние [7]. Дипептиды разработаны в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова.

Pro-Gly – дипептид, структурно родственной ноопепту (спектр фармакологического действия которого включает антиоксидантный эффект) и ЦПГ (обладающему антигипоксическим действием) [4]. Pro-Gly, как и вышеназванные пролинсодержащие дипептиды, характеризуется облегчающим влиянием на мнестические функции лабораторных грызунов [5]. Ранее в тесте

«острого» угашения исследовательско-ориентировочной реакции (ИОР) было продемонстрировано облегчающее влияние Pro-Gly на процессы неассоциативного обучения (габитуации) мышей ICR в условиях внутрибрюшинного введения в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг [5]. Вместе с тем, минимальная доза, оказывающая ноотропное действие, не была установлена; не изучена эффективность дипептида при введении *per os*, что имеет важное значение для возможного практического применения указанного соединения.

Цель. Изучение зависимости «доза-эффект» для дипептида Pro-Gly в отношении неассоциативного обучения (в тесте «острого» угашения ИОР) при интрагастральном (и/г) введении аутбредным мышам ICR.

Методы исследования. В экспериментах использовали белых аутбредных мышей-самцов ICR (с массой тела 19,7-44,1 г, в возрасте 2-3,5 мес). Оценку процесса габитуации осуществляли по ранее описанной методике [5] в программно-аппаратном комплексе «Универсал-22-32».

Особям КГ (N=6) назначали и/г двукратно (второе введение – за 30-60 мин до эксперимента) дистиллированную воду (ДВ), мышам основных групп ОГ-1 (N=5), ОГ-2 (N=7), ОГ-3 (N=5), ОГ-4 (N=7) – Pro-Gly в дозах 0,001 мг/кг, 0,01 мг/кг, 0,1 мг/кг и 0,5 мг/кг соответственно, в том же режиме.

Результаты и их обсуждение. При введении образца во всех изученных дозах (0,001 – 0,5 мг/кг) отмечалось статистически достоверное усиление габитуации ГДА в сравнении с контролем, $P < 0,05$ – таблица. Статистически значимое влияние на мнестические функции по критерию «угашение ВДА» отмечалось при введении Pro-Gly в двух дозах (0,01 и 0,5 мг/кг) и не сопровождалось изменениями исходной ДА; последнее существенно снижало вероятность некорректной трактовки результатов экспериментов и указывало на наличие селективного ноотропного действия – таблица.

Таблица – Влияние Pro-Gly (и/г, двукратно) на процесс «острого» угашения двигательной активности у аутбредных мышей ICR в условиях актометрии

Группа, образец /доза /число животных	Коэффициенты уравнений линейной регрессии				P
	ГДА		ВДА		
	a	b	a	b	
Контроль (N=6)	4,09±0,10	-0,007±0,002	2,75±0,15	-0,008±0,003	-
ОГ-1, Pro-Gly 0,001 мг/кг (N=5)	4,90±0,08	-0,015±0,001	3,71±0,11	-0,014±0,002	ГДА: $P_a, P_b < 0,05$ ВДА: $P_a < 0,05$
ОГ-2, Pro-Gly 0,01 мг/кг (N=7)	4,42±0,07	-0,018±0,001	3,07±0,14	-0,020±0,003	ГДА: $P_a, P_b < 0,05$ ВДА: $P_b < 0,05$
ОГ-3, Pro-Gly 0,1 мг/кг (N=5)	4,76±0,08	-0,013±0,001	3,35±0,13	-0,007±0,002	ГДА: $P_a, P_b < 0,05$ ВДА: $P_a < 0,05$
ОГ-4, Pro-Gly 0,5 мг/кг (N=7)	4,68±0,10	-0,025±0,002	2,70±0,21	-0,027±0,004	ГДА: $P_a, P_b < 0,05$ ВДА: $P_b < 0,05$

Примечания: 1. Прямые, полученные методом линейной регрессии: $y = a + bx$; 2. Различия коэффициентов a и b статистически значимы в сравнении с контрольной группой (КГ) – $P_a, P_b < 0,05$; ANOVA однофакторный с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Ньюмена-Кейлса

Габитуация ГДА и ВДА при введении Pro-Gly в дозе 0,5 мг/кг (и/г) была более выраженной, чем при использовании дипептида в дозах 0,001; 0,01 и 0,1 мг/кг, $P < 0,05$.

Выводы. Изучена зависимость «доза-эффект» для соединения Pro-Gly при и/г введении в отношении неассоциативного обучения мышцей ICR. Применение дипептида в широком диапазоне доз (0,001; 0,01; 0,1 и 0,5 мг/кг) сопровождалось статистически достоверным усилением габитуации в сравнении с контролем. Pro-Gly характеризовался наиболее высокой эффективностью при введении в дозе 0,5 мг/кг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллина А.А., Васильева Е.В., Кудрин В.С. и др. Влияние циклопролилглицина и его аналогов на моноаминергические системы мозга мышей BALB/c// Фармакокин. и фармакодин. – 2020. – № 1. – С.3–10.
2. Вахитова Ю.В., Садовников С.В., Борисевич С.С. и др. Молекулярный механизм действия Ноопепта – замещенного Pro-Gly-дипептида // Acta Naturae. – 2016. – Т. 8, № 1 (28). – С. 90–98.
3. Дума С.Н., Рагино Ю.И. Роль антиоксидантов в коррекции психовегетативных, астенических и когнитивных нарушений // Трудный пациент. – 2011. – Т. 9, № 4. – С. 28–35.
4. Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Назарова Г.А. и др. Сходство циклопролилглицина с пирацетамом по антигипоксическому и ней-ропротекторному эффектам // Эксперим. и клин. фармакология. – 2012. – Т. 75, № 9. – С. 3–6.
5. Кравченко Е. В., Жебракова И. В., Насек В. М. и др. Регуляция процессов неассоциативного обучения олигопептидами, структурно родственными окситоцину // Новости мед.-биол. наук. – 2020. – Т. 20, № 2. – С. 30–34.
6. Островская Р.У., Гудашева Т.А., Воронина Т.А. и др. Оригинальный ноотропный и нейропротективный препарат Ноопепт// Эксперим. и клин. фармакология. – 2002.– Т. 65, № 5. – С.66–72.
7. Поварнина П.Ю., Колясникова К.Н., Николаев С.В. и др. Нейропептид циклопролилглицин проявляет нейропротективную активность при системном введении на модели неполной глобальной ишемии у крыс и в условиях глутаматной нейротоксичности in vitro// Бюлл. эксперим. биол. и мед.– 2015. – Т. 160, № 11. – С. 600–603.
8. Трухан Д.И., Мазуров А.Л. Легкие и умеренные когнитивные нарушения: актуальные вопросы диагностики и лечения на этапе оказания первичной медико-санитарной помощи // Consil. Medicum. – 2016.– Т. 18, № 2. – С. 74–80.
9. Шишкова В.Н. Когнитивные нарушения как универсальный клинический синдром в практике терапевта // Тер. архив. – 2014. – № 11. – С. 128–134.
10. Al-Qazzaz N.K., Ali S.H., Ahmad S.A. et al. Cognitive impairment and memory dysfunction after a stroke diagnosis: a post-stroke memory assessment // Neuropsychiatr. Dis. Treat. – 2014. – Vol. 10. – P. 1677–1691.

РЫБИЙ ЖИР ПРЕДУПРЕЖДАЕТ СНИЖЕНИЕ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ У КРЫС С ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИМ СТРЕССОВЫМ РАССТРОЙСТВОМ

Кужель О. П., Кужель Д. К.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Введение. Тема посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) становится всё более актуальной исходя из той военной и политической обстановки, которая сложилась в мире. ПТСР возникает как отсроченная реакция на стрессовое событие или ситуацию исключительно угрожающего или катастрофического характера, которая способна вызвать сильный стресс практически у любого человека. Отдаленные последствия психологической травмы проявляются в различных вариантах психосоматической патологии включая нарушения сердечно-сосудистой системы. Одним из механизмов нарушения тонуса сосудов сердца при ПТСР является дисфункция эндотелиоцитов, которая характеризуется гиперпродукцией монооксида азота (NO) и образованием активных форм кислорода (АФК) [1].

Так как избежать воздействий стресса современному человеку не представляется возможным особенно остро ставится вопрос о поиске способов ограничения или предотвращения развития дисфункции эндотелия при ПТСР. Имеющиеся научные данные указывают на то, что некоторые микронутриенты, такие как рыбий жир, содержащий омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты и витамин D, оказывают благотворное влияние на сердечно-сосудистую систему [2]. Однако мало данных о влиянии рыбьего жира на тонус коронарных сосудов при ПТСР.

Цель. Оценить возможность и механизм предупреждения нарушения тонуса коронарных сосудов у крыс, вызванные посттравматическим стрессовым расстройством с помощью введения им рыбьего жира.

Методы исследования. Исследования проведены на 80 беспородных белых крысах-самцах массой 210-240 г, которые были разделены на 4 группы: «Контроль», «ПТСР», «Рыбий жир», «Рыбий жир+ПТСР». Аналог ПТСР воспроизводили, используя модифицированную модель «имитации присутствия хищника» (контакт с кошачьими экскрементами в течение 10 дней по 15 мин ежедневно) [3]. Следующие 14 дней крысы не подвергались действию стрессора. На 25-ый день у животных определяли поведение в тесте «Открытое поле». Признаки ПТСР наблюдались у 55% животных, у которых имитировали присутствие хищника. О наличии ПТСР у крыс судили по снижению их исследовательской активности и повышению тревожности (уменьшение количества вертикальных стоек на 50%, увеличение времени замирания на 60% и увеличение времени пребывания их в периферической зоне на 19%).

Крысам групп «Рыбий жир», «Рыбий жир+ПТСР» внутрижелудочно вводили по 0,2 мл рыбьего жира (100 мг/кг массы тела эйкозапентаеновой (ЭПК) и докозагексаеновой (ДГК) кислот, ЗАО «Биосола», Литва) в течение 13 дней (за 3 дня до и в течение 10 дней действия стрессового фактора). Крыс содержали в стандартных условиях вивария при контролируемой температуре (18–22°C) и влажности (65%), на стандартном пищевом рационе.

Все эксперименты на животных проводились в соответствии с требованиями Женевской конвенции "International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals" (Geneva, 1990). Протокол проведения экспериментов был утвержден Комиссией по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными ВГМУ.

Тонус коронарных сосудов изучали на препаратах сердец крыс-самцов, изолированных по методу Лангендорфа. Сердца перфузировали раствором Кребса-Хензеля стандартного состава, насыщенного карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂), при объемной скорости коронарного потока (ОСКП) 6; 8; 10 мл/мин, используя установку для перфузии изолированного сердца мелких лабораторных животных ИH-SR типа 844/1 (HSE-НА, ФРГ), которая оборудована датчиком для измерения аортального давления (Isotec pressure transducer). Компьютерную регистрацию осуществляли при помощи программы ACAD (HSE, ФРГ).

Вклад оксида азота, в регуляцию тонуса коронарных сосудов изучали путем добавления в перфузионный раствор неселективного ингибитора эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) метилового эфира N-нитро-L-аргинина (L-NAME) в концентрации 60 мкМ.

Результаты и их обсуждение. Ступенчатое повышение объемной скорости коронарного потока (ОСКП) от 6 до 10 мл/мин приводило к закономерному увеличению коронарного перфузионного давления (КПД) в сердцах животных группы «Контроль». Добавление в раствор, которым перфузировали сердца контрольной группы, L-NAME («Контроль+L-NAME») сопровождалось увеличением КПД при ОСКП 6 мл/мин – на 16%; 8 мл/мин – в 1,8 раз; 10 мл/мин – на 68%.

При перфузии сердец крыс группы «Рыбий жир» КПД, определяемое при ОСКП от 6 до 10 мл/мин, не отличалось от контрольных показателей. Интракоронарное введение L-NAME в сердца группы «Рыбий жир» («Рыбий жир+L-NAME») сопровождалось увеличением КПД при ОСКП 6 и 10 мл/мин, в той же степени, что и в группе контрольных животных, а при ОСКП 8 мл/мин наблюдалось увеличение КПД на 32%, сравнение с контрольной группой животных при аналогичных уровнях ОСКП.

В сердцах крыс с посттравматическим стрессовым расстройством (группа «ПТСР») ступенчатое повышение ОСКП в диапазоне от 6 до 10 мл/мин так же, как и в сердцах контрольной группы животных, приводило к повышению коронарного перфузионного давления. Однако, значение КПД в сердцах, группы «ПТСР», при ОСКП 10 мл/мин было ниже, чем в сердцах группы «Контроль» на 30% ($p \leq 0,05$, в сравнении с контролем). Таким образом, в

сердцах животных с посттравматическим стрессовым расстройством наблюдалось снижение тонуса коронарных сосудов.

Добавление в раствор для перфузии сердец, выделенных из организмов животных с ПТСР неселективного блокатора эндотелиальной NO-синтазы L-NAME сопровождалось увеличением КПД в той же степени, что и в сердцах животных группы «Контроль» с интактной системой NO-синтазы. Однако значения КПД оставались более низкими, по сравнению с группой «Контроль+L-NAME» при ОСКП 8 мл/мин на 46%, 10 мл/мин – 64%. Этот факт указывает на то, что при ПТСР образуется избыточная продукция NO, синтезируемый как эндотелиальной, так и индуцибельной NO-синтазой.

В сердцах крыс группы «Рыбий жир+ПТСР» КПД при всех уровнях ОСКП не отличалось от контрольных значений. Следовательно, использование рыбьего жира предупреждало постстрессорное снижение тонуса коронарных сосудов. Введение блокатора L-NAME в раствор, которым перфузировали сердца группы «Рыбий жир+ПТСР» («Рыбий жир+ПТСР+ L-NAME») сопровождалось увеличением КПД при всех уровнях ОСКП, как и в контрольной группе животных с блокированной системой синтеза эндотелиальной NO-синтазы. Вероятно, использование рыбьего жира у крыс с ПТСР сопровождалось снижением продукции АФК, что, в свою очередь, могло повышать биодоступность монооксида азота эндотелиального происхождения. Данное предположение подтверждается работами А.Н.Павлюкевич на модели пренатально стрессированных крыс-самцов [4].

Выводы. Использование рыбьего жира предупреждает снижение тонуса коронарных сосудов у крыс с ПТСР, что, вероятно, обусловлено его способностью повышать биодоступность NO.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lazuko S.S. et al. Posttraumatic Stress Disorder Disturbs Coronary Tone and Its Regulatory Mechanisms // *Cell Mol Neurobiol.* – 2018. – Vol. 38, № 1. – P. 209-217.
2. Abdelhamid A.S. et al. Omega-3 fatty acids for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2018. – № 7. – P. CD003177.
3. Tseilikman O.B., et al. Adrenal insufficiency in rats after prolonged exposure to the predator cue: A new animal model of post-traumatic stress disorder // *Psychoneuroendocrinology.* – 2017. – Vol. 83. – P. 1–83.
4. Павлюкевич А. Н Введение рыбьего жира беременным крысам на фоне стресса предотвращает нарушение образования и действия оксида азота у потомства // *Вестник ВГМУ.* – 2021. – Том 20, № 4. – С. 25–33.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ В ОПЫТАХ IN VITRO

Кузьмицкая И. А., Романчук А. В., Ерошенко Ю. В., Мороз В. Л.,
Белоновская Е. Б., Кирко С. Н., Островский А. А.

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

Введение. Одним из существенных факторов патогенетического звена при возникновении и развитии большинства заболеваний печени и сердца является интенсификация свободно-радикальных процессов, ослабление систем антиоксидантной защиты организма, что неизбежно приводит к развитию окислительного стресса. [1]. В связи с этим поиск новых веществ, обладающих широким спектром антиокислительного действия является актуальной проблемой современной медицины. В настоящее время пристальное внимание фармакологов и клиницистов привлекают растительные объекты, являющиеся перспективными источниками антиоксидантов, эффективно регулирующих процессы окисления и перооксидации. Особый интерес вызывает хлорогеновая кислота (ХГК, 5-O-caffeoylquinic acid). ХГК является основным фенольным компонентом кофейных зерен, а также вырабатывается другими видами растений (овощами, фруктами и т. д.) [2].

Цель. Оценить эффективность ингибирования хлорогеновой кислотой окислительных процессов в митохондриях печени и сердца крыс при инициации окислительного стресса трет-бутилгидропероксидом (tBHP) *in vitro*.

Методы исследования. Митохондрии из печени и сердца животных выделяли общепринятым методом дифференциального центрифугирования (Pedersen et al., 1978). Митохондриальный осадок суспендировали в среде выделения: 150 мМ КСl, 20 мМ КН₂РO₄, 0,5 мМ ЭДТА, рН 7,4. В начале эксперимента митохондрии инкубировали с добавлением ХГК. Конечная концентрация ХГК варьировала в диапазоне от 20 мкМ до 400 мкМ (20, 100, 200, и 400 мкМ). Окислительный стресс *in vitro* индуцировали добавлением в среду tBHP (концентрация 50 мкМ). Оценка интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) проводилась по содержанию конечных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС). Содержание ТБКРС и восстановленного глутатиона (GSH) измеряли спектрофотометрическим методом.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью комплекса программ Microsoft XP. Для оценки различий между контрольной и экспериментальными группами использовали t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследования добавление окислительного агента tBHP, индуцировало перекисное окисление липидов и окисление восстановленного глутатиона в митохондриях печени и сердца крыс: отмечена активация образования ТБКРС (повышение содержания в 4,5 раза),

существенное снижение уровня GSH (в 1,7 и 1,4 раза, соответственно). Преинкубация с 200 и 400 мкМ ХГК была наиболее эффективной: в митохондриях печени установлено, что добавление в инкубационную среду ХГК в концентрации 200 мкМ и 400 мкМ достоверно повышало уровень GSH в 1,4 раза и 1,8 раза, соответственно, однако не отмечено достоверного снижения повышенного уровня ТБКРС (рис. 1). Использование низких доз ХГК (20 и 100 мкМ) не оказывало значительного влияния на данные показатели.

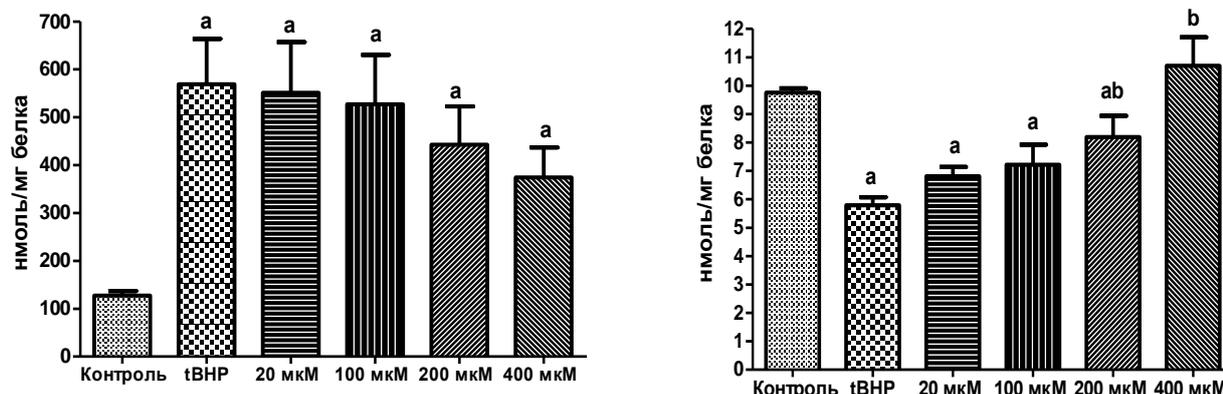


Рисунок 1. – Содержание ТБКРС и GSH в митохондриях печени крыс (M±SD) при добавлении различных концентраций хлорогеновой кислоты
^a – достоверные отличия по отношению к контролю;
^b – достоверные отличия по отношению к tBHP

Наибольшая способность ХГК ингибировать окислительные процессы наблюдалась в митохондриях сердца (рисунок 2).

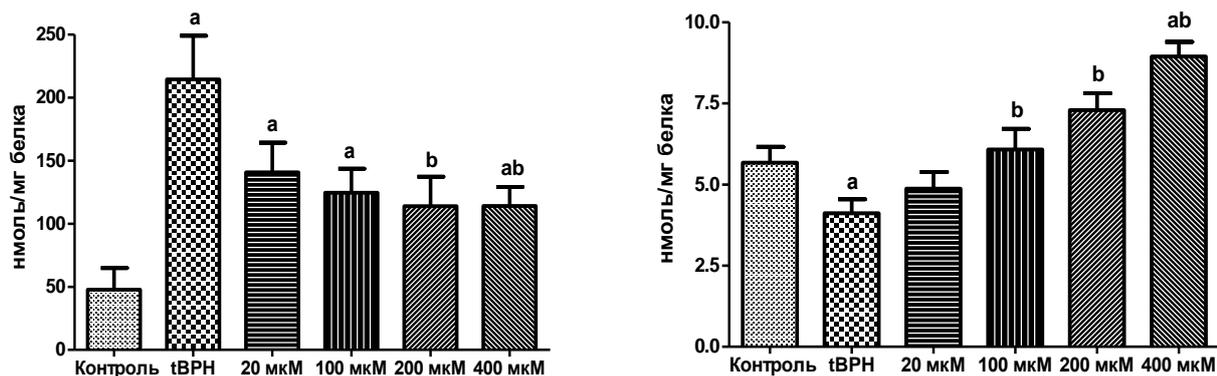


Рисунок 2. – Содержание ТБКРС и GSH в митохондриях сердца крыс (M±SD) при добавлении различных концентраций хлорогеновой кислоты
^a – достоверные отличия по отношению к контролю;
^b – достоверные отличия по отношению к tBHP

Выявлено достоверное снижение содержания ТБКРС при концентрации 200 мкМ и 400 мкМ ХГК в 1,9 раза, а также существенное увеличение уровня GSH при добавлении 100 мкМ ХГК в 1,5 раза, 200 мкМ в 1,8 раза и 400 мкМ в

2,2 раза. Показатели достигали, а в случае концентрации ХГК в 200 и 400 мкМ превышали значения контрольного уровня. Следует отметить, что антиоксидантное действие ХГК в данном случае оказалось дозозависимым.

Выводы. Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод о том, что в опытах *in vitro* ХГК эффективно предотвращала перекисное окисление липидов мембран митохондрий печени и сердца, индуцируемое трет-бутил гидропероксидом, ингибировала окисление восстановленного глутатиона, что свидетельствует о ее протекторном действии и наличии антиоксидантного потенциала. ХГК в концентрации 200 и 400 мкМ оказалась наиболее эффективна в качестве ингибитора процессов ПОЛ, что делает ее перспективной в качестве антиоксидантного средства в комплексном лечении заболеваний печени и сердца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меньщикова Е.Б. и др. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания // Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
2. Naveeda M. et al. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research // Biomed. & Pharm. – 2018. – Vol. 97. – P. 67–74.

INOS-ЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ КАНАЛОПАТИИ КЛЕТОК СЕРДЦА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ВОСПРОИЗВОДИМЫМ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПИНАЦИДИЛА

Лазуко С. С.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Введение. Гипергликемия, развивающаяся у пациентов с сахарным диабетом, является пусковым механизмом развития осложнений сахарного диабета, приводящих к ухудшению качества жизни пациентов, снижению их трудоспособности и укорочению продолжительности их жизни [1]. Патогенез диабетических макро- и микроангиопатий, подходы к их профилактике и способы лечения в настоящее время активно изучаются. Установлено, что одним из важнейших патогенетических механизмов этих осложнений является дисфункция эндотелиоцитов кровеносных сосудов. В частности, она характеризуется снижением экспрессии гена эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и уменьшением активности этой изоформы фермента при повышении активности индуцибельной NO-синтазы (iNOS) [2]. Состояния, связанные с эндотелиальной дисфункцией, сопровождаются снижением биодоступности NO и, как следствие, нарушением тонуса сосудов сердца. Потенциальными кандидатами на участие в формировании ответа гладкомышечных клеток

стенки коронарных сосудов при различных воздействиях являются $K_{ATФ}$ -каналы. Активаторы калиевых каналов, включая диазоксид, пинацидил, кромакалим и никорандил, являются структурно разнообразной группой препаратов, которые открывают $K_{ATФ}$ -каналы в различных типах клеток, таким образом, вызывая гиперполяризацию плазматической мембраны и уменьшая электрическую активность. Поэтому, изучение активаторов $K_{ATФ}$ -каналов, которые регулируют их деятельность, представляет несомненный интерес для практической медицины и имеет важное значение в выработке целенаправленной терапевтической стратегии при заболеваниях сердечно-сосудистой системы [3].

Цель. Оценить вклад индуцибельной NO-синтазы в механизмы развития дисфункции АТФ-чувствительных калиевых каналов ($K_{ATФ}$ -каналов) коронарных сосудов у крыс с экспериментальным сахарным диабетом, развивающемся на фоне введения пинацидила.

Методы исследования. Тонус коронарных сосудов и сократительную функцию миокарда изучали на изолированных сердцах крыс-самок из которых были сформированы экспериментальные группы по 8 голов в каждой: «Контроль»; «Контроль в/б пинацидил» (пинацидил вводили внутрибрюшинно в течение 17 дней); «Сахарный диабет»; группа животных с сахарным диабетом, воспроизводимым на фоне введения пинацидила – «Сахарный диабет в/б пинацидил». Сердца перфузировали в условиях постоянного потока при объемной скорости коронарного потока (ОСКП) 6, 8, 10, 15 мл/мин в два этапа. На первом этапе сердце перфузировали раствором Кребса-Хензелейта, на втором этим же раствором, но при ОСКП 10 мл/мин добавляли селективный ингибитор $K_{ATФ}$ -каналов глибенкламид (ГЛБ) в концентрации 10 мкМ. Блокатор глибенкламид приводил к повышению исходного уровня КПД, и по степени его прироста косвенно судили об активности $K_{ATФ}$ -каналов клеток сердца: чем больше выражен коронароконстрикторный эффект ГЛБ, тем больше активность $K_{ATФ}$ -каналов. Вклад iNOS в механизмы регуляции тонуса коронарных сосудов исследовали при помощи его высокоселективного блокатора S-метилизотиомочевина (S-МТ, 10^{-6} М). 14-ти дневный сахарный диабет у крыс моделировали с помощью однократного внутрибрюшинного введения стрептозоцина (50 мг/кг). Пинацидил вводили внутрибрюшинно в дозе 0,3 мг/кг, содержащийся в 0,2 мл физиологического раствора за 3 дня до и во время моделирования сахарного диабета (всего 17 дней).

Результаты и их обсуждение. В крови животных группы «Сахарный диабет» и «Сахарный диабет в/б пинацидил» уровень глюкозы крови составлял в среднем более 20 ммоль/л, наблюдались глюкозурия и кетонурия (для сравнения, уровень глюкозы крови контрольных животных – 5,7 (5,8;5,0) ммоль/л). Концентрация глюкозы в крови животных группы «Контроль в/б пинацидил» статистически достоверно не отличалась от показателей контрольной группы животных и составляла 5,0 (4,8;5,1) ммоль/л. В группах «Сахарный диабет» и «Сахарный диабет в/б пинацидил» выявлялось снижение массы тела крыс в среднем на 19% ($p < 0,05$, в сравнении с контролем). Выживаемость животных с экспериментальным сахарным диабетом и с

сахарным диабетом, воспроизводимым на фоне внутрибрюшинного введения пинацидила, составляла 70%. В крови животных «Контроль в/б пинацидил» содержания гликированного гемоглобина не отличалось от контрольных значений и составляло 2,3%. При сахарном диабете и экспериментальном сахарном диабете, воспроизводимым на фоне внутрибрюшинного введения пинацидила, определялось повышение содержания гликированного гемоглобина до 5,4 и 6% соответственно ($p < 0,05$, в контрольной группе животных этот показатель составлял 2,6%).

Внутрибрюшинное введение пинацидила контрольным животным не сопровождалось изменением тонуса коронарных сосудов и сократительной активности миокарда. Добавление в раствор для перфузии сердец группы «Контроль в/б пинацидил» S-MT не изменяло тонуса коронарных сосудов и сократительной активности миокарда. Вероятно, в этих условиях iNOS не образуется или образуется в незначительных количествах. Добавление в раствор, которым перфузировали сердца группы «Контроль в/б пинацидил» глибенкламида сопровождалось увеличением КПД и РВД в равной степени, как и в сердцах крыс группы «Контроль».

В сердцах животных группы «Сахарный диабет в/б пинацидил», наблюдалось снижение коронарного перфузионного давления при ОСКП, равной 8, 10 и 15 мл/мин в среднем на 26% ($p < 0,05$, по сравнению с группой «Контроль»). В этой же группе развиваемое внутрижелудочковое давление при всех уровнях ОСКП снижалось в среднем на 22% ($p < 0,05$, по сравнению с группой «Контроль»). Эти данные указывают на снижение тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда у крыс группы «Сахарный диабет в/б пинацидил». Добавление в раствор для перфузии сердец группы «Сахарный диабет в/б пинацидил» S-MT полностью предупредило вызванное стойкой гипергликемией снижение тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда.

Добавление в раствор, которым перфузировали сердца животных группы «Сахарный диабет в/б пинацидил» блокатора глибенкламида сопровождалось увеличением КПД при ОСКП 10 мл/мин и составляло 98,0 (93,0;102,5) мм рт.ст., процент прироста КПД – 68,0%, что было выражено в меньшей степени, чем в группе контрольных животных при аналогичных условиях (для сравнения в контроле КПД – 82%). Под влиянием ГЛБ развиваемое внутрижелудочковое давление в сердцах животных группы «Сахарный диабет в/б пинацидил» снижалось при ОСКП 10 мл/мин на 35% ($p < 0,05$, для сравнения РВД в группе контрольных животных с заблокированными $K_{ATФ}$ -каналами составляло 32,3 (27,8;34,7)). Следовательно, в сердцах животных группы «Сахарный диабет в/б пинацидил» наблюдалось снижение функциональной активности АТФ-чувствительных калиевых каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов и кардиомиоцитов. При добавлении в раствор, которым перфузировали сердца группы «Сахарный диабет в/б пинацидил», S-метилизотиомочевины и глибенкламида процент прироста КПД составлял 83% (для сравнения в контроле в идентичных условиях – 81,5%), значения РВД также не отличались от контрольных показателей. Таким образом, блокада iNOS S-MT

предупреждала снижение функционирования K_{ATP} -каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов и кардиомиоцитов сердец, выделенных из организмов животных группы «Сахарный диабет в/б пинацидил».

Выводы. 1. Введение активатора сарколемальных K_{ATP} -каналов пинацидила не предупреждало, вызванное стойкой гипергликемией снижение тонуса коронарных сосудов, сократительной активности миокарда и функционирование АТФ-чувствительных калиевых каналов клеток сердца.

2. Ослабление миогенного тонуса коронарных сосудов, снижение сократительной функции миокарда и функциональной активности K_{ATP} -каналов у крыс с сахарным диабетом, воспроизводимым на фоне внутривенного введения пинацидила, во многом обусловлены стимуляцией индуцибельной NO-синтазы.

ЛИТЕРАТУРА

1. IDF Diabetes Atlas, 6th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2013.
2. Nagareddy P.R., Xia Z., McNeill J.H. et al. Increased expression of iNOS is associated with endothelial dysfunction and impaired pressor responsiveness in streptozotocin-induced diabetes // *Am J. Physiol Heart Circ Physiol.* – 2005. – Vol. 289, № 5. – P. H2144–2152.
3. Rajkovic J., Peric M., Stanisic J. et al. The role of the adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in pinacidil-induced vasodilatation of the human saphenous vein in patients with and without type 2 diabetes mellitus // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2020. – Vol.71, № 1. – P. 125–135.

ЗАВИСИМАЯ ОТ iNOS РЕГУЛЯЦИЯ ВКСА-КАНАЛОВ КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ, РАЗВИВАЮЩЕМСЯ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЕ 2-ЭТИЛТИОБЕНЗИМИДАЗОЛА ГИДРОБРОМИДА

Лазуко С. С.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Введение. Одним из важнейших патогенетических механизмов диабетических макро- и микроангиопатий является дисфункция эндотелиоцитов кровеносных сосудов [2]. В частности, она характеризуется повышением активности индуцибельной NO-синтазы (iNOS) во многих типах клеток в т.ч. в кардиомиоцитах [3], сосудистых гладкомышечных клетках [4] и эндотелиоцитах кровеносных сосудов [4] и нарушением функционирования кальцием активируемых калиевых каналов большой проводимости (ВК_{Ca}-каналов), расположенных в эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудистой стенки [6]. Производные бензимидазола представляют собой универсальные азотсодержащие гетероциклические соединения, обладающие антиоксидантной, противовоспалительной, антидиабетической и др.

активностью [1, 5]. В то же время, сведений о регуляции функциональной активности $ВК_{Ca}$ -каналов при сахарном диабете, развивающемся на фоне использования производных бензимидазола, не достаточно.

Цель. Оценить вклад индуцибельной NO-синтазы в механизмы регуляции функциональной активности кальцием активируемых калиевых каналов большой проводимости ($ВК_{Ca}$ -каналы) коронарных сосудов у крыс с экспериментальным сахарным диабетом, развивающемся на фоне введение 2-этилтиобензимидазола гидробромида (2-ЭТГ).

Методы исследования. Показатели коронарного перфузионного давления (КПД) и развиваемого внутрижелудочкового давления (РВД) изучали на препаратах перфузируемого сердца по методу Лангендорфа в условиях постоянного потока. На первом этапе сердце перфузировали раствором Кребса-Хензелейта, на втором таким же раствором, но при объемной скорости коронарного потока (ОСКП) 10 мл/мин добавляли неселективный ингибитор $ВК_{Ca}$ -каналов тетраэтиламмоний (ТЭА) в концентрации 1 мМ. Блокатор ТЭА приводил к повышению исходного уровня КПД, и по степени его прироста косвенно судили об активности $ВК_{Ca}$ -каналов клеток коронарных сосудов. Вклад iNOS в механизмы регуляции функционирования $ВК_{Ca}$ -каналов исследовали при помощи его высокоселективного блокатора S-метилизотиомочевина (S-МТ, 10^{-6} М). Сахарный диабет у крыс моделировали в течение 14-ти дней с помощью однократного внутрибрюшинного введения стрептозоцина (50 мг/кг). 2-ЭТГ вводили внутрибрюшинно в дозе 3 мг/кг, содержащийся в 0,2 мл физиологического раствора за три дня до и в течение 14 дней моделирования сахарного диабета.

Результаты и их обсуждение. В сердцах животных группы «Сахарный диабет» наблюдалось снижение КПД и РВД при ОСКП 10 мл/мин на 16 и 31% соответственно (табл. 1). В сердцах животных группы «2-ЭТГ+Сахарный диабет» не наблюдалось изменение тонуса коронарных сосудов (табл. 1) и сократительной активности миокарда. Следовательно, внутрибрюшинное введение 2-этилтиобензимидазола гидробромида предотвращает снижение тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда. Добавление в раствор, которым перфузировали сердца животных группы «Сахарный диабет в/б 2-ЭТГ» блокатора ТЭА сопровождалось увеличением процента прироста КПД, который составлял – 60,5%, что было выражено в меньшей степени, чем в группе контрольных животных при аналогичных условиях и не отличался от показателей группы «Сахарный диабет» (табл. 1). Интракоронарное введение тетраэтиламмония в сердца животных, с сахарным диабетом на фоне внутрибрюшинного введения 2-ЭТГ не оказывало влияния на развиваемое внутрижелудочковое давление. Данный показатель был выражен в той же степени, что и в группе контрольных животных с заблокированными $ВК_{Ca}$ -каналами.

Таблица – 1 Динамика изменения коронарного перфузионного давления (КПД) в изолированных сердцах крыс при объемной скорости коронарного потока (ОСКП) 10 мл/мин и при введении блокатора ВК_{Ca}-каналов тетраэтиламмония (ТЭА) и iNOS S-метилизотиомочевины (S-MT) в перфузионный раствор

ОСКП, мл/мин	КПД, мм рт. ст.			
	группа «Контроль»	группа «Контроль в/б 2-ЭТГ»	группа «Сахарный диабет»	группа «Сахарный диабет в/б 2-ЭТГ»
10	74,0 (68,0;79,0)	81,5 (78,7;92,5)	62,0* (56,0;65,0)	77,5 (76,0;79,0)
10+ТЭА	160,0 (155,7;165,0)	179,0* (169,3;182,7)	102,0* (90,5;108,5)	123,5* (122,5;128,5)
10+ТЭА % КПД	91,5 (88,0;101,2)	105,5 (95,5;119,7)	64,0* (63,7;66,75)	60,5* (57,0;66,2)
10+ТЭА+S-MT %КПД	85,5 (78,7;103,2)	84,0 (78,0;106,0)	91,0 (68,5;98,0)	79,0 (74,0;86,0)

Примечание: * – $p \leq 0,05$ – по сравнению с группой «Контроль»

Следовательно, предварительная активация ВК_{Ca}-каналов 2-ЭТГ не предупреждает, вызванное стойкой гипергликемией снижение функциональной активности ВК_{Ca}-каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов.

Совместное использование блокатора ВК_{Ca}-каналов ТЭА и индуцибельной NO-синтазы S-MT сопровождалось увеличением процента прироста КПД до 79%, показатель статистически достоверно не отличался от значений группы контрольных животных при совместном использовании S-MT и ТЭА (табл. 1). Развиваемое внутрижелудочковое давление при этом не изменялось. Таким образом, блокада iNOS S-MT предупреждала снижение функционирования ВК_{Ca}-каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов сердец, выделенных из организмов животных группы «Сахарный диабет в/б 2-ЭТГ».

Выводы.

1. Внутривентриальное введение 2-этилтиобензимидазола гидробромида предотвращает снижение тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда, вызванное гиперпродукцией монооксида азота индуцибельной NO-синтазы при сахарном диабете.

2. Внутривентриальное введение 2-ЭТГ не предупреждало, вызванное стойкой гипергликемией снижение функционирования ВК_{Ca}-каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов сердец, выделенных из организмов животных группы «Сахарный диабет в/б 2-ЭТГ».

3. Снижение функциональной активности ВК_{Ca}-каналов у крыс с сахарным диабетом, воспроизводимым на фоне внутривентриального введения 2-ЭТГ, во многом обусловлены активацией индуцибельной NO-синтазы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bakri Y.E., Anouar E.H., Marmouzi I. et al. Potential antidiabetic activity and molecular docking studies of novel synthesized 3,6-dimethyl-5-oxo-pyrido[3,4-f][1,2,4] triazepino[2,3-a]benzimidazole and 10-amino-2-methyl-4-oxo pyrimido[1,2-a]benzimidazole derivatives // J. Mol. Model. – 2018. – Vol. 24, № 7. – P. 179.
2. Bonnefont-Rousselot D., Beaudoux J., Théron P. et al. Diabetes mellitus, oxidative stress and endothelial dysfunction // Ann Pharm Fr. – 2004. – Vol. 62, № 3. – P. 147–157.
3. Ceriello A., Quagliaro L., D'Amico M. et al. Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat // Diabetes. – 2002. – Vol. 51, № 4. – P. 1076–1082.
4. Nagareddy P., Xia Z., McNeill J., MacLeod K. Increased expression of iNOS is associated with endothelial dysfunction and impaired pressor responsiveness in streptozotocin-induced diabetes // Am J. Physiol Heart Circ Physiol. – 2005. – Vol. 289, № 5. – P. H2144–2152.
5. Radha K.A., Navneet K., Yogita B. et al. Novel coumarin-benzimidazole derivatives as antioxidants and safer anti-inflammatory agents // Acta Pharm. Sin. B. – 2014. – Vol. 4, № 5. – P. 368-375.
6. Ye C., Shen B., Ren X. et al. An increase in opening of BK(Ca) channels in smooth muscle cells in streptozotocin-induced diabetic mice // Acta Pharmacol. Sin. – 2004. – Vol. 25, № 6. – P. 744–750.

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СМАРТФОНА ДЛЯ ЗАПИСИ ПАТТЕРНОВ ДЫХАНИЯ

Люзина К. М., Кухта Н. И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Использование разнообразных приспособлений для записи и анализа физиологических параметров широко распространено в наши дни – «умные часы», «фитнес браслеты» способны регистрировать частоту сердечных сокращений, показатель насыщения крови кислородом. Для записи показателей внешнего дыхания авторы предлагают использовать смартфон (микрофон смартфона).

Существуют разные подходы к мониторингу дыхания, их можно классифицировать как контактные и бесконтактные. Для бесконтактных подходов мониторинг осуществляется прибором, не контактирующим с субъектом.

Дыхательные шумы – это звуки, генерируемые дыхательной системой. Обычно их можно услышать при аускультации. Использование стетоскопа для целей мониторинга может оказаться непрактичным для непрерывного наблюдения. В ряде исследований по анализу случайных звуков использовались данные, полученные с помощью специальных микрофонов [1, 3, 4]. Для анализа дыхательных звуков применяют компьютерные методы анализа [2]. Однако автоматическая классификация дополнительных дыхательных звуков – сложная задача, которая еще не решена, несмотря на утверждения, сделанные в литературе. Это может быть особенно сложно, когда

алгоритмы оцениваются на сложных наборах данных, таких как набор данных респираторных звуков [5].

Цель работы: разработать программу для анализа дыхательных звуков, записанных с помощью микрофона смартфона.

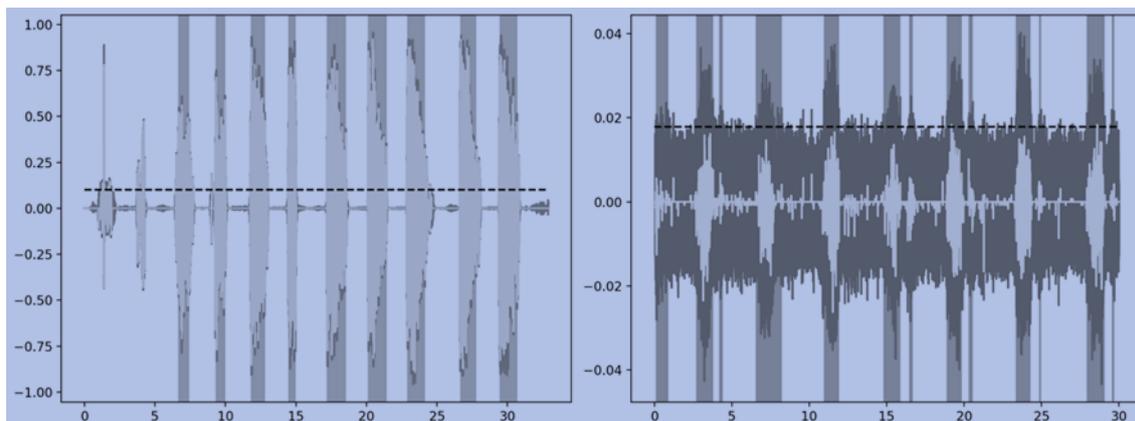
Имея возможность получения аудиозаписей сна в ночной период [3], решили с помощью микрофона смартфона записать дыхание в дневное время и на основании анализа этих записей определить паттерны ночного и дневного дыхания. Если сравнивать «ночные» и «дневные» аудиозаписи в цифровом аудио редакторе, получается следующая картина (рис. 1).

Анализировать такие записи вручную достаточно сложно. Для упрощения задачи выделения дыхательных циклов и подсчета их длительности был разработан алгоритм и инструмент автоматизации. Разработанный алгоритм последовательно решает задачи: нормализации сигнала; подсчет среднего значения мощности сигнала в рамках скользящего окна; подсчет производной сигнала; нахождения границ последовательного нарастания и спада производной; упаковки найденных границ в интервалы; подсчет количества и длительности интервалов. В алгоритме используются параметры, которые позволяют подстроить его для обработки образцов записанных с различных мобильных устройств с различными особенностями аудио-трактов. В качестве языка разработки использован Python 3 и библиотеки numpy и matplotlib.



Рисунок 1. – Аудиозаписи дыхания днем и ночью (во время сна), вид в цифровом аудио редакторе

В процессе работы программа показывает график (рис. 2) отображающий исходный сигнал (темно-серый), производную сигнала (светло-серый), границу поиска среднего (вертикальные серые прямоугольники) и найденные интервалы. Этот график позволяет визуально оценить точность обработки образца, и при необходимости подстроить параметры работы программы.



