Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

КИСЛОРОД И СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

Материалы республиканской
научно-практической конференции

Гродно
ГрГМУ
2012

УДК 612.014.464:005.745(06)
ББК 28.707я431
К44

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом УО «ГрГМУ» (протокол № 8 от 27.04.2012 г.).

Ответственный редактор: проректор по научной работе, проф. Зинчук В.В.

Рецензенты: зав. каф. нормальной физиологии, доц. Балбатун О.А.;
доц. каф. нормальной физиологии, канд. мед. наук Емельянчик Ю.М.;
доц. каф. нормальной физиологии, канд. мед. наук Дорохина Л.В.;
ведущий научный сотрудник ЦНИЛ, канд. биол. наук Гуляй И.Э.;
зав. каф. патологической физиологии, проф. Максимович Н.Е.

К44 **Кислород** и свободные радикалы : материалы республиканской научно-практической конференции / В.В. Зинчук (отв. ред.). – Гродно : ГрГМУ, 2012. – 180 с.
ISBN 978-985-496-987-9

Сборник содержит материалы республиканской научно-практической конференции. Представленные работы посвящены фундаментальным и прикладным исследованиям кислородзависимых процессов в организме и будут интересны преподавателям, научным работникам и врачам всех специальностей.

УДК 612.014.464:005.745(06)
ББК 28.707я431

ISBN 978-985-496-987-9

©УО «ГрГМУ», 2012

К 75-летию профессора Борисюка М.В.

Уважаемые коллеги!

В данном сборнике изложены материалы конференции «Кислород и свободные радикалы».

Цель конференции – обсуждение актуальных вопросов фундаментальных и прикладных исследований кислородзависимых процессов организма, в частности, кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние; кислородное обеспечение организма и дисфункция эндотелия; NO-зависимые механизмы поддержания прооксидантно-антиоксидантного равновесия; пути коррекции гипоксических состояний; развитие окислительного стресса в эксперименте и клинике.

С начала 70-х годов прошлого столетия в нашем вузе профессором Борисюком М.В. инициированы исследования в данной области. Была создана научная школа по этой тематике, проведен ряд научных форумов, которые стали ярким событием в жизни не только вуза, но и страны. В настоящее время это направление в нашем медицинском университете активно продолжает развиваться.

Хочется выразить надежду, что проводимая конференция позволит обсудить ряд вопросов по рассматриваемой проблеме, наметить перспективы развития дальнейших исследований. Надеюсь, что нынешний научный форум станет продолжением традиций, заложенных нашим Учителем, профессором Михаилом Владимировичем Борисюком.

Зинчук В.В., профессор

компонентов исследуемой среды и 2) реальных концентраций присутствующих в данной среде компонентов. Совокупность интегральных выходных сигналов от каждого измерительного электрода в исследуемой среде позволяет сформировать ее «образ» в виде композиции электродных потенциалов. При этом каждый измерительный электрод имеет собственные индивидуальные воспроизводимые характеристики селективности и чувствительности к ряду компонентов жидкой среды: разнообразным ионам (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^+, Cl^-, NO_3^-, NH_4^+, F^-, H^+, OH^- и др.), органическим структурным и функциональным компонентам клеток и биосред, промежуточным и конечным продуктам обмена веществ, окислительного стресса, ксенобиотикам и др. Состав и количество измерительных электродов подбирается с учетом их эффективности для контроля основных диагностически значимых компонентов жидких сред организма.

Микропроцессорный измерительный модуль с коммутирующим устройством обеспечивает высокоточное измерение величины ЭДС (в диапазоне ±4,0 В с допускаемой погрешностью ±0,05 мВ) и передачу всех результатов измерений в виде композиции электродных потенциалов в информационный модуль.

Модуль информационного