<p># 1 duration 0.78s starting at 6.65s # 2 duration 0.68s starting at 9.29s # 3 duration 1.01s starting at 11.79s # 4 duration 0.53s starting at 14.46s # 5 duration 1.34s starting at 17.20s # 6 duration 1.31s starting at 20.11s # 7 duration 1.26s starting at 22.89s # 8 duration 1.16s starting at 26.64s # 9 duration 1.27s starting at 29.42s total snores: 9 snore duration totals: average 1.04, mean 1.04, median 1.16</p>	<p># 1 duration 0.80s starting at 0.09s # 2 duration 1.10s starting at 2.69s # 3 duration 1.67s starting at 6.55s # 4 duration 0.97s starting at 10.95s # 5 duration 1.10s starting at 14.78s # 6 duration 0.97s starting at 18.87s # 7 duration 0.94s starting at 23.34s # 8 duration 1.16s starting at 27.92s total snores: 13 snore duration totals: average 0.75, mean 0.75, median 0.94</p>
---	--

Рисунок 2. – Анализ аудиозаписей в программе Project

Таким образом, используя возможность записи дыхательных шумов с помощью микрофона смартфона и анализируя полученные записи с помощью разработанной программы Project можно проанализировать паттерны дыхания людей (частоту дыхания и продолжительность дыхательного цикла).

ЛИТЕРАТУРА

1. AL-Khalidi F., Saatchi R., Burke D. et. al. Respiration rate monitoring methods // *Pediatr. Pulmonol.* – 2011. – Vol. 46. – P. 523–529.
2. Fernandez-Granero M.A., Sanchez-Morillo D., Leon-Jimenez A. Computerised Analysis of Telemonitored Respiratory Sounds for Predicting Acute Exacerbations of COPD // *Sensors (Basel)*. – 2015. – Vol. 15, № 10. – P. 26978–26996.
3. Figueras-Alvarez O., Cantó-Navés O., Cabratosa-Termes J. et. al. Snoring intensity assessment with three different smartphones using the SnoreLab application in one participant // *J Clin Sleep Med.* – 2020. – Vol. 16, № 11. – P.1971–1974.
4. Pramono R.X.A., Bowyer S., Rodriguez-Villegas E. Automatic adventitious respiratory sound analysis: A systematic review // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, № 5. – P. 17–18.
5. Rocha B.M., Pessoa D., Marques A. et. al. Automatic Classification of Adventitious Respiratory Sounds: A (Un)Solved Problem? // *Sensors (Basel)*. – 2020. – Vol. 21, № 1. – P. 3

СОСТОЯНИЕ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ СРЕДНЕГО МОЗГА И КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ МОЗГА КРЫС ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ГИПОДИНАМИИ

Мамедова А. Е., Лелевич В. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Негативный эффект этанола на ЦНС не вызывает сомнений и имеет широкий диапазон действия: в низких дозах алкоголь оказывает депрессантное действие, а при поступлении больших доз развивается сильное угнетение различных структур ЦНС, которое ведет к дезорганизации и нарушениям высоко интегрированных процессов [4]. Многочисленные исследования показывают, что нарушения функционального состояния нейромедиаторных систем головного мозга имеют ключевое значение в формировании признаков алкогольной интоксикации и развитии синдрома зависимости [3].

Под действием этанола происходит изменение метаболизма, транспорта, высвобождения, рецепции, обратного захвата и деградации отдельных нейромедиаторов [1]. Выраженность метаболических изменений зависит от дозы, способа введения этанола и времени экспозиции. Хроническое употребление алкоголя приводит к поражению многих органов и систем, снижению иммунной защиты организма, тем самым делая его более уязвимым для инфекционных заболеваний.

Другим важным фактором, приводящим к снижению качества жизни и состояния здоровья, является низкая физическая активность, которая на сегодняшний день не соответствует международным рекомендуемым уровням физической активности у каждого четвертого взрослого человека в мире. По оценкам ВОЗ, гиподинамия приводит к 5 миллионам смертей в год, являясь причиной различных заболеваний, таких как: ишемическая болезнь сердца, гипертония, ожирение, сахарный диабет и др.

Хроническое воздействие алкоголя приводит к адаптивным изменениям в мозге, предположительно для восстановления нормальной функции клеток или гомеостаза в ответ на вызванные алкоголем изменения в пути вознаграждения, что со временем приводит к формированию алкогольной зависимости [2].

Цель. Установить характер изменений содержания серотонина, его предшественника и метаболита в среднем мозге и коре больших полушарий головного мозга крыс при комплексном воздействии хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии.

Методы исследования. Эксперименты проводились на беспородных белых крысах самцах массой 180-220 г. Моделирование гиподинамии проводилось путем помещения крыс в индивидуальные клетки-пеналы, ограничивающие их подвижность, на сроки 14 и 28 суток. Контрольная группа

животных находилась в общей клетке с обычным двигательным режимом. Все манипуляции выполнялись в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Для моделирования хронической алкогольной интоксикации экспериментальным животным предоставлялся раствор этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 14 и 28 суток. В течение первой недели использовался 10%-й раствор этанола, в течение второй недели – 15%-й, в течение третьей недели и далее – 20%-й.

Были сформированы семь экспериментальных групп по 8 крыс в каждой:

1-я – контроль;

2-я – гиподинамия 14 суток (ГД 14);

3-я – гиподинамия 28 суток (ГД 28);

4-я – хроническая алкогольная интоксикация 14 суток (ХАИ 14);

5-я – хроническая алкогольная интоксикация 28 суток (ХАИ 28);

6-я – гиподинамия + ХАИ 14 суток (ГД+ХАИ 14);

7-я – гиподинамия +ХАИ 28 суток (ГД+ХАИ 28).

Декапитацию проводили на 15-е и 29-е сутки. Определение содержания серотонина, 5-окситриптофана и 5-оксииндолуксусной кислоты проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ Statistica 10.0. После проверки распределения на нормальность с помощью критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллифорса, а также однофакторного дисперсионного анализа с поправкой на множественные сравнения по критерию Тьюки, для независимых выборок применялся t-критерий Стьюдента. При отклонении распределения от нормального достоверность различий между группами проверяли медианным тестом Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Обездвиживание животных на сроки 14 (2-я группа) и 28 суток (3-я группа) не сопровождается статистически значимыми изменениями уровня триптофана, 5-окситриптофана, серотонина и 5-оксииндолуксусной кислоты в среднем мозге и коре больших полушарий головного мозга крыс. Алкогольная интоксикация сроком 14 (4-я группа) и 28 суток (5-я группа) также не вызывала достоверных изменений содержания указанных компонентов серотонинергической системы в данных отделах головного мозга лабораторных животных.

Комплексное действие гиподинамии и алкогольной интоксикации в течение 14 суток (6-я группа) вызывает уменьшение концентрации в среднем мозге и коре больших полушарий триптофана (на 31% и 26% соответственно) и 5-окситриптофана (на 42% и 21% соответственно) по отношению к контролю. Кроме того, в среднем мозге уровень триптофана достоверно ниже, чем во 2-й и 4-й группах, а в коре – чем в 4-й группе.

При увеличении срока комплексного действия хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии до 28 суток (7-я группа) в среднем мозге отмечается снижение концентрации триптофана в сравнении с контролем (на 31%), 3-й и 5-й группами, 5-окситриптофана в сравнении с 5-й группой и серотонина по сравнению с контролем (на 12%) и 5-й группой. В коре больших

полушарий при этом изменения носят более выраженный характер. Здесь содержание триптофана снижено в сравнении с контролем (на 30%) и 5-й группой, концентрация 5-окситриптофана ниже, чем в контроле (на 18%) и 5-й группе, серотонина – чем в контрольной группе (на 47%), а уровень 5-оксииндолуксусной кислоты достоверно ниже, чем в контроле (на 56%), 3-й и 5-й группах.

Выводы.

1. Гиподинамия сроком 14 и 28 суток не сопровождается статистически значимыми изменениями концентрации серотонина, его предшественника и метаболита в среднем мозге и коре больших полушарий головного мозга крыс.

2. Алкогольная интоксикация сроком 14 и 28 суток не вызывает достоверных изменений в состоянии серотонинергической нейромедиаторной системы в изученных отделах головного мозга крыс.

3. Комплексное воздействие алкогольной интоксикации и гиподинамии сроком 14 суток приводит к снижению уровня предшественника серотонина – 5-окситриптофана – в обоих отделах мозга. Хроническая алкогольная интоксикация и гиподинамия сроком 28 суток приводит к снижению активности серотонинергической системы в среднем мозге и коре больших полушарий крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич С.В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации: монография. – Гродно: ГрГМУ, 2015. – 252 с.
2. Belmer A., Patkar O. L., Pitman K. M., Bartlett S. E. Serotonergic Neuroplasticity in Alcohol Addiction // Brain plasticity. – 2016. – Vol. 1, № 2. – P. 177–206.
3. Guan Y., Ye J. Ethanol Blocks Long-Term Potentiation of GABAergic Synapses in the Ventral Tegmental Area Involving m-Opioid Receptors // Neuropsychopharmacology. – 2010. – Vol. 35. – P. 1841–1849.
4. Most D., Ferguson R., Harris A. Molecular basis of alcoholism // Handb. Clin. Neurol. – 2014. – Vol. 125. – P. 89–111.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ГИПОДИНАМИИ НА СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Мамедова А. Е., Лелевич В. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Злоупотребление алкоголем и гиподинамия являются одними из ведущих причин повышения заболеваемости и смертности среди населения. Хроническая алкогольная интоксикация вызывает развитие толерантности и

алкогольной зависимости [2]. Серотонин хорошо изучен и продолжает изучаться как возможный медиатор базовых эффектов алкоголя. Его роль во влиянии на употребление алкоголя связана с его модулирующим действием на активность дофамина в мезолимбической системе [1]. При хронической алкогольной интоксикации сроком 21 день в стволе мозга наблюдается снижение концентрации серотонина и 5-окситриптофана, а также повышение уровня 5-оксииндолуксусной кислоты [2].

При гиподинамии активируется приспособительная перестройка организма, которая осуществляется на многих уровнях и приводит к уменьшению афферентной импульсации, что вызывает снижение тонуса центральной нервной системы, преобладание в клетках мозга торможения, изменение структуры и функции синапсов, трофики мышц [3]. При моделировании 30-суточной антиортостатической гиподинамии в стриатуме наблюдается повышение концентрации основного метаболита серотонина (СР) – 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК), а в гипоталамусе отмечается повышение интенсивности метаболизма серотонина (соотношение 5-ОИУК/СТ) [4].

Ввиду того, что в человеческой популяции часто встречается наложение друг на друга таких факторов как гиподинамия и алкогольная интоксикация, актуальным является изучение их комбинированного действия на головной мозг, а также серотонинергическую нейромедиаторную систему, в частности.

Цель. Изучить особенности изменений содержания серотонина, его предшественника и метаболита в гипоталамусе и стриатуме головного мозга крыс при комплексном воздействии хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии.

Методы исследования. Экспериментальная модель проводилась на беспородных белых крысах самцах массой 180-220г. Гиподинамия моделировалась путем помещения крыс в индивидуальные клетки-пеналы, ограничивающие их подвижность на сроки 14 и 28 суток. Контрольная группа животных находилась в общей клетке с обычным двигательным режимом. Все манипуляции выполнялись в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Для моделирования хронической алкогольной интоксикации экспериментальным животным предоставлялся раствор этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 14 и 28 суток. В течение первой недели использовался 10%-й раствор этанола, в течение второй недели – 15%-й, в течение третьей недели и далее – 20%-й.

Были сформированы следующие экспериментальные группы:

- 1-я – контроль;
- 2-я – гиподинамия 14 суток (ГД 14);
- 3-я – гиподинамия 28 суток (ГД 28);
- 4-я – хроническая алкогольная интоксикация 14 суток (ХАИ 14);
- 5-я – хроническая алкогольная интоксикация 28 суток (ХАИ 28);
- 6-я – гиподинамия 14 суток + ХАИ (ГД+ХАИ 14);
- 7-я – гиподинамия 28 суток +ХАИ (ГД+ХАИ 28).

В каждой группе было по 8 крыс. Декапитацию проводили на 15-е и 29-е сутки. Содержания серотонина, 5-окситриптофана и 5-оксииндолуксусной кислоты определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ Statistica 10.0. После проверки распределения на нормальность с помощью критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллифорса, а также однофакторного дисперсионного анализа с поправкой на множественные сравнения по критерию Тьюки, для независимых выборок применялся t-критерий Стьюдента. При отклонении распределения от нормального достоверность различий между группами проверяли медианным тестом Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. В стриатуме гиподинамия сроком 14 суток (2-я группа) приводит к снижению уровня 5-окситриптофана по сравнению с контролем (на 43%), в гипоталамусе при этом достоверные изменения отсутствуют. При увеличении срока обездвиживания до 28 суток (3-я группа) статистически значимых изменений содержания изученных компонентов серотонинергической системы в стриатуме и гипоталамусе по сравнению с контролем не обнаружено. Однако, в стриатуме уровень 5-окситриптофана достоверно выше, чем во 2-й группе, а в гипоталамусе содержания серотонина ниже, чем во 2-й группе.

Алкогольная интоксикация сроком 14 суток (4-я группа) статистически значимо не изменяет концентрацию серотонина, его предшественника и метаболита. Удлинение срока хронической алкоголизации до 28 суток (5-я группа) приводит к повышению уровня 5-окситриптофана по сравнению с 4-й группой в обоих отделах мозга.

Комплексное действие хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии в течение 14 дней (6-я группа) приводит к снижению стриатуме и гипоталамусе образования предшественника серотонина – 5-окситриптофана – по сравнению с контролем (на 43% и 48% соответственно), а в гипоталамусе и по сравнению с 4-й группой. Кроме того, в стриатуме наблюдается снижение уровня триптофана и повышение концентрации серотонина по сравнению с 4-й группой. В гипоталамусе при этом концентрация триптофана достоверно ниже, чем в контроле (на 20%) и 4-й группе, а серотонина – выше, чем во 2-й и 4-й группах.

Увеличение срока совместного действия хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии до 28 суток (7-я группа) не сопровождается выраженными изменениями в стриатуме, где лишь триптофан достоверно ниже, чем в 5-й группе. В гипоталамусе метаболический дисбаланс выражен в большей степени и сопровождается статистически значимым снижением концентрации триптофана и серотонина по сравнению с контролем (на 23% и 29% соответственно) и 5-й группой.

Выводы.

1. Гиподинамия на более раннем сроке (14 суток) приводит к снижению концентрации предшественника серотонина – 5-окситриптофана – в стриатуме головного мозга крыс, что говорит о снижении синтеза серотонина.

2. Хроническая алкогольная интоксикация не приводила к статистически значимым изменениям концентрации основных компонентов серотонинергической системы в стриатуме и гипоталамусе крыс.

3. Комплексное воздействие алкогольной интоксикации в течение 14 суток приводит к снижению активности серотонинергической системы в обоих отделах мозга. При увеличении срока воздействия до 28 суток в стриатуме показатели возвращаются к контрольным значениям, а в гипоталамусе активность нейромедиаторной системы остается сниженной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Копытов А.В. Фармакотерапия алкогольной зависимости с учетом клинко-генетических особенностей серотониновой нейромедиаторной системы // Мед. журнал. – 2015. – № 4. – С. 70–76.
2. Лелевич С.В., Величко И.М. Нейрохимические аспекты алкогольной интоксикации // Журнал Гродненского мед. ун.-та. – 2017. – Т. 15, № 4. – С. 375–380.
3. Лобзин В.С., Михайленко А.А., Панов А.Г. Клиническая нейрофизиология и патология гипокинезии. – Л.: Медицина. Ленингр. отд., 1979. – 216 с.
4. Штемберг А.С., Кудрин В.С., Клодт П.М. и др. Влияние антиортостатической гиподинамии и перегрузки на дискриминантное обучение и обмен моноаминов в структурах мозга мышей // Нейрохимия. – 2012. – Т. 29, № 4. – С. 318–326.

ОЦЕНКА ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СВЕТОЙ И ТЕМНОЙ ЧАСТЕЙ СУТОК

Марковский М. Г., Яблуновский Г. А., Глуткин С. В., Гуляй И. Э.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Сезонные изменения окружающей среды влияют на характер реагирования организма на стрессовый фактор любой природы. В это время возникает напряженность физиологических механизмов, которая может характеризоваться формированием аллостатического состояния в организме, которое работает по принципу «сохранение стабильности через изменения» [3]. Одной из ключевых систем мозга и тела, которые регулируют разнообразные физиологические и поведенческие переменные, является циркадная система, а также определяющим является «хроносистема» или время, определяющее «чувствительные» или «критические» периоды при влиянии стрессоров на гомеостаз организма [1, 2].

Цель. Оценить поведенческую активность крыс в условиях различной продолжительности светлой и темной частей суток.

Методы исследования. Эксперименты проводились на беспородных крысах-самцах. Животные до начала эксперимента находились в 14-дневном карантине в условиях естественного светового режима (12ч/12ч, день/ночь).

Крысы находились в помещении с температурой воздуха 22-25^oC, влажностью 50-55%, при свободном доступе к воде и пищи, получали стандартный рацион. Далее контрольные животные продолжали находиться при стандартном световом режиме. В опытных группах моделировали чередование продолжительности светлой и темной частей суток в течение 14 дней. Уровень эмоционально-поведенческой реактивности и исследовательского поведения животного оценивали путем тестирования в установке «Открытое поле». Тест «Открытое поле» проводили в круглой арене диаметром 97 см, огороженной бортиком высотой 42 см. В полу арены имеется 13 отверстий диаметром 2 см, которые были равномерно распределены по поверхности пола. Арена имеет центральную зону (сектор) диаметром 22 см., 2/3 зоны, состоящую из 6 секторов, периферическую зону, расположенную вдоль бортика и разделенную на 12 секторов. Животное помещали в центр арены и позволяли свободно перемещаться по ней. Регистрацию перемещения животных по арене осуществляли с помощью высокочувствительной цифровой видеокамеры, которая обеспечивает качественную съёмку при различном освещении. Регистрацию поведения крыс осуществляли в течение 4,15 мин. Оценивали следующее: 1) длинный и короткий груминг; 2) вегетативную двигательную активность (climbing и rearing); 3) горизонтальную двигательную активность (общую, на периферии, 2/3 поля, в центре); 4) исследовательскую активность; 5) количество болюсов; 6) количество актов замирания.

Для анализа полученных результатов использовали методы параметрической и непараметрической статистики – t-критерий Стьюдента, Н-критерий Краскела-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни. Результаты представлены в виде средней и стандартного отклонения ($M \pm \sigma$), медианы с интерквартильным размахом (25–75%). Критический уровень значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Увеличение продолжительности светлой и темной частей суток приводит к увеличению исследовательской активности у животных ($7,9 \pm 4,04$, $p < 0,01$) и ($8,2 \pm 4,23$, $p < 0,01$) в сравнении с контролем ($3,3 \pm 2,31$). В обеих опытных группах наблюдается меньшее количество актов замирания ($1,27 \pm 0,79$, $p < 0,05$, и $0,8 \pm 1,08$, $p < 0,01$, соответственно, против $2,4 \pm 1,08$).

Животные, находящиеся в условиях наибольшей продолжительности светлой части суток, имеют меньшее количество болюсов ($1 \pm 1,48$, $p < 0,05$) по отношению к контрольной группе ($3,5 \pm 2,68$). Общая горизонтальная двигательная активность у крыс характеризуется более высоким значением 45 [30;57] секторов после периода наибольшей длительности темного времени дня относительно контроля ($29,5$ [23;44] секторов, $p < 0,05$).

Выводы. Таким образом, содержания крыс в условиях одинаковой продолжительности дня и ночи приводило к повышению эмоционального напряжения (активация вегетативных функций) в ответ на световой стимул, т.к. меньше передвигались и имели больший уровень дефекации. Наиболее эмоционально устойчивы были животные, находящиеся в условиях наименьшей продолжительности светлой части суток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cool J., Zappetti D. The Physiology of Stress. In: Zappetti D., Avery J. (eds) Medical Student Well-Being. Springer, Cham. – 2019. – P. 1–16.
2. Doan S.N. Allostatic load: Developmental and conceptual considerations in a multi-system physiological indicator of chronic stress exposure // Dev. Psychobiol. – 2021. – Vol. 63, № 5. – P. 825–836.
3. McEwen B.S. Allostasis and the epigenetics of brain and body health over the life course: The brain on stress // JAMA Psychiatry. – 2017. – Vol. 74. – P. 551–552.

ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА НА НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Миклашевич О. С., Соловьев А. В., Ковальчук А. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. В ходе своей жизни человек непрерывно подвергается воздействию внешних факторов, которые, с одной стороны, могут быть необходимы для его существования, а с другой – способны вызвать его заболевание или даже гибель. В то же время, если при действии факторов окружающей среды на организм человека неблагоприятные последствия не наблюдаются, мы можем говорить об адаптации человека. Если же при воздействии внешних факторов структурные нарушения в организме произошли, но видимых изменений функционирования нет, можно говорить о той или иной степени компенсации, которая является формой адаптации в изменённых условиях жизнедеятельности [1]. Приспособительные, защитные и компенсаторные реакции в организме человека могут включаться еще до появления повреждений и обеспечивают поддержание функционирования систем организма, подверженного действию экзогенных факторов (таких как гипотермия) [6]. В то же время, несмотря на многовековую историю использования оздоровительного действия холода на организм человека, вопросы, касающиеся механизмов криотерапии, далеки от своего решения. Особенно мало сведений о влиянии холода на психическое и эмоциональное состояние человека [2].

Показано, что методика регистрации спонтанной электрической активности головного мозга достаточно удобный и безопасный способ определения динамики течения нервных процессов путём сравнительного анализа данных, зарегистрированных в разное время: до и после холодого воздействия [3].

Цель. Оценить ответную реакцию головного мозга на низкотемпературное воздействие.

Методы исследования. В исследовании приняли участие учащиеся мужского пола в возрасте от 18 до 23 лет. Для низкотемпературного воздействия использовалась криокамера «Криомед 20/150-01» производства

Россия. Воздействие осуществляли в течение 120 секунд, исходная температура – -90°C с последующим её снижением до -120°C . Данное воздействие осуществлялось в течение 10 суток ежедневно. Для регистрации биоэлектрической активности головного мозга применяли прибор для электроэнцефалографии «Энцефалан-ЭЭГР-19/26» компьютеризированный портативный носимый суточной регистрации электроэнцефалограммы в телеметрическом и автономном режиме модификации «Мини» производства России, которая выполнялась до и после курсового воздействия. Изучение биоэлектрической активности мозга осуществлялось по определению амплитуды дельта-ритма обоих полушарий затылочных областей головного мозга и амплитуды бета-ритма теменной области с помощью компьютеризированного портативного прибора для электроэнцефалографии «Энцефалан-ЭЭГР-19/26», модификации «Мини» производства России. Electrodes накладывали по стандартной схеме установки электродов. Компьютерный анализ электрофизиологических сигналов проводили в реальном масштабе времени. Степень стрессоустойчивости обследуемых оценивали с помощью компьютерного комплекса для психофизиологического тестирования «НС-Психотест» фирмы «Нейрософт» производства Россия. Использовали методику, которая предназначена для определения психофизиологической реакции на стресс, состоящую из 39 вопросов, время тестирования 10-15 мин. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке при помощи программы «Statistica 10.0».

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования свидетельствуют о том, что курсовое низкотемпературное воздействие приводит к изменениям основных характеристик бета-ритма теменной области коры больших полушарий головного мозга. После курса низкотемпературного влияния амплитуда, как низкочастотного, так и высокочастотного, бета-ритма в теменных отведениях увеличивается с 7,11 [6,43; 8,72] до 10,04 [8,84; 11,14] мкВ ($p < 0,05$) и с 5,77 [4,22; 6,83] до 7,74 [6,26; 8,87] мкВ ($p < 0,05$), соответственно. Как видим, при данном воздействии отмечается рост амплитуды низкочастотного бета-ритма на 41 % и высокочастотного бета-ритма на 34%. Также отмечается увеличение значений амплитуды как низкочастотного, так и высокочастотного, дельта-ритма в затылочных отведениях после низкотемпературного воздействия с 12,21 [9,06; 14,97] мкВ, до 21,8 [11,25; 32,06] мкВ ($p < 0,05$) и с 7,07 [5,11; 11,52] до 9,34 [6,57; 17,99] мкВ ($p < 0,05$) соответственно. Прирост амплитуды бета – ритма используется как критерий ответной реакции головного мозга на низкотемпературное воздействие. Полученные данные изменения электроэнцефалографической активности головного мозга в исследуемых группах применимы для психофизиологической интерпретации интегральной деятельности организма человека, его функционального состояния. Уровень стрессоустойчивости до холодового воздействия составил 65,5 [58; 75] и после него 53,5 [49; 60,5] ($p < 0,05$). Таким образом, лицам с более высоким уровнем стрессоустойчивости соответствует более высокое значение амплитуды. Корреляционный анализ данных выявил, что изменение стрессоустойчивости

коррелирует с показателями дельта 2-ритма ($r = 0,53$) и после ($r = 0,5$). Факторный анализ показал, что стрессоустойчивость после нагрузки находится в одной группе с одинаковым знаком с показателями низкочастотного и высокочастотного дельта – ритма в первой группе и дельта 2 – во второй, что свидетельствует о напряжении регуляторно-адаптивных возможностей организма, а также увеличении уровня стрессоустойчивости. Это подтверждается корреляционным анализом.

Известно, что анализ электроэнцефалограммы (ЭЭГ), в частности, асимметрия лобного альфа-ритма (АЛАР) рассматривается как индикатор устойчивых черт личности, предопределяющих определенный стиль эмоционального реагирования и как показатель, варьирующийся в зависимости от эмоционального и мотивационного статуса в конкретный момент времени: правосторонний ее вариант связан с мотивацией приближения и эмоциями радости и гнева, а левосторонний – с мотивацией избегания и эмоциями печали и страха [5]. В условиях воздействия холода скоординировано взаимодействуют сердечно-сосудистая, нервная и иммунная системы для обеспечения компенсаторно-приспособительных реакций: у молодых людей отмечалось увеличение активности тета-ритма и альфа активности ЭЭГ, отражающие активизацию гипоталамо-диэнцефальных структур в механизмах саморегуляции головного мозга, и по параметрам variability сердечного ритма повышение симпатических влияний в регуляции ритма сердца, что позволяет судить о напряжении адаптационных механизмов [4]. Наше исследование в контексте изложенного демонстрирует, что воздействие данным стрессфактором приводит к ряду адаптационных изменений: увеличению амплитуды бета- и дельта-ритмов головного мозга и повышению уровня стрессоустойчивости, направленных на сохранение и восстановление динамического постоянства гомеостаза организма.

Выводы. Анализ полученных данных позволяет спрогнозировать сохраняющиеся изменения биоэлектрической активности головного мозга при низкотемпературном воздействии. Курсовое холодное воздействие приводит к изменениям основных характеристик ритмов, особенно в затылочной и теменной областях коры больших полушарий головного мозга. Возможно измерить уровень стресса в его взаимосвязи с эмоциональным состоянием, измеренным на основе активности ЭЭГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авилов О.В. Адаптация и компенсация с точки зрения теории функциональной эквивалентности // Вестник психофизиологии. – 2019. – № 3. – С. 67-70.
2. Агаджанян Н.А., Быков А.Т., Медалиева Р.Х. Проблемы криотерапии и состояние психоэмоциональной сферы // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17. – №. 3. – С. 129-132.
3. Деваев Н.П. Влияние экзаменационного стресса на регуляцию сердечного ритма и биоэлектрическую активность головного мозга у студенток // Вестник Нижегородского университета им. НИ Лобачевского. – 2010. – № 2–2. – С. 622–626.
4. Кривоногова Е.В., Кривоногова О.В., Поскотинова Л.В. Индивидуально-типологические особенности реактивности ЭЭГ-ритмов, сердечно-сосудистой системы и уровня

- лактоферрина в условиях общего воздушного охлаждения человека // Физиология человека. – 2021. – Т. 47, № 5. – С. 67–76.
5. Мельников М.Е. Один феномен с множеством интерпретаций: асимметрия лобного альфа-ритма ЭЭГ у здоровых людей. Часть II // Успехи физиологических наук. – 2021. – Т. 52, № 4. – С. 72–104.
 6. Фудин Н.А., Троицкий М.С., Хадарцева К.А. Гипотермия и психоэмоциональный стресс у спортсменов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2018. – Т. 12, № 4. – С. 142–151.

РЕЗЕРВЫ КОЖНОГО КРОВОТОКА У ЛИЦ С РАЗНОЙ ВЕЛИЧИНОЙ МАКСИМАЛЬНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА

Михайлов П. В., Остроумов Р. С., Осетров И. А., Кузнецова Е. А.

Ярославский государственный педагогический университет имени К. Д. Ушинского,
Ярославль, Россия

Введение. Величина максимального потребления кислорода (МПК) характеризует предельно достижимую мощность аэробной энергопродукции, то есть того энергетического ресурса, от которого зависит выполнение абсолютного большинства бытовых и производственных усилий [1, 2]. МПК тесно коррелирует со спортивным результатом в видах спорта с преимущественным проявлением выносливости, взаимосвязано с уровнем здоровья и продолжительностью жизни индивида [3]. В качестве ключевого звена, ограничивающего величину МПК выделяют систему транспорта кислорода [4]. На сегодняшний день уровень центральной гемодинамики относят к наиболее изученным отделам кровообращения, а уровень микроциркуляции (МЦ), включающий сосудистые факторы и реологические свойства крови остается недостаточно исследованным.

Цель. Сравнительный анализ комплекса показателей центральной гемодинамики, гемореологии и микроциркуляции у лиц с разным уровнем максимального потребления кислорода.

Методы исследования. В исследовании приняли участие практически здоровые мужчины-добровольцы в возрасте 20-30 лет. Все испытуемые были разделены на три группы в соответствии с величиной МПК, которую определяли с использованием прямого газоанализа при проведении велоэргометрического теста со ступенчато возрастающей нагрузкой. В группу 1 включали лиц с величиной МПК 30-40 мл/мин./кг (n=14), в группу 2 – 41-50 мл/мин./кг (n=24), в группу 3 – 51-60 мл/мин./кг (n=15). Параметры МЦ регистрировали с применением биомикроскопии ногтевого ложа. Оценивали плотность функционирующих капилляров (ПФК) и диаметр их переходной части (ДК). С помощью метода лазерной доплеровской визуализации (ЛДВ) определяли перфузию кожи на середине предплечья (ПМ). Регистрацию всех

параметров МЦ проводили в покое и сразу после окончания велоэргометрического теста. Показатели вязкости крови, плазмы и суспензии эритроцитов определяли с помощью ротационного вискозиметра Брукфилда. Агрегацию эритроцитов регистрировали агрегометром Murene. Для оценки деформируемости эритроцитов определяли индекс их удлинения (ИУЭ) в проточной микрокамере [5].

Для проверки различий в трех группах наблюдения использовали критерий Краскела-Уоллиса. За уровень статистически значимых принимали изменения при $p < 0,05$. Уровень взаимосвязи различных параметров выявляли при помощи ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и их обсуждение. По данным биомикроскопии были установлены статистически значимые различия между группами в значениях ДК кожи в состоянии покоя ($p < 0,05$). У лиц группы 3 он был больше на 33%, чем в группе 1, а разница между группами 1 и 2 составила 13%. При этом ПФК существенно не различалась. В условиях покоя также не было выявлено значимых различий в перфузии кожи.

После интенсивной мышечной работы было зарегистрировано сходное по величине и статистически значимое увеличение ПФК во всех группах наблюдения (8-10%; $p < 0,05$), при этом выраженность изменений ДК различалась. В первой и второй группах увеличение ДК составило 6% и 4% ($p < 0,05$) соответственно, а в группе 3 ДК практически не изменился. Важно отметить, что несмотря на указанные различия в изменениях ДК в ответ на мышечную нагрузку, у лиц групп 2 и 3 он оставался на 20-22% больше, чем в группе 1 ($p < 0,05$). Была найдена корреляционная взаимосвязь между ПФК и ДК в объединенной группе ($-0,55$; $p < 0,05$). Наиболее выраженные различия ($p < 0,05$) в комплексе микроциркуляторных показателей были выявлены в резервах кожного кровотока. Прирост ПМ после мышечной нагрузки у лиц группы 1 был наименьшим и составил 35%, в группе 2 – 67%, а в группе 3 – 80%.

В комплексе гемореологических показателей, статистически значимые различия между группами наблюдения были зарегистрированы в вязкости крови ($p < 0,05$). У лиц группы 1 она была больше, чем в группах 2 и 3 на 9% и 14% соответственно. Известно, что вязкость крови как интегральная характеристика зависит от комплекса факторов, среди которых гематокрит, вязкость плазмы, агрегация и деформируемость эритроцитов [6]. Поскольку различия в значениях гематокрита были несущественны, то вероятной причиной сниженной вязкости крови у лиц групп 2 и 3 является умеренно сниженная вязкость плазмы. Об этом свидетельствует типичная корреляционная взаимосвязь между ВК и ВП $r = 0,79$ ($p < 0,05$). Агрегация эритроцитов в группе была больше, чем в группах 2 и 3 на 23% и 30% соответственно ($p < 0,05$). Что касается другой важной микрореологической характеристики эритроцитов – деформируемости, оцениваемой по индексу удлинения клеток (ИУЭ), то имелась тенденция к ее увеличению в группах с более высоким уровнем МПК. Сходные тенденционные различия были получены при определении вязкости суспензии (ВС) со стандартным гематокритом и вязкостью суспензионной среды, которая отражает общую

потокую деформацию большой массы эритроцитов [7]. Наибольшие значения ВС были зафиксированы у лиц группы 1, а наименьшие в группе 3. В гемореологии в качестве интегрального показателя, объединяющего комплекс макро- и микрореологических характеристик, и часто используемого для оценки эффективности транспортной функции крови, применяют отношение $Hct/VK1$. Его значения, а следовательно, и эффективность транспортной функции крови, была самой низкой в группе 1. В группе 2 и 3 данный показатель был на 7% и 12% больше соответственно ($p < 0,05$).

Выводы. Таким образом, сравнительный анализ комплекса параметров системы кровообращения показал, что высокий уровень МПК сочетается с более экономичным функционированием системы кровообращения в состоянии покоя как на уровне макро-, так и микроциркуляции. В условиях интенсивной мышечной работы у лиц с большей величиной МПК зарегистрированы повышенные резервы перфузии кожи, которые, вероятно, достигались благодаря увеличенному просвету обменных сосудов и умеренно сниженной вязкости крови. Последняя была связана с меньшей агрегацией и большей деформируемостью эритроцитов. Можно полагать, что выявленные особенности МЦ являются частью более эффективно организованной функциональной системы транспорта кислорода у лиц с более высокой аэробной производительностью.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ в рамках научного проекта № 20-515-00019 Бел_a

ЛИТЕРАТУРА

1. Sartor F., Vernillo G., de Morree H.M. et al. Estimation of maximal oxygen uptake via submaximal exercise testing in sports, clinical, and home settings // Sports Med. – 2013. – Vol. 43. – P. 865–873.
2. Lee J., Zhang X.L. Physiological determinants of VO_{2max} and the methods to evaluate it: A critical review *Revue critique des déterminants physiologiques du VO_{2max} et de ses critères de détermination* // Science & Sports. – 2021. – Vol. 36. № 4. – P. 259-271.
3. Белозёрова Л. М. Физическая работоспособность и биологический возраст мужчин // Клинич. геронтол. – 2008. – № 5. – С. 21–24.
4. Bassett D.R.Jr, Howley E.T. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance // Med. Sci. Sports Exerc. – 2000. – Vol. 32. № 1. – P. 70–84.
5. Муравьев А.В. Михайлов П.В., Тихомирова И.А. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16. № 2 (62). – С. 90–100.
6. Schierbauer J., Hoffmeister T., Treff G. et al. Effect of exercise-induced reductions in blood volume on cardiac output and oxygen transport capacity // Front Physiol. – 2021. – Vol. 12. – P. 679232.
7. Kang J., Ratamess N.A., Faigenbaum A.D. et al. Use of heart rate index to predict oxygen uptake – a validation study // Int. J. Exerc. Sci. – 2020. – Vol. 13, № 7. – P. 1705–1717.

КОФЕРМЕНТ А – МОДУЛИРУЮЩИЙ КОМПОНЕНТ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТРЕССА В СТРУКТУРАХ ЦНС

Мойсеёнок А. Г., Гуринович В. А., Катковская И. Н.,
Лукиенко Е. П., Максимчик Ю. З.

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

Кофермент А (КоА) – важнейший и универсальный кофактор, активирующий ацильные группы и субстраты в виде тиоэфиров КоА (ацил-КоА) практически во всех субклеточных структурах. Эта классическая роль КоА в последние годы существенно дополнена функциями аллостерической регуляции ряда ключевых ферментов и посттрансляционного ацилирования гистонов и многих иных белков. Установлено и прямое взаимодействие кофермента с остатками цистеина белков-мишеней в условиях окислительного стресса (ОС), что определено как КоА-илирование белков. Совершенно неожиданно аналогичные свойства выявлены у 4'-фосфопантетеина (ФПН) – предшественника биосинтеза КоА [8, 10]. Дефекты генов, ответственных за протекание ферментативных реакций на пути пантотенат → ФПН → дефосфо-КоА → КоА выявлены у пациентов, страдающих редкими нейродегенеративными заболеваниями [8]. В наших исследованиях мы наблюдали высокую нейропротекторную активность предшественников биосинтеза КоА таких как D-пантенол, D-пантетин и их композиций с N-ацетилцистеином, сукцинатом, проявляющуюся в стабилизации систем КоА и глутатиона, т.е. модуляцией редокс-статуса нейроструктур на фоне алюминиевого нейротоксикоза или системного воспаления [2, 3]. Одним из вероятных биохимических механизмов, инициируемых при активации биосинтеза КоА, является редокс-сигналинг, опосредованный статусом глутатиона, насыщение компартментов клеток ФПН и ацил-КоА (ацетил-КоА, малонил-КоА и др.) и в случае окислительного или метаболического стресса модификация белков КоА-илированием альтернативным S-глутатионилированию или необратимой инактивации [1, 3].

Генетический дефект пантотенаткиназы 2 типа приводит к пантотенаткиназо-ассоциированной нейродегенерации (PKAN), относящейся к нейродегенерации с накоплением железа в паренхиме и базальных ганглиях мозга (NBIA), проявляющейся в детском возрасте дистонией, дизартрией, ригидностью и дегенерацией сетчатки и приводящей к ранней смерти. Однако диагностика критического уровня КоА в ЦНС не была осуществлена [8]. Приближенные экспериментальные модели в т.ч. нокаутные линии мышей, помимо нарушенного митохондриального метаболизма не внесли ясности в данный вопрос. Эксперименты на гипоморфных мухах и рыбках *Danio* помимо нейродегенеративных нарушений обнаружили дефекты в ангиогенезе [8]. Новые факты получены в сфере митохондриального обмена железом-

содержащих белков, в особенности ассоциированных с биосинтезом гема или конкуренцией агрегатов фосфата кальция и железа.

Совершенно новые представления о функционировании системы биосинтеза КоА возникают при выявлении связи между доступностью КоА и посттрансляционным ФПН-илированием белков. Этот процесс необходим для активации белка-носителя, являющегося субъединицей комплекса I в электронно-транспортной цепи митохондрий и участвует в синтезе предшественника липоевой кислоты. Нарушение реакции липоилирования влечет за собой снижение образования липоилацетилтрансферазного фрагмента мультиферментного митохондриального комплекса пируватдегидрогеназы [7, 6].

По аналогии с цитозольным полиферментным комплексом синтетазы жирных кислот, имеющим простетическую группу в форме ФПН, ацильный белок носитель (ACP) в митохондриях осуществляет процесс ковалентного наращивания фрагментов синтеза жирных кислот. Вместе с тем при взаимодействии с белковыми гетеродимерами осуществляется функция сборки комплексов цепи переноса электронов и кластеров Fe-S, а также синтез фрагмента C8 для синтеза липоевой кислоты. Фактически происходит координация наработки митохондриального ацетил-КоА, наработки кластера Fe-S и липоилирование белка [7]. Становится понятным, что в моделях детерминированных состояний PKAN и аналогичных нейродегенераций CoPAN, MPAN и PDH-E2 возникают патохимические ассоциации с дефектом КоА (PKAN, CoPAN), липоилированием белка (MePAN) и активности пируватдегидрогеназы (PDH-E2). По мнению лидеров в изучении КоА-зависимых нейродегенераций S. Hayflick, O. Sibon et al. [6]. «КоА-зависимая активация митохондриального ацильного белка носителя (mtACP) является возможным ключевым процессом воздействия на активность пируватдегидрогеназы». В этом случае КоА рассматривается как источник ФПН, необходимого для посттрансляционного ФПН-илирования, в свою очередь активирующего специфические белки-мишени [6]. Наличие взаимосвязи между внутриклеточным балансом свободного КоА и ацетил-КоА, процессом липоилирования и гомеостаза железа получает новое подтверждение [8].

Помимо ацетил-КоА, прямого продукта пируватдегидрогеназной реакции, субстрата синтеза ацетилхолина и участника реакции ацетилирования нейробелков, например, гистонов, значительная роль уделяется функции малонил-КоА. Этому ацил-КоА свойственна роль регулятора потребления пищи в гипоталамусе, а также в процессе деградации липидов при патологических состояниях. Модуляция уровня малонил-КоА характерна для всех нейроструктур, но пул КоА, ацетил- и малонил-КоА в гипоталамусе, мозжечке и продолговатом мозге чрезвычайно зависит от структуры потребляемого рациона [9].

Поиск терапевтических подходов для нейропротекции и нейрокоррекции при различных формах нейродегенерации, ишемических и воспалительных поражений мозга ведется интенсивно с учетом нейротропных функций предшественников КоА производных пантотеновой кислоты [5]. Эффективность пантотенатов и пантетина при алкогольной патологии ранее

убедительно продемонстрирована. Не получили развитие результаты высокого протективного эффекта D-пантенола при фокальной ишемии мозга [4]. Судя по обобщенным результатам поиска средств при химически детерминированных формах нейродегенераций применение пантотената, пантетина оказалось малоэффективным, а фосметпантотената – обнадеживающим. Кажется более обоснованным применение ФПН или стимуляторов альтернативным форм пантотенаткиназы (пантазин). Альтернативным подходом является применение хелаторов железа, продемонстрированное у пациентов с атипичной формой РК/tN [8]. Можно полагать, что достижение эффективной терапии возможно при комплексном применении препаратов, коррегирующих митохондриальный метаболизм, в т.ч. средств из арсенала редокс-фармакологии [1].

ЛИТЕРАТУРА

1. Канунникова Н.П., Семенович Д.С., Мойсеёнок А.Г. Основные редокс-пары поддержания тиол-дисульфидного баланса в нервной ткани / Обзорные и проблемные статьи // Новости медико-биол. наук; редкол.: В.С. Улащик (гл. ред.) [и др.]. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 84–89.
2. Мойсеёнок А.Г., Канунникова Н.П. Редокс-механизмы нейродегенерации // 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). – С. 140–142.
3. Мойсеёнок А.Г. Опосредованный коферментом А универсальный механизм реализации редокс-модулирующего и антиоксидантного потенциала клетки // 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). – С. 137–140.
4. Онуфриев М.В., Степаничев М.Ю., Лазарева Н.А. и др. Нейропротекторные свойства пантенола: исследование на модели окклюзии среднемозговой артерии у крысы // Нейрохимия. – 2010. – Т. 27, № 2. – С. 170–175.
5. Семенович Д.С., Канунникова Н.П., Мойсеёнок А.Г. Окислительный стресс в митохондриях мозга при алюминиевом нейротоксикозе и введении модуляторов биосинтеза глутатиона и кофермента А // Доклады НАН Беларуси. – 2020. –Т. 64, № 1. – С. 78–85.
6. Lambrechts R.A., Schepers H., Yu Y. et al. CoA-dependent activation of mitochondrial acyl carrier protein links four neurodegenerative diseases // EMBO Mol. Med. – 2019, № 11. – P. 10488.
7. Masud A.J., Kastaniotis A.J., Rahman M.T et al. Mitochondrial acyl carrier protein (ACP) at the interface of metabolic state sensing and mitochondrial function // Biochim. et Biophys. Acta (BBA) Mol. Cell Res. – 2019. – № 1866. – P. 118540.
8. Mignani L., Gnutti B., Zizioli D. et al. Coenzyme A biochemistry: from neurodevelopment to neurodegeneration // Brain Sci. – 2021. – Vol. 11, № 8. – P.1031.
9. Tokutake Y., Lio W., Onizawa N. et al. Effect of diet composition on coenzyme A and its thioester pools in various rat tissues // Biochem. and Biophys. Research Communic. – 2012, № 423. – P. 781–784.
10. Yu Y., Moretti I.F., Grzeschik N.A. et al. Coenzyme A levels influence protein acetylation, CoAlation and 4'-phosphopantetheinylation: Expanding the impact of a metabolic nexus molecule // Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res. –2021. – Vol. 1868, № 4. – P. 118965.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ ЭРИТРОЦИТОВ НА ДОНОРЫ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ И СУБСТРАТЫ ИХ СИНТЕЗА

Муравьев А. В.¹, Михайлов П. В.¹, Приезжев А. В.²,
Луговцов А. Е.², Тихомирова И. А.¹

¹Ярославский государственный педагогический университет имени К. Д. Ушинского, Ярославль, Россия

²Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Эритроциты для выполнения своей основной функции – транспорта кислорода, должны проходить обменные капилляры, диаметр которых меньше размера клетки, поэтому для эффективной перфузии тканей, они должны деформироваться [1]. Это важное свойство эритроцитов модулируется многими сигнальными молекулами и, в том числе, газотрансммиттерами (ГТ) [2], такими как оксид азота (NO) и сульфид водорода (H₂S). Есть данные свидетельствующие о том, что эритроциты продуцируют NO [3]. Кроме того, оксид азота стимулирует образование другого ГТ, H₂S [4]. Следовательно, на микрореологические характеристики эритроцитов могут влиять ГТ как поступающие из других клеток, так и сигнальные молекулы этого типа, образующиеся в самих эритроцитах. С учетом выше сказанного целью исследования было изучение микрореологических эффектов доноров NO и H₂S, и продуктов их синтеза самими эритроцитами.

Методы исследования. Образцы цельной крови (9 мл) здоровых доноров (n = 24) получали венопункцией в вакуумные пробирки. Эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием, трижды отмывали в изотоническом растворе Рингера. Суспензию эритроцитов делили на несколько аликвот и клетки инкубировали при 37°C в течение 30 мин с каждым из перечисленных ниже соединений:

- 1) с донором NO – нитропруссидом натрия (НПН, в концентрации 100 мкМ);
- 2) с донором H₂S – гидросульфидом натрия (NaHS, в концентрации 100 мкМ);
- 3) с субстратом NO-синтазы – L-аргинином (100 мкМ);
- 4) с субстратом цистионин-гамма-лиазой – L- цистеином (100 мкМ).

В каждом опыте в качестве контроля использовали суспензию эритроцитов, инкубируемых в течение также 30 мин, при 37°C в изотоническом растворе Рингера без добавления указанных выше препаратов. Для измерения деформируемости эритроцитов использовали методику удлинения эритроцитов в проточной микрокамере. На основе измерения длины (*L*) и ширины (*W*) вытянутых потоком клеток, рассчитывали индекс их удлинения (ИУЭ) как

показатель деформируемости эритроцитов. Агрегацию эритроцитов регистрировали на агрегометре Murene M-1.

Весь цифровой материал обработан статистически с определением выборочной средней величины ($M \pm m$). Полученные данные проверяли на характер распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом этого были использованы непараметрические методы программы “Statistica 10.0”. За уровень статистически значимых принимали изменения при $p < 0,05$ и $0,01$.

Результаты и их обсуждение. Донор оксида азота, нитропруссид натрия (НПН) и субстрат для NO-синтазы, L-аргинин повышали деформируемость эритроцитов на 11 и 8%, соответственно (таблица 1).

Таблица 1 – Микрореологические ответы эритроцитов на донор NO, нитропруссид натрия (НПН, 100 мкМ) и на L-аргинин (100 мкМ), стимулятор NO-синтазы ($M \pm m$, $n=24$)

Показатели	Нитропруссид натрия (100 мкМ)		L-аргинин (100 мкМ)	
	Контроль	НПН	Контроль	L-аргинин
ИУЭ, отн. ед.	2,01±0,02	2,13±0,03**	1,95±0,02	2,10±0,03**
ПАЭ, отн. ед.	4,49±0,51	3,17±0,37*	6,18±0,34	4,88±0,26*

Примечания: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов

Под влиянием НПН агрегация эритроцитов достоверно снижалась на 30% ($p < 0,05$), что несколько больше, чем при воздействии L-аргинина, когда наблюдали уменьшение ПАЭ на 21%. Полученные данные показали, что оксид азота, поступающий извне и, вероятно, синтезированный в эритроцитах под действием L-аргинина, вызывали сходные по величине и направлению изменениями микрореологии клеток.

Донор сероводорода, NaHS повышал деформируемость эритроцитов на 10% ($p < 0,01$) и уменьшал их агрегацию на 35% (таблица 2).

Таблица 2 – Микрореологические ответы эритроцитов на донор H₂S, гидросульфид натрия (NaHS, 100 мкМ) и на L-цистеин (100 мкМ), стимулятор цистионин-гамма-лиазы ($M \pm m$, $n=24$)

Показатели	Гидросульфид натрия (100 мкМ)		L- цистеин (100 мкМ)	
	Контроль	NaHS	Контроль	L-цистеин
ИУЭ, отн. ед.	1,93±0,01	2,12±0,02**	1,84±0,01	1,94±0,03*
ПАЭ, отн. ед.	3,97±0,44	2,56±0,30*	2,83±0,36	2,19±0,23*

Примечания: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов

Под влиянием L-цистеина деформируемость эритроцитов умеренно возрастала, на 5% ($p < 0,05$), тогда как, агрегация в этих условиях, снижалась на 23%

Таким образом, сходство микрореологических ответов по величине и направлению как на доноры газотрансмиттеров, так и на их вероятный синтез

внутри эритроцитов, под влиянием соответствующих субстратов (*L*-аргинина и *L*-цистеин) позволяет точно оценить величину вклада микрореологических изменений эритроцитов под влиянием ГТ в общую текучесть крови и ее кислородтранспортный потенциал.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ №22-45-00120

ЛИТЕРАТУРА

1. Smith J.A., Martin D.T., Telford R.D., Ballas S.K. Greater erythrocyte deformability in world-class endurance athletes // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 276, № 6. – H2188-193.
2. Grau M., Cremer J.M., Schmeichel S., Kunkel M., Bloch W. Comparisons of Blood Parameters, Red Blood Cell Deformability and Circulating Nitric Oxide Between Males and Females Considering Hormonal Contraception: A Longitudinal Gender Study // *Front Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1835.
3. Zhao Y., Wang X., Noviana M., Hou M. Nitric oxide in red blood cell adaptation to hypoxia // *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. – 2018. – Vol. 50, № 7. – 621–634.
4. Lo Faro M.L., Fox B., Whatmore J.L. et al. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation // *Nitric Oxide*. – 2014. – Vol. 41. – P. 38–47.

ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПОЧКАХ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИШЕМИИ И ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ

Надольник Л. И., Катковская И. Н., Титко О. В.,
Мурашкевич Ю. Г., Максимчик Ю. З., Филипович Н. А.,
Лукиенко Е. П., Черемисин А. С., Хвесько И. С., Полубок В. Ч.,
Шуриберко А. В., Гуринович В. А.

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

Введение. Повреждение почек при ишемии, ишемии/реперфузии (И/ИР) является частой причиной острой почечной недостаточности. Клеточные и молекулярные механизмы последствий И/ИР почек сложны и до конца не изучены. Тем не менее, ишемические и реперфузионные повреждения почек – относительно частое состояние и может являться причиной острого повреждения почек в клинических ситуациях: при сосудистой хирургии, хирургии почек, трансплантологии и кардиохирургии, включая коронарное шунтирование [1-3].

В настоящее время не разработан четкий алгоритм профилактики данного вида повреждений почек. Одним из перспективных направлений ренопротекторной терапии ишемически-реперфузионных повреждений является фармакологическое пре- и посткондиционирование (Даниленко, 2015). В экспериментальных и клинических исследованиях показано, что

предварительное введение перед выполнением аорто-коронарного шунтирования эритропоэтина приводит к уменьшению тяжести острого повреждения почек [4]. Представленные данные свидетельствуют об актуальности исследования механизмов ишемического/реперфузионного повреждения почек и разработки эффективных фармакологических средств их защиты.

Цель. Оценить активность показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в ткани почек при моделировании ишемии и ишемии/реперфузии, выявить маркеры ишемического повреждения почек для дальнейшего проведения научно-исследовательских работ по разработке оригинального протекторного средства при ишемии и ишемии/реперфузии почек.

Методы исследования. Исследования выполнены на половозрелых самках крыс массой 250–300 г. Отработаны два способа моделирования ишемии/реперфузии почки у крыс. В первом случае после наложения лигатуры на сосудистый пучок (артерия, вена) правая почка удалялась и использовалась как контроль, ишемия/реперфузия моделировалась только на левой почке. Во втором случае выполнено двустороннее моделирование ишемии (15-60 минут) правой и левой почек, реперфузии подвергалась только левая почка, продолжительность – 15-, 30-, 60-, 120 минут и 24 часа. Операция проводилась под 2,8% хлоральгидратным наркозом при его внутрибрюшинном введении в дозе 350 мг/кг. Хирургические манипуляции осуществлялись с соблюдением всех правил асептики. После вскрытия брюшной полости срединным разрезом тупым путем выделялись правая и левая почки, далее выделялась сосудистая ножка каждой почки и накладывался сосудистый зажим. Изменение цвета и тургора почек служило подтверждением адекватного пережатия сосудов.

В тканях почки, взятых для анализа, спектрофотометрическими методами измерялась концентрация ТБК-реагирующих продуктов ПОЛ, а также показатели антиоксидантной системы: – активность СОД, каталазы, глутатионредуктазы (ГР), концентрация восстановленного глутатиона. В митохондриях, выделенных из ткани почек крыс, измерялась активность дыхания, а также активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ), ГР, концентрация восстановленного глутатиона.

Результаты и их обсуждение. В предварительных исследованиях было установлено, что увеличение срока ишемии почек сопровождалось повышением в ткани концентрации альдегидных продуктов ПОЛ, наиболее значимо через 60 минут. В ткани ишемизированной почки (30–60 минут) значительно снижалась концентрация восстановленного глутатиона (GSH) на 59,0–66,5% ($p < 0,05$), на фоне снижения активности глутатионредуктазы – на 26,9–33,1% ($p < 0,05$; таблица 1); активность ГПО снижалась только через 30 после минут ишемии (14%), – как и активность ГТ (39,7%), – но изменения не были статистически достоверны. При ишемии/реперфузии концентрация GSH, а также активность ферментов (ГР, ГПО, ГТ) частично восстанавливались, наиболее значимо ГТ. Снижение уровня глутатиона – следствие нарушений окислительно-восстановительного баланса в почке при ишемии и ишемии/реперфузии.

Необходимо отметить снижение в ткани почки при ишемии концентрации CoA-SH на 30–40% ($p < 0,05$); сниженный уровень CoA-SH сохранялся и после реперфузии, продолжительность которой составляла 30–120 минут. Изменение уровня CoA-SH можно рассматривать как возможный маркер метаболических изменений в почке при ишемии.

Таблица 1 – Активность глутатионредуктазы в почке крыс при моделировании ишемии/реперфузии почки, нмоль NADPH₂/мин/мг белка; M±SD

	Ишемия, правая почка	Ишемия/реперфузия, левая почка
Контроль	80,43±14,12	60,98±5,25
Ишемия 30 мин/ реперфузия 30 мин	53,76±5,71*	41,23±2,29*
Ишемия 30 мин/ реперфузия 60 мин	57,01±10,83*	57,59±6,39
Ишемия 60 мин/ реперфузия 60 мин	58,81±11,01*	61,24±6,13
Ишемия 60 мин/ реперфузия 120 мин	55,48±2,56*	56,03±8,51

Примечание – * – $p < 0,05$ по отношению к группе «Контроль».

Активность СОД изменялась незначительно, активность каталазы снижалась в почке через 30 минут ишемии на 18,2-22,7% ($p = 0,033$), но повышалась при увеличении времени ишемии до 60 минут. Реперфузия 60-120 минут повышала активность каталазы в ткани почки на 20-26%. Повышение концентрации ТБКРС в ткани ишемизированной почки было незначительным.

Из 11 почек животных были выделены митохондрии (МХ). Подтверждением ишемии почек являлось выраженное снижение уровня базального дыхания МХ, а также субстрат-зависимого (глутамат/сукцинат) и АДФ-зависимого дыхания. Показано, что реперфузия в течение 30 минут (после 30 минут ишемии) незначительно восстанавливала субстратное дыхание МХ до 67,1% от контрольных значений, – но не восстанавливала АДФ-зависимое дыхание, что свидетельствует о значительном нарушении в условиях ишемии синтеза АТФ. При ишемии 60 мин. и реперфузии в течение 120 мин. нарушение базального, субстрат-зависимого дыхания было более выражено, чем при более коротких сроках. Можно отметить снижение в МХ активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в группе ишемия/реперфузия 30/60 минут.

В сыворотке крови крыс после двусторонней ишемии почек в течение 30 минут снижалась концентрации мочевины, но последующая реперфузия в течение 120 минут повышала данный показатель более чем на 30%.

Полученные результаты свидетельствуют, что проведенное хирургическое вмешательство вызывает значительные метаболические изменения в почке, характерные для ишемии и реперфузии. Острая ишемия явилась причиной нарушения метаболизма GSH, снижения его концентрации в ишемизированной почке на фоне нарушения функционирования ГР. Значительный интерес представляют механизмы снижения в ишемизированной почке уровня CoA-SH. Полученные результаты предполагают использование в дальнейшем данной модели для тестирования препаратов, предназначенных для коррекции метаболических нарушений, связанных с ишемическим повреждением почек.

Выводы. В предварительных исследованиях установлено, что в условиях ишемии и ишемии/реперфузии наблюдаются значительный дисбаланс показателей АОС, метаболические нарушения, а также снижение/повышение (ишемия/реперфузия) функции МХ, что можно рассматривать как возможные механизмы повреждения почек.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дряженков И.Г., Комлев Д.Л., Лось М.С. Факторы ишемического поражения почки и ее резекции // Клинич. медицина. – 2013. – № 6. – С 21–24.
2. Basile D.P., Anderson M.D., Sutton T.A. Pathophysiology of acute kidney injury. // Comprehensive Physiol. – 2012. – Vol. 2, № 2. – P. 1303–1353.
3. Makris K., Spanou L. Acute kidney injury: definition, pathophysiology and clinical phenotypes // Clinical Biochem. Rev. – 2016. – Vol. 37, №2. – P. 85–98.
4. Tasanarong A., Duangchana S., Sumransurp S., et al. Prophylaxis with erythropoietin versus placebo reduces acute kidney injury and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients undergoing cardiac surgery: a randomized, double-blind controlled trial // BMC Nephrology. – 2013. – Vol. 14. – P. 136.

КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ НАРУШЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С НЕРАЗОРВАВШИМИСЯ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМИ АНЕВРИЗМАМИ ДО И ПОСЛЕ НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Нечипуренко Н. И.¹, Степанова Ю. И.², Пашковская И. Д.¹,
Прокопенко Т. А.¹, Сидорович Р. Р.¹, Ахремчук А. И.¹

¹Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии,
Минск, Беларусь

²Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь

Введение. Факторы, лежащие в основе формирования церебральных аневризм (ЦА), включают в себя гемодинамические нарушения, снижение энергетических процессов в структурах головного мозга, воспаление в стенке аневризмы, окислительный стресс, дегенерацию нервной ткани [1]. Учитывая, что неразорвавшиеся аневризмы потенциально могут стать источником внутричерепного кровоизлияния, представляется вполне обоснованным изучение кислотно-основного состояния (КОС) и кислородтранспортной функции крови (КТФК) во взаимосвязи с показателями окислительного стресса у пациентов в до- и послеоперационном периодах, что в последующем позволит корректировать тактику лечения этих пациентов в послеоперационном периоде.

Цель. Изучить показатели КОС, кислородтранспортной функции и про-, антиоксидантной системы крови у пациентов с неразорвавшимися ЦА до и после нейрохирургического лечения.

Методы исследования. Изучены показатели в крови у 22 пациентов с неразорвавшимися ЦА, средний возраст которых составил $52,4 \pm 10,2$ лет, из них 6 (27%) мужчин и 16 (73%) женщин, в 1-е сутки госпитализации в нейрохирургические отделения и на 12-е сутки после микрохирургического клипирования шейки ЦА.

Нормальные значения показателей были изучены у 26 практически здоровых лиц ($49,4 \pm 14,6$ лет), $p > 0,05$ относительно возраста пациентов.

Забор образцов крови для исследования параметров КОС, КТФК и про-, антиоксидантной системы выполняли из кубитальной вены натошак. Определяли рН – величина отрицательного десятичного логарифма молярной концентрации ионов H^+ , pCO_2 – парциальное давление CO_2 , HCO_3^- – содержание бикарбонат-ионов, АВЕ – избыток (дефицит) буферных оснований, pO_2 – парциальное давление кислорода, $p50$ – pO_2 крови при 50% насыщении гемоглобина кислородом, sO_2 – сатурацию венозной крови на газоанализаторе ABL-800 FLEX («Radiometer»). Определяли концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П) и активность супероксиддисмутазы (СОД).

При статистической обработке полученных данных применяли программу Statistica 10.0.

Результаты и их обсуждение. Как представлено в таблице 1 у пациентов с неразорвавшимися ЦА на 1-е сутки после госпитализации не установлено значимых нарушений параметров КОС венозной крови – все они соответствовали нормальным значениям. В то же время выявлена тенденция к снижению sO_2 ($p=0,086$) и статистически значимое возрастание значения $p50$ ($p=0,016$) по сравнению со здоровыми лицами, что свидетельствует о снижении сродства гемоглобина к кислороду и нарушении внутриклеточной утилизации кислорода, возникающее, в том числе, под действием активации прооксидантных реакций. При исследовании показателей про-, антиоксидантного баланса у пациентов до операции установлена тенденция к увеличению концентрации ТБК-П ($p=0,072$) при сохранении активности СОД на уровне здоровых лиц (таблица 2).

Таблица 1 – КОС и КТФК венозной крови у пациентов до и после лечения, $M \pm SD$ или Me (квартили)

Показатели	Здоровые лица	Пациенты с неразорвавшимися ЦА	
		до лечения	после лечения
рН, усл. ед.	$7,35 \pm 0,036$	$7,36 \pm 0,04$	$7,39 \pm 0,05$ $t=2,6, p=0,014$ $t^*=2,4, p=0,042$
АВЕ, ммоль/л	0,55 (-0,95; 1,71)	0,25 (-0,75; 2,0)	2,2 (2,0; 3,9) $U=38, p=0,014$ $T^*=8, p=0,046$
HCO_3^- , ммоль/л	$26,1 \pm 2,4$	$26,8 \pm 2,3$	$27,7 \pm 2,2$ $t=1,7, p=0,095$
pCO_2 , мм рт. ст.	$48,7 \pm 6,3$	$49,1 \pm 5,5$	$46,6 \pm 6,8$

Показатели	Здоровые лица	Пациенты с неразорвавшимися ЦА	
		до лечения	после лечения
pO ₂ , мм рт. ст.	34,5 (32,5; 36,2)	28,4 (24,9; 37,3)	36,6 (28,3; 45,5) T*=11, p=0,093
sO ₂ , %	61,1 (55,9; 64,1)	49,8 (38,4; 68,5) U=67, p=0,086	67,8 (43,5; 80,8)
p50, мм рт. ст.	25,2 (24,3; 26,8)	28,7 (26,7; 28,8) U=45; p=0,016	27,8 (27,1; 29,1) U=36, p=0,022

Примечание – здесь и в таблице 2: t-критерий Стьюдента или U-критерий Манна-Уитни – сравнение данных пациентов с ЦА и здоровых лиц; t*- парный критерий Стьюдента или T*- критерий Вилкоксона – сравнение данных пациентов до и после лечения.

Таблица 2 – Активность СОД и концентрация ТБК-П у пациентов до и после нейрохирургического лечения, Ме (квартили)

Показатели	Здоровые лица	Пациенты с неразорвавшимися ЦА	
		до лечения	после лечения
ТБК-П, мкмоль/л	1,66 (1,31; 1,85)	1,93 (1,46; 2,47) U=199, p=0,072	1,5 (1,15; 2,0) T*=35,5, p=0,052
СОД, Ед/мл	115,5 (105,5; 129)	107,4 (87,2; 129,8)	123,7 (80,9; 151,0)

На 12-е сутки после клипирования шейки ЦА у пациентов установлено повышение уровня рН венозной крови до 7,39±0,05 ед. относительно нормы (p=0,014) и данных до лечения (p=0,042). При этом возросло содержание буферных оснований (p=0,014) и появилась тенденция к увеличению концентрации гидрокарбонатного буфера (p=0,095) по сравнению со значением здоровых лиц (таблица 1). Сдвиг рН в сторону алкалоза, развившегося на фоне избытка буферных оснований и нормального уровня рСО₂ в венозной крови позволяет считать, что выявленные алкалолитические изменения в послеоперационном периоде имеют метаболический характер.

В этот же период наблюдения отмечается тенденция к повышению парциального давления кислорода (p=0,093) в сравнении с данными до лечения при сохранении повышенного уровня p50 (p=0,022) и, соответственно, снижения сродства гемоглобина к кислороду относительно нормы, что можно рассматривать как компенсаторную реакцию, направленную на улучшение оксигенации тканей головного мозга и поддержание высокого уровня парциального давления кислорода в крови у этих пациентов.

В этот же период наблюдения выявлена тенденция к уменьшению содержанию ТБК-П (p=0,052) относительно исходных данных, что указывает на нормализацию про-, антиоксидантного баланса в крови пациентов с неразорвавшимися ЦА.

Выводы. 1. У пациентов с неразорвавшимися ЦА в 1-е сутки госпитализации не обнаружено сдвигов параметров КОС. Выявлены изменения КТФК в виде тенденции к снижению сатурации венозной крови (p=0,086) и повышения уровня p50 (p=0,016), что свидетельствует о снижении сродства гемоглобина к кислороду и нарушении внутриклеточной утилизации кислорода, возникающее, в том числе, вследствие активации прооксидантных

реакций с тенденцией к повышению концентрации ТБК-П ($p=0,072$) относительно нормы.

2. На 12-е сутки после клипирования шейки аневризмы у пациентов установлены сдвиг рН венозной крови ($p=0,014$) в щелочную сторону и повышение концентрации буферных оснований ($p=0,014$) относительно здоровых лиц. Выявлено увеличение показателя р50 ($p=0,022$) со снижением сродства гемоглобина к кислороду при нормализации про-, антиоксидантного баланса в крови что, вероятно, способствует поддержанию кислородного гомеостаза на адекватном уровне.

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.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ КРЫС

Павлюкевич А. Н., Беляева Л. Е.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Введение. Окислительный и нитрозилирующий стресс, являясь одним из универсальных механизмов повреждения клеток, в то же время может изменять активность генов организма [3]. Гипотетически, развитие беременности в неблагоприятных условиях может сопровождаться повышением образования активных форм кислорода и азота у потомства, изменением активности генов у пренатально стрессированных организмов, что может повысить риск возникновения у них различных форм патологии, в том числе, сердечно-сосудистой системы.

Цель. Проанализировать гипотезу о развитии окислительного стресса у пренатально стрессированных крыс путем определения концентрации диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), нитратов/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$), активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в сыворотке крови крыс, чьи матери во время беременности подвергались воздействию стрессоров.

Методы исследования. 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). У 3-месячного

потомства в сыворотке крови спектрофотометрически определяли ДК и МДА (рассчитывая их концентрацию на 1 грамм липидов и 1 грамм белка, соответственно); концентрацию конечных продуктов деградации монооксида азота ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) с помощью реакции Грисса; активность СОД и каталазы. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «Статистика 10.0». Цифровые данные сравнивали с использованием U-критерия Манна-Уитни для независимых групп. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в исследовании принимался равным 0,05. Результаты представляли в виде Me (15%; 85%), где Me – медиана, 15% и 85% – 15-й и 85-й процентиля.

Результаты и их обсуждение. Статистически значимых различий содержания ДК и МДА в сыворотке крови потомства-самок и самцов группы «Контроль» выявлено не было.

Пренатальный стресс способствовал увеличению содержания ДК в сыворотке крови самцов (но не самок) на 21,1%, в то время как повышенное содержание МДА было выявлено у крыс обоих полов – в 1,5 раза у самцов и в 2,3 раза у самок группы «Стресс», по сравнению с таковыми в сыворотке крови контрольных крыс соответствующего пола.

Активность СОД в сыворотке крови потомства-самок группы «Контроль» оказалась статистически значимо большей на 49,7%, по сравнению с контрольными самцами. Уровень активности каталазы в сыворотке крови контрольных самцов и самок статистически значимо не различался.

У пренатально стрессированных самцов активность СОД и каталазы сыворотки крови оказалась сниженной на 13,8% и 49,6%, соответственно, по сравнению с таковыми у контрольных самцов. Активность СОД и каталазы сыворотки крови у самок группы «Стресс» снижалась на 46,4% и 38,5%, соответственно, по сравнению с активностью этих ферментов у самок группы «Контроль».

Концентрация $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в сыворотке крови контрольного потомства составила 49,32 (41,10; 60,28) мкмоль/л у самцов и 51,10 (41,10; 63,02) мкмоль/л у самок. Содержание $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в сыворотке крови крыс, матери которых подвергались хроническому стрессу во время беременности, статистически значимо снижалось, по сравнению с таковым в крови контрольных самцов и самок. Так, у самцов группы «Стресс» выявлено снижение концентрации $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ на 33,3%, у пренатально стрессированных самок – на 30,3%.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что воздействие стрессоров на организм в пренатальном периоде может сопровождаться развитием у него окислительного стресса. Полученные данные схожи с результатами других авторов, где у беременных крыс воспроизводили внутриутробную гипоксию на 18 день гестации, что сопровождалось уменьшением активности СОД и глутатионпероксидазы в гомогенате аорты 4-месячного потомства-самцов [4]. Так как окислительный стресс является одной из важнейших причин развития дисфункции сосудистых эндотелиальных клеток [2], можно предположить, что у пренатально стрессированных крыс повышается риск развития дисфункции системы синтеза и действия

монооксида азота NO, что проявилось снижением содержания $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в сыворотке крови. Кроме этого, ранее нами были получены данные, свидетельствующие о развитии дисфункции системы синтеза и действия NO, которая проявлялась повышением содержания индуцибельной NO-синтазы, асимметричного диметиларгинина, снижением концентрации эндотелиальной NO-синтазы в сыворотке пренатально стрессированных крыс [1]. Из вышеуказанного следует, что нарушения функции системы синтеза и действия NO повышает риск развития сердечно-сосудистой патологии у пренатально стрессированных организмов, причем одним из возможных механизмов таких нарушений может быть изменение прооксидантно-антиоксидантного статуса у потомства, матери которых во время беременности подвергались воздействию стрессоров.

Выводы. Таким образом, пренатальный стресс способствовал снижению активности СОД и каталазы в сыворотке крови как у самок, так и у самцов, что, наряду с увеличением концентрации ДК и МДА, свидетельствует о нарушении баланса прооксидантов/антиоксидантов и указывает на наличие выраженного окислительного стресса у таких крыс. Такие изменения прооксидантно-антиоксидантного статуса сыворотки крови пренатально стрессированных крыс могли вносить существенный вклад в нарушение функционирования системы продукции и действия монооксида азота NO, что проявлялось снижением содержания в сыворотке крови таких крыс продуктов деградации NO – нитратов/нитритов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Павлюкевич А.Н., Ладик Ю.С. Особенности продукции оксида азота у пренатально стрессированных крыс-самцов // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 72-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых, Витебск, 12-13 мая 2020 г. / Вит. гос. мед. ун-т; редкол.: А.Т. Щастный [и др.]. – Витебск, 2020. – С. 68–70.
2. Giussani D.A. et al. Developmental programming of cardiovascular dysfunction by prenatal hypoxia and oxidative stress // PLoS ONE. – 2012. – e31017.
3. Hayes J.D., Dinkova-Kostova A.T. The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism // Trends Biochem. Sci. – 2014. – Vol.39. – P.199–218.
4. Gonzalves da Silva T.F. et al. Prenatal hypoxia predisposes vascular functional and structural changes associated with oxidative stress damage and depressive behavior in adult offspring male rats // Physiol Behav. – 2021. – Vol. 230. – P.113293.

ЛАЗЕРНЫЙ АТОМНО-ЭМИССИОННЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОБРАЗЦОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Пашковская И. Д.¹, Патапович М. П.², Прокопенко Т. А.¹,
Нечипуренко Н. И.¹

¹Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии,
Минск, Беларусь

²Белорусская государственная академия связи, Минск, Беларусь

Введение. Одним из прогрессирующих хронических нарушений мозгового кровообращения, которое проявляется неврологическими синдромами и когнитивными нарушениями, является дисциркуляторная энцефалопатия. Нередко данная проблема проявляется в трудоспособном возрасте и относится к числу наиболее распространенных сосудистых заболеваний [1]. Причинами могут стать как артериальная гипертензия, так и атеросклероз артерий, вследствие чего снижается уровень кислорода в крови и нарастает комплекс патобиохимических расстройств. Происходят сдвиги митохондриального энергетического метаболизма с развитием Ca^{2+} -глутаматной эксайтотоксичности, активация перекисного окисления липидов, что приводит к гибели клеток мозга. Показано, что в патогенезе церебральной ишемии важную роль играет возрастание внутриклеточной концентрации кальция, способствующей активации NMDA-, AMPA-(GluR2)-рецепторов. Повышенное высвобождение кальция способствует ишемическому повреждению нейронов вследствие вазоконстрикции и инициации каскада апоптоза. Анализ локального распределения химических элементов в дегидратирующих каплях плазмы крови, в том числе кальция, может способствовать созданию новых методов оценки метаболических и катаболических процессов, происходящих при различных заболеваниях центральной нервной системы [2, 3].

Цель. Изучить локальное распределение интенсивности линий кальция по диаметру дегидратирующей капли плазмы крови у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией (хроническая ишемия мозга-ХИМ) до и после стандартной терапии.

Методы исследования. Методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии (ЛАЭС) была исследована плазма крови 13 практически здоровых лиц, средний возраст которых составил $57,8 \pm 15,3$ лет; 5 пациентов с ХИМ в возрасте $76,2 \pm 7,2$ лет (забор венозной крови осуществляли на момент госпитализации и на 10-12-е сутки после лечения в неврологических отделениях).

Для проведения данного исследования был использован лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1, в котором источником возбуждения лазерной плазмы выступает двухимпульсный

неодимовый лазер с регулируемой энергией и межимпульсным интервалом. При разработке спектральноаналитических методик требуется подбор оптимальных условий работы и выбор спектральных линий определяемых элементов [4, 5].

Результаты и их обсуждение. В качестве примера на рисунке 1 приведено послойное распределение кальция по диаметру высохшей капли плазмы крови на твердой поверхности практически здорового человека.

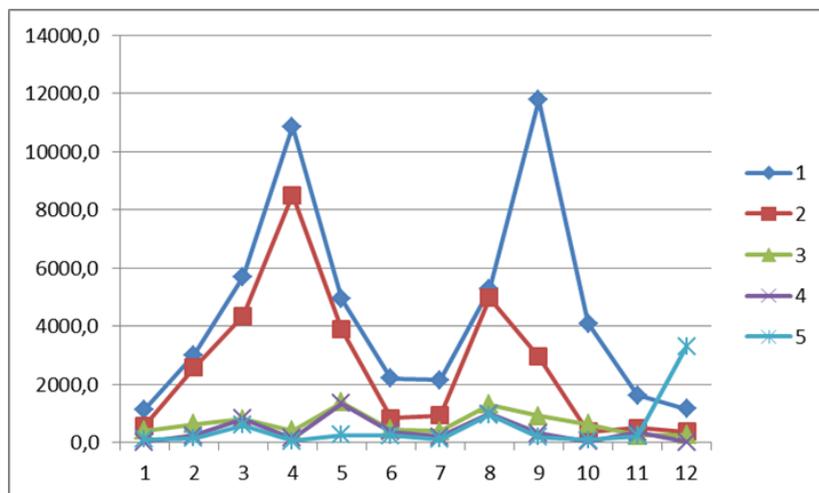


Рисунок 1. – Интенсивность линий Ca II (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах плазмы крови здорового лица, принятая за норму.

Здесь и на рисунке 2 по вертикальной оси отображена интенсивность линий кальция в отн.ед., по горизонтальной – номера точек: точка 6 соответствует центру капли, точки 1 и 12 – ее периферической зоне. Линии 1-5 представляют собой слои капли, через которые проходит лазерный пробы

Анализируя результаты исследования у здоровых лиц установлено, что чаще всего значительное возрастание интенсивности линий кальция происходит преимущественно в первых двух слоях в точках, расположенных ближе к периферической области. В то же время в центральных точках (№ 5, 6, 7) наблюдается снижение интенсивности линий кальция. Для сравнения на рисунке 2 представлено локальное распределение кальция по диаметру высохшей капли плазмы крови пациента с ХИМ до и после стандартной терапии.

Пациент С.: 75 лет, мужчина. Диагноз: дисциркуляторная энцефалопатия смешанного генеза (атеросклеротическая, гипертоническая) 1 степени с микросимптоматикой, астено-ипохондрическим синдромом. Сопутствующий диагноз: ишемическая болезнь сердца: стенокардия напряжения. Частая предсердная экстрасистолия. Атеросклеротический кардиосклероз. Атеросклероз аорты, коронарных артерий. Артериальная гипертензия 2, риск 4.

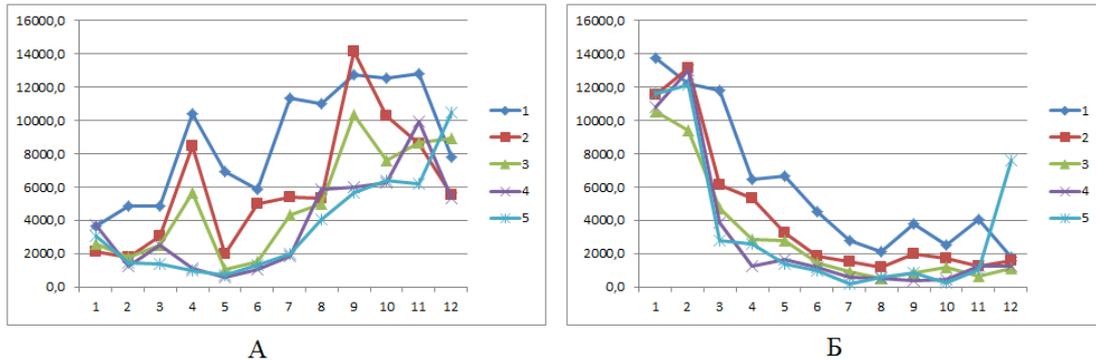


Рисунок 2. – Интенсивность линий Ca II (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах плазмы крови у пациента с ХИМ до (а) и после стандартной терапии (б).

Приведенные данные показывают отличия в распределении кальция в крови здорового человека и пациента с энцефалопатией: до лечения в первых двух слоях наблюдается хаотичное возрастание интенсивности линий кальция в центральной и периферической областях. После стандартной терапии картина распределения данного элемента в капле крови имеет тенденцию к нормализации с несимметричными пиками повышенных значений интенсивности на периферии.

Выводы. Использование метода ЛАЭС позволяет установить особенности распределения интенсивности линий кальция в дегидратирующих каплях плазмы крови у пациентов с ХИМ. Выявленный клинически положительный эффект применения стандартной терапии у пациентов с ХИМ проявляется тенденцией к упорядоченности локального распределения кальция в капле плазмы крови.

Исследование проводится в рамках НИР, финансируемой БРФФИ (договор №М21-011).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Чуканова А.С. Современные патогенетические аспекты формирования хронической ишемии мозга // Журн.неврол. и псих. им. С.С. Корсакова. – 2015. – Т. 115, № 3. – С. 4–8.
2. Нечипуренко Н.И., Пашковская И.Д, Зажогин А.П. Макро- и микроэлементный обмен в организме при патологии центральной нервной системы / под ред. Н.И. Нечипуренко. – Минск: РИФТУР ПРИНТ, 2020. – 132 с.
3. Ковальчук В.В., Баранцевич Е.Р. Хроническая ишемия головного мозга. Современные представления об этиопатогенезе, диагностике и терапии // Эффективная фармакотерапия. – 2017. – № 19. – С. 26–32.
4. Зажогин А.П. Атомный спектральный анализ: курс лекций. – Минск: Изд-во БГУ, 2005. – 163 с.
5. Патапович М.П., Булойчик Ж.И. Лазерный искровой спектральный анализ водных растворов кальция при воздействии сдвоенных лазерных импульсов на пористые тела // Вестн. Бел. гос. ун-та, Сер. 1. – 2009. – № 3. – С. 14–17.

ВЛИЯНИЕ ДИПЕПТИДА PRO-GLY НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И ПРОЦЕССЫ ГАБИТУАЦИИ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ У МЫШЕЙ ICR, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ НЕИЗБЕГАЕМОГО СТРЕССА

Пилюцкая А. А.^{1,2}, Кравченко Е. В.¹, Ольгомец Л. М.¹,
Бизунок Н. А.², Дубовик Б. В.²

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Введение. Нарушения когнитивных функций (внимание, память, способность к анализу ситуации и принятию решений, пространственная ориентация и др.) характеризуются разнообразием проявлений когнитивного дефицита и широкой распространенностью патологии, что диктует необходимость расширения арсенала веществ, предназначенных для коррекции указанных состояний [4]. «Ноопепт» (этиловый эфир N-фенилацетил-N-пролилглицина) обладает выраженным антиоксидантным действием, в частности, снижает гибель нейронов в условиях усиленного перекисного окисления, вызванного добавлением FeSO₄ и аскорбата натрия, а также – в условиях глюкозно-кислородной депривации [4]. Кроме того, «Ноопепту» присущи ноотропная и нейропротективная, анксиолитическая активность [4]. Антигипоксическим действием, сочетающимся с нейропротекторным и анксиолитическим эффектом, характеризуется циклопролилглицин [1]. Соединение Pro-Gly, структурно родственное указанным веществам, обладает сходным спектром фармакологической активности, в частности, усиливает процессы неассоциативного обучения (габитуации) [2] и снижает уровень тревожности [3] лабораторных грызунов. Стрессирующие воздействия сопровождаются увеличением суммарного количества свободных радикалов вследствие высокого потребления кислорода (интенсификация дыхания, процессов метаболизма) [7] и влекут за собой нарушения когнитивных функций [6]. Перспективным и актуальным является изучение возможных ноотропных свойств Pro-Gly на фоне стрессирующего воздействия [1,2].

Цель. Изучить влияние дипептида Pro-Gly на двигательную активность и процессы габитуации локомоторной активности у мышей ICR, подвергшихся воздействию неизбежного стресса.

Методы исследования. Методика «острого» угашения исследовательско-ориентировочной реакции (ИОР) направлена на оценку процесса неассоциативного обучения (габитуация или привыкание) и используется для скрининга ноотропных свойств соединений. Изучали влияние Pro-Gly на процессы габитуации у лабораторных грызунов, подвергшихся неизбежному стрессу в условиях парадигмы «принудительного плавания» (ПП). Эксперименты проведены на 30 аутбредных мышях-самцах ICR массой 20-25 г. Введение соединений осуществляли за 30 мин до сеанса ПП. Спустя

30-90 мин по окончании ПП животных поодиночке помещали в актометр «Универсал 22–32» (Республика Беларусь) с горизонтальными и вертикальными инфракрасными сенсорами. Особям контрольной группы (n=10) назначали растворитель внутрибрюшинно (в/б), а особям основных групп – Pro-Gly в/б в дозах 0,1 (n=10) или 0,5 мг/кг (n=10) за 60-120 минут до актометрии.

Оценивали внутрисессионную габитуацию («острую»), развивающуюся в одном сеансе актометрии. Для анализа полученных результатов вычисляли коэффициенты угашения ГДА ($K_{угаш.}$) у мышей по следующей формуле [6]:

$$K_{угаш.} = \frac{N_{ГДА n}}{N_{ГДА n} + N_{ГДА 1}}$$

где $N_{ГДА 1}$ – показатель локомоторной активности животных в начальном 10-минутном интервале регистрации (исходный уровень ГДА); $N_{ГДА n}$ – в заключительном 10-минутном интервале сеанса актометрии.

Чем меньше абсолютное значение коэффициента $K_{угаш.}$, тем сильнее выражен процесс габитуации.

Статистическую обработку цифровых показателей проводили методами с использованием программного обеспечения Biostat 4.03.

Результаты и их обсуждение. Анализ полученных данных за первые 5 минут исследования продемонстрировал отсутствие статистически значимого влияния Pro-Gly в обеих дозах на ГДА ($p > 0,05$) и статистически значимое снижение ВДА в случае применения дипептида в дозе 0,5 (но не 0,1) мг/кг ($p < 0,05$; см. рисунок), что может объясняться возможным анксиолитическим влиянием Pro-Gly и согласуется с ранее опубликованными данными [3]. Сходным образом воздействовал на поведение мышей анксиолитик хлордиазепоксид [5].

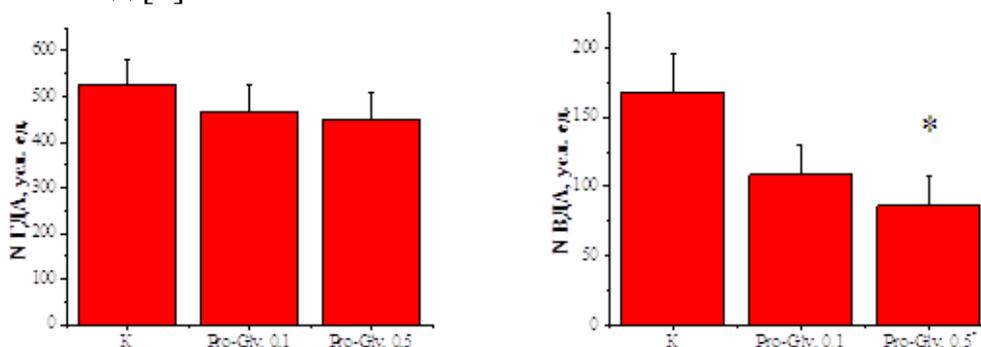


Рисунок 1. Влияние Pro-Gly на ГДА и ВДА аутобредных мышей ICR за первые 5 минут регистрации

* – Различия статистически значимы в сравнении с $N_{ВДА}$ в контроле ($p < 0,05$, критерий Крускала-Уоллиса с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Данна)

Угнетение исходного уровня ВДА лабораторных мышей ICR затрудняло интерпретацию результатов эксперимента, поскольку могло явиться причиной

смещения развивающегося во времени седативного эффекта и снижения ИОР вследствие процесса привыкания [4]. Вместе с тем статистически значимое снижение ГДА в конце 30-минутного (Pro-Gly, 0,1 мг/кг) и 60-минутного интервалов наблюдения (Pro-Gly, 0,5 мг/кг) при отсутствии такового в контроле указывало на существенное облегчение неассоциативного обучения на фоне введения дипептида (таблица).

Таблица – Влияние Pro-Gly на динамику горизонтальной двигательной активности аутбредных мышей ICR

Группа/доза (мг/кг)/число животных	Интервал регистрации, мин / N _{ГДА} , усл. ед.			K _{угаш} (интервалы 0-30; 31-60)
	0-10	21-30	51-60	
Контроль (n=10)	1009±112,1	741,8±74,89	525,3±112,2	0,42; 0,34
Pro-Gly, 0,1 n=10)	944,6±95,78	537±119*	625,9±122*	0,36; 0,40
Pro-Gly, 0,5 n=10)	868,4±78,4	713,2±82,85	268,1±76,92*	0,45; 0,24

Примечания: 1) N_{ГДА}, усл. ед. – число движений в горизонтальной плоскости за 10 мин наблюдения (первые 10 мин и последние 10 мин в каждом из двух последовательных 30-минутных интервалов); 2) * – Различия статистически значимы в сравнении с исходным уровнем, $p < 0.05$, критерий Фридмана с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Данна, $p < 0.05$

Выводы. Дипептид Pro-Gly в дозах 0,1 мг/кг и 0,5 мг/кг усиливает процессы габитуации локомоторной активности у мышей ICR, подвергшихся воздействию неизбежаемого стресса в парадигме ПП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Назарова Г.А. и др. Сходство циклопролилглицина с пирацетамом по антигипоксическому и ней-ропротекторному эффектам // Эксперим. и клин. фармакол. – 2012. – Т. 75, № 9. – С. 3–6.
2. Кравченко Е.В., Жебракова И.В., Насек В.М. и др. Регуляция процессов неассоциативного обучения олигопептидами, структурно родственными окситоцину // Новости мед.-биол. наук. – 2020. – Т. 20, № 2. – С. 30–34.
3. Кравченко Е.В., Жебракова И.В., Насек В.М. и др. Влияние пролил-глицина и лейцил-пролина гидрохлорида на уровень тревожности лабораторных мышей // Новости мед.-биол. наук. – 2020. – Т. 20, № 3. – С. 84–90.
4. Островская Р.У., Гудашева Т.А., Воронина Т.А. и др. Оригинальный ноотропный и нейропротективный препарат Ноопепт // Эксперимент. и клин. фармакология. – 2002. – Т. 65 – С. 66–72.
5. Bolivar V.J. Intrasession and intersession habituation in mice: from inbred strain variability to linkage analysis // Neurobiol. Learn. Mem. – 2009. – Vol. 92, № 2. – P. 206–214.
6. Morgado P., Cerqueira J. J. The Impact of Stress on Cognition and Motivation // Frontiers in Behavioral Neuroscience. – 2018. – Vol. 12.
7. Srivastava KK, Kumar R. Stress, oxidative injury and disease. // Indian J Clin Biochem. – 2015. – Vol. 30, № 1. – P. 3–10.
8. Thompson T., Grabowski-Boase L., Tarantino L. M. Prototypical anxiolytics do not reduce anxiety-like behavior in the open field in C57BL/6J mice // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2015. – № 133. – P. 7–17.

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ IN VIVO И IN VITRO

Полубок В. Ч., Лабор С. А., Надольник Л. И.

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

Введение. Проблема регуляции про/антиоксидантного баланса в клетках до настоящего времени является актуальной, что связано со специфическими особенностями функционирования ряда клеточных систем в норме (тироциты), при нарушении их функций в условиях неспецифической нагрузки на организм (стресс) и развитием патологических изменений в тканях и органах (гипергликемия при диабете, ишемия и реперфузия почек и головного мозга, нейродегенеративные заболевания и др.).

В этом плане значительный интерес представляют лекарственные растения, богатые различными природными соединениями: флавоноидами, фенольными соединениями, антоцианами, витаминами с антиоксидантным действием, а также соединениями, содержащими сульфгидрильные группы [1,2].

Цель. Провести сравнительные исследования антиоксидантных свойств водных экстрактов лекарственных растений в экспериментальных моделях *in vitro*, а также в модели диабета 2 типа у крыс.

Методы исследования. Водные экстракты лекарственных растений были получены в виде сухих порошков. Для тестирования использованы следующие лекарственные растения: лист черники (*Bilberry folium*); створки бобов фасоли (*Valvae fructum Phaseoli vulgaris*); лист толокнянки (*Uvae ursi folia*); семя льна (*lini semina*)+лист березы (*Betula folia*) (1:1); лист грецкого ореха (*Folia Juglandis regiae*); трава зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*); семена фенхеля (*Foeniculum dulcis fructus*); трава люцерны посевной (*Herba Medicaginis sativae*); плоды топинамбура (*Jerusalem cactus*) и лист топинамбура (*Jerusalem cactus foliorum*) (1:1) и др.

Тестирование экстрактов лекарственных растений проведено по ингибированию реакции Фентона (в исследованиях *in vitro*), а также по ингибированию интенсивности флуоресценции тиохрома в реакции цитохром с+тиамин+парацетамол+H₂O₂. Антиоксидантные свойства экстрактов оценивались при введении самкам и самцам крыс с диабетом 2 типа на фоне употребления высокожировой диеты. Растворы экстрактов вводились животным утром натошак интрагастрально в дозе 100 мг/кг в течение 4 недель. В ткани печени, сыворотке крови измерялась концентрация альдегидных продуктов ПОЛ (ТБКРС), а также показатели антиоксидантной системы (каталаза, ГПО, GSH). В сыворотке крови крыс были измерены концентрации глюкозы, триглицеридов (TG), общего холестерина (TCh).

Результаты и их обсуждение. В исследованиях *in vitro* наиболее значимый антиоксидантный эффект выявлен у следующих экстрактов: лист

толокнянки, зверобой продырявленный, лист грецкого ореха, лист топинамбура (степень ингибирования флуоресценции тиохрома составила, соответственно, 93,6%; 72,0%; 58,7% и 46,7%; рисунок 1). Менее выраженным защитным эффектом обладали экстракты: листьев черники (49,0%), листьев березы (36%), семени льна (40%), плодов топинамбура (24%). Экстракты люцерны посевной, створок фасоли обыкновенной увеличивали интенсивность флуоресценции, повышая наработку тиохрома, что может быть связано с наличием в этих экстрактах фенолов (как моно-, так и ди-). При взаимодействии их с оксоферрильной формой гемопротейна (в данном случае цитохром с) образуются радикалы, которые могут окислять тиамин в тиохром, тем самым увеличивая интенсивность флуоресценции.

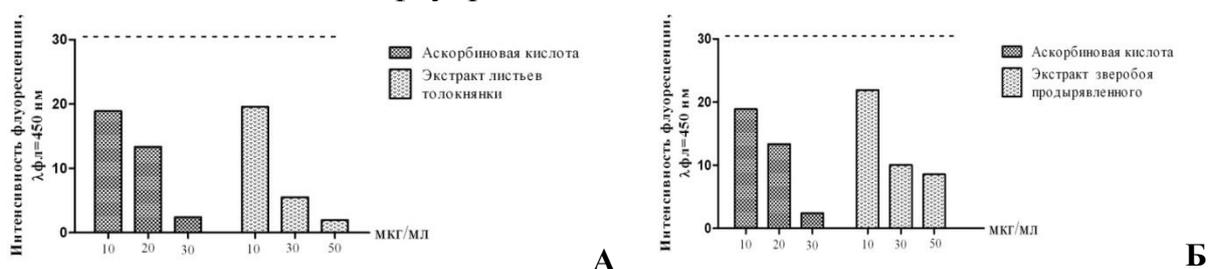


Рисунок 1. – Снижение интенсивности флуоресценции тиохрома ($\lambda_{\text{возб}}=360$ нм, $\lambda_{\text{фл}}=450$ нм) в реакции окисления тиамина – СуТ с (5 мкмоль/л) + тиамин (1 ммоль/л) + ПА (0,1 ммоль/л) + Аск. к-та (10–30 мкг/мл)/или экстракт листа толокнянки (А) и экстракт травы зверобоя продырявленного (Б) – (10–50 мкг/мл)

Для 36 растительных экстрактов определялась концентрация свободных SH-групп, оценивалась способность ингибировать свободнорадикальные процессы (в концентрации 10 мг/мл) в реакции Фентона. Установлено, что выраженными антиоксидантными свойствами обладали семь из 36 исследуемых экстрактов лекарственных растений (лист толокнянки>лист грецкого ореха>лист брусники – полностью ингибировали наработку альдегидных продуктов ПОЛ (98-100%); лист черники>трава зверобоя продырявленного>куркумин>лист шалфея – ингибировали ПОЛ более чем на 90%). Кроме того, лист мяты перечной>листья березы>лист топинамбура – ингибировали наработку ТБКРС более чем на 50%; плоды калины>корень аира>трава люцерны посевной>корень солодки>плоды аронии – ингибировали наработку ТБКРС более чем на 25%. Эффекты всех остальных исследуемых экстрактов были менее выраженными.

Наиболее высокая концентрация соединений, содержащих сульфгидрильные группы, обнаружена у цветков бессмертника песчаного>листьях грецкого ореха>кукурузных столбиках с рыльцами> корнях солодки> траве зверобоя продырявленного> листьях топинамбура> траве череды. В экстрактах этих растений концентрация свободных SH- групп была более 100 мкмоль/мг экстракта. Высокое содержание флавоноидов обнаружено в экстрактах: – лист березы белой>зимлюбка зонтичная>лист мяты >кукурузные столбики с рыльцами>корень алтея, – соответственно, 15,22>11,50>7,74>6,72>4,14>3,92%. Высокая концентрация фенольных

соединений определена в следующих растениях: – зимлюбка зонтичная>лист березы белой>лист мяты> плоды калины> трава сушеницы топяной> кукурузные столбики с рыльцами, – 23,32>11,29>9,75>7,72>7,27>6,3%.

При введении экстрактов лекарственных растений в дозе 100 мг/кг животным с диабетом 2 типа установлено, что гипогликемические свойства наиболее выражены у следующих растений: трава люцерны посевной>створки бобов фасоли>плоды фенхеля>плоды топинамбура+лист топинамбура>лист черники>лист толокнянки. Эти свойства проявлялись в интраперитонеальном глюкозотолерантном тесте (ИГТТ), при введении глюкозы в дозе 2 г/кг, – значительным повышением поглощения и элиминации глюкозы.

Введение экстрактов листа грецкого ореха, кукурузных столбиков с рыльцами (*Zea mays styli cum stigmati*), листа мяты (*Menthae piperitae folia*)+листа шалфея (1:1) в дозе 100 мг/кг повышало концентрацию свободных SH-групп в сыворотке крови диабетических крыс на 29,7-31,8%. Экстракт листьев черники значимо снижал концентрацию альдегидных продуктов в крови крыс, экстракты корня лопуха и цветков бессмертника – в печени, экстракты листьев мяты (*Menthae piperitae folia*)+листья шалфея (*Folium Salviae*) и корня лопуха (*Radices Arctii*) – в больших полушариях мозга. В печени значимый антиоксидантный эффект проявляли: экстракт кукурузных столбиков с рыльцами, экстракт корня лопуха, листья мяты (*Menthae piperitae folia*)+листья шалфея (*Folium Salviae*).

Введение экстрактов цветков красного клевера (*Trifolii pratensis flos*)+корень цикория (*Cichorium intybus*) и экстракта кукурузных столбиков с рыльцами (*Zea mays styli cum stigmati*) снижало в 1,2-1,5 раза активность ГПО в больших полушариях мозга крыс с диабетом 2 типа. Активность каталазы в печени снижалась при введении экстрактов: плодов боярышника (*Fructus Crataegi*)+лук обыкновенный (*Allium cepa*)), экстракта кукурузных столбиков с рыльцами, экстракта листа мяты (*Menthae piperitae folia*)+лист шалфея (*Folium Salviae*)) в 1,3-1,5 раза.

Получены новые данные об антиоксидантных, гипогликемических свойствах лекарственных растений; они могут использоваться для конструирования лекарственных средств, БАД и функциональных продуктов питания для профилактики и лечения диабета 2 типа.

Выводы. В исследованиях *in vivo* и *in vitro* выявлены растения с уникальными антиоксидантными свойствами, способностью ингибировать ПОЛ на 90-100%: – лист толокнянки>лист грецкого ореха>лист брусники (98-100%); лист черники>трава зверобоя продырявленного>куркумин>лист шалфея (более чем на 90%). Применение данных растений в фармацевтических и пищевых технологиях представляет значительные перспективы для здоровья человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Di Lorenzo C., Colombo F., Biella S. Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability // *Nutrients*. – 2021. – Vol.13, №1. – P. 273.
2. Hendawy O. M. Nano-Delivery Systems for Improving Therapeutic Efficiency of Dietary Polyphenols // *Altern Ther Health Med*. – 2021. – Vol. S1. – P. 162–177.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ С ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С НЕ-Q ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Пронько Т. П., Снежицкий В. А., Горчакова О. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. 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 резистентности к указанным средствам (5-48% к АСК и 20-30% к клопидогрелу) у пациентов [1, 2]. Резистентность к действию АСК и клопидогрела ассоциирована с высоким риском смерти, инфаркта миокарда или инсультов у пациентов, страдающих разными формами ИБС [2-5].

Процесс тромбообразования определяется и состоянием эндотелия сосудов. В реализации функций эндотелия важную роль играет оксид азота (NO), который участвует не только в процессах релаксации и снижении миграции и пролиферации гладкомышечных клеток, но и ингибировании адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к эндотелию, замедлении образования артериальных тромбов. В результате снижения синтеза NO эндотелий может менять свой антитромботический потенциал на тромбогенный [6, 7].

Цель. Влияние полиморфизма T786C гена эндотелиальной NO-синтазы (e-NOS) на функциональную активность тромбоцитов у пациентов не-Q инфарктом миокарда (не-Q-ИМ).

Методы исследования. В исследование включено 78 пациентов с острым не-Q-ИМ в возрасте от 33 до 74 лет, проходивших обследование и лечение на базе Гродненского областного клинического кардиологического центра, 19 женщин и 59 мужчин. 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 T786C гена e-NOS в обследуемой группе соответствовало ожидаемому равновесию Харди-Вайнберга, $\chi^2=0,08$; $p=0,78$. Носители генотипа TT составили 33,3% (26 человек), носители генотипа TC

составили 47,5% (37 человек), носители генотипа СС составили 19,2% (15 человек). Частота встречаемости аллеля Т – 57,1%, частота встречаемости аллеля С – 42,9%. Распространенность носительства генотипов, ассоциированных с возможной вариабельностью ответа на ДАТТ, среди пациентов со стабильной стенокардией составила 66,7%.

Включенные в исследование пациенты были разделены на подгруппы. Подгруппу 1 (ПГ1) составили носители генотипа ТТ гена e-NOS (26 человек), в подгруппу 2 (ПГ2) были включены 52 человека, обладатели генотипов ТС и СС. При анализе агрегатограмм у пациентов ПГ1 значения ASPI-test составили 14,5 [10,0; 21,0] U, в ПГ2 – 19,0 [12,0; 29,0] U, $p < 0,05$, значения ADP-test в ПГ1 составили 27,5 [18,0; 40,0], в ПГ2 – 27,0 [20,0; 49,0] U, $p > 0,05$. При оценке потенциальной способности тромбоцитов к агрегации получены следующие результаты: в ПГ1 TRAP-test составил 67,5,0 [62,0; 85,0] U, в ПГ2 – 75,0 [56,0; 95,0] U, $p > 0,05$. При корреляционном анализе выявлена ассоциация между значениями ASPI-test и полиморфным маркером T786C гена e-NOS ($R_s = 0,23$, $p < 0,05$).

В литературе имеются работы, в которых показана связь полиморфизма T-786C гена NOS3 с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний. Так, для носителей аллеля -786C характерен повышенный тонус венечных артерий и склонность к коронаро- спазму, что служит основой для развития ИБС [8]. Установлена ассоциация между генотипом -786CC гена NOS3 и риском ИМ [9]. Есть работы, демонстрирующие повышенную степень агрегации тромбоцитов в ответ на индукцию АДФ и эпинефрином на фоне приема клопидогрела и препаратов АСК у носителей генотипа 786CC [10]. В нашей работы мы также выявили взаимосвязь полиморфизма T786C гена e-NOS с чувствительностью к АСК.

Выводы. 1. Среди пациентов с не-Q ИМ, частота встречаемости генотипов ТС и СС гена e-NOS, ассоциированных с возможной вариабельностью ответа на терапию ДАТТ составила 66,7%. 2. Выявлена ассоциация полиморфизма T786C гена e-NOS с чувствительностью к АСК. 3. Требуется проведение дальнейших исследований, для оценки влияния С-аллеля на эффективность ДААТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Collet J.-P., Thiele H., Barbato E., et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation // European Heart Journal. – 2021. – Vol. 42, iss. 14. – P. 1289–1367.
2. Snoep J.D., Hovens M.M.C., Eikenboom J.C.J. Association of laboratory-defined aspirin resistance with a higher risk of recurrent cardiovascular events: a systematic review and metaanalysis // Archives of Internal Medicine. – 2007. – Vol. 167, iss. 15. – P. 1593–1599.
3. Warlo E.M.K., Arnesen H., Seljeflot I. A brief review on resistance to P2Y12 receptor antagonism in coronary artery disease // Thromb J. – 2019. – Vol. 17, iss. 1. – P. 2–9.
4. Ломакин Н.В., Бурячковская Л.И., Сумароков А.Б., и др. Взаимосвязь функциональной активности тромбоцитов с прогнозом неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных острым коронарным синдромом. Результаты регистрового исследования // Кардиология. – 2019. – № 59 (10). – С. 5–13.

5. Мальцева А.Н., Гринштейн Ю.И. Недостаточный ответ тромбоцитов на применение ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела при ишемической болезни сердца после коронарной реваскуляризации. Является ли резистентность к антитромбоцитарным препаратам обратимой? // РМЖ. – 2021. – № 9. – С.1–5.
6. Васина Л. В., Петрищев Н. Н., Власов Т. Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 4–15.
7. Gimbrone Jr MA, García-Cardeña G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. // Circulation Research. – 2016. – Vol. 118, № 4. – P. 620–636.
8. Yaghoubi A.R., Khaki-Khatibi F. T-786C single-nucleotide polymorphism (SNP) of endothelial nitric oxide synthase gene and serum level of vascular endothelial relaxant factor (VERF) in nondiabetic patients with coronary artery disease // African Journal of Biotechnology. – 2012. – Vol. 11, № 93. – P. 15945–15949.
9. Пархоменко А.Н., Кожухов С.Н., Лутай Я. М. и др. Полиморфизм T-786C промотора гена эндотелиальной NO-синтазы: связь с эффективностью тромболитической терапии у пациентов с острым инфарктом миокарда // Украинский медицинский журнал. – 2008. – № 4 (66). – С. 20–23.
10. Муслимова Э.Ф., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., и др. Генотип -786CC гена эндотелиальной NO-синтазы NOS3 как фактор неблагоприятного течения ишемической болезни сердца и риска повышенной агрегации тромбоцитов на фоне приема антиагрегантов // Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 10. – С. 29–32.

АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ, ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ СУДОРОЖНОГО СИНДРОМА У НОВОРОЖДЕННЫХ ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Протасевич Т. С.¹, Сидорик А. В.¹, Денисик Н. И.²

¹ Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

² Гродненская областная детская клиническая больница, Гродно, Беларусь

Введение. Судорожный синдром сопутствует многим патологическим состояниям ребенка в стадии их манифестации, часто являясь первичной ответной реакцией при ухудшении витальных функций организма. Распространенность судорожного синдрома в первые недели жизни объясняется слабостью активного торможения и иррадиацией процессов возбуждения. В момент судорог потребление кислорода головным мозгом увеличивается в 5 раз. Быстрое распознавание провоцирующих факторов судорожных припадков и раннее начало борьбы с ними играют решающую роль в смягчении или прекращении судорог и профилактике повреждений головного мозга [1,2].

Цель. Анализ клинических проявлений судорожного синдрома у новорожденных детей Гродненской области, а также особенностей диагностики и лечения данного неотложного состояния.

Методы исследования. Ретроспективный анализ 75 историй болезни новорожденных детей с диагнозом «судорожный синдром» (код по МКБ-10 – P90), которые находились на лечении в УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» за период 2016-2021 годы. В ходе изучения историй болезни особое внимание уделялось: течению беременности и родов, сроку гестации, характеристике судорог, данным лабораторных и инструментальных методов исследования, лечебной тактике.

Статистическую обработку данных проводили традиционными методами вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 10.0». При сравнении независимых групп с ненормальным распределением значений одного или двух количественных признаков применялся непараметрический метод – критерий Манна–Уитни. Медианой (Me), верхней и нижней квартилями представлены величины, не имеющие приблизительно нормального распределения. При сравнении относительных частот внутри одной или в двух группах использовался двусторонний критерий Фишера.

Результаты и их обсуждение. По данным акушерского анамнеза установлено, что 44 (58,7%) ребёнка родились естественным путем, 31 (41,3%) – путем операции кесарева сечения. Среди наиболее частой патологии течения беременности выявлены: ОРВИ у 37,3% беременных, угроза прерывания беременности – у 36%, анемия диагностирована в 17,3% случаев. Артериальная гипертензия, вызванная беременностью, наблюдалась в 8% случаев, гестоз – в 6,7%, декомпенсированные плацентарные нарушения диагностированы в 2,7% случаях. Особенности течения беременности отражались на родоразрешении. В родах у 12 (16%) рожениц диагностировали острую гипоксию плода, у 8 (10,7%) – длительный безводный промежуток, у 6 (8%) – слабость родовой деятельности, у 2 (2,7%) – выпадение петель пуповины. У каждого пятого ребенка наблюдалось обвитие пуповиной (20% случаев). Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты выявлена в 2 случаях.

Достоверно чаще эпизоды судорожного синдрома отмечались у доношенных новорожденных – 69,3% случаев, у недоношенных – в 30,7%, $p=0,0018$. Срок гестации доношенных новорожденных составил 275,0 (273,0-280,0) дней, недоношенных – 245,0 (225,0-260,0), $p<0,0001$. В состоянии асфиксии родилось 28% детей. Ввиду тяжести состояния и необходимости оказания реанимационной помощи общее количество детей, переведенных на ИВЛ, составило 49 (65,3%), $p=0,01$. При распределении детей по полу отличий выявлено не было: мальчики составили 57,3%, девочки – 42,7% ($p=0,2$).

При анализе медицинской документации отмечено, что манифестация судорожного синдрома у 81,3% новорожденных наблюдалась в ранний неонатальный период (при этом в 61,3% случаев судороги дебютировали на 1-2 сутки), в возрасте после 7 дня жизни – в 18,7% случаев, $p=0,00001$.

При оценке клинической картины отмечались неэпилептические судорожные приступы, из которых преобладали клонические сокращения у 30 (40%) детей, тонические наблюдались у 21 (28%) (в том числе запрокидывание головы назад 11), миоклонии – у 20 (26,7%), в том числе судорожные

сокращения диафрагмы диагностированы у 18 детей. Моторные автоматизмы – у 36 (48%), из них оральные автоматизмы – 17, стереотипные движения конечностей (педалирование ногами, гребущие движения руками по типу пловца) – 12, глазные: горизонтальный нистагм – 7. Атипичные неонатальные судороги выявлены в 12 (16%) случаях: апное с десатурацией – 8, вегетативные – 4 (мидриаз – 2, покраснение – 1, рвотные позывы – 1).

Судорожный синдром манифестировал на фоне энцефалопатии новорожденного смешанного генеза у 85,3% новорожденных, инфекций перинатального периода – у 69,3%. Анемия и респираторный дистресс-синдром диагностированы в 40% случаях. Врожденная пневмония выявлена у 29,3% новорожденных, постгипоксическая кардиопатия – у 22,7%, нейроинфекции – у 8%. Среди осложнений основного заболевания дыхательная недостаточность отмечалась у 50 (66,7%) детей (из них 1 степень – 6 наблюдений, 2 степень – 18, 3 степень – 26), сердечная недостаточность – у 16 (21,3%). ДВС в стадии гипокоагуляции развился у 9 (12%) новорожденных, пневмоторакс – у 3 (4%), легочное кровотечение – у 5 (6,7%).

В биохимическом анализе крови метаболические нарушения были выявлены у 24 (32%) новорожденных: гипокальциемия встречалась у 21,3% новорожденных. Уровень общего кальция составил 1,8 (1,5-1,9) ммоль/л. Гипонатриемия – при уровне натрия 128,4 (124,1-129,3) ммоль/л – у 6 (8%). Гипернатриемия 151,1 ммоль/л диагностирована у 1 (1,3%), гипогликемия (уровень глюкозы – 1,5 ммоль/л) – у 1 (1,3%). В 36% случаях выявлен положительный С-реактивный белок. В 8% случаях выполнен анализ на прокальцитонин, уровень которого оказался высоким – 6,43 (0,82-37,3) нг/мл. В ликворологическом исследовании нейтрофильный плеоцитоз встречался у 20 (26,7%) новорожденных, цитоз за счет излившейся крови – у 25 (33,3%).

При выполнении нейросонографии отмечались вентрикулодилатация у 36 (48%) новорожденных, гипоксически-ишемические изменения головного мозга – у 17 (22,7%). МРТ головного мозга было выполнено 31 (41,3%) новорожденному. По результатам исследования выявлены внутричерепные кровоизлияния у 20 (26,7%): внутрижелудочковое – у 8 новорожденных, субарахноидальное – у 6, субдуральное – у 2, эпидуральное – у 2, внутримозговое – у 2. Дополнительно были выявлены врожденные дефекты в структурах головного мозга – 8 (10,7%): мальформация Dandy-Walker I тип – у 2 детей, патологическая девиация ВСА – у 2, гипоплазия прозрачной перегородки, аневризма латеральной ворсинчатой артерии, гипоплазия гемисфер мозжечка, дуральная артериовенозная фистула – по 1 случаю.

Электроэнцефалограмма была выполнена 25,3% пациентам: признаки незрелости структур мозга выявлены у 4% новорожденных, признаки выраженной дезорганизации биоэлектрической активности головного мозга – у 2,7%, грубые диффузные изменения корковой ритмики общемозгового характера – у 1,3%.

Срочная терапия для купирования судорожного синдрома направлена на профилактику неврологических осложнений, так как повторные судороги могут привести к повреждению мозга – гибели нейронов. При лечении

новорожденным проводилась противосудорожная терапия: диазепам вводился 74,7% новорожденным, фенобарбитал – 64%, депакин – 14,7%, натрия оксибутират использовался в 10,7% случаев. С седативной целью также назначались: фентанил, витамины группы В, глицин. После введения диазепама судороги не купировались у 18 (24%) новорожденных, наблюдался повтор приступа судорог в течение 24 часов после купирования диазепамом – у 30, судороги купировались самостоятельно у 10,7% новорожденных.

Выводы.

1. Возникновение судорожного синдрома у новорожденных обусловлено гипоксически-ишемическими поражениями ЦНС (85,3%), инфекциями, специфичными для перинатального периода (69,3%), метаболическими нарушениями (32%), внутричерепными кровоизлияниями (26,7%).

2. В клинической картине в каждом втором случае доминировали моторные автоматизмы (48%) и клонические судорожные сокращения (40%).

3. В состоянии асфиксии родилось 28% детей. Ввиду тяжести состояния и необходимости оказания реанимационной помощи количество детей, переведенных на ИВЛ, составило 65,3%, $p=0,01$.

4. При медикаментозной терапии основным лекарственным препаратом являлся диазепам (74,7%) случаев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Володин Н.Н. Неонатология: национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 896 с.
2. Тимошенко В.Н. Экстренная помощь новорожденным детям: учебное пособие. – Ростов н/Д: Феникс, 2007. – 288с.

ИЗМЕНЕНИЯ Z-ПОТЕНЦИАЛА ЭРИТРОЦИТОВ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ АЛКОГОЛИЗМОМ В ПЕРИОД ОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ОТРАВЛЕНИЯ

Пыко К. В., Беспалов Ю. А., Осочук С. С.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Введение. Метаболический лактоацидоз является частой причиной внезапной смерти у лиц, злоупотребляющих алкоголем [1, 2], что определяет важность изучения механизмов, развития лактоацидоза при алкогольной интоксикации.

Хорошо известно, что накопление лактата в крови является следствием перехода организма на синтез АТФ субстратным фосфорилированием, являющимся менее эффективным, чем окислительное фосфорилирование, но способным протекать в отсутствие кислорода. Применительно к алкогольной

интоксикации, одним из механизмов, лежащих в основе повышенной продукции лактата, является рост активности лактатдегидрогеназы (КФ .1.1.27.) в присутствии повышенных концентраций НАДН+Н [3] создающихся в избытке окисляемого алкогольдегидрогеназой (КФ 1.1.1.1.) алкоголя. Помимо этого механизма ряд работ указывает на способность алкоголя вызывать и гипоксию в тканях [4,5]. Учитывая, что кислород транспортируется в ткани преимущественно эритроцитами, вероятно развитие гипоксии обусловлено в том числе и нарушением структуры и функциональной активности этих клеток. Так, еще в 1991 году показана способность даже умеренного потребления алкоголя (80 гр.) снижать количество сиаловых кислот (СК) в эритроцитах [6]. Lech Chrostek и соавторы [7] показали, что хроническое употребление алкоголя увеличивает количество СК в крови. Концентрация СК в крови снижается после лечения алкоголизма, однако даже однократный прием алкоголя в больших количествах значительно увеличивает этот показатель [8]

Учитывая, что СК являются основными носителями ζ -потенциала эритроцитов [10], препятствующим их агрегации и способствующим проникновению их в микроциркуляторное русло [11], можно предположить, способность алкоголя существенно снижать этот показатель. Действительно в работе Serkan Degirmenci и соавторов [12] показано, что ζ -потенциал эритроцитов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа хронически употреблявших алкоголь был значительно снижен по сравнению со здоровыми людьми. Однако, данный эффект может быть обусловлен не только алкогольной интоксикацией, но и сочетанием её с сахарным диабетом 2 типа. В связи с этим целью нашей работы было определить величину ζ -потенциала эритроцитов у лиц, хронически употребляющих алкоголь в период острого алкогольного отравления, способного привести к внезапной смерти.

Методы исследования. Экспериментальная группа сформирована из 19 мужчин 46-55 лет без сопутствующей органической патологии госпитализированных в реанимационном отделении Витебской областной клинической больницы с диагнозом острая алкогольная интоксикация средней и тяжелой степеней. Группа сравнения включала 9 здоровых мужчин без вредных привычек в возрасте 46-55 лет.

Забор крови осуществлялся в одноразовые вакутайнеры с ЭДТА в утренние часы, натощак в контрольной группе и при поступлении в реанимационное отделение в экспериментальной группе. Эритроциты отмывали в фосфатно-солевом буфере (5 мМ NaH_2PO_4 , 150 мМ NaCl) и ресуспендировали буфером Hepes 50 мМ с подсчетом количества клеток в камере Горяева. Z-потенциал эритроцитов регистрировали в суспензии (1×10^6 клеток/мл) методом электрофоретического светорассеяния на анализаторе Zetasizer Nano ZS («Malvern Instruments», Великобритания). Измерения проводили в U-образной кювете с позолоченными электродами при pH 7,4 и температуре 25 °С, в 50 мМ буфере Hepes не содержащем ионы хлора. [13,14]

Обработка полученных данных проводилась с использованием статистического пакета R 3.3.0. Оценку нормальности распределения исследуемого показателя осуществляли при помощи критерия Шапиро-Уилка.

Учитывая, что распределение полученных результатов не отличалось от нормального, парное сравнение осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p > 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Оценка величины ζ -потенциала эритроцитов показала, что в группе с алкогольной интоксикацией он был статистически значимо ($p=0,0045$) ниже, чем у здоровых лиц (-28.19 ± 1.72 и -30.04 ± 1.20 соответственно, рисунок 1).

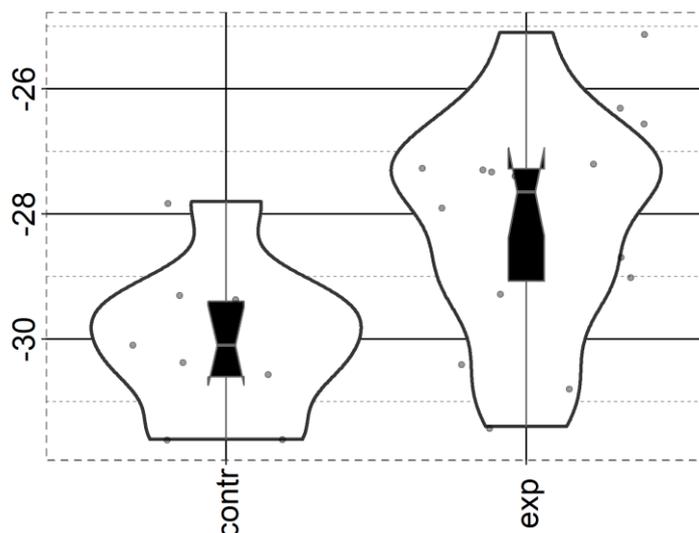


Рисунок 1. – Величина z-потенциала эритроцитов

Таким образом, алкоголь самостоятельно, без наличия сопутствующей патологии способен снижать величину ζ -потенциала эритроцитов. Известно, что ζ -потенциал препятствует агрегации эритроцитов [11], оказывает влияние на их деформируемость [15] и скорость продвижения в капилляре [16], влияет на напряжение сдвига эндотелия и, таким образом связан с продукцией оксида азота [17]. Все перечисленные особенности позволяют заключить, что снижение величины ζ -потенциала может быть одним из факторов, способствующих развитию гипоксии и, как итог, переходу на синтез АТФ субстратным фосфорилированием с накоплением молочной кислоты. Снижение величины ζ -потенциала может обуславливаться способностью алкоголя увеличивать активность сиалидаз [18], что позволяет предположить возможность использования их ингибиторов для снижения тканевой гипоксии и предотвращения лактоацидоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rybakowska I. et al. Metabolic acidosis cause of sudden, unexplained death among chronic alcohol abusers // *Przegl. Lek.* – 2012. – Vol. 69, № 8. – P. 552–554.
2. Heltø1 K. Alcoholic ketoacidosis and lactic acidosis // *Ugeskr. Laeger.* – 2009 – Vol. 171, № 5. – P. 318–319.
3. Dudka J. et al. Effect of selected alcohol dehydrogenase inhibitors on human hepatic lactate dehydrogenase activity – an in vitro study // *J. Appl. Toxicol.* – 2005. – Vol. 25, № 6. – P. 549–553.

4. McKim S. et al. Chronic intragastric alcohol exposure causes hypoxia and oxidative stress in the rat pancreas // Arch. Biochem. Biophys. – 2003. – Vol. 417, № 1. – P. 34–43.
5. Alesci A. et al. Production and extraction of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* and its biological effect on alcohol-induced renal hypoxia in *Carassius auratus* // Nat. Prod. Res. – 2015. – Vol. 29, № 12. – P. 1122–1126.
6. Schellenberg F. et al. Alcohol intoxication and sialic acid in erythrocyte membrane and in serum transferrin // Pharmacol. Biochem. Behav. – 1991 – Vol. 39, № 2. – P. 443–447.
7. Chrostek L. et al. Serum free sialic acid as a marker of alcohol abuse // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2007. – Vol. 31, № 6. – P. 996–1001.
8. Pönniö M., Sillanaukee P., Franck J. Serum sialic acid levels are increased during relapse to alcohol drinking: a pilot study // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2002. Vol. 26, № 9. – P. 1365–1367.
9. Telen M. J. Erythrocyte adhesion receptors: blood group antigens and related molecules // Transfus. Med. Rev. – 2005. – Vol. 19, № 1. – P. 32–44.
10. Yawata Y. Cell Membrane: The Red Blood Cell as a Model. – Weinheim: Wiley–VCH Verlag GmbH, 2003. – 81 p.
11. Izumida Y., Seiyama A., Maeda N. Erythrocyte aggregation: bridging by macromolecules and electrostatic repulsion by sialic acid // Biochim. Biophys. Acta. – 1991. – Vol. 1067, № 2. – P. 221–226.
12. Degirmenci S. et al. Chronic alcohol consumption augments loss of sialic acid residues and alters erythrocyte membrane charge in type II diabetic patients // J. Biochem. Mol. Toxicol. – 2008. – Vol. 22, № 5. P. 320–327.
13. Бондарь О.В. и др. Мониторинг дзета-потенциала клеток человека при снижении их жизнеспособности и взаимодействии с полимерами // АСТА. NATURAE. – 2012. – Т. 4, № 1. – С. 80–84.
14. Ослопов В.Н. и др. Новый способ диагностики состояния клеток человека с помощью электрохимических биосенсоров // Оригинальные исследования. – 2012. – Т. 5, вып. 3. – С. 12–16.
15. Gondelaud F. et al. Sialic acids rather than glycosaminoglycans affect normal and sickle red blood cell rheology by binding to four major sites on fibrinogen // Am. J. Hematol. – 2020 – Vol. 95, № 4. – P. 77–80.
16. Кунницын В.Г., Мокрушников П.В., Панин Л.Е. Механизм микроциркуляции эритроцита в капиллярном русле при физиологическом сдвиге pH // Бюллетень СО РАМН.– 2007. – №5. – С. 28–32.
17. Гончар И.В. и др. Роль эндотелиального гликокаликса в механогенной регуляции тонуса артериальных сосудов // ТРУДЫ МФТИ. – 2017. – Т. 9, № 1. – С. 101–108.
18. Garige M., Magnus A., Raj L. Chronic ethanol consumption upregulates the cytosolic and plasma membrane sialidase genes, but down regulates lysosomal membrane sialidase gene in rat liver // Metabolism. – 2006. – Vol. 55, № 6. – P. 803–810.

ВЛИЯНИЕ КУРЕНИЯ НА КИСЛОРОДНЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА

Косяк У. Н., Редькин Н. А., Дашкевич П. А., Орехов С. Д.,
Дорохина Л. В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Несмотря на хорошую осведомленность студентов-медиков о негативном воздействии табака на здоровье, зависимость их от курения продолжает оставаться актуальной проблемой. Европейские исследования 2021 года показали, что среди лиц старше 15 лет курят 26%, а в возрасте 28-39 лет – 33% [1]. Опрос взрослого населения России выявил, что 30,3% курят постоянно, причем процент курильщиков среди мужчин составляет 49,5% [2]. Большинство курильщиков предпочитает обычные сигареты (ОС), однако электронные сигареты (ЭС) получают все большее распространение. Производители вейпов утверждают, что ЭС безвредны и с их помощью можно отказаться от потребления табака. Однако в действительности аудитория курящих значительно пополнилась за счет подростков и лиц до 25 лет, что связано с большой популярностью ЭС среди молодежи.

Проведенные в последнее время исследования показывают, что содержащиеся в ЭС глицерин и пропиленгликоль, являясь гигроскопичными молекулами, могут обезвоживать слизистую дыхательных путей, повреждать механизмы мукоцилиарного клиренса, приводить к обструкции и воспалению дыхательных путей, нарушать реологические свойства сурфактанта, повышать поверхностное натяжение и приводить к коллапсу мелких бронхов, что в свою очередь изменяет вентиляционно-перфузионные отношения, сосудистый тонус и, следовательно, легочный газообмен [3, 4]. Chaumont M. et al. показали, что снижение сатурации и повреждение эпителия дыхательных путей у молодых курильщиков при потреблении ЭС обусловлен в первую очередь пропиленгликолем и глицерином, а не никотином [5]. По данным Carogale A. et al. установлено, что даже вдыхание безникотинового аэрозоля ЭС временно нарушает функцию эндотелия у здоровых некурящих людей [6].

Цель. Изучить влияние курения обычных и электронных сигарет на сатурацию крови кислородом, выяснить мнение молодежи по поводу курения и привлечь внимание к данной проблеме.

Методы исследования. Для достижения поставленной цели проведено анонимное анкетирование 412 студентов ГрГМУ – 96 юношей и 316 девушек. Кроме того, было обследовано 56 юношей среди которых выделены 3 группы. В первую вошли 22 некурящих студента, во вторую – 16 курильщиков ЭС, со стажем курения 1-3 года, в третью группу – 18 человек, употребляющих ОС, с аналогичным стажем курения. С помощью автоматизированного многофункционального спирометра MAC-1 в режиме пульсоксиметрии определяли процентное содержание оксигемоглобина в артериальной крови (SpO₂) и частоту сердечных сокращений (ЧСС). Исследовали показатели

внешнего дыхания: жизненную емкость легких (ЖЕЛ), форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), максимальную вентиляцию легких (МВЛ). Измеряли систолическое (АДсист.) и диастолическое (АДдиаст.) артериальное давление, рассчитывали пульсовое давление (АДпульс.). Данные показатели определяли в контрольной группе однократно, а у курильщиков до нагрузки курением и после выкуривания одной ЭС или ОС. Все полученные результаты обработаны методами вариационной статистики с помощью прикладных программ "Excel" и "Statistica 10.0". Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При анализе анкетных данных 412 студентов ГрГМУ установлено, что 65% респондентов пробовали курить, а 37,4% курят постоянно, из них 86% выкуривают до 10 сигарет в сутки. Стаж курения у 62% нашей аудитории до двух лет, у 10% более четырех. Среди курильщиков 51% потребляют ЭС, 26,5% – ОС, а 22,5% являются двойными пользователями. Считают ЭС безопасными только 18% респондентов, 47% – не считают их таковыми, а 37% студентов медицинского вуза не знают ответа на этот вопрос. Среди пользователей ЭС 64% предпочитают сигареты с никотином.

При анализе кислородного статуса и сравнении исходных показателей контрольной группы с курильщиками до нагрузки хочется отметить, что сатурация крови кислородом была достоверно выше в контроле $97,82 \pm 0,24\%$ чем у парильщиков ЭС, где SpO_2 составила $97,0 \pm 0,29\%$ ($p=0,036$). В 3 группе (потребители ОС) сатурация снижена до $96,67 \pm 0,36\%$ ($p=0,01$). После нагрузки (выкуривание одной сигареты) у 2 группы студентов выявлено ухудшение кислородтранспортной функции крови, SpO_2 снизилась еще более выражено и достигла значения $95,13 \pm 0,7\%$, от исходного – $97,0 \pm 0,29\%$ ($p=0,019$). Схожие изменения получены А. Pataka et al. при исследовании 25 курящих ЭС и 25 некурящих лиц мужского пола. После потребления ЭС установлено снижение SpO_2 с $98,4 \pm 1,1\%$ до $97,9 \pm 1,2\%$ ($p=0,02$) [7].

При исследовании параметров внешнего дыхания выявлено, что у контрольной группы студентов МВЛ составила $106,82 \pm 8,11$, а у использующих ЭС – $81,88 \pm 8,99$ л/мин ($p=0,049$). У курильщиков ОС МВЛ – $86,0 \pm 7,41$ л/мин и достоверно не отличалась от контроля ($p=0,071$). При исходном сравнении показателей контрольной группы с курильщиками ОС (3 гр.) хочется отметить, что ЖЕЛ и ФЖЕЛ оказались выше у курильщиков: $4,08 \pm 0,19$ л против $4,93 \pm 0,3$ л ($p=0,018$) и $4,62 \pm 0,18$ л против $5,18 \pm 0,15$ л ($p=0,026$).

При сравнении двух групп курильщиков до нагрузки, также выявлены достоверные отличия. Показано исходное более низкое значение ФЖЕЛ у студентов 2 группы (ЭС) $4,03 \pm 0,38$ л против $5,18 \pm 0,15$ л ($p=0,006$) у 3 группы испытуемых (ОС). После нагрузки (выкуривание одной сигареты) выявленные достоверные различия ФЖЕЛ сохранялись: у 2 гр. $4,09 \pm 0,35$ л против $5,19 \pm 0,16$ л ($p=0,005$) у 3 гр. испытуемых.

В 3 группе исходная ЧСС составила $85,0 \pm 2,4$ уд/мин, что значительно выше контроля – $71,15 \pm 5,72$ уд/мин ($p=0,045$). В 2 группе ЧСС тоже выше контроля – $78,88 \pm 2,13$ уд/мин ($p=0,275$), однако изменения не достигают уровня

значимости. После нагрузки у курильщиков ЭС ЧСС повышается с исходных $78,88 \pm 2,13$ уд/мин до $90,62 \pm 3,38$ уд/мин ($p=0,006$). У курильщиков ОС после нагрузки также установлено увеличение ЧСС с $85,0 \pm 2,4$ уд/мин до $97,33 \pm 2,85$ уд/мин ($p=0,002$). Что согласуется с данными других исследователей, показавших сдвиг в сторону преобладания симпатической активности у курильщиков ЭС и ОС [8]. Показатели АД до курения у обоих типов курильщиков не отличались от контроля и не различались между собой. После нагрузки у 2 группы давление существенно повысилось: исходно АД сист. – $124,38 \pm 1,76$ мм рт. ст., а после нагрузки – $133,13 \pm 2,73$ мм рт. ст. ($p=0,012$); АД диаст. – $73,12 \pm 1,93$ мм рт. ст., а после потребления ЭС – $78,88 \pm 2,04$ мм рт. ст. ($p=0,05$). У 3 группы после курения повысилось только АД сист. с $126,11 \pm 1,79$ мм рт. ст. до $134,44 \pm 3,15$ мм рт. ст. ($p=0,028$). После курения у обоих типов курильщиков АД не отличалось между собой.

Выводы. Важно понимать, что исследования проведены среди студентов медицинского университета, которые обладают повышенным уровнем знаний о вреде курения на здоровье человека. Однако в результате проведенного опроса установлено, что 37,4% студентов ГрГМУ курят на постоянной основе. Причем 51% респондентов предпочитает электронные сигареты, 22,5% являются двойными пользователями, что свидетельствует о формировании молодежной аудитории в потреблении вейпов. В наших исследованиях показана худшая сбалансированность кислородного статуса у курильщиков обеих групп по сравнению с некурящими студентами, несмотря на стаж курения до двух лет. У пользователей электронных сигарет сатурация крови кислородом после курения ухудшается, показатели внешнего дыхания демонстрируют выраженную негативную динамику, что не выявлено у потребителей обычных сигарет. У курильщиков обеих групп до нагрузки наблюдается тенденция к повышению ЧСС и артериального давления по сравнению с контролем, а после курения эти показатели повышаются достоверно. Полученные нами данные должны вызывать опасения относительно долгосрочной безопасности электронных сигарет и их позиционирования в качестве средства для отказа от курения других табачных изделий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство ENSP (European Network for Smoking and Tobacco Prevention) по лечению табачной зависимости. – 2021. – 197 с.
2. Сахарова Г.М., Антонов Н.С., Салагай О.О. и др. Синдром зависимости от табака, синдром отмены табака у взрослых. Клинические рекомендации // Наркология. – 2021. – Т. 20, № 6. – С. 23–37.
3. Davis L.C., Sapey E., Thickett D.R. et al. Predicting the pulmonary effects of long-term e-cigarette use: are the clouds clearing? // Eur. Respir. Rev. – 2022. – Vol. 31, № 163. – P. 1–16.
4. Chun L.F., Moazed F., Calfee C.S. et al. Pulmonary toxicity of e-cigarettes // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2017. – Vol. 313. – L. 193–206.
5. Chaumont M., Van de Borne P., Bernard A. et al. Fourth generation e-cigarette vaping induces transient lung inflammation and gas exchange disturbances: results from two randomized clinical trials // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2019. – Vol. 316, № 5. – L. 705–719.

6. Caporale A., Langham M.C., Guo W. et al. Acute effects of electronic cigarette aerosol inhalation on vascular function detected at quantitative MRI // Radiology. – 2019. – Vol. 293, № 1. – P. 97–106.
7. Pataka A., Kotoulas S., Chatzopoulos E. et al. Acute effects of a heat-not-burn tobacco product on pulmonary function // Medicina (Kaunas). – 2020. – Vol. 56, № 6. – P. 292–300.
8. Moheimani R.S., Bhetraratana M., Yin F. et al. Increased cardiac sympathetic activity and oxidative stress in habitual electronic cigarette users: implications for cardiovascular risk // JAMA Cardiol. – 2017. – Vol. 2. – P. 278–284.

ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЙ ФАКТОР В ПАТОГЕНЕЗЕ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

Романчук В. В.¹, Ильина С. Н.¹, Кудырко Л. Л.²

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

²Гродненская университетская клиника, Гродно, Беларусь

Глаукома занимает лидирующие позиции среди заболеваний, приводящих к слепоте во всем мире. В возрасте 50 лет и старше в 2020 году глаукома явилась причиной потери зрения у 3,6 миллионов человек [1]. Пациенты, страдающие глаукомой, в основном это лица в возрасте старше 50-60 лет. Значительное распространение глаукомы, трудности ранней диагностики и неблагоприятный прогноз служат причиной повышенного внимания к этому заболеванию со стороны ученых и практикующих врачей. Выявление глаукомы на ранней стадии остается одной из наиболее актуальных проблем современной офтальмологии в связи с лидирующей позицией глаукомы среди причин необратимой слепоты в мире [2]. В этих случаях больше шансов обойтись медикаментозным лечением, избежать хирургии и длительно сохранить пациенту зрительные функции. Профилактика слепоты от глаукомы зависит от её ранней диагностики и патогенетического лечения, основанных на использовании современных организационных и медицинских технологий [3,4].

В свете сосудистой теории патогенеза первичной открытоугольной глаукомы на первый план выходят сосудистые факторы, в том числе и местные [5]. Зарубежные публикации последних лет установили определенную зависимость между частотой случаев прогрессирования глаукомы и функциональным состоянием сосудистого русла [6]. Регуляция сосудистого тонуса и объем местного кровотока поддерживаются главным образом благодаря сочетанному действию оксида азота и эндотелина-1 за счет сохранения баланса продуцируемых субстанций. А также последние исследования заставляют предполагать значительное внутриклеточное кросс-общение между сигнальными путями окиси азота и сигнальными путями сероводорода, демонстрирующие, что вазодилатирующие, спазмолитические,

противовоспалительные и цитопротективные свойства этих газов взаимозависимы и взаимодополняемы [7,8].

Согласно современным представлениям, в прогрессировании глаукомной оптической нейропатии (ГОН) важная роль принадлежит изменениям в сосудистом кровотоке, а именно, дисфункции эндотелия, в результате которой нарушается универсальный механизм регулирования сосудистого тонуса [9-11]. Эндотелий сосудов выполняет множество функций: служит антикоагулянтным звеном между сосудистой стенкой и кровотоком, выполняет транспортную функцию, регулируя движение веществ из крови в ткани и обратно, контролирует сосудистый тонус, влияя на процессы вазоконстрикции и вазодилатации, участвует в тканевом ремоделировании и ангиогенезе [12]. При повреждении эндотелия его антитромботические свойства трансформируются в мощный протромботический потенциал, определяющийся следующими механизмами: секрецией мощного активатора адгезии тромбоцитов к субэндотелию (коллагену) – фактора Виллебранда; продукцией стимулятора агрегации тромбоцитов циклического простагландина – тромбоксана А₂; продукцией и высвобождением тканевого тромбопластина или тканевого фактора – главного активатора основного механизма свертывания крови; продукцией ингибиторов активатора плазминогена. Это приводит к дисбалансу между вазоконстрикторами (эндотелины) и вазодилататорами (оксид азота). Кроме того, происходит высвобождение биологически активных веществ с местным нейротоксическим действием. В подтверждение данной теории авторы зафиксировали высокую концентрацию эндотелина-1 у пациентов с прогрессирующей глаукомой [13].

Особую роль при глаукоме играет эндотелин-1. Известно, что эндотелин-1 и чувствительные к нему рецепторы обнаружены в тканях глаза, и возможно, принимают участие в местной регуляции кровообращения. Эндотелин-1 присутствует в водянистой влаге и в стекловидном теле, его концентрация возрастает у пациентов с глаукомой. Особый интерес представляет изменение содержания эндотелина-1 в водянистой влаге, взаимодействие его с оксидом азота, его роль в возникновении ишемии и влиянии на гибель ганглиозных клеток сетчатки. Учитывая воздействие эндотелина-1 на зрительный нерв, предполагается возможное участие данного пептида в патогенезе глаукомы [14].

Кроме того, у пожилых пациентов, страдающих глаукомой, эндотелиальная дисфункция более выражена и встречается чаще, чем у физиологически стареющих людей такого же возраста без глаукомы. Усиление вазоконстрикторной активности сосудистого эндотелия у пациентов с ПОУГ, вызванной дисбалансом уровня медиаторов тонуса сосудов и изменением чувствительности воспринимающих структур эндотелия к этим медиаторам, может быть причиной нарастания ишемического повреждения структур глаза и, как следствие, прогрессирования ГОН [15].

В настоящее время хорошо известны ключевые доказательства роли гемодинамического фактора в патогенезе ПОУГ. Проведенные за последние 20 лет эпидемиологические исследования продемонстрировали, что изменение глазного перфузионного давления, в особенности диастолического, связано с развитием ПОУГ [16]. Постоянно ведется поиск новых и совершенствование

имеющихся методов визуализации сосудистого русла глаза для ранней диагностики и мониторинга глаукомы. В настоящее время наибольшее распространение получило, благодаря которому установлено ухудшение глазного кровотока у пациентов с глаукомой. Ряд авторов указывают на изменение гемодинамики глаза у пациентов с ПОУГ под влиянием системной и местной медикаментозной терапии [17].

С этих позиций изучение сосудистых механизмов как наиболее ранних и, следовательно, потенциально обратимых, имеет большую значимость не только с точки зрения прогноза заболевания, но и возможности использования их в качестве мишени для фармакологической коррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Keel S., Cieza A. *Lancet Glob Health.* – 2021 – Vol. 9, № 2. – P. 100–101.
2. Morizane Y. et al. Incidence and causes of visual impairment in Japan: The first nation-wide complete enumeration survey of newly certified visually impaired individuals // *Jpn. J. Ophthalmol.* – 2019. – № 63. – С. 26–33.
3. Li F., Huang W., Zhang X. Efficacy and safety of different regimens for primary open-angle glaucoma or ocular hypertension: a systematic review and network meta-analysis // *Acta Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 96, № 3. – С. 277–284.
4. Zhao Y-X., Chen X-W. Diabetes and risk of glaucoma: systematic review and a Meta-analysis of prospective cohort studies // *Int J Ophthalmol.* – 2017. – Vol. 10, № 9. – P. 1430–1435.
5. Kurysheva N.I., Parshunina O.A., Shatalova E.O. et al. Value of structural and hemodynamic parameters for the early detection of primary open-angle glaucoma // *Curr. Eye Res.* – 2016. – Vol. 24. – P. 1–7.
6. McMonnies C.W. Intraocular pressure and glaucoma: is physical exercise beneficial or a risk? // *J Optom.* Jul-Sep. – 2016. – Vol. 9, № 3. – P. 139–147.
7. Zhang Y., Shen Q., Liu Y. et al. Hepatic Ischemic Preconditioning Alleviates Ischemia-Reperfusion Injury by Decreasing TIM4 Expression // *Int. J. Biol. Sci.* – 2018. – Vol. 14, № 10. – P. 1186–1195.
8. Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide // *Antioxid. Redox Signal.* – 2003. – Vol. 5, № 4. – P. 493–501.
9. Горшунова Н.К., Мауер С.С. Взаимодействие вазотонических биоэффекторов в патогенезе эндотелиальной дисфункции при артериальной гипертензии на фоне старения. *Успехи геронтологии.* – 2012. – Т. 3, № 25. – С. 461–467.
10. Остроумова О.Д., Дубинская Р.Э. Старение и дисфункция эндотелия. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2004;4: С. 83–89.
11. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб.:Изд-во: СПбГМУ, 2003. 184 с.
12. Бабичев А.В. Роль эндотелия в механизмах гемостаза. *Педиатр.* 2013;1(4): С. 122– 127.
13. Emre M., Orgul S., Haufschild T., Shaw S.G., Flammer J. Increased plasmaendothelin-1 levels in patients with progressive open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 2005; – Vol. 89 (1): С. 60–63.
14. Yorio T., Krishnamoorthy R., Prasanna G. Endothelin: is it a contributor to glaucoma pathophysiology? *Journal of Glaucoma.* 2002; – Vol. 3(11):259–270.
15. Малишевская Т.Н., Астахов С.Ю. Реактивность сосудистого эндотелия у пожилых пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и физиологически стареющих людей в зависимости от выраженности эндотелиальной дисфункции. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2016;4(60):59–67.
16. Schmetterer L. *Ocular blood flow.* New York. Springer. 2012: 147–59.
17. Abegão Pinto L., Willekens K., Van Keer K., et al. Ocular blood flow in glaucoma – the Leuven Eye Study. *Acta Ophthalmol.* 2016; – Vol. 94 (6): 592–598.

ВЛИЯНИЕ N-АС-TRP-PRO-GLY-NH₂ НА ЦИРКАДНЫЕ РИТМЫ МЫШЕЙ ICR, ПОДВЕРГШИХСЯ ПРИНУДИТЕЛЬНОМУ ПЛАВАНИЮ

Саванец О. Н., Кравченко Е. В., Ольгомец Л. М., Бородина К. В.,
Голубович В. П., Зильберман Р. Д.

Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Введение. Важную роль в ограничении повреждений при стрессорном воздействии играют антиоксидантные системы органов и тканей [4]. Мелатонин и вазопрессин обладают антиоксидантным действием [1, 6] и модулируют реакцию организма на стресс [2, 5], а также регулируют циркадные ритмы [2, 7]. Вышесказанное хорошо объясняет регуляторные эффекты мелатонина и вазопрессина на стресс-индуцированный десинхрониз. Перспективным и актуальным является поиск активного соединения с хронофармакологическим действием среди тетрапептидов – аналогов С-концевого фрагмента АВП.

Цель. Изучить влияние синтетического аналога фрагмента АВП₍₆₋₉₎ N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ на циркадные ритмы подвижности мышей ICR, подвергшихся неизбежному стрессу в парадигме «принудительное плавание».

Методы исследования. В экспериментах были использованы половозрелые мыши-самцы ICR (n=53) массой 20-25 г. Запись подвижности грызунов осуществлялась на протяжении 24 ч в боксах (32 см × 22 см × 19 см) многоканального актометра «Универсал 22–32» (РБ) в условиях высадки поодиночке. Регистрацию показателей «горизонтальная двигательная активность» (ГДА) и «вертикальная двигательная активность» (ВДА) проводили в зимний период года (январь-февраль) в режиме «день-ночь» (14.35-20.30 и 08.30-14.35 – «день»; 20.30-08.30 – «ночь»). За 30-90 мин до актометрии животных помещали в условия «неизбежного стресса» (нахождение животного в течение 6 мин в бассейне с водой).

Серия 1. Животным контрольной группы (КГ-1) интраназально (и/н) вводили растворитель (дистиллированная вода – ДВ), особи основных групп ОГ-1А, ОГ-1Б и ОГ-1В получали тетрапептид N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ в дозах 0,1; 1,0 и 10,0 мкг/кг с использованием того же способа введения. В каждую группу включали по 8 мышей. *Серия 2.* Мышам контрольной группы (КГ-2, n=10) внутрибрюшинно (в/б) вводили ДВ, особи основной группы (ОГ-2, n=11) получали «Меласон» (ООО «Рубикон») в дозе 0,2 мг/кг (в/б). Введение образцов осуществлялось за 60-120 мин до актометрии.

Методом косинор-анализа (Cosinor 2.5 для Excel) для средних синусоид определяли амплитуду ритма (А), а также показатели, необходимые для построения эллипсов ошибок. Существование ритмов определяли графически с помощью программы CorelDRAW и считали доказанным, если эллипс ошибок не перекрывал начало системы координат.

Результаты и их обсуждение. После пребывания в условиях «неизбегаемого стресса» у животных КГ-1 и КГ-2 отмечались статистически значимые 24-часовые ритмы ГДА и ВДА, которые не утрачивали статистической достоверности при применении N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ во всех исследуемых дозах и «Меласона» в дозе 0,2 мг/кг (таблица 1 и 2).

Таблица 1 – Влияние N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ (и/н) на 24-часовые ритмы мышей ICR

	Группа / число животных	A, усл.ед.	p
ГДА	КГ-1 (n=8)	828,5	p<0,05
	ОГ-1А (n=8)	548,4	p<0,05
	ОГ-1Б (n=8)	846,6	p<0,05
	ОГ-1В (n=8)	893,7	p<0,05
ВДА	КГ-1 (n=8)	249,1	p<0,05
	ОГ-1А (n=8)	163,2	p<0,05
	ОГ-1Б (n=8)	231,8	p<0,05
	ОГ-1В (n=8)	344,1	p<0,05

Примечание: здесь и далее – N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ вводили однократно и/н в дозах: ОГ-1А – 0,1 мкг/кг; ОГ-1Б – 1,0 мкг/кг; ОГ-1В – 10,0 мкг/кг

Таблица 2 – Влияние «Меласона» на 24-часовые ритмы мышей ICR

	Группа / число животных	A, усл.ед.	p
ГДА	КГ-2 (n=10)	1170,9	p<0,05
	ОГ-2 (n=11)	850,0	p<0,05
ВДА	КГ-2 (n=10)	385,8	p<0,05
	ОГ-2 (n=11)	278,8	p<0,05

Примечание: здесь и далее – «Меласон» вводили в дозе 0,2 мг/кг

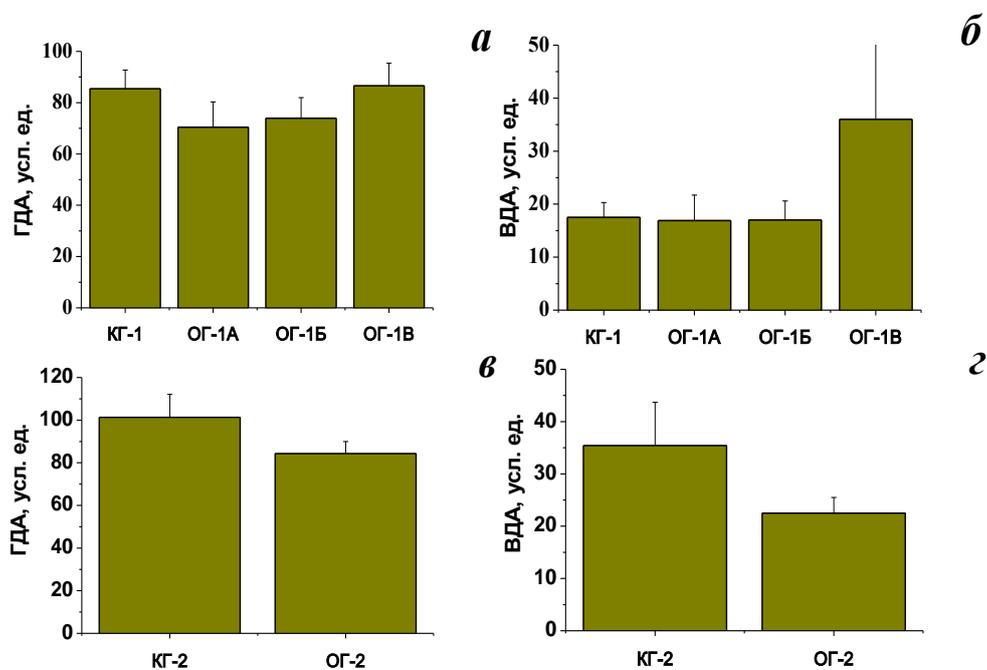


Рисунок. – Влияние однократного введения N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ (а и б) и «Меласона» (в и з) на параметры двигательной активности ГДА (а и в) и ВДА (б и з) мышей ICR за 10 мин актометрии

При введении исследуемого пептида в дозе 0,1 мкг/кг и «Меласона» в дозе 0,2 мг/кг наблюдалось снижение амплитуды 24-часового ритма ГДА на 33,8 % и на 27,4 %; ВДА – на 34,5 % и на 27,7 % соответственно (табл. 1 и 2).

По данным литературы, «инъекционный» стресс сопровождался повышением амплитуды циркадного ритма подвижности у крыс Wistar [2]. Таким образом, введение N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ в дозе 0,1 мкг/кг и «Меласона» (0,2 мг/кг) могло препятствовать развитию проявлений стресс-индуцированного десинхроноза.

У мышей ICR основных групп серий 1 и 2 за 10 минут регистрации в актометре показатели ГДА и ВДА существенно не изменялись в сравнении с контролем ($p > 0,05$), что свидетельствовало об отсутствии седативного или активирующего действия и позволяло исключить псевдопозитивный и псевдонегативный эффекты [3] как тетрапептида N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂, так и «Меласона» (рис.).

Заключение. Снижение амплитуды циркадных ритмов ГДА и ВДА на фоне «принудительного плавания» может указывать на коррекцию стресс-индуцированного десинхроноза у мышей ICR синтетическим аналогом фрагмента АВП₍₆₋₉₎ N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ (0,1 мкг/кг; и/н). В выбранных нами условиях эксперимента отсутствовало седативное или активирующее действие вышеуказанного пептида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арушанян Э.Б. Ограничение окислительного стресса как основная причина универсальных защитных свойств мелатонина // Эксп. и клин. фармакол. – 2012. – Т. 75, № 5. – С. 44–49.
2. Арушанян Э.Б., Попов А.В. Тофизопам и мелатонин ослабляют перестройку ритма суточной подвижности крыс при инъекционном стрессе // Эксп. и клин. фармакол. – 2006. – Т. 69, № 2. – С. 14–17.
3. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов [и др.]; под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
4. Хныченко Л.К., Сапронов Н.С. Стресс и его роль в развитии патологических процессов // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2003. – Т.2, № 3. – С. 2–15.
5. Malfetheriner S.F., Bataiosu-Zimmer E., Michel H. Vasopressin but not oxytocin responds to birth stress in infants // Front. Neurosci. – 2021. – Vol. 27. – P. 1–4.
6. Nazaria A., Sadrbc S.S., Faghihib M. et al. Vasopressin attenuates ischemia-reperfusion injury via reduction of oxidative stress and inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening in rat hearts // Europ. J. Pharmacol. – 2015. – Vol. 760, № 5. – P. 96–102.
7. Ramanathan G., Cilz N.I., Kurada L. et al. Vasopressin facilitates GABAergic transmission in rat hippocampus via activation of V (1A) receptors // Neuropharmacology. – 2012. – Vol. 63, № 7. – P. 1218–1226.

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПАРАМЕТРЫ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Савко А. И.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

Введение. С момента выделения салицилата из коры ивы примерно в 1830-х гг., после открытия аспирина (ацетилсалицилата) Феликсом Хоффманом из компании «Байер», Германия, в 1897 году, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) пользуются популярностью в фармацевтической промышленности [1].

Несмотря на широкие терапевтические возможности, НПВП известны многочисленными побочными эффектами: гепато- и нефротоксичностью, включая токсичность в желудочно-кишечном тракте и гипертонию. В последнее время большое внимание уделяется химиопрофилактическому и индуцирующему апоптоз эффектам НПВП. Считалось, что эти эффекты в первую очередь связаны с ингибированием активности циклооксигеназы и синтеза простагландинов. Однако недавние исследования однозначно продемонстрировали, что некоторые НПВП, включая аспирин и его метаболит салициловую кислоту, оказывают противовоспалительное и химиопрофилактическое действие независимо от активности циклооксигеназы и ингибирования синтеза простагландинов. Становится все более очевидным, что двумя потенциальными общими мишенями НПВП являются митохондрии и Ca^{2+} -сигнальные пути [8].

Способность НПВП ингибировать активность комплекса I ЭТЦ, тем самым приводя к утечке электронов из дыхательной цепи с последующей генерацией активных форм кислорода, клеточного окислительного стресса и апоптоза, объясняет развитие цитопатологии, индуцированной НПВП. В связи с чем, точное понимание молекулярных механизмов, вовлеченных в терапию НПВП является актуальным [2].

Цель. Изучить влияние салициловой кислоты на параметры респираторной активности митохондрий печени крыс.

Методы исследования. Митохондрии выделяли, используя метод дифференциального центрифугирования [4]. Дыхание митохондрий регистрировали полярографически при 26°C, используя электрод Кларка, встроенный в герметическую термостатируемую ячейку объемом 1,25 мл [3]. Скорость дыхания митохондрий определяли в различных метаболических состояниях: V_2 – скорость субстрат-стимулируемого дыхания (в присутствии субстрата и в отсутствие АДФ), V_3 – скорость АДФ-стимулируемого дыхания (в присутствии субстрата и АДФ). Рассчитывали показатели, характеризующие сопряжение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях: коэффициент акцепторного контроля ($AK=V_3/V_2$) и коэффициент

фосфорилирования (АДФ/О), характеризующего термодинамическую эффективность использования митохондриями кислорода. Содержание белка в пробах определяли по методу Лоури, в качестве стандарта для построения калибровочного графика использовали бычий сывороточный альбумин [6].

Нормальность распределения данных определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Статистически достоверными признавали результаты с $p < 0,05$. Достоверность межгрупповых различий оценивали, используя однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с применением теста Тьюки.

Результаты и их обсуждение. Изменение скорости митохондриального дыхания являются важной характеристикой, демонстрирующей действие салициловой кислоты на митохондрии клеток печени. Мы оценили скорость потребления кислорода в присутствии салициловой кислоты (10–100 мкМ) (преинкубация с митохондриями 1 минута, среда без ЭДТА). При внесении в суспензию митохондрий салициловой кислоты (10–100 мкМ) наблюдается незначительный рост скорости субстрат-зависимого потребления кислорода митохондриями V_2 на 15 % при концентрации салицилата 100 мкМ по сравнению с контрольными митохондриями. Скорости АДФ-стимулируемого потребления кислорода V_3 снижается на 15 % (при использовании в качестве субстрата сукцината) при концентрации салицилата 100 мкМ по сравнению с контрольными митохондриями. Коэффициенты акцепторного контроля и фосфорилирования снизились на 15 % в присутствии салицилата 100 мкМ по сравнению с контрольными митохондриями. Приведенные выше результаты согласуются с результатами К. Норман и соавторов [7], которые наблюдали незначительное ингибирование дыхания клеток табака при 0,1 мМ салицилата. Салициловая кислота по-разному влияет на респираторную активность изолированных митохондрий в зависимости от концентрации, в которой она применяется, и субстрата, подаваемого в митохондрии. Авторы обнаружили, что салициловая кислота в концентрации 0,5 мМ не оказывает существенного влияния на дыхание изолированных митохондрий, субстратом которых является НАДН. Во всех используемых концентрациях салицилат ингибирует дыхание в состоянии V_3 (быстрое поглощение кислорода в присутствии АДФ) с использованием сукцината или малата+пирувата в качестве субстратов. Салициловая кислота действует как разобщитель при использовании малата+пирувата [7]. Это разобщение не было столь очевидным при использовании сукцината или НАДН в качестве митохондриальных субстратов. Эксперименты с митохондриями, выделенными из семядолей сои (*Glycine max*), которые содержат значительное количество белка Аох, показали, что транспорт электронов как через цитохромный путь, так и через Аох был чувствителен к салицилату [7].

Выводы. Концентрации салициловой кислоты, используемые в наших экспериментах, вероятно, ниже, чем те, при которых наблюдается выраженное ингибирование респираторной активности митохондрий печени крыс. Воздействие салициловой кислоты на функцию митохондрий печени крыс не является специфичным. Сходные эффекты разобщения и ингибирования

митохондрий млекопитающих в присутствии салициловой кислоты были получены Джоргенсеном и соавторами [5].

ЛИТЕРАТУРА

1. Bindu S., Mazumder S., Bandyopadhyay U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective // *Biochemical pharmacology*. – 2020. – Vol. 180. – P. 114–147.
2. Daniel E.F., Shraddha P. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout // *Basic & Clinical Pharmacology*. – 2012. – P. 635–657.
3. Dremza I.K. et al. Oxygen-related processes in red blood cells exposed to tert-butyl hydroperoxide // *Redox Report*. – 2006. – Vol. 11, № 4. – P. 185–192.
4. Johnson D. Isolation of liver or kidney mitochondria // *Methods in Enzymology*. – 1967. – Vol. 10. – P. 94–101.
5. Jorgensen T.G. et al. Salicylate- and aspirin-induced uncoupling of oxidative phosphorylation in mitochondria isolated from the mucosal membrane of the stomach // *Scand J. Clin. Lab. Investig.* – 1976. – Vol. 36. – P. 649–654.
6. Lowry O.H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *Journal of Biological Chemistry*. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.
7. Norman C. et al. Salicylic Acid Is an Uncoupler and Inhibitor of Mitochondrial Electron Transport1 // *Plant Physiol.* – 2004. – Vol. 134, № 1. – P. 492–501.
8. Suzuki Y., Inoue T., Ra C. NSAIDs, Mitochondria and Calcium Signaling: Special Focus on Aspirin/Salicylates // *Pharmaceuticals*. – 2010. – Vol. 3. – P. 1594–1613.

РЕЖИМ ДНЯ И УСПЕВАЕМОСТЬ У РУССКОЯЗЫЧНЫХ И ИНОСТРАННЫХ УЧАЩИХСЯ МЛАДШИХ КУРСОВ МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА С РАЗЛИЧНЫМ ХРОНОТИПОМ

Святский Е. С., Балбатун О. А., Орехов С. Д.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Существенным параметром, характеризующим качество подготовки медицинских специалистов, является уровень успеваемости студентов [1]. Соблюдение рационального режима способствует успешному обучению в университете и сохранению здоровья учащихся [2,3]. Среди факторов, влияющих на распорядок учебы и отдыха, наряду с регулярностью питания, длительностью сна, интенсивностью учебной нагрузки, значительным являются суточные или циркадные ритмы. Показано, что индивидуальные биоритмы студентов медицинского университета оказывают влияние на успеваемость [4]. Представляется актуальным оценить влияние различных факторов, включая характер индивидуальных биоритмов, на успеваемость русскоязычных и иностранных учащихся медицинского вуза.

Цель. Изучить взаимосвязь между успеваемостью и распорядком учебы, отдыха, питания, сна у русскоязычных и иностранных учащихся второго курса ГрГМУ с различным хронотипом.

Методы исследования. В исследовании принимали участие 169 русскоязычных студентов (40 юношей и 129 девушек) и 163 иностранных студента (53 юношей и 110 девушек) 2 курса ГрГМУ в возрасте от 18 до 29 лет. При помощи анонимного анкетирования на русском и английском языках изучали росто-весовые показатели (2 вопроса), характер организации и качество сна (3 вопроса), регулярность и качество питания (3 вопроса), хронотип, режим учебы и отдыха (5 вопросов), академическую успеваемость (средний балл двух последних сессий). Проводили статистическую обработку результатов с помощью пакета STATISTICA. Использовали корреляционный анализ по Спирмену.

Результаты и их обсуждения. У русскоязычных учащихся обнаружена положительная корреляция между соблюдением режима сна и средним баллом ($R=0,152$, $p<0,05$). Студенты, которые регулярно успевали позавтракать перед началом учебного дня, также имели более высокий средний балл ($R=0,239$, $p<0,05$). У студентов мужского пола дополнительно положительное влияние на успеваемость оказывала достаточная продолжительность ночного сна: не менее 7–8 часов в сутки ($R=0,339$, $p<0,05$).

У иностранных студентов выявлена положительная корреляция между засыпанием/просыпанием в одно и то же время и средним баллом ($R=0,122$, $p<0,05$). Так же были обнаружены достоверные положительные связи между соблюдением режима сна и такими показателями, как регулярность питания ($R=0,496$, $p<0,05$), правильное чередование активности и отдыха ($R=0,254$, $p<0,05$), регулярность отдыха ($R=0,193$, $p<0,05$), удовлетворенность качеством сна ($R=0,163$, $p<0,05$), удовлетворенность качеством питания ($R=0,247$, $p<0,05$) и регулярность утреннего приема пищи ($R=0,423$, $p<0,05$).

У русскоязычных студентов частота низких баллов у представителей утреннего хронотипа (10%) встречалась достоверно реже по сравнению с «совами» (27,9 %, $p<0,009$). Также у студентов с асинхронным хронотипом («голуби») процент низких баллов (15,8%) был достоверно меньше чем у студентов с вечерним хронотипом (27,9%, $p<0,017$). Не выявлено различий в процентах средних баллов между различными хронотипами. Доля высоких баллов была значительно больше у «жаворонков» (54%) по сравнению с «голубями» (39,4%, $p<0,026$) и «совами» (32,8%, $p<0,012$). Таким образом, наиболее высокая успеваемость наблюдалась у «жаворонков», средняя – у «голубей» и наиболее низкая – у «сов». Данный вывод подтверждает корреляционный анализ: более высокая успеваемость наблюдалась у студентов с утренним хронотипом ($R=0,154$, $p<0,05$) и низкая успеваемость у представителей вечернего хронотипа ($R=-0,154$, $p<0,05$). У девушек по сравнению с юношами связь между утренним хронотипом и успеваемостью была более выраженной ($R=0,204$, $p<0,05$).

У иностранных студентов вечерний хронотип также характеризовался более выраженным не регулярным временем засыпания и просыпания ($R=0,175$, $p<0,05$), а также иррегулярностью приема пищи ($R=0,173$, $p<0,05$). «Жаворонки» достоверно чаще просыпались в одно и то же время (33%) по сравнению с представителями асинхронного (9%; $p<0,05$) и вечернего хронотипов (13%; $p<0,05$). Просыпание в разное время было характерно для 30% «жаворонков», 44% «голубей» и 52% «сов», однако различия были достоверны только между первой и третьей группой ($p<0,05$). Правильное чередование труда и отдыха в течение дня было более характерно для утреннего хронотипа. У «жаворонков» отмечалось неэффективное чередование труда и отдыха в течение дня только в 3% случаев, у «голубей» – в 25% ($p<0,05$ по сравнению с «жаворонками»), а у «сов» – в 19% ($p<0,05$ по сравнению с «жаворонками»).

Выводы. Более регулярное время пробуждения и засыпания положительно коррелируют с хорошей успеваемостью. Упорядоченное время пробуждения и засыпания достоверно связано с рядом других показателей режима учебы и отдыха. Студенты утреннего хронотипа в обоих исследуемых группах характеризуются наиболее высокой успеваемостью и упорядоченным режимом дня. Для асинхронного типа выявлена средняя успеваемость и менее дисциплинированный режим дня. Для вечернего хронотипа характерна невысокая успеваемость и неудовлетворительная организация сна. Влияние различных факторов, включая характер индивидуальных биоритмов, на успеваемость русскоязычных и иностранных учащихся имело схожие тенденции, но разные корреляционные связи. Например, регулярность питания оказывает большее влияние на успеваемость иностранных учащихся, а достаточная продолжительность сна более важна для успеваемости русскоязычных студентов. Анализ распорядка учебы, отдыха, питания, сна и циркадных ритмов может быть использован для оптимизации учебного процесса и сохранения здоровья студентов медицинского вуза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеенко С.Н., Гайворонская Т.В., Дробот Н.Н. Анализ факторов, влияющих на успеваемость студентов медицинского вуза [Электронный ресурс] // Журнал «Современные проблемы науки и образования». – 2020. – № 6.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=30319> (дата обращения: 04.03.2021).
2. Алёшина Т.Е., Наумова А.А., Наумова Т.А. Зависимость работоспособности от соблюдения режима дня // Международный научный журнал «Инновационная Наука». – 2016. – № 10. – С. 28–30.
3. Звягина Е.В., Диогенова К.С. Влияние факторов режима дня на здоровье студентов, занимающихся спортом // Научно-периодический журнал «Здоровье человека, теория и методика физической культуры и спорта». – 2018. – № 4 (11). – С. 37–48.
4. Зенкина В.Г., Зенкин И.С., Владимирова К.Е. Хронобиологический тип студентов и академическая успеваемость // Амурский медицинский журнал. – 2019. – № 3. – С. 36–40.

ВЛИЯНИЕ БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК IN VITRO

Терпинская Т. И., Янченко Т. Л., Полукошко Е. Ф.

Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Введение. Бетулиновая кислота – соединение природного происхождения с высокой биологической активностью. В ряде исследований показан противоопухолевый эффект бетулиновой кислоты, однако механизм ее действия до конца не раскрыт, а эффективность в отношении различных типов клеток изучена недостаточно.

Экспериментальные исследования показывают, что цитотоксический эффект бетулиновой кислоты связан с повышением в клетках уровня активных форм кислорода (АФК). АФК способствуют окислению биологических молекул, что ведет к изменению их структуры и ферментативной активности. Таким образом, АФК выполняют сигнальную функцию, регулируя физиологические функции клеток, а в высоких дозах вызывают повреждение клеточных структур и клеточную гибель.

Еще одним показателем, определяющим функциональное состояние клеток, является митохондриальный мембранный потенциал, создаваемый протонными насосами внутренней мембраны крист митохондрий вследствие переноса протонов в межмембранное пространство. Митохондриальный мембранный потенциал служит важным компонентом в процессе накопления энергии при окислительном фосфорилировании, в поддержании жизнеспособности и гомеостаза клеток [4].

Цель. Исследовать влияние бетулиновой кислоты на уровень активных форм кислорода и азота, митохондриальный мембранный потенциал, жизнеспособность и пролиферацию различных типов клеток.

Методы исследования. Опыты проводили на клетках линий *Hela* и *U-937* из «Белорусской коллекции культур клеток человека и животных» РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь. При проведении экспериментов к клеткам, культивируемым в среде DMEM (Merck KGaA, Germany) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Thermo Fisher Scientific, США), вносили бетулиновую кислоту (Glenthams Life Sciences, Великобритания) в конечных дозах 7,5 – 100 μ M и инкубировали 48 ч при 37°C и 5% CO₂. Затем получали клеточные пробы (n = 4). Для определения жизнеспособности клетки окрашивали 7-аминоактиномицином D (Sigma Aldrich, США), уровня активных форм кислорода – дигидрородамином 123 (ДГР 123) (Molecular Probes by Life technologies, США), митохондриального мембранного потенциала – 3,3'-дигексилосакарбодиамина йодидом (DiOC₆) (Sigma Aldrich, США). Для оценки клеточной пролиферации определяли концентрацию клеток в пробах с помощью флуоросфер FLOW-COUNT™

(Beckman Coulter, США). Красители использовали согласно рекомендациям производителей. Пробы анализировали методом проточной цитометрии с помощью проточного цитофлуориметра BD FACSCanto II с программным обеспечением Diva 7.0 (Becton Dickinson, США).

Статистический анализ полученного цифрового материала выполнен с использованием пакетов программ Excel и Statistica 7. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ согласно тесту Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Бетулиновая кислота способствовала повышению уровня активных форм кислорода и азота в клетках *Hela* и *U-937*. В экспериментах с клетками *Hela* бетулиновая кислота в дозах 60-100 μM повышала уровень активных форм кислорода и азота в 2,7-2,9 раза, в клетках *U-937* – в 1,8 раза. При применении бетулиновой кислоты в более низких дозах этот эффект снижался, но все же оставался статистически значимым.

Усиление окислительного стресса сопровождалось снижением жизнеспособности клеток *Hela* и *U-937*. Бетулиновая кислота оказывала дозозависимый цитотоксический эффект, вызывая снижение клеточной жизнеспособности на 6-13% по сравнению с контролем.

В отношении клеток *Hela* бетулиновая кислота оказывала антипролиферативное действие. При обработке клеток бетулиновой кислотой в дозе 100 μM их концентрация в пробах снижалась в 1,7 раза по сравнению с контролем. При снижении дозы бетулиновой кислоты до 85 и 60 μM ее эффект на пролиферацию в значительной мере сохранялся, а при дозах 45 μM и ниже (до 7,5 μM) – ослаблялся, в этих сериях зарегистрирована тенденция к снижению пролиферации. Статистически значимого эффекта на пролиферацию клеток *U-937* не выявлено.

Анализ интегрального эффекта бетулиновой кислоты, отражающего сумму цитотоксического и антипролиферативного действия, на количество живых клеток в пробах показал, что клетки *Hela* были намного чувствительнее к действию бетулиновой кислоты, чем клетки *U-937*. Так, при действии бетулиновой кислоты в дозах 60 – 100 μM наблюдалось снижение концентрации жизнеспособных клеток *Hela* в пробах в 1,7 – 1,9 раза, в то время как статистически значимого эффекта в отношении *U-937* зарегистрировано не было.

Бетулиновая кислота дозозависимо вызывала повышение митохондриального мембранного потенциала клеток *U-937*, определяемого с помощью DiOC6. При обработке клеток бетулиновой кислотой в дозах от 60 до 100 μM наблюдалось 6-кратное повышение этого показателя, при снижении её концентрации эффект ослаблялся – бетулиновая кислота в дозе 45 μM способствовала повышению митохондриального мембранного потенциала в 4,3 раза, в дозах от 7,5 до 30 μM – в 1,4-1,5 раза. Статистически значимого эффекта на митохондриальный потенциал клеток *Hela* не выявлено.

Согласно полученным результатам, эксперименты на клетках *Hela* и *U-937* продемонстрировали как сходные эффекты бетулиновой кислоты, так и отличия в ее биологическом действии. Сходство состояло в усилении окислительного стресса и индукции клеточной гибели в обоих типах клеток. Отличия проявились в том, что в клетках *Hela* повышение уровня активных

форм кислорода и азота было более выраженным, чем в клетках *U-937*, а также наблюдалось мощное подавление пролиферации. Кроме того, наши данные показали повышение митохондриального мембранного потенциала под действием бетулиновой кислоты в клетках *U-937*, но не в клетках *Hela*.

Можно предположить, что окислительный стресс является причиной как цитотоксического, так и антипролиферативного действия бетулиновой кислоты, вероятно, через образование активных форм кислорода митохондриального происхождения, что согласуется с имеющимися данными литературы [1].

Меньшая чувствительность к действию бетулиновой кислоты клеток *U-937* может объясняться как менее выраженным подъемом уровня активных форм кислорода и азота, так и повышением митохондриального мембранного потенциала. В пользу первого свидетельствуют данные о том, что бетулиновая кислота снижает активность NADPH-оксидаз – одной из групп ферментов, ответственных за выработку активных форм кислорода и азота в клетке, в том числе фермента NOX2 [3], характерного для лейкоцитов и локализуемого в клеточной мембране. В пользу второго предположения говорят результаты экспериментов, показывающие, что лейкемическим клеткам, к которым относятся *U-937*, свойственно повышение количества и активности митохондрий по сравнению нормальными лимфоцитами. Усиление митохондриального метаболизма (признаком чего является повышение митохондриального мембранного потенциала) способствует пролиферации [2]. Поэтому возможно, что выявленный нами эффект повышения митохондриального потенциала клеток *U-937* препятствует антипролиферативному действию бетулиновой кислоты.

Выводы. Бетулиновая кислота дозозависимо вызывает повышение уровня активных форм кислорода и азота в клетках *Hela* и *U-937*. Усиление окислительного стресса сопровождается подавлением пролиферации и/или гибелью клеток. Эффект бетулиновой кислоты зависит от типа клеток и более выражен в отношении клеток *Hela*. Меньшая чувствительность клеток *U-937* к бетулиновой кислоте ассоциирована с повышением митохондриального мембранного потенциала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kumar P., Bhadauria A.S., Singh A.K., Saha S. Betulinic acid as apoptosis activator: Molecular mechanisms, mathematical modeling and chemical modifications // *Life Sci.* – 2018. – Vol. 209. – P.24–33.
2. Ledderose C., Woehrl T., Ledderose S. et al. Cutting off the power: inhibition of leukemia cell growth by pausing basal ATP release and P2X receptor signaling? // *Purinergic Signal.* – 2016. – Vol. 12, № 3. P. 439–451.
3. Lu Q., Xia N., Xu H. et al. Betulinic acid protects against cerebral ischemia-reperfusion injury in mice by reducing oxidative and nitrosative stress // *Nitric Oxide.* – 2011. – Vol. 24, № 3. – P.132–138.
4. Zorova L.D., Popkov V.A., Plotnikov E.Y. et al. Mitochondrial membrane potential // *Anal Biochem.* – 2018. – Vol. 552. – P. 50–59.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ ЭРИТРОЦИТОВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ У ПАЦИЕНТОВ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

Тихомирова И. А., Петроченко Е. П., Малышева Ю. В.,
Кислов Н. В., Лемехова В. А., Муравьев А. В.

Ярославский государственный педагогический университет имени К. Д. Ушинского,
Ярославль, Россия

Введение. При злокачественных новообразованиях (ЗНО) повреждение мембран эритроцитов приводит к экспонированию фосфатидилсерина на внешней части мембраны клетки, что ведет к изменению проницаемости для Ca^{2+} и преждевременному старению клеток с последующим их апоптозом [1, 2]. Что касается старых эритроцитов, то они обладают повышенной агрегируемостью и ригидностью и сниженным кислородтранспортным потенциалом [3]. Поскольку популяция старых клеток составляет не менее 10% клеточного объема, то это может иметь существенный реологический эффект, особенно в капиллярном русле [4, 5]. Поскольку известно, что газотрансммиттеры (ГТ) положительно влияют на микрореологию эритроцитов [6, 7], то возможно, что они могут способствовать ее восстановлению у старых эритроцитов, находящихся в циркуляции.

Цель данного исследования было сравнительное изучение характера изменений микрореологических характеристик эритроцитов разного возраста под влияние оксида азота (NO) и сероводорода (H_2S) у пациентов ЗНО.

Методы исследования. Эритроциты цельной крови отделяли от плазмы центрифугированием. Суспензию эритроцитов (гематокрит = 80%) разделяли последующим центрифугированием на три возрастные фракции: молодые (10% – верхняя фракция), зрелые (средняя фракция – 80%) и старые клетки (10% – нижняя фракция). Каждую фракцию делили на три аликвоты и клетки инкубировали при 37°C в течение 30 мин с каждым из перечисленных ниже соединений:

1) с донором NO – нитропропруссидом натрия (НПН, в концентрациях 100 мкМ);

2) с донором H_2S – гидросульфидом натрия (NaHS, в концентрациях 100 мкМ);

3) В каждом опыте в качестве контроля использовали суспензию эритроцитов, инкубируемых растворе Рингера, без добавления указанных выше препаратов.

Регистрировали показатели агрегации эритроцитов (ПАЭ, агрегометр Myrenne M1) и степень деформируемости эритроцитов трех возрастных фракций в проточной микрокамере. Для этого определяли индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ) [7]. После инкубации с донорами ГТ регистрировали ИУЭ

и ПАЭ трех возрастных фракций эритроцитов и сравнивали их с данными контрольных опытов (инкубация эритроцитов без препаратов).

При статистической обработке определяли среднюю величину и ее стандартную ошибку ($M \pm m$). Полученные данные проверяли на характер распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом этого была использованы непараметрические методы программы “Statistica 10.0”. За статистически значимые принимали изменения при $p < 0,05$ и $0,01$.

Результаты и их обсуждение. Деформируемость молодых эритроцитов под влиянием инкубации с НПН, хотя и достоверно, однако только на 5% ($p < 0,01$), тогда как прирост ИУЭ старых эритроцитов составил 13% (рис. 1, $p < 0,01$).

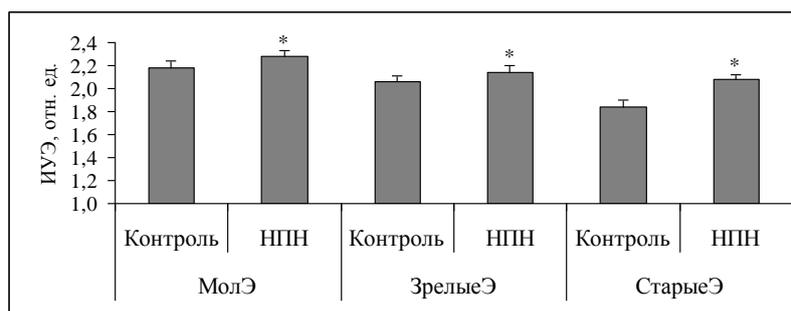


Рисунок 1. – Изменение деформируемости эритроцитов (ИУЭ) разных возрастных фракций под влиянием донора оксида азота, нитропруссид натрия (НПН) у пациентов злокачественными новообразованиями

При этом если до воздействия НПН разница деформируемости между молодыми и старыми клетками составляла 15%, то после воздействия донора NO она была равной только 7%. При этом ИУЭ даже превышал таковой в популяции зрелых эритроцитов ($2,08 \pm 0,02$ отн. ед. – старые эритроциты и $2,06 \pm 0,02$ отн. ед. – зрелые клетки).

В основном сходная картина изменений ИУЭ наблюдалась при инкубации эритроцитов трех возрастных фракций, при их инкубации с NaHS. Прирост деформируемости был существенно большим у старых эритроцитов (рис. 2). Важно иметь в виду, что выраженные положительные изменения агрегации эритроцитов во всех трех возрастных фракциях эритроцитов наблюдались при воздействии двух доноров ГТ. Причем величины сдвигов ПАЭ были более значительные (снижение ПАЭ от 15 до 45%), чем изменения деформируемости эритроцитов. Анализ изменений в трех возрастных группах клеток показал, что агрегация эритроцитов, также как их деформируемость, в большей степени снижалась под влиянием ГТ у старых эритроцитов: на 24-30% у молодых и на 45% ($p < 0,01$) – у старых клеток.

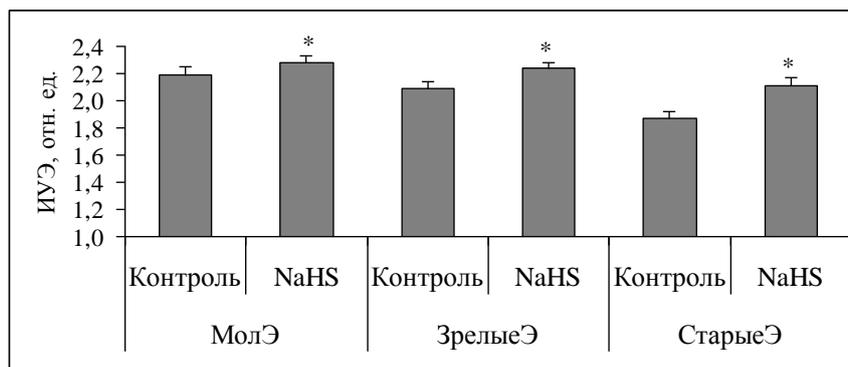


Рисунок 2. – Изменение деформируемости эритроцитов (ИУЭ) разных возрастных фракций под влиянием донора оксида азота, нитропруссид натрия (NaHS) у пациентов злокачественными новообразованиями

Таким образом, можно заключить, что под влиянием доноров двух ГТ, оксида азота и сероводорода не только положительно изменяются микрореологические характеристики всех трех возрастных фракций эритроцитов, но старые эритроциты практически восстанавливают свои микрореологические свойства до уровня самой большой возрастной популяции – зрелых клеток у пациентов ЗНО.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00143.

ЛИТЕРАТУРА

1. Birka C., Lang A., Kempe S. et al. Enhanced susceptibility to erythrocyte apoptosis following phosphate depletion // Pflügers Archiv European Journal of Physiology. – 2004. – Vol. 448, № 5. – P. 471–477.
2. Kempe D.S., Lang A., Eisele K., et al. Stimulation of erythrocyte phosphatidylserine exposure by lead ions // Am J Physiol Cell. – 2005. – Vol. 288. – P. 396–402.
3. Meiselman H.J. Red blood cell role in RBC aggregation: 1963-1993 and beyond // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 1993. – Vol. 13. – P. 575–592.
4. Chien S. Rheology in the microcirculation in normal and low flow states // Adv. Shock Res. – 1982. – Vol. 8. – P. 71–80.
5. Pries A.R., Secomb T. Rheology of microcirculation // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 2003. – Vol. 29. – P. 143–148.
6. Grau M., Cremer J.M., Schmeichel S., Kunkel M., Bloch W. Comparisons of Blood Parameters, Red Blood Cell Deformability and Circulating Nitric Oxide Between Males and Females Considering Hormonal Contraception: A Longitudinal Gender Study // Front Physiol. – 2018. – Vol. 9. – P. 1835.
7. Muravyov A.V., Antonova N., Tikhomirova I.A. 2019. Red blood cell micromechanical responses to hydrogen sulfide and nitric oxide donors: Analysis of crosstalk of two gasotransmitters (H₂S and NO) // Series on Biomechanics. – 2019. – Vol. 33. – P. 34–40.

АГРЕГАТНЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК КРОВИ В ПРИСУТСТВИИ ДОНОРОВ NO И H₂S В НОРМЕ И У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Тихомирова И. А., Муравьев А. В., Кислов Н. В.¹,
Лемехова В. А.¹, Петроченко Е. П., Малышева Ю. В.

Ярославский государственный педагогический университет имени К. Д. Ушинского,
Ярославль, Россия

¹Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Введение. Агрегация клеток крови (тромбоцитов и эритроцитов) во многом определяет поддержание оптимальных функциональных свойств цельной крови и эффективность реализации ее кислородтранспортной функции. В условиях опухолевого процесса, когда локальная гипоксия тканей провоцирует рост и диссеминацию опухоли, агрегатные свойства тромбоцитов и эритроцитов приобретают особое значение. Роль газомедиаторов, которые являются нативными биорегуляторами, в процессах агрегации клеток крови до настоящего времени мало изучена.

Цель. Оценить агрегатные свойства тромбоцитов и эритроцитов в присутствии доноров NO и H₂S в норме и у пациентов с колоректальным раком.

Методы исследования. В исследование были включены практически здоровые добровольцы (группа контроля), n= 26 человек, средний возраст 51,4±6,6 лет; и группа пациентов Ярославской областной клинической онкологической больницы с верифицированным диагнозом колоректальный рак, n= 27, средний возраст 57,3±7,1 лет.

Эффект оксида азота оценивали с использованием доноров NO (SNP (нитропруссид натрия) и Spermine NONOate) и сероводорода (NaHS и GYY4137) в конечной концентрации 10 μM. Показатели агрегации тромбоцитов измеряли с помощью лазерного анализатора агрегации тромбоцитов АЛАТ-2 «Биола» (Москва, ООО НПФ «Биола»), агрегацию эритроцитов исследовали методом оптической микроскопии с последующей видеорегистрацией и компьютерным анализом изображения.

Результаты и их обсуждение. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов в присутствии донора оксида азота (SNP) снизилась в группе здорового контроля и у пациентов на 32,5% и 33,6% (p<0,05) соответственно. Добавление донора сероводорода NaHS к обогащенной тромбоцитами плазме привело к снижению показателей АДФ-индуцированной агрегации в группе здорового контроля на 32,9% (p<0,01), у пациентов антиагрегационный эффект NaHS был менее выражен и составил 17% (p<0,05). Так же, как и для АДФ-индуцированной агрегации, в случае применения адреналина в качестве индуктора агрегации тромбоцитов, более выраженный антиагрегационный эффект донора оксида азота SNP был отмечен в группе здорового контроля – снижение показателя агрегации составило 28,3% (p<0,05), для пациентов этот показатель уменьшился на 19,8% (p<0,05). В присутствии донора сероводорода

NaHS показатель агрегации тромбоцитов в контроле снизился на 18,9% ($p < 0,05$), у пациентов с колоректальным раком – на 15,1% ($p < 0,05$).

Введение в обогащенную тромбоцитами плазму ингибитора аденилатциклазы SQ 22,536 практически не изменило антиагрегантный эффект донора сероводорода NaHS на показатели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов ни в группе контроля, ни у пациентов с колоректальным раком. Однако для адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов, ингибированной NaHS, зафиксировано статистически значимое дополнительное снижение (на 29,8%, $p < 0,05$ для здоровых лиц и на 25,2%, $p < 0,05$ для пациентов) в присутствии ингибитора аденилатциклазы SQ 22,536).

В группе здорового контроля степень агрегации эритроцитов в присутствии донора сероводорода GYY4137 достоверно не изменилась (отмечена лишь тенденция к снижению этого показателя), присутствие ингибитора аденилатциклазы SQ22,536 не оказало заметного влияния на агрегируемость эритроцитов здоровых лиц. У пациентов с колоректальным раком исходные показатели степени агрегации эритроцитов в 2,4 раза ($p < 0,01$) превышали нормальные значения и под влиянием донора сероводорода GYY4137 снизились на 29,4% ($p < 0,05$). В присутствии ингибитора аденилатциклазы SQ22,536 отмечено дополнительное снижение степени агрегации эритроцитов у пациентов еще на 38% ($p < 0,05$).

Ингибирование АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов донором оксида азота SNP было почти полностью элиминировано при введении в плазму ингибитора гуанилатциклазы ODQ: в группе контроля показатель агрегации возрос на 34,2% ($p < 0,05$), в группе пациентов – на 39% ($p < 0,05$). Для адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов, сниженной в присутствии SNP прирост степени агрегации под влиянием ингибитора гуанилатциклазы ODQ составил 26,9% ($p < 0,05$) в контроле и 29,1% ($p < 0,05$) у пациентов. В группе здорового контроля в присутствии SpermineNONOate отмечена тенденция к снижению степени агрегации эритроцитов и ее прирост после добавления ингибитора гуанилатциклазы ODQ тоже только на уровне тенденции. У пациентов с колоректальным раком донор оксида азота способствовал существенному снижению степени агрегации эритроцитов (на 46,9%, $p < 0,01$), присутствие ингибитора гуанилатциклазы ODQ не оказало значимого влияния на показатели агрегации в условиях воздействия SpermineNONOate.

Агрегация тромбоцитов, сниженная в присутствии NaHS и SNP не претерпела существенных изменений при блокировании K^+ _{АДФ}-каналов глибенкламидом. Ингибирование АТФ-зависимых K^+ каналов никак не повлияло и на антиагрегантный эффект NaHS в отношении АДФ- и адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов у здоровых лиц и пациентов с колоректальным раком. Агрегация эритроцитов, сниженная в присутствии GYY4137, практически не изменилась при блокировании АТФ-зависимых K^+ каналов глибенкламидом и в контроле, и у пациентов.

Из опубликованных данных известно, что в сердечно-сосудистой системе регуляторный эффект сероводорода реализуется с участием

аденилатциклазной системы (например, при регуляции сократимости кардиомиоцитов) [1], а, к примеру, вазорелаксационный эффект сероводорода (в отличие от аналогичного эффекта NO) реализуется без участия гуанилатциклазной системы [2]. Исходя из этого, нами было выдвинуто предположение о возможной вовлеченности системы аденилатциклаза – цАМФ в трансдукцию сигнала при реализации антиагрегантного эффекта NaHS в отношении клеток крови. Использование ингибитора аденилатциклазы оказало значимое влияние только на процесс ингибирования адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов.

Известно, что механизм действия NO в разных тканях связан с активацией растворимой гуанилатциклазы, что ведет к повышению уровня цГМФ, который, в свою очередь, активирует цГМФ-зависимую протеинкиназу PKG [3]. Функционирование тромбоцитарной гуанилатциклазы и агрегационная способность тромбоцитов взаимосвязаны. Активация гуанилатциклазы тормозит агрегацию тромбоцитов, и регуляторная роль гуанилатциклазы проявляется на самой ранней (обратимой) стадии агрегационного процесса [4]. В нашем исследовании при использовании ингибитора гуанилатциклазы и проникающего аналога цГМФ была подтверждена вовлеченность системы цГМФ-гуанилатциклаза в реализацию антиагрегационного эффекта донора NO как в норме, так и у пациентов с колоректальным раком.

Опубликованные данные указывают и на возможное участие АТФ-зависимых K^+ каналов в реализации сигнальных эффектов газомедиаторов. Ряд регуляторных эффектов H_2S блокируется при ингибировании АТФ-зависимых K^+ каналов глибенкламидом (например, отрицательный хронотропный и инотропный эффект, сосудорасширяющий эффект обусловлен главным образом открытием этих каналов и т.д.) [5]. Поэтому представляло интерес оценить возможную вовлеченность и этого элемента сигнального пути в реализацию антиагрегантного эффекта сероводорода и оксида азота. Применение блокатора этих каналов никак не повлияло на эффекты исследуемых газомедиаторов, что не позволило подтвердить участие $\text{K}^+_{\text{АТФ}}$ -каналов в реализации сигнала NO и H_2S при ингибировании ими агрегации тромбоцитов и эритроцитов.

Недавно было показано, что, кроме депонирования NO, участие эритроцитов в метаболизме этого газа обеспечивается еще и его активным синтезом красными клетками крови: в эритроцитах была идентифицирована каталитически активная eNOS (NOS3 1 типа), идентичная эндотелиальной eNOS [6]. В ряде исследований также было продемонстрировано заметная активность H_2S -продуцирующих ферментов в эритроцитах, что указывает на способность этих клеток крови генерировать сероводород [7, 8]. Способность красных клеток крови продуцировать молекулы газомедиаторов предполагает их возможную регуляторную роль и в отношении самих эритроцитов.

В условиях нормы изменения агрегации эритроцитов в присутствии доноров оксида азота и сероводорода проявились лишь в тенденции к снижению. У пациентов с колоректальным раком исходная степень агрегации эритроцитов была значительно выше нормы и оба газомедиатора проявили

выраженный антиагрегационный эффект. Модификация антиагрегационного эффекта донора сероводорода в присутствии ингибитора аденилатциклазы позволяет предположить вовлеченность системы аденилатциклаза-цАМФ в трансдукцию сигнала сероводорода при ингибировании агрегации эритроцитов при колоректальном раке.

Выводы. Отмечено снижение агрегации тромбоцитов в присутствии доноров газомедиаторов как в норме, так и при колоректальном раке. В трансдукции сигнала при ингибировании адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов (в отличие от АДФ-индуцированной) и агрегации эритроцитов под действием NaHS отчасти задействована аденилатциклазная система. В реализацию клеточного ответа тромбоцитов на воздействие NO вовлечена гуанилатциклазная система. Участие цГМФ в процессе снижения агрегируемости эритроцитов под действием донора NO подтвердить не удалось – по всей видимости антиагрегационный эффект NO в отношении эритроцитов при колоректальном раке реализуется по цГМФ-независимому пути. K^+ _{АТФ}-каналы не задействованы в реализации антиагрегантного эффекта NO и H₂S в норме и при колоректальном раке.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00143

ЛИТЕРАТУРА

1. Elsey D., Fowkes R., Baxter G. Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H₂S)// Cell Biochem Funct. – 2010. – Vol. 28, № 2. – P. 95–106.
2. Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K (ATP) channel opener// EMBO J. – 2001. – № 20. – P.6008–6016.
3. Barvitenko N., Adragna N., Weber R. Erythrocyte Signal Transduction Pathways, their Oxygenation Dependence and Functional Significance // Cell Physiol Biochem. – 2005. – Vol. 15, № 1-4. – P. 1–18.
4. Riddell D., Owen J. Nitric oxide and platelet aggregation // Vitam Horm. – 1999. – № 57. – P. 5–48.
5. Martelli A., Testai L., Breschi M. et al. Vasorelaxation by hydrogen sulphide involves activation of Kv7 potassium channels // Pharmacol Res. – 2013. – № 70. – P. 27–34.
6. Kuhn V., Diederich L., Keller T. et al. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia // Antioxid Redox Signal. – 2017. – Vol. 26, № 13. – P.718–742.
7. Vitvitsky V., Yadav P. K., Kurthen A. et al. Sulfide oxidation by a noncanonical pathway in red blood cells generates thiosulfate and polysulfides// The Journal of Biological Chemistry. – 2015. – Vol. 290, № 13. – P. 8310–8320.
8. Wang G., Huang Y., Zhang N. et al. Hydrogen Sulfide Is a Regulator of Hemoglobin Oxygen-Carrying Capacity via Controlling 2,3-BPG Production in Erythrocytes. Oxid Med Cell Longev. – 2021. – Vol. 2021:8877691.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЕГО ТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ И МЕХАНИЧЕСКОЙ АСФИКСИИ

Федуто М. А., Максимович Н. Е., Бонь Е. И., Грищенко А. И.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Острая кислородная недостаточность служит основой разнообразных патологических процессов при многих заболеваниях и воздействиях факторов внешней среды. В частности, дефицит кислорода может наступить в результате нарушения гемодинамики (длительный спазм, тромбоз, эмболия сосуда) либо воздействия внешнего механического фактора (механическая асфиксия).

Острая гипоксия головного мозга, независимо от причин, приводит к его поражению. Это обусловлено сложностью морфологической структуры и выполняемых функций головного мозга, а также малой толерантностью к гипоксии, которая определяется высоким уровнем метаболизма, отсутствием запасов кислорода и макроэргических соединений [3,4].

Особого внимания заслуживает такая структура головного мозга, как кора. Это связано с чрезвычайной важностью в жизнедеятельности организма и тяжестью развивающихся при ее повреждении последствий.

К настоящему времени в литературе достаточно подробно освещены патоморфологические, патофизиологические и клинические аспекты глобальной гипоксии. В связи с этим целесообразно осуществить сравнительный анализ нейрональных изменений головного мозга при его тотальной ишемии и механической асфиксии.

Цель. Сравнить гистологические изменения нейронов коры головного мозга крыс при его тотальной ишемии и механической асфиксии.

Методы исследования. Исследование проведено на беспородных белых крысах (30 самцов, масса 240 ± 20 г), разделенных на 5 групп ($n=6$). Контрольную группу составили ложноперирированные крысы. Эксперименты проведены с использованием 2 моделей гипоксии головного мозга: тотальной ишемии и механической асфиксии. Моделирование механической асфиксии проводили путем перевязки трахеи крыс на 30 минут и 60 минут. Моделирование тотальной ишемии головного мозга (ТИГМ) проводили путем декапитации крыс с забором материала через 30 минут и 60 минут после декапитации [1]. Исследования осуществляли в условиях внутривенного наркоза (тиопентал натрия, 40 мг/кг). Головной мозг извлекали и фиксировали в жидкости Карнуа, после чего изготавливали парафиновые срезы и окрашивали их по методу Ниссля. В гистологических препаратах определяли различные виды нейронов по степени окрашивания их цитоплазмы (хроматофилии). Изменение площади и формы нейронов (форм-фактор, фактор элонгации) оценивали с помощью программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow,

США). Полученные результаты обрабатывали с использованием методов непараметрической статистики, Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США).

Результаты и их обсуждение. В контрольной группе до 95% популяции нейронов составили нормохромные клетки, а остальные 5% нейронов – гиперхромные и гипохромные клетки. Перикарионы имели округлую форму, отчетливые ровные контуры клеточной и ядерной поверхностей. Площадь перикарионов составила 220,0 (175,5; 264,5) μm^2 , форм-фактор – 0,9 (0,9;0,9) единиц, фактор элонгации – 1,4 (1,2; 1,4) единиц.

В оба изучаемых временных промежутка при тотальной ишемии и механической асфиксии преобладали гиперхромные сморщенные нейроны – нейроны вытянутой и многоугольной формы с интенсивно окрашенной цитоплазмой, которые, как известно, являются маркерами острой кислородной недостаточности (гипоксии) нервной ткани [3,4].

В оба изучаемых периода механической асфиксии гистологические изменения нейронов коры головного мозга проявлялись в изменении формы нейронов. Через 30 минут асфиксии форм-фактор уменьшился на 29% ($p<0,05$), а фактор элонгации увеличился на 68% ($p<0,05$) по сравнению с контролем, что отражает утрату сферичности и увеличение вытянутости перикарионов.

Спустя 60 минут асфиксии, кроме изменения формы (форм-фактор – уменьшился на 32% ($p<0,05$), а фактор элонгации увеличился на 74% ($p<0,05$)), отмечалось уменьшение площади перикарионов нейронов на 40% ($p<0,05$) по сравнению с контролем.

При этом у крыс с 60 минутной асфиксией отмечалось уменьшение площади перикарионов нейронов на 35% ($p<0,05$) по сравнению с 30 минутной асфиксией, изменение формы нейронов не происходило ($p>0,05$).

Наряду с изменениями хроматофилии при тотальной ишемии головного мозга гистологические нарушения нейронов его коры проявлялись в изменении размеров и формы нейронов. К 30 минутам размеры нейронов уменьшились на 74 % ($p<0,05$) по сравнению с контролем [2].

К 60-й минуте фактор элонгации нейронов увеличился на 35% ($p<0,05$) по сравнению с контролем, в то время как форм-фактор уменьшился на 34% ($p<0,05$).

Полученные данные отражают гистологические изменения нейронов коры головного мозга при тотальной ишемии и механической асфиксии.

При сравнении тотальной ишемии и механической асфиксии выявлены следующие изменения: спустя 30 минут гипоксии в группе «ТИГМ» площадь перикарионов по сравнению с механической асфиксией была меньше на 79% ($p<0,05$), а через 60 минут – на 70% ($p<0,05$). В то время как форма нейронов не различалась ($p>0,05$).

Таким образом, тотальная ишемия сопровождалась более выраженными нарушениями нейронов коры головного мозга, что проявлялось в более значительном уменьшении размеров перикарионов к 30 минутам гипоксии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга // Биомедицина. 2018. – № 2. – С. 59–71.
2. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. и др. Динамика морфологических изменений пирамидных нейронов филогенетически разных отделов коры мозга крыс при тотальной церебральной ишемии // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – № 2. – С. 5–13.
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 327 с.
4. Максимович Н.Е., Бонь Е. И., Зиматкин С. М. Головной мозг крысы и его реакция на ишемию: монография. – Гродно: ГрГМУ, 2020. – 240 с.

РЕАКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ФУНКЦИИ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ КАК ФАКТОРЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ТКАНЕВОГО ГОМЕОСТАЗА В ДИНАМИКЕ ТРАНСМУРАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

Халепо О. В., Ивлева А. А.

Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск, Россия

Введение. Система микроциркуляции за счет имеющихся резервных возможностей может компенсировать метаболические расстройства в тканях при развитии инфаркта миокарда (ИМ), что во-многом обусловлено включением компенсаторных резервов и особенностями локальных механизмов регуляции, в том числе со стороны эндотелиоцитов [2]. Однако механизмы активации резервных возможностей микроциркуляции и регуляторных влияний в динамике трансмурального ИМ изучены недостаточно.

Цель. Изучить реактивность системы микроциркуляции и механизмов ее регуляции, в том числе функциональной активности сосудистого эндотелия, в динамике трансмурального ИМ.

Методы исследования. Обследовано 54 пациента (средний возраст $59,09 \pm 1,2$ лет) с первичным QS инфарктом миокарда на 3, 10, 21 сутки и через 3 месяца развития заболевания. В контрольную группу были включены 24 человека того же возраста (средний возраст $48,8 \pm 0,89$ лет) без признаков тяжелой хронической патологии. Все пациенты дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Состояние кожной микроциркуляции изучали методом лазерной доплеровской флоуметрии с помощью аппарата ЛАКК-М (НПП «Лазма», Россия). Базальный кровоток регистрировали в течение 15 минут в зоне Захарьина-Геда для сердца на предплечье. Вейвлет-преобразование ЛДФ-грамм позволило оценить влияние отдельных механизмов регуляции на тонус микрососудов.

Для оценки реактивности эндотелия были изучены микрососудистые реакции в ответ на локальное введение с помощью аппарата «ЛАКК-Тест» (НПП «Лазма», Россия) 1% раствора нитропруссид натрия, экзогенного донатора NO, вызывающего эндотелий-независимую вазодилатацию (ЭНВД) и 1% раствора ацетилхолина, активирующего эндотелий-зависимую вазодилатацию (ЭЗВД) за счет стимуляции локального высвобождения эндогенного NO клетками эндотелия. Для оценки состояния отдельных механизмов регуляции микрокровотока в период ЭНВД и ЭЗВД после удаления низкочастотной составляющей фрагмент доплерограммы, соответствующей периоду вазодилатации, подвергали Вейвлет-преобразованию [1].

В сыворотке крови количественно определяли сэндвич методом ИФА уровень интерлейкина 1 бета (IL1b) и эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3) и методом конкурентного ИФА содержание эндотелина 1 (EDN 1).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрических критериев (Колмогорова-Смирнова, U-теста Манна-Уитни).

Результаты и их обсуждение. Показатели, характеризующие состояние микроциркуляции у здоровых лиц, в целом соответствуют литературным данным [1].

У пациентов на 3, 10 и 21 сутки развития ИМ показатели перфузии, вазомоторной активности микрососудов и механизмов регуляции микрогемодинамики, статистически значимо не различались со здоровыми лицами. Через 3 месяца после ИМ уровень перфузии оказался больше, чем в контроле, а вазомоторная активность микрососудов снижалась. Обнаружено, что показатель микроциркуляции (M) превышал контрольные значения на 18% ($p=0,007$), а среднеквадратичное отклонение (δ) и коэффициент вариации (Kv) были меньше соответственно на 67% ($p=0,03$) и 55% ($p=0,04$). Через 3 месяца после ИМ выявлено снижение максимальной амплитуды миогенных колебаний (AmaxM) на 61% ($p=0,02$) и кардиоритмов (AmaxC) – на 72% ($p=0,04$).

На 3 сутки развития ИМ способность кожных микрососудов реагировать вазодилатацией на введение экзогенного донатора NO существенно не изменялась, однако при ЭНВД выявлено увеличение максимальной амплитуды эндотелиальных колебаний (AmaxЭ) на 55% ($p=0,02$) и нейрогенных ритмов (AmaxН) на 56% ($p=0,02$), по сравнению с показателями у здоровых лиц.

На 10 сутки у пациентов ИМ обнаружено снижение способности микрососудов к ЭНВД: максимальная амплитуда прироста величины перфузии (ΔM) и резерв капиллярного кровотока (РКК) были меньше контрольных значений соответственно на 62% ($p=0,02$) и на 14% ($p<0,05$), что сопровождалось увеличением AmaxЭ на 71% ($p=0,006$), а AmaxН – на 74% ($p=0,001$) по сравнению со здоровыми лицами.

На 21 сутки ИМ способность сосудов к ЭНВД оставалась сниженной: ΔM был меньше чем у здоровых лиц на 54% ($p=0,005$), а РКК – на 19% ($p=0,0002$), при снижении AmaxC на 30% ($p=0,02$), что свидетельствует об ограничении артериального притока в систему микроциркуляции.

Через 3 месяца после ИМ способность кожных микрососудов к ЭНВД и механизмы регуляции микроциркуляции не различались с контролем.

Уже на 3 сутки развития ИМ способность кожных микрососудов к ЭЗВД оказалась сниженной: ΔМ была на 37% ($p=0,001$), а РКК – на 20% ($p=0,0006$) меньше, чем у здоровых лиц, что сопровождалось снижением АmaxС на 34% ($p=0,01$).

На 10 сутки ИМ способность сосудов к ЭЗВД оставалась сниженной: величина ΔМ была на 31% ($p=0,008$), а РКК – на 15% ($p=0,0007$) меньше, чем у здоровых лиц. Среди механизмов регуляции в процессе вазодилатации обнаружено увеличение АmaxЭ на 58% ($p=0,01$), АmaxН – на 42% ($p<0,05$) и снижение АmaxС на 28% ($p=0,04$) по сравнению с контролем.

На 21 сутки ИМ способность микрососудов к ЭЗВД снижалась еще более значительно: величина ΔМ и РКК были меньше показателей у здоровых лиц соответственно на 55% ($p=0,00005$) и 28% ($p=0,00004$), что сопровождалось снижением АmaxД (на 23%, $p=0,03$), который характеризует состояние венозного оттока.

Через 3 месяца после ИМ способность микрососудов к ЭЗВД все еще оставалась значительно угнетена: ΔМ и РКК были меньше контрольных значений соответственно на 58% ($p=0,04$) и 26% ($p=0,01$), а механизмы регуляции уже существенно не различались с показателями у здоровых лиц.

Результаты изучения содержания веществ, продуцируемых сосудистым эндотелием, показали, что уровень EDN 1 в крови у пациентов ИМ на 3, 10 и 21 сутки не изменялся.

Содержание IL1b в сыворотке крови на 3 сутки ИМ оказалось больше контрольных значений на 54% ($p=0,0008$), а на 10 сутки – на 60% ($p=0,004$). Концентрация NOS3 у пациентов с ИМ на 3 и 10 сутки наблюдения была выше показателей в группе контроля соответственно на 80% ($p=0,002$) и 31% ($p=0,047$). Данные литературы свидетельствуют, что IL1b, который продуцируется не только мононуклеарами, но и эндотелиоцитами, активируется в острой фазе ишемической болезни сердца и сам способен индуцировать NO-синтазы, регулировать пролиферацию и активировать эндотелий [2].

Заключение. Таким образом, в остром и подостром периоде ИМ состояние микроциркуляции и механизмов ее регуляции поддерживалось на нормальном уровне, а через 3 месяца выявлено увеличение кровенаполнения и снижение вазомоторной активности микрососудов.

Способность микрососудов к ЭЗВД оказалась сниженной уже на 3 сутки развития ИМ и продолжала уменьшаться в динамике наблюдения. На 10 и 21 сутки было обнаружено угнетение способности микрососудов реагировать вазодилатацией и на введение эндогенного донатора NO.

Выявленное увеличение АmaxЭ и АmaxН на 3 и 10 сутки ИМ при ЭНВД и на 10 сутки в период ЭЗВД может свидетельствовать об активизации локальных механизмов регуляции, в том числе со стороны сосудистого эндотелия, ведущую роль которого в поддержании уровня микрогемодинамики подтверждает и повышение на 3 и 10 сутки уровня NOS3 в крови. Однако нагрузочные пробы выявили ограничение резервных возможностей микроциркуляции во все изученные сроки.

Полученные данные могут быть использованы при выборе тактики лечения и проведения лечебных мероприятий в динамике формирования и развития первичного трансмурального инфаркта миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: руководство для врачей. – М.: Либроком. – 2013. – 496 с.
2. Стрюк Р.И. и др. Параметры микроциркуляции у больных инфарктом миокарда // Терапевтический архив. – 2012. – Т. 84, № 12. – С. 8–12.
3. Yang L. et al. Interleukin-1 beta increases activity of human endothelial progenitor cells: involvement of PI3K-Akt signaling pathway // Inflammation. – 2012. – Vol. 35, № 4. – P. 1242–1250.

ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ГЛУБИНЫ И ДЛИТЕЛЬНОСТИ НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Хизриева С. И., Халилов Р. А., Джафарова А. М.

Дагестанский государственный университет, Махачкала, Дагестан

Нарушение терморегуляции, снижение теплопродукции или повышенные потери тепла у гомеотермного животного могут привести к переохлаждению организма и развитию патологического состояния, называемого гипотермией. Гипотермия нашла широкое клиническое применение в качестве стратегии защиты от ишемических и реперфузионных повреждений клеток при инфаркте миокарда [6]. Протективные механизмы гипотермии обычно связывают со снижением скорости метаболизма, уменьшением воспаления и образования активных форм кислорода (АФК), ингибированием эксайтотоксичности и апоптоза [7]. Вместе с тем сама гипотермия может способствовать развитию ряда патологических процессов, выраженность которых определяется длительностью и глубиной гипотермического состояния.

Начальные этапы гипотермии сопровождаются дрожательным термогенезом, за время которого значительно увеличивается потребление кислорода митохондриями и продукция в них АФК. Пролонгирование гипотермии может изменить скорость генерации и элиминации АФК.

Ранее нами было обнаружено, что пролонгирование умеренной гипотермии в течение 1ч приводит к дальнейшему повышению интенсивности оксидативного стресса, о чем свидетельствуют высокие уровни продуктов окислительной модификации белков и перекисного окисления липидов (ПОЛ), однако за 3 ч гипотермии происходит их нормализация [8]. Механизмы, посредством которых за достаточно короткий промежуток времени (3 ч)

происходят столь существенные изменения содержания интермедиантов оксидативного стресса, все еще остаются неизвестными. Они могут быть связаны с изменениями активности компонентов антиоксидантной системы (АОС). Вопрос о вкладе компонентов АОС митохондрий в изменения оксидативного статуса митохондрий на различных временных этапах гипотермии остается не раскрытым.

Целью данной работы является исследование содержания и активности компонентов АОС митохондрий печени крыс при гипотермии различной глубины и длительности.

Опыты проводились на белых ненаркотизированных крысах Вистар массой 220-230 г. Животных делили на 5 групп по 8 в каждой – контрольную и 4 группы – животных, подвергнутых гипотермии. Температуру тела крыс снижали равномерно со скоростью 0,28°C/мин в течение 30 мин (кратковременная умеренная гипотермия). Достигнутый уровень гипотермии поддерживали в течение 1ч и 3ч (продолжительная гипотермия). Состояние глубокой гипотермии достигалось за 60 мин (0,3 °C/мин). Были исследованы следующие состояния животных: 1) Контроль (38,4 °C); 2) Кратковременная умеренная гипотермия (30°C, 30мин); 3) Умеренная гипотермия, продолжительная до 1 часа (30°C, 1час); 4) Умеренная гипотермия, продолжительная до 3-х часов (30°C, 3 часа); 5) Кратковременная глубокая гипотермия (20 °C, 1 час).

Выделение интактных митохондрий производили методом дифференциального центрифугирования в градиенте плотности сахарозы [3]. Активность ферментативных и содержание низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы исследовали на спектрофотометре Beckman DU-730. Исследовались ферменты супероксиддисмутаза (СОД) [5], глутатионпероксидаза (ГП) [2], глутатионредуктаза (ГР) [9], также определяли содержание восстановленного глутатиона (GSH) [1] и α -токоферола [4].

Исследование показало, что умеренная кратковременная гипотермия способствует повышению активности СОД на 53,2 %. Пролонгирование умеренной гипотермии до 1 ч способствует снижению активности фермента относительно контроля и кратковременной гипотермии на 36,1% и 58,3% соответственно. Пролонгированная 3 ч гипотермия повышает активность фермента: относительно контроля в 2,36 раз относительно кратковременной и пролонгированной одночасовой умеренной гипотермии в 1,5 раз и в 3,7 раз. Углубление гипотермического состояния до 20°C способствует такой же активации фермента, что и пролонгирование до 3 часов.

Исследование активности ГП показало, что активность фермента при кратковременной гипотермии незначительно (на 11,9%) увеличивается. Пролонгирование умеренной гипотермии до 1 ч способствует снижению активности фермента, которая составляет относительно контроля 49%, а относительно кратковременной гипотермии 54,4%. Дальнейшее пролонгирование умеренной гипотермии до 3 ч повышает активность фермента относительно пролонгированной гипотермии 1 час на 20,2%, при этом значение

активности фермента остаются ниже таковых кратковременной гипотермии и контроля.

Исследование активности ГР указывает на снижение активности фермента как при кратковременной, так и при пролонгированной 1 ч умеренной гипотермии, которое является статистически недостоверным. Дальнейшее пролонгирование гипотермического состояния до 3 ч повышает активность фермента относительно пролонгированной 1 ч гипотермии на 40%, а относительно кратковременной гипотермии на 26,2%, при этом значение активности ГР не превышает контрольных значений. При углублении гипотермического состояния значение держится на уровне умеренной кратковременной гипотермии.

Исследование содержания GSH показало, что кратковременная умеренная гипотермия приводит к снижению уровня GSH на 27,6% относительно контроля. Пролонгирование гипотермического состояния до 1 ч способствует дальнейшему снижению уровня GSH. Пролонгирование гипотермии до 3 ч повышает его на 54,2% относительно 1 ч пролонгированной гипотермии, однако содержание его остается по-прежнему низким по сравнению с контролем. Глубокая гипотермия примерно в такой же степени что и пролонгированная 3-х часовая гипотермия оказывает влияние на содержание GSH. Исследование содержания α -токоферола в митохондриях показало его значительное (на 40,2%) снижение относительно контроля. Пролонгирование гипотермии до 1 и 3 ч не приводит к дальнейшему снижению α -токоферола. Наиболее существенные изменения в содержании витамина происходят при глубокой гипотермии: снижение содержания витамина составляет 52%.

Полученные результаты исследования позволяют предположить, что нормализация маркеров оксидативного стресса при пролонгированной 3 ч гипотермии, скорее всего, связана с повышением активности СОД и ГР – фермента, участвующего в регенерации GSH – центрального антиоксиданта АОС митохондрий. Таким образом, на начальных этапах умеренной гипотермии происходит снижение уровня низкомолекулярных компонентов и активности ферментов АОС митохондрий печени крыс (СОД, ГП, ГР). Дальнейшее пролонгирование гипотермии (до 3 ч) повышает содержание глутатиона, активности СОД и ГР, а углубление гипотермии до 20 °С не оказывает существенного влияния на параметры АОС по сравнению с умеренной пролонгированной гипотермией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободно-радикального окисления и антиоксидантной системы организма. Методические рекомендации. – СПб.: ИКФ «Фолиант». – 2000. – С. 104.
2. Разыграев А.В. Метод определения глутатионпероксидазной активности с использованием пероксида водорода и 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной кислоты) // Клинико-лабораторный консилиум. – 2004. – № 4. – С. 19.
3. Рыбальченко В.К., Коганов М.М. Структура и функции мембран. Киев: ВШ. – 1998. – 312 с.
4. Свердлова Н.Д. Лабораторные работы по биофизике. Учебное пособие. ИИУ МГОУ. – 2019. – 67 с.

5. Сирота Т.В. Использование нитросинего тетразолия в реакции автоокисления адреналина для определения активности супероксиддисмутазы // Биомед. химия. – 2013. – Т. 59, № 4. – С. 399–410.
6. Hakim S.M., Ammar M.A., Reyad M.S. Effect of therapeutic hypothermia on survival and neurological outcome in adults suffering cardiac arrest: a systematic review and meta-analysis // Minerva Anesthesiol. – 2018. – Vol. 84, № 6. – P. 720–730.
7. Sun Y.J., Zhang Z.Y., Fan B., Li G.Y. Neuroprotection by Therapeutic Hypothermia. Front. Neurosci. – 2019. – Vol. 13. – P. 586.
8. Khalilov R.A., Dzhafarova A.M., Khizrieva S.I., Abdullaev V. R. Intensity of free-radical processes in rat liver mitochondria at moderate hypothermia of various duration // Tsitologiya. – 2019. – Vol. 91, № 7. – P. 536–547.
9. Mannervik B. Measurement of glutathione reductase activity // Current protocols in toxicology. – 1999. – № 1. – P. 721–724.

ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ В РЕГУЛЯЦИИ КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ КРОВИ ПРИ ИШЕМИИ- РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ

Ходосовский М. Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Монооксид азота (NO), CO и H₂S объединены под понятием «газотрансмиттеры» [1]. Термин «газотрансмиттер» был введен для характеристики газов, которые действуют как высвобождаемые нейронами трансмиттеры. Все они являются небольшими молекулами, свободно проходят через мембраны клеток и не взаимодействуют со специфическими мембранными рецепторами, синтезируется эндогенно с помощью ферментов и их синтез может регулироваться организмом, имеют определенные специфические функции при физиологических концентрациях и их эффекты имеют свое специфическое клеточное и молекулярное предназначение. В настоящее время роль NO при синдроме ишемии-реперфузии печени (ИРП) является недостаточно ясной. С одной стороны, как вазодилататор NO может улучшать процессы микроциркуляции, снижать миграцию и адгезию лейкоцитов и вызываемые ими повреждения органа при реперфузии [2]. С другой же стороны, как свободнорадикальная молекула NO способен потенцировать окислительный стресс, образовывать мощные окислители (пероксинитрит), что может усугублять развитие реперфузионных повреждений [3]. Учитывая способность NO взаимодействовать с гемоглобином, представляется важным рассмотреть данный вопрос подробнее.

Показано, что использование ингибиторов NO-синтазы приводит к снижению тяжести реперфузионных повреждений печени [4]. Вместе с тем, имеются данные об отрицательном эффекте ингибиторов синтеза NO при ИРП,

тогда как введение L-аргинина – субстрата для эндогенного синтеза NO, способствовало коррекции данной патологии [5]. Поскольку эффекты NO на кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние сильно зависят от условий среды и уровня окислительного стресса, изучили изменение данных параметров на модели ИРП у экспериментальных животных в условиях инфузии доноров NO. Установлено, что на 120-й минуте реперфузии значение $p50_{\text{реал}}$ в печеночной венозной крови у кроликов, получавших нитроглицерин, снижается на 15,6% ($p < 0,05$), уровень диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и оснований Шиффа (ОШ) в печени понижается на 44,6% ($p < 0,001$), 42,0% ($p < 0,01$) и 64,0% ($p < 0,001$) по сравнению с животными без препарата, соответственно, а показатели антиоксидантной системы (α -токоферол, ретинол, активность каталазы) печени не отличаются от контроля [6]. Данные изменения сродства гемоглобина к кислороду (СГК) крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса сопровождаются снижением активности АлАТ и АсАТ смешанной венозной крови на 42,0% ($p < 0,001$) и 27,1% ($p < 0,05$) в условиях введения нитроглицерина.

Выявлено, что под влиянием нитропруссид натрия в конце реперфузии понижается активность АлАТ и АсАТ смешанной венозной крови на 42,0% ($p < 0,001$) и 26,6% ($p < 0,05$), соответственно, в печени уменьшается содержание ДК на 48,0% ($p < 0,001$), МДА на 27,2% ($p < 0,05$), ОШ на 62,4% ($p < 0,01$). После введения нитропруссид натрия при ИРП в печени нормализуются параметры антиоксидантной защиты. Улучшение прооксидантно-антиоксидантного состояния печени и снижение активности биохимических маркеров повреждения мембран гепатоцитов в крови при инфузии нитропруссид натрия происходит на фоне повышения СГК крови (уменьшение показателя $p50_{\text{станд}}$ на 11,8% ($p < 0,05$)) в реперфузионном периоде [7].

Вторым соединением, отнесенным к газотрансмиттерам, является монооксид углерода – CO (угарный газ). В 60-х годах 20 века было показано, что CO образуется в организме человека в результате распада гемоглобина под воздействием фермента гемоксигеназы, который способствует ферментативному распаду гема на биливердин, железо и CO. Вплоть до 90-х годов CO считался побочным продуктом распада гема в гемоксигеназной реакции, однако затем были установлены его нейротрансмиттерные свойства [8]. Так, CO, как и NO, реализует свои эффекты через гуанилатциклазу, поддерживая уровень цГМФ в клетках даже в условиях ингибирования NO-синтазы, усиливает синаптическую передачу и проводимость импульсов в нервных волокнах, однако, в отличие от NO, реализует свой эффект через метаболитные рецепторы. Учитывая гуанилатциклазный механизм действия CO, вскоре были установлены его вазоактивные свойства [9]. Важно, что активация гемоксигеназы-1 может происходить под влиянием пероксинитрита, что является важным сигнальным механизмом защиты от окислительного стресса [10]. Как и NO, монооксид углерода, синтезируемый в эндотелии гемоксигеназой-2, проявил себя как вазодилататор, после чего начался период интенсивного изучения роли монооксида углерода в развитии сердечно-сосудистой патологии.

Вместе с тем эндогенная продукция СО сопровождается образованием эквимоллярных концентраций свободного железа (II), что в условиях окислительного стресса является мощным прооксидантным фактором. Активация гемоксигеназы при ИРП не является исключительно цитопротективным или цитотоксическим механизмом для тканей, что оставляет множество вопросов о роли СО при ИРП [11]. Нами установлено, что введение донора монооксида углерода (CORM-3) крысам при ИРП снижает в смешанной венозной крови активность АлАТ на 45,3% ($p < 0,01$), АсАТ на 45,2% ($p < 0,001$), значение показателя $p50_{\text{реал}}$ на 14,2% ($p < 0,05$), уровень ДК на 55,3% ($p < 0,001$), ОШ на 58,9% ($p < 0,001$) и повышает содержание α -токоферола на 9,0% ($p < 0,01$), ретинола на 20,1% ($p < 0,001$) в конце реперфузии по отношению к животным, у которых ИРП моделировали без CORM-3 [12]. Увеличение SGK крови и улучшение прооксидантно-антиоксидантного состояния под влиянием донора СО сопровождается снижением застойных явлений в синусоидах печени, а также нормализацией уровня восстановленного глутатиона (GSH) и активности каталазы, что дает основание полагать о значимом вкладе газотрансмиттера СО в снижении метаболических нарушений при ИРП.

Третьей молекулой, отнесенной к классу газотрансмиттеров, является сероводород – безцветный токсический газ [1]. Установлено, что H_2S синтезируется практически во всех тканях, а наибольшие его концентрации обнаруживаются в мозге, сердце, сосудах, печени и почках. Биологическая активность сероводорода впервые была показана в мозге, где установили его способность усиливать ответы с NMDA-рецепторов и долговременную потенциацию в нейронах гиппокампа [13]. В печени H_2S синтезируется из L-цистеина в основном под влиянием фермента цистатионин- γ -лиазы. У нокаутированных по данному ферменту мышей наблюдали развитие стойкой гипертензии, что позволило авторам подтвердить ранее дискутировавшуюся вазодилатационную функцию этого газа [14].

Установлено, что при ишемии-реперфузии печени H_2S подавляет апоптоз, повышает активность внутриклеточных антиоксидантов, индуцирует продукцию белков теплового шока (hsp-90), ингибирует провоспалительные факторы, что способствует уменьшению реперфузионных повреждений органа [15]. Вместе с тем известно, что, взаимодействуя с гемоглобином, H_2S образует сульфгемоглобин и метгемоглобин. Метгемоглобин не может присоединять кислород и повышает сродство нормального гемоглобина к кислороду. Снижение кислородной емкости в условиях нарушенной микроциркуляции может уменьшить и без того низкое поступление O_2 в ткани и усугублять метаболические расстройства при ишемии-реперфузии.

Нами показано, что применение донора H_2S – гидросульфида натрия (NaHS) при ИРП у крыс приводит к снижению в смешанной венозной крови активности АлАТ на 47,0% ($p < 0,001$), АсАТ на 53,0% ($p < 0,001$), $p50_{\text{реал}}$ на 13,9% ($p < 0,05$), уровня ДК на 68,6% ($p < 0,001$), МДА на 71,4% ($p < 0,001$), ОШ на 66,6% ($p < 0,001$), а также к повышению концентрации α -токоферола на 11,2% ($p < 0,001$), ретинола на 25,8% ($p < 0,001$), что указывает на уменьшение активности процессов ПОЛ, повышение факторов антиоксидантной защиты,

коррекцию СГК крови. Выявленное повышение СГК крови у экспериментальных животных, получавших NaHS, по-видимому, является важным механизмом улучшения прооксидантно-антиоксидантного состояния печени в постишемическом периоде.

Таким образом, доноры газотрансмиттеров NO, CO и H₂S при экспериментальном синдроме ишемии-реперфузии печени оказывают модулирующее влияние на кислородсвязывающие свойства крови, которое способствует снижению окислительных повреждений органа при данной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сукманский О.И., Реутов В.П. Газотрансмиттеры: физиологическая роль и участие в патогенезе заболеваний // Успехи физиол. наук. – 2016. – Т. 47, № 3. – С. 30–58.
2. Mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effects of nitric oxide / L. Y. Guan [et al.] // World J. Gastrointest. Surg. – 2014. – Vol. 6, № 7. – P. 122–128.
3. Hines I.N., Grisham M.B. Divergent roles of superoxide and nitric oxide in liver ischemia and reperfusion injury // J. Clin. Biochem. Nutr. – 2011. – Vol. 48, № 1. – P.50–56.
4. Chen T.H. et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthesis ameliorates liver ischemia and reperfusion injury induced transient increase in arterial stiffness // Transplant. Proc. – 2014. – Vol. 46, № 4. – P. 1112–1116.
5. Lucas M.L. et al. Effects of L-arginine and L-NAME on ischemia-reperfusion in rat liver // Acta Cir. Bras. – 2015. – Vol. 30, № 5. – P. 345–352.
6. Ходосовский М.Н., Зинчук В.В. Влияние нитроглицерина на прооксидантно-антиоксидантный баланс и функциональное состояние печени при ишемии-реперфузии // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2006. – Т. 149, № 12. – С. 631–634.
7. Ходосовский М.Н. Влияние нитропрусида натрия на прооксидантно-антиоксидантную систему печени при ее ишемии-реперфузии у кроликов // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2008. – № 3. – С. 23–27.
8. Dawson T.M., Snyder S.H. Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain // J. Neurosci. – 1994. – Vol. 14, № 9. – P. 5147–5159.
9. Zakhary R. et al. Heme oxygenase 2: endothelial and neuronal localization and role in endothelium-dependent relaxation // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 1996. – Vol. 93, № 2. – P. 795–798.
10. Ayer A. et al. Heme Oxygenases in Cardiovascular Health and Disease // Physiol. Rev. – 2016. – Vol. 96, № 4. – P. 1449–1508.
11. Bauer M., Bauer I. Heme oxygenase-1: redox regulation and role in the hepatic response to oxidative stress // Antiox. Redox Signal. – 2002. – № 5. – P. 749–758.
12. Ходосовский М.Н. Участие монооксид углерода в коррекции реперфузионных повреждений печени // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2019. – Т.17, № 2. – С. 127–132.
13. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator // J. Neurosci. – 1996. – Vol. 16, № 3. – P. 1066–1071.
14. Yang G. et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase // Science. – 2008. – Vol. 322, № 5901. – P. 587–590.
15. Shimada S. et al. Hydrogen sulfide augments survival signals in warm ischemia and reperfusion of the mouse liver // Surg. Today. – 2015. – Vol. 45, № 7. – P. 892–903.

СТРУКТУРНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ПОЛИМОРФИЗМА В РАЙОНЕ САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ БЕЛКА-ПРЕДШЕСТВЕННИКА БЕТА-АМИЛОИДНЫХ ПЕПТИДОВ С БЕТА-СЕКРЕТАЗОЙ

Хрусталёв В. В.¹, Хрусталёва Т. А.², Попинако А. В.³

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

²Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

³Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

Введение. Одним из ключевых этапов патогенеза болезни Альцгеймера является окислительный стресс [1]. Олигомеры бета-амилоидного пептида выступают в качестве восстановителей катионов Cu^{2+} и Fe^{3+} до Cu^+ и Fe^{2+} , причём непосредственно за счёт наличия в них трёх остатков гистидина. В качестве продукта этих реакций образуется H_2O_2 , который окисляет Cu^+ и Fe^{2+} , образуя свободный радикал $\text{OH}\cdot$ [1]. Накопление бета-амилоидных фибрилл вызывает провоспалительную реакцию, что в свою очередь стимулирует развитие окислительного стресса. Некоторые известные полиморфные варианты белка-предшественника бета-амилоидных пептидов (APP) приводят к увеличению их продукции и секреции [1]. Соответствующие аминокислотные замены расположены в непосредственной близости от сайта связывания APP с бета-секретазой. Следует отметить, что в процесс белок-белкового взаимодействия зачастую вовлекаются фрагменты полипептидных цепей, не имеющие определённой трёхмерной структуры. Такая особенность позволяет им образовывать достаточно устойчивые комплексы за счёт структурных переходов, происходящих непосредственно в процессе связывания.

Цель. Оценка влияния аминокислотных замен, приводящих к раннему развитию болезни Альцгеймера, и, наоборот, снижающих риск её развития, на структуру сайта связывания белка APP с бета-секретазой.

Методы исследования. В качестве материала послужили последовательности фрагмента белка APP, содержащие сайт связывания с бета-секретазой: использована нативная последовательность (TEEISEVKMDAEFRHDSGYEVHHQ) и таковые, содержащие шесть полиморфных вариантов. Структуру этих последовательностей предсказывали с помощью *ab-initio* методов компьютерного моделирования: PepFold 3.5 и C-QUARK. Фрагменты, способные к переходу в неструктурированное состояние (англ.: disorder), предсказывали с помощью алгоритма PentUnFOLD 2D. С помощью того же алгоритма оценили способность к переходу в неструктурированное состояние самой бета-секретазы (структура в PDB: 3ZL7).

Результаты и их обсуждение. Моделирование последствий четырёх полиморфных вариантов белка APP, при которых бета-секретеза должна образовывать более устойчивый комплекс с его фрагментом, привело к

получению противоречивых результатов. Согласно результатам PepFold 3.5, в рассматриваемом фрагменте APP формируется альфа-спираль, несмотря на наличие аминокислотных замен. Длина альфа-спирали незначительно варьирует среди пяти лучших моделей (от остатка 2 до остатка 12-16), что соответствует результатам работы PepFold 3.5 над нативной последовательностью. Результаты C-QUARK отличались значительно большим разнообразием. Для нативной структуры наиболее энергетически выгодной была конформация, включающая короткую альфа-спираль (остатки 2-7) и бета-шпильку (12-15 и 19-22). В трёх менее вероятных моделях, однако, на месте первого бета-тяжа предсказывалась вторая короткая альфа-спираль. Только пятая модель содержала одну длинную альфа-спираль. Так или иначе, в четырёх лучших моделях C-QUARK «сгибал» цепь в районе непосредственного сайта для протеолиза (между остатками M9 и D10). В этом же районе находится «изгиб» цепи и в случае наличия в ней двойной «Шведской» мутации KM670/671NL, благодаря которой бета-секретаза осуществляет протеолиз белка APP более эффективно. При этом на трёх моделях N-концевая альфа-спираль укорочена, а на двух вообще отсутствует, в отличие от альфа-спирали 11-16. Замена A673V привела к моделированию длинной альфа-спирали (2-16 или 2-13) во всех пяти лучших моделях. При заменах D678H и E682K «изогнутая» структура из двух коротких спиралей воспроизвелась в 4 из 5 лучших моделей. Ещё одна модель содержала одну длинную альфа-спираль. На двух моделях, содержащих замену D678H за второй спиралью (представленной спиралью 3/10) формировалась короткая бета-шпилька. Интересно отметить, что последствия замены E665D, которая не влияет на сродство бета-секретазы с белком APP, были практически аналогичны таковым для замены A673V: на всех пяти моделях формировалась длинная альфа-спираль. Структура исследованного фрагмента APP после внесения «Исландской» замены A673T, значительно снижающей сродство бета-секретазы с сайтом связывания, была практически такой же, как и после внесения замены E682K. Полученные данные свидетельствуют о том, что рассматриваемый фрагмент сам по себе подвержен структурным переходам: после N-концевой короткой альфа-спирали, за характерным «изгибом», может формироваться как бета-шпилька, так и вторая короткая спираль. Более того, фрагмент может «выпрямляться», формируя одну длинную альфа-спираль. Весьма вероятно, что «изгиб» полипептидной цепи APP формируется непосредственно в процессе взаимодействия бета-секретазы с субстратом.

На втором этапе исследования последствия шести перечисленных выше аминокислотных замен оценивали с помощью алгоритма PentUnFOLD 2D, как при условии существования фрагмента APP в форме короткой альфа-спирали и бета-шпильки, так и в форме одной длинной альфа-спирали. Следует отметить, что для нативной последовательности в первой конформации PentUnFOLD 2D предсказал, что четыре из пяти остатков короткой альфа-спирали склонны к переходу в неструктурированное состояние, так же как два из четырёх остатков в каждом бета-тяже и один остаток из петли между ними. Во второй конформации склонным к такому переходу фрагментом является не только

N-конец альфа-спирали (те же четыре остатка), но и её С-конец (три остатка). Наиболее значительные изменения в предсказаниях характерны для последствий «Исландской» протективной замены А673Т: в первой конформации петля между альфа-спиралью и бета-тяжом становится склонной к переходу как в бета-тяж, так и в альфа-спираль, а первый остаток этого бета-тяжа переходит в разряд абсолютно неструктурированных фрагментов цепи; во второй конформации три остатка из середины альфа-спирали становятся склонными к переходу в неструктурированное состояние. Замена А673Т внесла «хаос» в предсказания по аминокислотной шкале: на участке 7-14 для нативной последовательности предсказывалась альфа-спираль, а после замены она стала прерываться на бета-структуру в положении 9 и на петлю в положении 12, что сделало невозможным однозначное предсказание структуры в этом фрагменте. По бета-структурной шкале на участке 8-12 предсказывался бета-тяж, а после замены А673Т в положениях 9-12 предсказывается петля, а в положении 13 – альфа-спираль.

Интересно отметить, что при «Шведской мутации» фрагмент EV, находящийся на С-конце первой короткой альфа-спирали, перестаёт предсказываться как склонный к переходу в неструктурированное состояние. Нейтральная замена E665D никак не отразилась на предсказании фрагментов, склонных к переходу в неструктурированное состояние. Замена А673V закономерно привела к появлению у петли между короткой альфа-спиралью и бета-тяжом способности к переходу в бета-структуру в первой конформации и снизила стабильность альфа-спирали во второй. Замена D678H повысила стабильность С-конца первого бета-тяжа в первой конформации и привела к исчезновению у С-конца длинной альфа-спирали способности к переходу в неструктурированное состояние – во второй. Замена E682K привела к стабилизации С-конца второго бета-тяжа (по аминокислотной шкале).

В результате анализа трёхмерных структур бета-секретазы в комплексе с пептидами (структуры в PDB: 1XN2 и 1XN3) и оценки способности её фрагментов к переходу в неструктурированное состояние, нами сделан вывод о том, что наиболее структурно неустойчивый её участок связывает фрагмент полипептидной цепи, находящийся по направлению к С-концу от гидролизуемой связи, если субстрат сам по себе не является в значительной мере структурно неустойчивым.

Выводы. Для успешного связывания субстрата с бета-секретазой по направлению к С-концу от гидролизуемой связи должен находиться фрагмент с определённой третичной структурой. По этой причине последствием аминокислотных замен, стабилизирующих альфа-спираль (K670/671NL), или бета-структуру (A673V и E682K), или же и альфа-спираль, и бета-структуру (D678H) в данном фрагменте является раннее развитие болезни Альцгеймера. Протективная «Исландская» замена А673Т, наоборот, способствует переходу рассматриваемого участка APP в неструктурированное состояние, препятствуя протеолизу и снижая риск развития болезни Альцгеймера.

Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ Б21РМ-046 (Хрусталёва Т.А.), РФФИ 20-54-04-004 и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Попинако А.В.)

ЛИТЕРАТУРА

1. Meraz-Rios M.A., Franco-Bocanegra D., Rios D.T. et al. Early onset Alzheimer's disease and oxidative stress // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2014. – Vol. 2014, № 375968. – P. 1–14.

СИСТЕМНОЕ РЕДОКС-МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСА НА ОСНОВЕ СУКЦИНАТА НАТРИЯ, N-АЦЕТИЛ-L-ЦИСТЕИНА И РЕСВЕРАТРОЛА ПРИ ТЯЖЕЛОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Шляхтун А. Г., Радута Е. Ф., Букша Е. В., Сутько И. П.,
Богдевич Е. В.

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

Введение. Алкогольная интоксикация (АИ) наносит значительный ущерб здоровью населения большинства стран мира. Известно, что этанол оказывает общесистемное действие, инициируя процессы ковалентной модификации макромолекул ацетальдегидом, воспаления, нарушения всех видов метаболизма, сдвигая редокс-баланс в тканях организма в сторону прооксидантного. При этом происходит увеличение выработки активных форм кислорода (АФК), инициируются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), белков и других молекул, снижается активность антиоксидантных систем защиты (АОС) в тканях. Учитывая многогранность токсического действия этанола, нами разработано комплексное протекторное средство метаболического действия на основе сукцината натрия, N-ацетил-L-цистеина (АЦЦ) и ресвератрола.

Цель работы заключалась в исследовании системного редокс-модулирующего действия комплекса на основе сукцината натрия, АЦЦ и ресвератрола при моделировании тяжелой алкогольной интоксикации (ТАИ) у крыс.

Методы исследования. Исследования проведены на крысах-самцах Wistar с массой 180–200 г. Животные были разделены по 15 особей на 3 группы – контрольную, группу «ТАИ» и группу «ТАИ + Комплекс». ТАИ у крыс вызывали введением 30 % (в/о) раствора этанола в дозах до 12 г/кг/сут, в/ж, дважды в день (в 8:00 и 20:00), на протяжении 5 суток. На протяжении первых суток раствор этанола вводили в фиксированной дозе 5,0 г/кг. В последующие четверо суток этанол вводили в максимально переносимых дозах, которые

подбирались индивидуально для каждого животного [1]. С 3 дня и до конца эксперимента, на фоне АИ, крысам в/ж вводили «Комплекс», представляющий собой водный раствор сукцината натрия, АЦЦ и ресвератрола (37,5 мг/кг, 15 мг/кг и 11,5 мг/кг, соответственно), который готовили *ex tempore*. Контрольные животные получали эквивалентные количества воды. По завершению эксперимента животных этаназировали декапитацией. Ткани хранили в жидком азоте. Синаптосомально-митохондриальную фракцию ткани больших полушарий головного мозга (БП) выделяли методом дифференциального центрифугирования по Weiler. Биохимические исследования проводили в 10 % гомогенатах, которые готовили на 1,15 % растворе KCl с 50 мМ Трис-HCl, pH 7,4. Для оценки ПОЛ определяли количества субстанций, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РС). Для оценки АОС измеряли содержание низкомолекулярных тиолов (НМТ) по Ellman, активностей ферментов антиоксидантной защиты – глутатионредуктазы (ГР) по Carlberg и Mannervik, глутатион-S-трансферазы (GST) по Habig и глутатионпероксидазы по Paglia и Valentine. Активности комплексов электрон-транспортной цепи митохондрий (ЭТЦ) определяли по методу [2]. Содержание белка в гомогенатах тканей определяли по методу Bradford, а в синаптосомальной фракции – по Peterson. Для выявления значимости отличий между группами использовали дисперсионный анализ и тест средневзвешенного Тьюки. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ($p < 0,05$). Данные представлены как «среднее \pm стандартная ошибка среднего».

Результаты и их обсуждение. Для оценки процессов ПОЛ в тканях крыс при моделировании ТАИ исследовано содержание ТБКРС. Показано, что уровни ТБКРС в ткани печени повышались на 18,1 %, а в ткани БП на 30 %, по сравнению с контрольной группой. Исследование показателей АОС печени показало, что в группе ТАИ, наблюдалось снижение уровней НМТ на 21,0 % и активностей практически всех ферментов антиоксидантной на 15-25 % по сравнению с контрольной группой. Показано, что в условиях ТАИ уровень НМТ в ткани БП снижался на 31,8 % по сравнению с контрольной группой, при этом наблюдалось снижение активностей ГР и GST, соответственно на 23,8 % и 17,9 %, и напротив – увеличение активности ГПО на 34,3 %. Наблюдаемые изменения свидетельствуют о системном усилении процессов пероксидации липидов в условиях тяжелой интоксикации этанолом. Снижение уровней свободных тиолов и увеличение концентраций конечных продуктов ПОЛ (ТБКРС) в тканях при ТАИ свидетельствуют о развитии в тканях окислительного стресса. Снижение активностей ферментов АОС может быть связано с инактивацией ферментов, вызванной избыточной нагрузкой АФК и продуктом метаболизма этанола – ацетальдегидом.

Введение животным комплекса сукцината, АЦЦ и ресвератрола на фоне АИ предотвращало развитие ПОЛ в ткани печени и головного мозга крыс – содержание ТБКРС оставалось на уровне контрольных значений, также сохранялись уровни НМТ, активностей ГР и GST. Кроме этого, введение

«Комплекса» предотвращало повышение активности ГПО ткани больших полушарий крыс при ТАИ (таблица).

Значительная часть АФК в клетках генерируется при участии митохондрий. В синаптосомальной фракции БП наблюдались изменения активностей комплексов ЭТЦ митохондрий. Установлено, что активность I комплекса в синаптосомальной фракции БП крыс при ТАИ снижалась на 21,3%, а активность СДГ – на 19,1% по сравнению с контрольной группой. Введение разработанного препарата сопровождалось увеличением активностей I и II комплексов до уровня контрольных значений (таблица). Наблюдаемые изменения, вероятно, носят адаптационный характер. Известно, что I комплекс – основное место утечки электронов и образования АФК. Снижение активности I комплекса может свидетельствовать о попытке клеток предотвратить избыточную наработку свободных радикалов.

Дегидрогеназная активность АльДГ может служить маркером дисфункции митохондрий печени и избыточной генерации АФК. В условиях ТАИ в печени крыс снижалась активность АльДГ по отношению к этанолу на 24,5% по сравнению с контрольной группой животных. В группах животных, получавших разработанный комплекс активности АльДГ находились в пределах контрольных величин (таблица).

Таблица – Эффекты комбинации «Сукцинат + АЦЦ + Ресвератрол» при введении ее на фоне ТАИ на содержание НМТ, ТБКРС и активности ферментов АОС в тканях печени и больших полушарий крыс

Показатели	Группы		
	Контроль	ТАИ	ТАИ + КОМПЛЕКС
Головной мозг (большие полушария)			
ТБКРС	0,30±0,02	0,39±0,03 ^a	0,29±0,03 ^b
НМТ	4,94±0,14	3,37±0,14 ^a	5,06±0,20 ^b
ГР	54,7±3,0	41,7±3,8 ^a	57,3±3,2 ^b
ГСТ	69,8±3,4	57,3±2,6 ^a	65,3±3,4 ^b
ГПО	108,9±6,7	146,3±8,8 ^a	123,1±7,7 ^b
I комплекс	153,5±3,3	120,7±2,1 ^a	144,9±2,6 ^b
II комплекс	144,0±6,5	116,5±5,4 ^a	138,3±6,0 ^b
Печень			
ТБКРС	27,58±1,04	32,56±1,59 ^a	23,25±0,90 ^b
НМТ	5,99±0,35	4,79±0,40 ^a	5,59±0,67 ^b
ГР	85,2±3,7	66,0±5,5 ^a	83,3±4,3 ^b
ГСТ	522,1±22,5	450,7±15,1 ^a	531,0±23,4 ^b
ГПО	475,4±8,4	397,6±9,9 ^a	470,9±8,5 ^b
Каталаза	249,5±12,0	192,6±10,0 ^a	246,5±11,3 ^b
АльДГ	3,26±0,17	2,46±0,08 ^a	2,96±0,12 ^b

Примечание — а – p < 0,05 по отношению к контрольной группе, b – p < 0,05 по отношению к группе ТАИ

Выводы. Таким образом, при ТАИ в тканях крыс наблюдалось существенное усиление наработки АФК, проявляющееся в значимом увеличении концентраций конечных продуктов ПОЛ, снижении уровней НМТ

и ряда активностей ферментов АОС. Введение животным на фоне ТАИ разработанного комплекса на основе сукцината натрия, АЦЦ и ресвератрола предотвращало снижение активностей ферментов АОС, нормализовало содержание НМТ и снижало уровни ТБКРС в тканях печени и головного мозга крыс. Таким образом, основываясь на полученных данных о высокой эффективности разработанного препарата при ТАИ у крыс, можно рекомендовать его дальнейших испытаний с целью внедрения в производство препарата для облегчения признаков алкогольного отравления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шляхтун А.Г., Каспер Е.В., Богдевич Е.В., Радута Е.Ф. и др. Активность систем метаболизма спиртов и альдегидов печени крыс при тяжелой алкогольной интоксикации и коррекции комбинацией сукцината натрия, ацетилцистеина и ресвератрола // Вестник ГрГУ. – 2021. – Том. 11, № 3. – С. 126–132.
2. Birch-Machin M.A., Turnbull D.M. Assaying mitochondrial respiratory complex activity in mitochondria isolated from human cells and tissues // Methods Cell Biol. –2001. – Vol. 65. – P. 97–117.

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА С/Т ГЕНА CRU1 НА ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПРИ СТРЕСС-РЕАКЦИИ

Щурко А. С., Глуткин С. В., Зинчук В. В., Гуляй И. Э.,
Шульга М. А.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Долгосрочные последствия стресса и аллостатического состояния могут варьироваться в зависимости от природы, времени и продолжительности развития стрессоров. Аллостатические процессы могут изменяться на протяжении жизни, различаться у разных людей и управлять процессами передачи из поколения в поколение. Стресс оказывает влияние на экспрессию ДНК, определяя физиологические процессы и здоровье человека [Harper, 2005]. Также важным в данных условиях является «хроносистема» или время, определяющее «чувствительные» или «критические» периоды при влиянии стрессоров на аллостатическое состояние [Doan S.N., 2021].

Цель. Оценить влияние генотипов полиморфного варианта С/Т гена CRU1 на изменения функционального состояния при стресс-реакции

Методы исследования. В исследовании приняли участие добровольцы мужского пола. Эксперимент проводился в условиях различной продолжительности светлой и темной частей суток: в периоды весеннего равноденствия (ПВР), зимнего (ПЗС) и летнего солнцестояния (ПЛС).

Выделение ДНК человека из Buccal swabs проводилось набором реагентов «ДНК-экспресс». Определение полиморфного варианта С/Т гена CRY1 (rs12820777) осуществляли с помощью метода полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени с применением набора реагентов производства «Синтол», РФ. Определение параметров функционального состояния добровольцев до и после нагрузочной пробы осуществляли с помощью компьютерного комплекса для психофизиологического тестирования «НС-Психотест» фирмы «Нейрософт», на котором исследовались значение времени реакции, стрессоустойчивость, подвижность нервных процессов, коэффициент силы нервной системы (КСНС), коэффициента асимметрии внимания (КАВ) и индекс утомляемости (ИУ) в условиях различной продолжительности светлой и темной частей суток. Для анализа полученных результатов использовали методы непараметрической статистики – Н-критерий Краскела-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни. Проводили многофакторный анализ параметров в группах, корреляционный анализ Спирмена. Результаты представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25–75%). Критический уровень значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Оценка частоты встречаемости выявила, что гомозиготный дикий тип СС наблюдается у 70,9% обследованных, генотип СТ – 26,6% , генотип ТТ – 2,5%. Как видно из рисунка 3.4, распространенность аллеля С составляет – 84,2%, мутантного аллеля Т 15,8%.

В условиях наибольшей продолжительности светлой части суток у мужчин с генотипом СС наблюдается более низкое значение показателя возбуждения (0,38 [-0,35;0,97]) против ПВР (0,91[0,43;2], $p < 0,01$) и ПЗС (1,06 [0,24;2,02], $p < 0,01$) как до повышения активности мыслительной деятельности организма, так и после – в ПЛС (0,35 [-0,32;1,06]) в сравнении с ПВР (1,12 [0,5;2,2], $p < 0,0001$) и ПЗС (1,1 [0,5;1,83], $p < 0,001$). В период самой короткой темной части суток для лиц гетерозиготного типа характерно наименьший уровень параметра возбуждения (-0,08 [-1,41;0,39) по отношению к периоду самой короткой светлой части суток (1,21 [0,19;1,8], $p < 0,05$).

У носителей гомозиготного дикого типа значение времени реакции выше в условиях одинаковой продолжительности светлой и темной частей суток (307 [292;317] сек.) в сравнении с ПЗС (294 [286;305] сек., $p < 0,0001$) и ПЛС (296 [284;309] сек., $p < 0,001$). Такая же разница по этому показателю у данного генотипа наблюдается и после нагрузки ($p < 0,05$). В тоже время стимулирование мыслительной активности у носителей СС приводит к снижению значения времени реакции с 294 [286;305] сек. до 287 [278;303] сек., $p < 0,002$. Выявлено различие ($p < 0,05$) в уровне стрессоустойчивости после нагрузки между СС (111 [93;123]) и СТ (93 [69;99]) генотипами. Различий между показателями лабильности, выносливости и КСНС в различные периоды солнцестояния не выявлено.

До интеллектуальной нагрузки для обследованных СС генотипа в условиях самой короткой светлой части суток характерны более высокие значения ИУ (1,41 [1,3;1,54]) и КАВ (0,77 [0;1]) по отношению к ПВР

(1,39 [1,24;1,49] ($p<0,02$) и 0 [0;0,5] ($p<0,002$), соответственно) и ПЛС (1,35 [1,26;1,44] ($p<0,001$) и 0 [0;1] ($p<0,01$), соответственно). Установлено снижение обоих параметров у носителей гомозиготного типа после нагрузки в ПЗС: уменьшение ИУ с 1,41 [1,3;1,54] до 1,37 [1,31;1,46] ($p<0,02$), а КАВ – с 0,77 [0;1] до 0 [0;1] ($p<0,01$).

В условиях одинаковой продолжительности дня и ночи у обследованных генотипа СТ наблюдается корреляционная зависимость торможения до с возбуждением ($r=-0,89$) и ИУ ($r=-0,86$) после нагрузки; ИУ после с торможением ($r=-0,86$) до, возбуждением ($r=0,86$), временем реакции ($r=0,86$) и стрессоустойчивостью ($r=-0,56$) после нагрузки. Для носителей гетерозиготного типа в период наибольшей продолжительности темной части суток характерна взаимосвязь: между возбуждением, КСНС ($r=-0,82$) до и стрессоустойчивостью ($r=-0,78$) после нагрузки; между КАВ и торможением ($r=0,93$) до нагрузки; между стрессоустойчивостью после и возбуждением до нагрузки ($r=-0,77$); между ИУ и КАВ со стрессоустойчивостью после нагрузки ($r=-0,52$ и $r=0,62$, соответственно). В ПЛС у лиц генотипа СТ установлена корреляция значения времени реакции до с торможением ($r=-0,43$) и ИУ ($r=0,9$) до, со значением времени реакции ($r=0,93$), выносливостью ($r=0,79$) и КСНС ($r=-0,75$) после нагрузки; ИУ после с возбуждением ($r=-0,81$) до нагрузки; КАВ после с показателями возбуждения ($r=0,61$), среднее значение времени реакции ($r=0,6$) и стрессоустойчивости ($r=0,61$).

Выводы. Таким образом, установлено понижение внимания и увеличение утомляемости в ответ на интеллектуальную нагрузку в период зимнего солнцестояния у генотипа СС по маркеру С/Т гена CRY1. Для гетерозиготного СТ типа, в отличие от СС генотипа, характерен меньший уровень стрессоустойчивости в условиях летнего солнцестояния, что обусловлено более низкой активностью процесса возбуждения и повышенной утомляемостью в данный период.

ЛИТЕРАТУРА

1. Doan S.N. Allostatic load: Developmental and conceptual considerations in a multi-system physiological indicator of chronic stress exposure // Dev. Psychobiol. – 2021. – Vol. 63, № 5. – P. 825–836.
2. Harper L.V. Epigenetic inheritance and the intergenerational transfer of experience // Psychol. Bull. – 2005. – Vol. 131, № 3. – P. 340–360.

MEMBRANE POTENTIAL OF RED BLOOD CELLS UNDER TYPE 1 DIABETES IN HUMANS

Aljumaili Mustafa Ahmed

Yanka Kupala State University of Grodno, Belarus

Introduction. Membrane potential (also transmembrane potential or membrane voltage) is the difference in electric potential between the interior and the exterior of a biological cell [1]. Circulating red cells are one of the most peroxidation-susceptible biological tissues and they often serve as a model target tissue for studies on pathophysiology of oxidative damage [2]. The oxidative damage of cells destroys the normal packing of lipid bilayer and changes the properties of cell proteins. It has been postulated that the oxygen free radicals participate in cell damage in various tissues in diabetes mellitus [3]. Recently, an increased susceptibility to peroxidation of low-density lipoproteins and red blood cell membranes from diabetic patients has been shown, which can be responsible for the development of the vascular complications in diabetes mellitus [4]. Alterations in cell membrane potential upon oxidative stress may represent an early stage in the evolution of oxidative injury and may precede the formation of membrane discontinuities. Therefore, the aim of this work was to evaluate the changes of the membrane potential of human red blood cells subjected to oxidative stress *in vitro* and affected by diabetes.

The aim of the study was to show the effect of diabetes on the red blood cell membranes of people with type 1 diabetes.

Research method. Blood samples from type I diabetic patients were obtained from the Diabetological clinic of Grodno Medical University Hospital (Grodno). Blood from healthy donors was purchased from the Central Blood Bank in Grodno. Blood from diabetic patients was taken into 3% sodium citrate after overnight fast before morning insulin. After removing plasma and the leukocyte layer, erythrocytes were washed 3 times with cold (4 °C) phosphate-buffered saline (PBS: 0.15 mol/L NaCl, 1.9 mmol/L NaH₂PO₄, 8.0 mmol/L Na₂HPO₄, pH 7.4). Erythrocytes were used immediately after isolation.

The membrane potential was measured using an optical molecular probe (DISC3[5]), which responds to membrane potential of the cell. This method is well described in the literature and commonly used [5]. Briefly, before or after oxidative stress, erythrocytes were suspended at a hematocrit of 0.2% in buffered saline, containing 10 mmol/L Tris-HCl, pH 7.4 and 150 mmol/L (KCl + NaCl) with K⁺ concentrations in the range between 50 mmol/L to 140 mmol/L. To all suspensions of cells, fluorescent dye was added to give a final concentration of 2.10⁻⁵ mol/L. After the time required to level off the fluorescence intensity of the dye, valinomycin at a concentration of 10⁻⁶ mol/L was added to the samples and the fluorescent intensities were measured before and after valinomycin addition, and plotted as $(I_0 - I_{VAI})/I_0$ vs \log_2 of the corresponding external K⁺ concentration. The intersection point of the curve with the abscissa corresponds to K⁺_{out} (i.e. the external potassium

concentration), where no change in fluorescent intensity occurs upon addition of valinomycin. Valinomycin is an ionophore known to induce a marked K⁺ permeability through the membranes. In low potassium media, it induces the hyperpolarization of red blood cells, whereas the depolarization of the membrane occurs in high-potassium media. The membrane potential was calculated using Nernst equation:

$$E_m = \frac{RT}{F} \times \frac{K_{out}^+}{K_{in}^+}$$

where: E is the membrane potential; R is the gas constant; F is the Faraday's constant; K⁺_{out} is the external potassium concentration for which no change of fluorescence was observed after the addition of valinomycin, and K_{in} is the cellular potassium concentration for erythrocytes. The value of 150 mmol/L was used as the internal K concentration in red blood cells. DiSC [5] and valinomycin were added as concentrated ethologic solutions. The final ethanol concentration in the samples did not exceed 0.4 %. Fluorescence was excited at 625 nm and registered at 660 nm with a Perkin-Elmer LS-5B spectrofluorometer.

Result and discussion. Membrane potential is the difference in electric potential between the interior and the exterior of a biological cell [6]. Its magnitude reflects the steady-state activities of ions in both media in relation to the passive conductances and possible pumps for the individual ions. Changes in membrane potential can give information about the changes of the basic function and properties of the membrane.

The magnitude of the membrane potential of red blood cells is different from that of almost any other cell types in being small: (-10 to -15) mV [1]. The reported values for resting cells vary from -50 to -80 mV. Circulating red cells are one of the most peroxidation-susceptible biological tissues and they often serve as a model target tissue for studies on pathophysiology of oxidative damage [2]. The oxidative damage of cells destroys the normal packing of lipid bilayer and changes the properties of cell proteins. It has been postulated that the oxygen free radicals participate in cell damage in various tissues in diabetes mellitus [3]. In our experiments the values of [K⁺]_{OUT} obtained from the plots (I₀-I_{val})/I₀ vs log₂ K⁺ served to calculate the membrane potential according to the Nernst equation for the control red blood cells, value of (-11.0 ± 1.7) mV was obtained (n=17), whereas erythrocyte membranes in diabetes mellitus type I were hyperpolarized, showing the membrane potential equal to (-14.8 ± 1.9) mV (n=16). This difference is statistically significant: p < 0.01.

We observed the hyperpolarization of red blood cell membrane of diabetic patients due to changes in cell membrane ion permeability. Simultaneously we observed considerable accumulation of the products of lipid peroxidation in the membranes of human erythrocytes during diabetes. We suggested that the observed changes in red blood cell during diabetes are the result of constant oxidative stress and influence on blood rheology during diabetes.

Conclusions. The value of the membrane electrochemical potential of red blood cells of healthy donors was obtained (-11.0 ± 1.7) mV (n=17), whereas

erythrocyte membranes in diabetes mellitus type I patients were hyperpolarized, showing the membrane potential equal to (-14.8 ± 1.9) mV ($n=16$). This difference is due to constant oxidative stress in red blood cells during diabetes.

REFERENCES

1. Alberts B. et al. "Molecular biology of the cell: sixth international student." (2014). Vol. 336, № 4. – P. 317–318.
2. Chiu D., Lubin B., Shohet S.B. Peroxidation reaction in red cell biology. In: Pryor WA, Ed. Free radical in biology // Academic Press. – 1982. – Vol. V. – P. 115–155.
3. Jain S.K., McVie R., Duett J. Herbst J.J. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes // Diabetes. – 1989. – Vol. 38. – P. 1539–1543.
4. Rabini R.A., Fumelli P., Galassi R., et al. Increased susceptibility to lipid oxidation of low-density lipoproteins and erythrocyte membranes from diabetic patients // Metabolism. – 1994. – Vol. 43. – P. 1470–1474.
5. Schummer U., Schiefer H.G., Gerhardt U. Mycoplasma membrane potential determined by a fluorescent probe // Hoppe Seylers Z Physiol Chem. – 1978. – Vol. 359, № 8. – P. 1023–1025.
6. Lassen U.V. Electrical potential and conductance of the red cell membrane. In: Ellory JC, Lew VL, Eds. Membrane transport in red cells // Academic Press. – 1977. – P. 137–171.

MELATONIN DIMINISHES OXIDATIVE STRESS IN PLASMA AFTER LOW DOSE LIPOPOLYSACCHARIDE EXPOSURE IN MICE

Kurhaluk Natalia, Tkachenko Halyna

Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland

Introduction. The principal components of the outer membrane of Gram-negative bacteria are lipopolysaccharides (LPS), also termed endotoxins, which initiate inflammatory-induced immune responses (Guha and Mackman, 2001). LPS induces inflammatory cytokine release, including interleukin IL-6, IL-1 β , and tumor necrosis factor α *via* toll-like receptor 4 binding, activating the signalling pathways of mitogen-activated protein kinases (MAPKs), including extracellular signal-related kinase 1/2, p38MAPK, c-Jun NH₂-terminal kinase and nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B), have been demonstrated to be involved in LPS-induced inflammatory responses (Chan and Riches, 2001; Qi et al., 2013; Cochet and Peri, 2017).

The spectrum of physiological effects caused by melatonin is quite wide (Melchiorri et al. 1995; Escames et al. 1997; von Gall et al. 2002; Kurhaluk and Tkachenko, 2020; Kurhaluk et al., 2020, 2021). The action of this substance is observed at the systemic, tissue, cellular and subcellular levels (Saravanan et al. 2007). Melatonin reduces both basal and bacterial LPS-induced lipid peroxidation *in vitro*, as was shown by Sewerynek et al. (1995). Melatonin inhibited LPS-induced inflammation and oxidative stress in cultured mouse mammary tissue. It might contribute to mastitis therapy while treating antibiotic resistance (Shao et al., 2015;

Yu and Tan, 2019). The protective effects of melatonin on LPS-induced testicular nitro-oxidative stress, inflammation, and associated damages in the testes of male golden hamsters, *Mesocricetus auratus*, were revealed by Kumar and co-workers (2021). Melatonin can alleviate LPS-induced myocardial injury, providing novel insights into the treatment of sepsis-induced myocardial dysfunction (Su et al., 2021). Pretreatment with melatonin significantly increases antioxidant activities and decreases lipoperoxidation and oxidative protein levels in selected tissues and blood. These results indicate that the significant protective activity of melatonin on oxidative stress and morphological blood parameters induced by LPS might be associated with the antioxidant activity of melatonin. The present study evaluated the effects of melatonin on the LPS-induced response using biomarkers of lipid peroxidation in the plasma of male white Balb/c mice.

Materials and methods. All experiments were performed between 10:00 a.m. and 12:00 p.m. to compensate for the circadian rhythm. Healthy male white Balb/c mice (*Mus musculus*), weighing about 20–30 g and aged about 2–3 months, were used in the experiments. The data were collected from 24 adult animals divided into four groups. The mice were housed at a constant temperature of $20 \pm 2^\circ\text{C}$. The animals had free access to food and water throughout the experiments. The experiments were performed in accordance with the Guidelines of the European Union Council and the current laws and approved by the Ethical Commission (2612/2016).

The mice were randomly assigned into four groups: untreated controls ($n = 6$), melatonin-treated ($n = 6$), LPS-treated ($n = 6$) and LPS + melatonin-treated ($n = 6$). Melatonin was given as a daily intraperitoneal injection at a dose of 10 mg/kg melatonin for 10 days. Melatonin was dissolved in a minimum volume of ethanol and diluted in 0.9% NaCl to yield a dose of 10 mg/kg body weight, as described in previous studies (Bonfont-Rousselot and Collin, 2010). LPS (*E. coli* serotype 026:B6, Sigma-Aldrich Sp. z.o.o, Poznan, Poland) was injected once intraperitoneally in a 150 μg dose per mouse. Control mice were given 0.9% NaCl intraperitoneally.

Blood samples (3 mL) were collected from a single mouse into tubes containing $\text{K}_3\text{-EDTA}$. After centrifugation, plasma samples were removed and frozen at -20°C and stored until analysis. The level of conjugated dienes was determined according to Kamyshnikov (2004). Conjugated dienes groups were determined at absorption peak at the wavelength of 233 nm and expressed in nmol per milligram of protein. 2-Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were estimated using the method of Kamyshnikov (2004). TBARS levels were expressed in nmol of malondialdehyde (MDA) per milliliter of plasma.

All variables were tested for a normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors tests ($p > 0.05$) and the homogeneity of variance was checked using Levene's test. The significance of differences in the level of lipid peroxidation between the control and experimental groups was examined using one-way analysis of variance (ANOVA) and Bonferonni's post-hoc test. All statistical calculations were performed on separate data from each individual with Statistica 8.0 software (StatSoft Inc., Poland).

Results and conclusions. LPS administration was associated with the free radical oxidation of lipids. As this process occurs in several stages, we decided to assess the degree of change in levels of biomarkers at the beginning and the end of the lipid peroxidation process (LPO). Diene conjugation is considered to be a primary product following the formation of diene conjugates and ketodienes. Consequently, we estimated the initial substrate accumulation in this stage of free radical oxidation in plasma. After LPS treatment, the concentration of conjugated dienes was significantly higher ($F = 16.94$, $p = 0.000$) compared to those observed in control mice. Melatonin statistically decreased the concentration of conjugated dienes in plasma compared to LPS-treated mice. The concentration of MDA, i.e. the end product of the terminal stages of free radical oxidation of lipids plasma was significantly higher in plasma in LPS-exposed mice compared to the control group ($F = 13.84$, $p = 0.000$). Melatonin treatment in LPS-exposed mice resulted in lower MDA concentrations.

Thus, the MDA concentration (the end product of lipid oxidation), as an oxidative stress marker, was elevated in the plasma of LPS-treated animals compared to the control group. We have shown that the beneficial effects of melatonin on the oxidative damage induced by low-dose LPS are present in the initial (diene conjugates) stages of the LPO process. Melatonin treatment provided to LPS-exposed animals decreased overall oxidative stress in plasma. Melatonin provides multilevel protection in animals exposed to low-dose LPS.

REFERENCES

1. Chan E.D., Riches D.W. IFN-gamma + LPS induction of iNOS is modulated by ERK, JNK/SAPK, and p38(mapk) in a mouse macrophage cell line // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2001. – Vol. 280, № 3. – P. 441–450.
2. Cochet F., Peri F. The Role of Carbohydrates in the Lipopolysaccharide (LPS)/Toll-Like Receptor 4 (TLR4) Signalling // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, № 11. – P. 2318.
3. Escames G., Guerrero J.M., Reiter R.J., Garcia J.J., Munoz-Hoyos A., Ortiz G.G., Oh C.S. Melatonin and vitamin E limit nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates // *Neurosci. Lett.* – 1997. – Vol. 230, № 3. – P. 147–150.
4. Guha M., Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes // *Cell Signal.* – 2001. – Vol. 13, № 2. – P. 85–94.
5. Kamyshnikov V.S. Reference book on clinic and biochemical researches and laboratory diagnostics // MEDpress-inform, Moscow. – 2004.
6. Kumar J., Haldar C., Verma R. Melatonin Ameliorates LPS-Induced Testicular Nitro-oxidative Stress (iNOS/TNF α) and Inflammation (NF-kB/COX-2) via Modulation of SIRT-1 // *Reprod. Sci.* – 2021. – Vol. 28, № 12. – P. 3417–3430.
7. Kurhaluk N., Tkachenko H. 2020. Melatonin and alcohol-related disorders // *Chronobiol. Int.* – 2020. – Vol. 37, № 6. – P. 781–803.
8. Kurhaluk N., Tkachenko H., Lukash O. Melatonin modulates oxidative phosphorylation, hepatic and kidney autophagy-caused subclinical endotoxemia and acute ethanol-induced oxidative stress // *Chronobiol. Int.* – 2020. – Vol. 37, № 12. – P. 1709–1724.
9. Kurhaluk N., Tkachenko H., Lukash O. et al. Melatonin maintains the function of the blood redox system at combined ethanol-induced toxicity and subclinical inflammation in mice // *Sleep Breath.* – 2021. – Vol. 25, № 2. – P. 1045–1054.
10. Melchiorri D., Reiter R.J., Attia A.M. et al. Potent protective effect of melatonin on *in vivo* paraquat-induced oxidative damage in rats // *Life Sci.* – 1995. – Vol. 56, № 2. – P. 83–89.

11. Qi Z., Yin F., Lu L. et al. Baicalein reduces lipopolysaccharide-induced inflammation *via* suppressing JAK/STATs activation and ROS production // *Inflamm. Res.* – 2013. – Vol. 62, № 9. – P. 845–855.
12. Saravanan K.S., Sindhu K.M., Mohanakumar K.P. Melatonin protects against rotenone-induced oxidative stress in a hemiparkinsonian rat model // *J. Pineal Res.* – 2007. – Vol. 42, № 3. – P. 247–253.
13. Sewerynek E., Melchiorri D., Chen L. et al. Melatonin reduces both basal and bacterial lipopolysaccharide-induced lipid peroxidation *in vitro* // *Free Radic. Biol. Med.* – 1995. – Vol. 19, № 6. – P. 903–909.
14. Shao G., Tian Y., Wang H. et al. Protective effects of melatonin on lipopolysaccharide-induced mastitis in mice. *Int. Immunopharmacol.* – 2015. – Vol. 29, № 2. – P. 263–268.
15. Sun L.J., Qiao W., Xiao Y.J. et al. Layer-specific strain for assessing the effect of naringin on systolic myocardial dysfunction induced by sepsis and its underlying mechanisms // *J. Int. Med. Res.* – 2021. – Vol. 49, № 1. 300060520986369.
16. von Gall C., Stehle J.H., Weaver D.R. Mammalian melatonin receptors: molecular biology and signal transduction // *Cell Tissue Res.* – 2002. – Vol. 309, № 1. – P. 151–162.
17. Yu G.M., Tan W. Melatonin Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Oxidative Stress in Cultured Mouse Mammary Tissue // *Mediators Inflamm.* – 2019 – Vol. 2019. – P. 1-9.

BLOOD OXYGENATION PROBLEM IN NORMAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM

Mazalkova Maria

Molloy College, New York, USA

Introduction. Ensuring scientific and technological progress in medicine is necessary to improve the quality of medical care for the population and is largely achieved through the activation and use of the intellectual potential of medical workers by developing scientific and technical solutions at the level of world novelty with their protection by patents for inventions.

In the process of studying and analyzing a large array of scientific publications on the research topic [1, 2, 3, 4] no reviews of patent information were identified, which is an important part of scientific and technical information, as it reflects the results of research and development work aimed at developing new or improving known methods, devices or substances with world novelty and protected by patents.

In addition, the high inventive potential of the teaching staff contributes to the formation of the international image of the institution of science and education.

Purpose of the study: to analyze the contribution of inventors from the countries of the world community to the blood oxygenation problem in normal and pathological conditions of the cardiovascular system.

It should be emphasized that blood oxygenation and tissue perfusion are important metrics that may be monitored for a patient in a clinical or surgical setting.

Research methods. To achieve this goal, a patent search was carried out in the PATENTSCOPE search engine created by the World Intellectual Property Organization [5]. This system provides access to international patent documents in accordance with the Patent Cooperation Treaty (PCT), the European Patent Office (EPO), the Eurasian Patent Organization (EAPO), the African Regional Intellectual Property Organization (ARIPO), as well as to patent documents from regional and national funds. The PATENTSCOPE databases contain over 37 million patents, including 2.5 million Published International Applications (PCT) for inventions from more than 180 countries of the world. The depth of the conducted patent search covers the period from November 1954 to April 2022.

Search keywords: blood oxygenation.

Inventions under these keywords relate to medicine, in particular to medical equipment, namely to devices, methods and substances designed to restore blood circulation and oxygenation of blood in intensive care, cardiac surgery, disaster medicine, in acute, cardiorespiratory insufficiency, endangering life or significant harm to the health of the patient., as well as for carrying out extracorporeal perfusion in order to restore and maintain the viability of donor organs after stopping the natural circulation for subsequent transplantation.

Results and its discussion. As a result of the analysis in the databases for the specified period of time, 2036 patents were identified relating to various aspects of the problem of blood oxygenation. Such a significant number of patents on the research topic indicates the relevance of the problem and the interest of inventors from many countries of the world community a list of which is presented in the table below.

Table – List of countries with the largest number of patents on the research topic

Countries	Number of patents	Countries	Number of patents
USA	642	Canada	109
PCT	307	Russian Federation	99
China	249	Japan	52
EPO	221	United Kingdom	51
Australia	127	India	31

As shown in the table the largest number of patents were registered in the US, PCT, China, EPO, Australia and Canada, while the US is significantly ahead of all other countries in terms of the number of inventions on the research topic.

The largest number of patents on the topic of the study have applicants from the United States: Global Blood Therapeutics Inc. – 130, Cas Medical Systems Inc. – 42 and The Regents of The University of California – 36 patents.

Information about the most active applicants and authors of inventions makes it possible to constantly monitor their latest developments in order to timely use the information received when planning research, dissertations, and writing scientific papers.

Quite a large number (26%) of applications for inventions from their total number were filed with international patent offices, which indicates a relatively high

level of demand for patented technical solutions in the international arena and interest in their practical use.

In the process of analyzing (on the research topic. The largest number of patents were issued for devices for the introduction of drugs into the body (821), methods, devices, tools for diagnostics (727), drugs and medicines for therapeutic purposes (313).

Summary. It should be emphasized that scientists from many countries of the world have made a significant contribution to the development and patenting of new methods, devices and substances related to the problem of blood oxygenation in normal and pathological conditions of the cardiovascular system. The most productive period in terms of obtaining patents was the period of 2019-2021 (107, 172 and 177 patents, respectively).

The information presented in this paper can be useful to specialists in the field of studying the cardiovascular system and related disciplines, since patent information is reliable, up-to-date, has world novelty, and is widely used to analyze the inventive activity of scientific organizations and identify trends in the world development of science and technology.

REFERENCES

1. Yu B., Wang X., Song Y. et al. The role of hypoxia-inducible factors in cardiovascular diseases // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2022. – Vol. 238. – 108186.
2. Edwards A. Kurtcuoglu V. Review: Renal blood flow and oxygenation // *Pflugers Archiv*. – 2022. – P. 1-12.
3. Holmberg M.J. et al. Oxygenation and ventilation targets after cardiac arrest: A systematic review and meta-analysis // *Resuscitation*. – 2020. – Vol. 152. – P. 107–115.
4. Shaurya T., Pelosi P., Robba Ch. Optimizing oxygen delivery to the injured brain // *Current Opinion in Critical Care*. – 2022. – Vol. 28, № 2. – P. 145–156.
5. 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: 15.04.2022.

GENES CAGA AND CAGE HELICOBACTER PYLORI IN PATIENTS WITH GASTROINTESTINAL PATHOLOGY IN PATIENTS IN AL.KUT CITY/IRAQ

Mohammed Ghazi Alamarh

Yanka Kupala State University of Grodno, Belarus

Introduction. *Helicobacter pylori*, is a Gram-negative bacterium with a spiral shape, where colonize in gastric mucosa of the host. The bacterium is one of the most frequent pathogen infected approximately half of the world population, which can cause chronic gastritis, peptic ulcer and gastric cancer. *H. pylori* genotypes *cagA* and

CagE are present in the bacterial genome and, which are associated with increased pathogenicity of the microorganism.

Cytotoxin associated gene-A (CagA), is a highly immunogenic protein with a molecular weight reaches to 120 – 140- kDa. Cag-A is injected into cytoplasm of the host cells through a rigid syringe-like structure, is established by secretion system. Upon translocation CagA into host cells via type IV secretion system, undergoes to Src-dependent tyrosine phosphorylation as well activates a eukaryotic phosphatase (SHP-2), resulting to dephosphorylation of host cell proteins and cellular morphological alterations [1]. Furthermore, based on several studies, cagA seems to be involved in the neutrophil infiltration, the formation of free radicals, and DNA damage by stimulating the production of interleukin 8 (IL-8) in the inflamed region. Consequently, the existence of cagA gene has been linked to a higher level of inflammation, which could lead to increase the risks of digestive system diseases including peptic ulcer disease, gastric cancer and gastric MALT lymphoma [2].

CagPAI is a DNA insertion element with an estimated size roughly 40 kb, having nearly 32 genes that encode to type IV secretion system (T4SS). This system is a crucial for transmission peptidoglycan and CagA oncoprotein into host stomach epithelial cells. One of these proteins, CagE, is a structural component of the functional type IV secretion system that leads delivery of *H. pylori* virulence factor(s) into host cell. Several studies have described an association between *H. pylori* CagE and gastritis, duodenal ulcer, and peptic ulcer disease [3].

The aim of the study: was conducted a comparative analysis to the frequency of occurrence genes CagA and CagE *Helicobacter pylori* in patients with gastrointestinal pathology in Iraq.

Research methods. The study was conducted on clinical specimens (stool samples) during the period from July to September 2021. The examination of samples was carried out at the laboratories of Al.Karama teaching hospital and Red Crescent hospital Al.Kut city/ Iraq and the specimens conserved at -40 Celsius. All participants were screened on the basis of certain criteria, such as age, sex, the purity of water and condition of the stomach in order to select symptomatic patients with *H. pylori*. The study focused on patients with gastric disorders or patients who were diagnosed with gastrointestinal diseases by a specialist doctor within the last three months. The total number of cases was reached 85 involving 70 patients with gastrointestinal diseases and 15 cases as control group (asymptomatic). The non-invasive methods were used to detect the genotypes of *H. pylori* in stool samples. These methods include stool antigen detection (SAT) and polymerase chain reaction (PCR) in faecal specimens. Moreover, detection of bacterial antigens in faecal specimens was done by using *H. pylori* testing OnSite lateral flow kits made in the USA. Whereas, the polymerase chain reaction was used to figure out the genotype of *H. pylori*-associated with gastrointestinal diseases. The PCR primers were designed according to the MacroGen Company of South Korea. The primers were used for the detection and confirmation the presence Cag A and of *H. pylori* CagE genes in extracted DNA from stool samples.

Results and its discussion. In the current study, the genotypes of *H. pylori* were distributed on the basis of patients' genders. The cagA gene constituted up to

27.1% (n 19) , and the women were the most infected with CagA gene, where represented 10 patients out of 19. Whereas the CagE genotype demonstrated the lowest rate roughly 12.9% (n 9) among all H. pylori genotypes.

In addition, CagA is correlated to raise the risk of development atrophic gastritis and gastric cancer. Recent studies have pointed out that CagA is translocated directly into gastric epithelial cells via the type IV secretion system and undergoes tyrosine phosphorylation in the host cells [4]. We observed that CagA genotype was linked with gastrointestinal diseases peptic ulcer disease (55%), gastric cancer (5%) as well as Mucosa-associated lymphoid tissue disease (26%).

Numbers of researches have described a correlation between CagE genotype and gastrointestinal disorders involving: gastritis, duodenal ulcer, and peptic ulcer disease. However, few numbers of researches have described the relationship between this genotype with gastric cancer, but the number of cases included has been small and therefore the test results have often been combined with those of other diseases. In our study, we figured out CagE gene was shown a correlation with mucosa-associated lymphoid tissue roughly 18%. However, it appeared to be an equal percentage 4 % for each of peptic ulcer disease and gastric cancer.

Conclusions. Thus, we have shown that the occurrence of Helicobacter pylori CagA gene is higher than CagE in patients with gastrointestinal pathology in AL.Kut city/Iraq. Both genes are found in approximately equal proportions in diseases of the gastric cancer. However, it should be noted that CagA is associated with peptic ulcer disease of the intestinal tract, (55%). It is likely that the use of Helicobacter pylori CagA and CagE genotyping in patients with asymptomatic Helicobacter pylori infection may be one of the predictive factors for the development of infection in patients with gastrointestinal pathology in AL.Kut city/Iraq.

REFERENCE

1. Lu H. et al. Duodenal ulcer promoting gene of Helicobacter pylori // Gastroenterology. – 2005. – Vol.128, № 4. – P. 833–848.
2. Keikha M. et al. Helicobacter pylori cagA status and gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: a systematic review and meta-analysis // Journal of Health, Population and Nutrition. – 2022. – Vol. 4, № 1. – P. 1–11.
3. Hammond C. et al. Helicobacter pylori virulence factors affecting gastric proton pump expression and acid secretion // American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2015. – Vol. 309, № 3. – P. 193–201.
4. Yamazaki S. et al. Identification of Helicobacter pylori and the cagA genotype in gastric biopsies using highly sensitive real-time PCR as a new diagnostic tool // FEMS Immunology & Medical Microbiology. – 2005. – Vol. 44, № 3. – P. 261–268.

THE POSSIBLE ROLE OF INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS IN DEVELOPMENT OF PREMENSTRUAL SYNDROME SYMPTOMS: A REVIEW

Tariq Z. J., Grigoryan V. S.

University of Traditional Medicine, Yerevan, Armenia

Introduction. Premenstrual syndrome (PMS) is defined as a group of emotional and physical symptoms that happen cyclically in the second phase of the menstrual cycle. It is a global disorder, seen in 12–48% of reproductive-age women with a great variety between different regions¹. Menstrual cycle is strongly regulated by sex hormones (estrogen and progesterone). It is thought that mainly fluctuation in sex hormones (progesterone) in the luteal phase of menstrual cycle causes the symptoms such as mood swings, anxiety, or social withdrawal which in severe cases can heavily affect the quality of life in individuals experiencing PMS². Decreased level of progesterone which is anti-inflammatory in the last days of luteal phase leads to inflammatory reactions in the endometrium of menstruating women. Also, lowered progesterone leads to decreased defenses against reactive oxygen species: this process subsequently favors oxidative stress^{1,3}.

Regarding pathogenesis, different theories have been proposed regarding the causes of development of PMS:

- The abnormal function of hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA), which leads to defects in adrenal hormone secretion,
- The effects of the endocrine system represent another theory for explaining the physiopathological mechanism of PMS.
- Nutritional defects and environmental conditions are also among the main factors for development of PMS.
- Another theory which is currently under investigation is the improper inflammatory response to various stimulants (for instance, biological or physical) and the occurrence of oxidative stress which is an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and their inactivation by antioxidant mechanisms^{1,4}.

Both inflammation and oxidative stress tend to occur as an effect of metabolic activity; in some cases, inflammation helps the organism to survive in stress conditions. However, chronic inflammation and oxidative stress can lead to many pathological conditions and are also considered possible etiologic factors for PMS⁴.

The hypothesis that free radical-induced oxidative stress causes PMS is driven by the fact that ROS can lead to cell injury and, eventually, cell death, which are implicated in a range of reproductive health conditions such as preeclampsia, endometriosis, and recurrent pregnancy loss.

Purpose. Studies which analyze the levels of oxidative stress in women with PMS are scarce and ultimately reach conflicting conclusions. However, current research shows evidence of efficacy in management with certain supplements (such

as magnesium and vitamin B6, vitamin D or herbal medicines), as they may change the hormonal, anti-inflammatory, or oxidative stress profile of women experiencing PMS and improve their outcomes^{4,5}.

Thus, the purpose of our study was to review the available scientific data and derive conclusive results that would shed light on the issue of the role of oxidative stress in the development of PMS symptoms.

Methods. We carried out literature search in Databases including MEDLINE (via PUBMED), PubMed Central (PMC), Google Scholar and others, in order to search for articles relevant to the purpose of this review. We included the following keywords: PMS, Premenstrual Syndrome, Oxidative Stress, Antioxidants, Inflammation. We used different boolean operators to include or exclude the articles from our review list based on their titles. The articles were further filtered based on the abstracts. We filtered out the articles that were not addressing the specific issue of the present paper. The remaining articles were included in the review and evaluated for the following criteria: clinical relevance, correlation, journal of publication, association of PMS with oxidative stress, the interplay between inflammation and oxidative stress and their role in the mechanisms of development of the PMS-related symptoms.

Results and Discussion. Although several potential mechanisms have been proposed to explain the issue, the experimental and clinical evidence reported in literature indicates a strong association and correlation between inflammation biomarkers, oxidative stress and PMS, also considering that antioxidant levels in plasma show a great alteration in PMS.

Based on the results of our review for current evidence present in the literature, and analyzing the data from recently published scientific articles, most of researches are emphasizing on the theory of explaining the role of sex hormone level alternations during the menstrual cycle and decreased serum antioxidants in PMS. The exact physiological mechanism by which increased serum progesterone and antioxidants can lower the incidence of PMS symptoms remains not clearly understood. Various supplements consisting of vitamins and medications (including herbal medicines) with antioxidant properties have been proposed by different authors for management and relief of the PMS symptoms. Based on the results of the review, we also consider the importance of continuing the research aimed at assessment of the role of oxidative stress and inflammation in the development of PMS symptoms, in order to develop more comprehensive and definitive approaches for mitigation of moderate to severe symptom manifestations in PMS.

Conclusions. Despite extensive research, the full perspective of the etiology of PMS remains unknown. The review carried out by the authors was an attempt to shed light on the possible correlation between premenstrual syndrome (PMS), oxidative stress and inflammation, as well as to seek a consensus between the diverging and scarce data present in the literature. The present review has revealed, evaluated and summarized a considerable amount of research that has been dedicated to the assessment of the potential role of different medications and supplements (including vitamins E, D) with antioxidant properties in improving the antioxidant capacity of the body, leading to the reduction of PMS-related symptoms. This data is indicative

of the important and previously underestimated role of oxidative stress in the development of PMS symptoms. However, the specific mechanism by which the mentioned medications mitigate the presentation of PMS-related symptoms remains not fully described. Hence, we also emphasize the importance of the need to carry out further investigations on this topic, which will be of a notable importance in medical science and, particularly, in gynecology.

REFERENCES

1. Frankel R.A., Kim K., Michels K.A. et al. Serum antioxidant vitamin concentrations and oxidative stress markers associated with symptoms and severity of premenstrual syndrome: a prospective cohort study // *BMC Women's Health*. – 2021. – Vol. 21, № 49. – P. 1–11.
2. Constantinou M., Demetrios N.K. et al. Antioxidant protection during the menstrual cycle: the effects of estradiol on ascorbic-dehydroascorbic acid plasma levels and total antioxidant plasma status in eumenorrhoeic women during the menstrual cycle // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. – 2010. – Vol. 85, № 8. – P. 960–965.
3. Roomruangwong C., Matsumoto A.K., Michelin A.P. et al. The role of immune and oxidative pathways in menstrual cycle associated depressive, physio-somatic, breast and anxiety symptoms: Modulation by sex hormones // *Journal of Psychosomatic Research*. – 2020. – № 135. – P. 1–8.
4. Granda D., Kaluza J., Szmidt M.K. Is Premenstrual Syndrome Associated with Inflammation, Oxidative Stress and Antioxidant Status? A Systematic Review of Case-Control and Cross-Sectional Studies // *Antioxidants (Basel)*. – 2021. – Vol. 10, № 4. – P. 1–17.
5. Amani R., Heidari H., Tavasoli P. et al. Vitamin D Supplementation for Premenstrual Syndrome-Related inflammation and antioxidant markers in students with vitamin D deficient: a randomized clinical trial // *Scientific Reports (Nature)*. – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 1–8.

BIOMARKERS OF LIPID PEROXIDATION IN THE BLOOD OF CHILDREN WITH ENDEMIC FLUOROSIS

Tkachenko Halyna¹, Kurhaluk Natalia¹, Skaletska Natalia²

¹Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland

²Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Introduction. Fluoride plays a fundamental role in the normal growth and development of the body for example the consumption of levels between 0.5-1.0 ppm *via* drinking water is beneficial for the prevention of dental caries but its excessive consumption leads to the development of fluorosis (Srivastava and Flora, 2020). Acute or chronic exposure to high fluoride doses can result in dental enamel and skeletal and soft tissue fluorosis. Dental fluorosis is manifested as mottled, discolored, porous enamel that is susceptible to dental caries (Suzuki et al., 2015). Endemic fluorosis is a systemic chronic disease caused by excessive intake of fluoride (Zhong et al., 2021).

Fluoride exerts diverse cellular effects in a dose-, cell-type-, and tissue-dependent manner. Fluoride exposure increases the generation of superoxide ($\cdot\text{O}_2^-$)

and other reactive oxygen species (ROS) that are associated with fluoride toxicity (Izquierdo-Vega et al., 2008; Garcia-Montalvo et al., 2009). Fluoride-induced ROS generation causes mitochondrial damage and DNA damage, which may lead to impairment of ameloblast function. To counteract this impairment, SIRT1/autophagy is induced via c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling to protect cells/ameloblasts from fluoride-induced oxidative damage that may cause dental fluorosis (Suzuki et al., 2015).

Fluorosis is irreversible, but preventable by appropriate and timely intervention. Therefore, a greater understanding, at biochemical and molecular levels, of the disease progression is very important. Interaction between fluoride, nutritional status, dietary habits, environmental factors, and the body's response to ingested or inhaled fluoride is important in understanding the nature of the disease (Reddy et al. 2003). Since ROS are implicated as important pathologic mediators in many disorders, various studies have investigated whether oxidative stress and lipid peroxidation are involved in the pathogenesis of chronic fluorosis (Reddy et al., 2003). Recently, it was reported in children aged 3 to 10 years with endemic fluorosis that there was increased oxidative stress based on increased lipid peroxidation marker (malonic dialdehyde, MDA), ascorbic acid, glutathione peroxidase (GPx) activity, and decreased glutathione (GSH) levels (Shivarajashankara et al., 2001). Thus, the aim of this study was to determine lipid peroxidation status in the blood of children habituated to endemic fluorosis areas (Sosnivka village, Lviv region, western part of Ukraine).

Materials and methods. Children from the Sosnivka village of Lviv Region (western Ukraine), with clinically defined fluorosis in the age group of 7-10 years were recruited for the study, with written consent from their parents. These subjects have been exposed to fluoride (> 5 ppm) through drinking water for more than 5 years. All children from the Sosnivka village were divided into three groups depending on their dental status: I group – 21 healthy children, the second group – 31 patients with fluorosis I degree, and III group – 15 children with fluorosis II degree. The study protocol was approved by the Institutional Human Ethical Committee. Fifteen healthy human volunteers (5 females and 9 males) in the age range of 7-11 years from the Stryi Sambor of Lviv Region (western Ukraine), whose drinking water contained permissible levels (<1 ppm) of fluoride, served as controls. The clinical history of the subjects was recorded.

After overnight fasting, blood samples of the subjects were collected by venipuncture into heparinized tubes. Plasma and buffy coats were removed by centrifugation at 3,000 rpm for 20 min. RBC were washed 3 times with buffered saline, and the packed cells were then aliquoted for further analysis.

The acyl hydroperoxides assay was described by Kamyshnikov (2004). To 0.2 mL of plasma was added 4 mL “heptane-isopropanol” mixture and vortexed vigorously. Then 1 mL of HCl (pH 2.0), and 2 mL of heptane reagent were added, vortexed, and centrifuged at 3,000 rpm for 5 min. The lipid hydroperoxides level was read spectrophotometrically at 233 nm and expressed as A_{233} per mL. In the blank, a mixture with distilled water was used.

The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) with the Kamyshnikov (2004)

method for determining the malonic dialdehyde (MDA) concentration. This method is based on the reaction of the degradation of lipid peroxidation product, MDA, with TBA under high temperature and acidity to generate a colored adduct that is measured spectrophotometrically. The μmol of MDA per L was calculated by using $1.56 \cdot 10^5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ as the extinction coefficient.

Results and conclusions. A significant increase in the primary products of lipid peroxidation (acyl hydroperoxides) by 63.46% and 67.31% ($p < 0.001$) in the blood of children with fluorosis I and II degrees, respectively (Sosnivka, Sokal district, Lviv region) compared to control values obtained in the blood of healthy children living in the non-polluted area was observed. However, the significant differences between values in the blood of children with different fluorosis degrees were not demonstrated. In turn, significant changes in the TBARS content in the blood of fluorosis-affected children from polluted areas (Sosnivka) were noted; we noticed only a tendency to increase in TBARS values in the blood of healthy children living in this area. However, the TBARS content in the blood of children at Sosnivka is much higher compared with values in children from the control area (Stary Sambor) by 29.63% ($p < 0.05$), 31.11%, 40% ($p < 0.001$) in healthy children, children with fluorosis I and II degrees, respectively. This can define the characteristics of pathogenesis, the clinical manifestations, and the complications of this disease.

Chronic fluorosis can severely damage many systems of the human body, but its pathogenesis is poorly understood (Krishnamachari, 1986). As in the case of many chronic degenerative diseases, increased productions of reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation have even been considered to play an important role in the pathogenesis of chronic fluoride toxicity. Interactions between fluoride and free-radical reactions have been studied in various biological systems including fluorosis (Rzenski et al., 1998). However, the relationship between fluorosis/fluoride toxicity and oxidative stress is still not clear. In the absence of conclusive evidence for increased oxidative stress in fluorosis, some studies suggest the use of antioxidants and antioxidant-rich foods for the management of fluorosis (Susheela, 1999) and also for the beneficial effects of antioxidants as antidotes for fluoride toxicity (Chinoy and Memon, 2001; Chinoy and Patel, 2001). In view of numerous conflicting and contradictory reports with regard to fluorosis and the oxidative/antioxidant system, we assessed the oxidative stress biomarkers in the blood of individuals from the endemic fluorosis area. We revealed a significant change in lipid peroxidation parameters tested, which included lipid hydroperoxides and TBARS. In agreement with these results, we did not observe a change in lipid hydroperoxides in the plasma of healthy children at Sosnivka compared to control subjects. Therefore, extensive studies are necessary to investigate the mechanism(s) of fluoride toxicity in various tissues and organs, and strategies may be decided accordingly to counter the toxic effect of fluoride.

REFERENCES

1. Chinoy N.J., Memon M.R. Beneficial effects of some vitamins and calcium on gastrocnemius muscle and liver of male mice // Fluoride. – 2001. – Vol. 34. – P. 21–33.

2. Chinoy N.J., Patel J.N. Effects of sodium fluoride and aluminium chloride on ovary and uterus of mice and their reversal by some antidotes // *Fluoride*. – 2001. – Vol. 34. – P. 9–20.
3. García-Montalvo E.A., Reyes-Pérez H., Del Razo L.M. Fluoride exposure impairs glucose tolerance *via* decreased insulin expression and oxidative stress // *Toxicology*. – 2009. – Vol. 263, № 2-3. – P. 75–83.
4. Izquierdo-Vega J.A., Sánchez-Gutiérrez M., Del Razo L.M. Decreased *in vitro* fertility in male rats exposed to fluoride-induced oxidative stress damage and mitochondrial transmembrane potential loss // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 230, № 3. – P. 352–357.
5. Kamyshnikov V.S. A reference book on the clinic and biochemical research and laboratory diagnostics. MEDpress-inform, Moscow. – 2004.
6. Krishnamachari K.A. Skeletal fluorosis in humans: a review of recent progress in the understanding of the disease // *Prog. Food Nutr. Sci.* – 1986. – Vol. 10, № 3-4. – P. 279–314.
7. Reddy G.B., Khandare A.L., Reddy P.Y. et al. Antioxidant defense system and lipid peroxidation in patients with skeletal fluorosis and in fluoride-intoxicated rabbits // *Toxicol. Sci.* – 2003. – Vol. 72, № 2. – P. 363-368.
8. Rzenski R., Chhubek D., Machoy Z. Interactions between fluoride and biological free-radical reactions // *Fluoride*. – 1998. – Vol. 31. – P. 43–45.
9. Shivarajashankara Y.M., Shivashankara A.R., Rao S.H. et al. Oxidative stress in children with endemic skeletal fluorosis // *Fluoride*. – 2001. – Vol. 34. – P. 103–107.
10. Srivastava S., Flora S.J.S. Fluoride in Drinking Water and Skeletal Fluorosis: a Review of the Global Impact // *Curr. Environ. Health Rep.* – 2020. – Vol. 7, № 2. – P. 140–146.
11. Susheela A.K. Fluorosis management programme in India // *Current Science*. – 1999. – Vol. 77, № 10. – P. 1250–1256.
12. Suzuki M., Bandoski C., Bartlett J.D. Fluoride induces oxidative damage and SIRT1/autophagy through ROS-mediated JNK signaling // *Free Radic. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 89. – P. 369–378.
13. Zhong N., Yao Y., Ma Y., et al. Effects of Fluoride on Oxidative Stress Markers of Lipid, Gene, and Protein in Rats // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2021. – Vol. 199, № 6. – P. 2238-2246.

СОДЕРЖАНИЕ

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНОЙ L-АРГИНИН-
NO-СИСТЕМЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РАЗНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ ПАРЦИАЛЬНОГО
ДАВЛЕНИЯ КИСЛОРОДА

Акулич Н. В., Зинчук В. 3

ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ МОНООКСИД АЗОТА И СЕРОВОДОРОДА У ЛИЦ С
РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ АСПРОСИНА

Аль-Джебур Джаафар Шати Оваид..... 6

МНОГОФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ПЕРЕМЕННЫХ СРЕДЫ НА ОБМЕН
ВЕЩЕСТВ ЛЕГОЧНЫХ ПРЕСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ

Балаева-Тихомирова О. М. 8

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В ЭРИТРОЦИТАХ ИНДУЦИРОВАННЫЙ ОЗОНОМ

Билецкая Е. С., Шалесная С. Я, Володина А. А..... 12

АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-ПРОИЗВОДНЫХ ЦИТИЗИНА

Богдевич Е. В., Шляхтун А. Г., Турсунходжаева Ф. М..... 15

ИЗМЕНЕНИЯ ПРООКСИДАНТНО-ОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У КРЫС С
ТОТАЛЬНОЙ И СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

**Бонь Е. И., Максимович Н. Е., Дремза И. К., Маркова А. Д.,
Родцевич А. Г., Валько Н. А..... 18**

СОСТОЯНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ И ОКСИДАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ГОЛОВНОГО
МОЗГА ПРИ ЕГО ИШЕМИИ

Бонь Е. И., Максимович Н. Е., Дремза И. К. 20

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВНОСТЬ AQP1
МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Босякова Е. В., Титовец Э. П..... 26

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА В
ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Вронин Е. И., Алексеева Р. А. 29

АНАЛИЗ ПСИХОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА В ОТВЕТ НА СТРЕСС-
РЕАКЦИЮ

Гладкая А. А., Крупская Е., Миклашевич О. С., Глуткин С. В. 31

ИСТОЩЕНИЕ ПУЛА ГЛУТАТИОНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ
ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «АМИКАЦИН»

Гладкий М. Л., Курбат М. Н., Дорошенко Е. М., Горева Д. А..... 34

АПОПТОТИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ЯДЕРНОЙ ДНК В КЛЕТКАХ НЕРВНЫХ
ГАНГЛИЕВ МОЛЛЮСКА LYMNAEA STAGNALIS ПРИ ДЕЙСТВИИ ПЕРОКСИДА
ВОДОРОДА

Глинская Н. Д., Сидоров А. В. 36

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА И ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ КРЫС ПРИ ФОРМИРОВАНИИ АЛЛОСТАТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ

**Глуткин С. В., Зинчук В. В., Гуляй И. Э., Марковский М. Г.,
Яблуновский Г. А. 39**

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС У ПАЦИЕНТОВ С
САРКОИДОЗОМ БЕКА

**Глуткина Н. В., Гуляй И. Э., Зинчук Вл. В., Гузаевская О. И.,
Велисейчик А. А..... 41**

ЗНАЧЕНИЕ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В ОБЕСПЕЧЕНИИ
ГОМЕОСТАЗА В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Гусакова Е. А., Городецкая И. В. 44

РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ДИНАМИКЕ ОСТРОГО
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРИТОНИТА

**Гусаковская Э. В., Максимович Н. Е., Шигатов Г. О., Олизарович М. Ю.,
Сидоренко Я. Э., Коршун А. Н., Валаханович П. Д..... 47**

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЭНДОТЕЛИНА-1 У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ
БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Давыдчик Э. В., Мониц А. С., Ярошевич Е. В..... 49

ПОЛИМОРФИЗМЫ С677Т И А1298С ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРО-ФОЛАТРЕДУКТАЗЫ
У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2
ТИПА

Давыдчик Э. В., Мартинкевич О. Н..... 51

СИСТЕМНЫЙ И ТКАНЕВОЙ КИСЛОРОДНЫЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ ПРИ
КАРОТИДНОЙ ЭНДАРТЕРАКТОМИИ

Дорохин К. М., Балла А. А., Орехов С. Д., Стасевич Е. В. 52

РЕГУЛЯЦИЯ ИОНАМИ КАЛЬЦИЯ И ФЛАВОНОИДАМИ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ

Заводник И. Б., Коваленя Т. А., Лапшина Е. А., Ильич Т. В., Чёрная М. Н..... 55

ВЛИЯНИЕ КОРВИТИНА НА ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ КРОВИ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Засимович В. Н., Иоскевич Н. Н..... 58

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ: ДЕСЯТЬ ЛЕТ СПУСТЯ

Зинчук В. В. 61

РЕПЕРФУЗИОННО-РЕОКСИГЕНАЦИОННЫЙ СИНДРОМ В АНГИО-ХИРУРГИИ: СОВРЕМЕННЫЕ СОСТОЯНИЯ ПРОБЛЕМЫ

Иоскевич Н. Н., Засимович В. Н..... 64

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕ-ДУКТАЗЫ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ГИПЕРМОБИЛЬНОСТИ СУСТАВОВ

Карпович Ю. Л., Пронько Т. П., Карпович Ю. И., Горчакова О. В..... 67

МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО И ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА: ВЛИЯНИЕ НА МИОКАРД ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПРЕПАРАТАМИ АНТРАЦИКЛИНОВОГО РЯДА

Карпуть И. А., Снежицкий В. А., Курбат М. Н. 70

ФАКТОРЫ ДОСТАВКИ КИСЛОРОДА К ТКАНЯМ И МЕТОДЫ ИХ ОЦЕНКИ

Кислухина Е. В., Кислухин В. В..... 73

ЭФФЕКТЫ УМЕРЕННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА СИНАПТИЧЕСКУЮ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗУ И ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Кличханов Н. К., Джафарова А. М. 76

РАССТРОЙСТВА БОЛЬ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ВНЕГОСПИТАЛЬНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ

Козловский В. И., Дубас И. О., Акулёнок А. В. 79

ГИПОКСИЯ, АССОЦИИРОВАННАЯ С ОЖИРЕНИЕМ

Козловский В. И., Сергиевич А. В. 82

АНАЛИЗ ЗАВИСИМОСТИ «ДОЗА-ЭФФЕКТ» ДЛЯ ДИПЕПТИДА PRO-GLY В УСЛОВИЯХ ИНТРАГАСТРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

**Кравченко Е. В., Жебракова И. В., Бизунок Н. А., Дубовик Б. В.,
Зильберман Р. Д. 86**

РЫБИЙ ЖИР ПРЕДУПРЕЖДАЕТ СНИЖЕНИЕ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ У КРЫС С ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИМ СТРЕССОВЫМ РАССТРОЙСТВОМ

Кужель О. П., Кужель Д. К. 89

АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ В ОПЫТАХ IN VITRO

**Кузьмицкая И. А., Романчук А. В., Eroшенко Ю. В., Мороз В. Л.,
Белоновская Е. Б., Кирко С. Н., Островский А. А. 92**

iNOS-ЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ КАНАЛОПАТИИ КЛЕТОК СЕРДЦА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ВОСПРОИЗВОДИМЫМ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПИНАЦИДИЛА

Лазуко С. С. 94

ЗАВИСИМАЯ ОТ iNOS РЕГУЛЯЦИЯ ВКС_{Ca}-КАНАЛОВ КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ, РАЗВИВАЮЩЕМСЯ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЕ 2-ЭТИЛТИОБЕНЗИМИДАЗОЛА ГИДРОБРОМИДА

Лазуко С. С. 97

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СМАРТФОНА ДЛЯ ЗАПИСИ ПАТТЕРНОВ ДЫХАНИЯ

Люзина К. М., Кухта Н. И. 100

СОСТОЯНИЕ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ СРЕДНЕГО МОЗГА И КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ МОЗГА КРЫС ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ГИПОДИНАМИИ

Мамедова А. Е., Лелевич В. В. 103

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ГИПОДИНАМИИ НА СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Мамедова А. Е., Лелевич В. В. 105

ОЦЕНКА ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СВЕТОЙ И ТЕМНОЙ ЧАСТЕЙ СУТОК

Марковский М. Г., Яблуновский Г. А., Глуткин С. В., Гуляй И. Э. 108

ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА НА НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Миклашевич О. С., Соловьев А. В., Ковальчук А. А..... 110

РЕЗЕРВЫ КОЖНОГО КРОВотоКА У ЛИЦ С РАЗНОЙ ВЕЛИЧИНОЙ МАКСИМАЛЬНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА

Михайлов П. В., Остроумов Р. С., Осетров И. А., Кузнецова Е. А..... 113

КОФЕРМЕНТ А – МОДУЛИРУЮЩИЙ КОМПОНЕНТ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТРЕССА В СТРУКТУРАХ ЦНС

Мойсеёнок А. Г., Гуринович В. А., Катковская И. Н., Лукиенко Е. П., Максимчик Ю. З..... 116

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ ЭРИТРОЦИТОВ НА ДОНОРЫ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ И СУБСТРАТЫ ИХ СИНТЕЗА

Муравьев А. В., Михайлов П. В., Приезжев А. В., Луговцов А. Е., Тихомирова И. А..... 119

ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПОЧКАХ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИШЕМИИ И ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ

Надольник Л. И., Катковская И. Н., Титко О. В., Мурашкевич Ю. Г., Максимчик Ю. З., Филипович Н. А., Лукиенко Е. П., Черемисин А. С., Хвесько И. С., Полубок В. Ч., Шуриберко А. В., Гуринович В. А..... 121

КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ НАРУШЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С НЕРАЗОРВАВШИМИСЯ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМИ АНЕВРИЗМАМИ ДО И ПОСЛЕ НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Нечипуренко Н. И., Степанова Ю. И., Пашковская И. Д., Прокопенко Т. А., Сидорович Р. Р., Ахремчук А. И..... 124

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ КРЫС

Павлюкевич А. Н., Беяева Л. Е. 127

ЛАЗЕРНЫЙ АТОМНО-ЭМИССИОННЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОБРАЗЦОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Пашковская И. Д., Патапович М. П., Прокопенко Т. А., Нечипуренко Н. И. 130

ВЛИЯНИЕ ДИПЕПТИДА PRO-GLY НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И ПРОЦЕССЫ ГАБИТУАЦИИ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ У МЫШЕЙ ICR, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ НЕИЗБЕГАЕМОГО СТРЕССА

**Пилюцкая А. А., Кравченко Е. В., Ольгомец Л. М., Бизунок Н. А.,
Дубовик Б. В. 133**

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ IN VIVO И IN VITRO

Полубок В. Ч., Лабор С. А., Надольник Л. И. 136

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ С ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С НЕ-Q ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Пронько Т. П., Снежицкий В. А., Горчакова О. В. 139

АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ, ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ СУДОРОЖНОГО СИНДРОМА У НОВОРОЖДЕННЫХ ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Протасевич Т. С., Сидорик А. В., Денисик Н. И. 141

ИЗМЕНЕНИЯ Z-ПОТЕНЦИАЛА ЭРИТРОЦИТОВ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ АЛКОГОЛИЗМОМ В ПЕРИОД ОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ОТРАВЛЕНИЯ

Пыко К. В., Беспалов Ю. А., Осочук С. С. 144

ВЛИЯНИЕ КУРЕНИЯ НА КИСЛОРОДНЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА

**Косяк У. Н., Редькин Н. А., Дашкевич П. А., Орехов С. Д.,
Дорохина Л. В. 148**

ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЙ ФАКТОР В ПАТОГЕНЕЗЕ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

Романчук В. В., Ильина С. Н., Кудырко Л. Л. 151

ВЛИЯНИЕ N-AC-TRP-PRO-GLY-NH₂ НА ЦИРКАДНЫЕ РИТМЫ МЫШЕЙ ICR, ПОДВЕРГШИХСЯ ПРИНУДИТЕЛЬНОМУ ПЛАВАНИЮ

**Саванец О. Н., Кравченко Е. В., Ольгомец Л. М., Бородина К. В.,
Голубович В. П., Зильберман Р. Д. 154**

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПАРАМЕТРЫ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Савко А. И. 157

РЕЖИМ ДНЯ И УСПЕВАЕМОСТЬ У РУССКОЯЗЫЧНЫХ И ИНОСТРАННЫХ
УЧАЩИХСЯ МЛАДШИХ КУРСОВ МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА С РАЗЛИЧНЫМ
ХРОНОТИПОМ

Святский Е. С., Балбатун О. А., Орехов С. Д. 159

ВЛИЯНИЕ БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА,
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК IN VITRO

Терпинская Т. И., Янченко Т. Л., Полукошко Е. Ф. 162

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ ЭРИТРОЦИТОВ
РАЗНОГО ВОЗРАСТА ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ У ПАЦИЕНТОВ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ
НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

**Тихомирова И. А., Петроченко Е. П., Малышева Ю. В., Кислов Н. В.,
Лемехова В. А., Муравьев А. В. 165**

АГРЕГАТНЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК КРОВИ В ПРИСУТСТВИИ ДОНОРОВ NO И H₂S В
НОРМЕ И У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

**Тихомирова И. А., Муравьев А. В., Кислов Н. В., Лемехова В. А.,
Петроченко Е. П., Малышева Ю. В. 168**

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ
НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЕГО ТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ И
МЕХАНИЧЕСКОЙ АСФИКСИИ

Федуто М. А., Максимович Н. Е., Бонь Е. И., Грищенко А. И. 172

РЕАКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ФУНКЦИИ СОСУДИСТОГО
ЭНДОТЕЛИЯ КАК ФАКТОРЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ТКАНЕВОГО ГОМЕОСТАЗА В
ДИНАМИКЕ ТРАНСМУРАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

Халепо О. В., Ивлева А. А. 174

ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ГЛУБИНЫ И ДЛИТЕЛЬНОСТИ НА
АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

Хизриева С. И., Халилов Р. А., Джафарова А. М. 177

ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ В РЕГУЛЯЦИИ КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ
КРОВИ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ

Ходосовский М. Н. 180

СТРУКТУРНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ПОЛИМОРФИЗМА В РАЙОНЕ САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ
БЕЛКА-ПРЕДШЕСТВЕННИКА БЕТА-АМИЛОИДНЫХ ПЕПТИДОВ С БЕТА-
СЕКРЕТАЗОЙ

Хрусталёв В. В., Хрусталёва Т. А., Попинако А. В. 184

СИСТЕМНОЕ РЕДОКС-МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСА НА ОСНОВЕ СУКЦИНАТА НАТРИЯ, N-АЦЕТИЛ-L-ЦИСТЕИНА И РЕСВЕРАТРОЛА ПРИ ТЯЖЕЛОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ 187

Шляхтун А. Г., Радута Е. Ф., Букша Е. В., Сутько И. П., Богдевич Е. В. 187

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА С/Т ГЕНА CRY1 НА ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПРИ СТРЕСС-РЕАКЦИИ

Щурко А. С., Глуткин С. В., Зинчук В. В., Гуляй И. Э., Шульга М. А... 190

MEMBRANE POTENTIAL OF RED BLOOD CELLS UNDER TYPE 1 DIABETES IN HUMANS

Aljumaili Mustafa Ahmed 193

MELATONIN DIMINISHES OXIDATIVE STRESS IN PLASMA AFTER LOW DOSE LIPOPOLYSACCHARIDE EXPOSURE IN MICE

Kurhaluk Natalia, Tkachenko Halyna 195

BLOOD OXYGENATION PROBLEM IN NORMAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM

Mazalkova Maria 198

GENES CAGA AND CAGE HELICOBACTER PYLORI IN PATIENTS WITH GASTROINTESTINAL PATHOLOGY IN PATIENTS IN AL.KUT CITY/IRAQ

Mohammed Ghazi Alamarh..... 200

THE POSSIBLE ROLE OF INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS IN DEVELOPMENT OF PREMENSTRUAL SYNDROME SYMPTOMS: A REVIEW

Tariq Z. J., Grigoryan V. S. 203

BIOMARKERS OF LIPID PEROXIDATION IN THE BLOOD OF CHILDREN WITH ENDEMIC FLUOROSIS

Tkachenko Halyna, Kurhaluk Natalia, Skaletska Natalia 205

Научное издание

КИСЛОРОД И СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

Сборник материалов
научно-практической конференции с международным участием

26-27 мая 2022 года

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Компьютерная верстка Е. П. Курстак, А. А. Хартанович

Подписано в печать 25.05.2022.

Тираж **9**. Заказ **74**.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»

ЛП №02330/445 от 18.12.2013. Ул. Горького, 80, 230009, Гродно

ISBN 978-985-595-695-3

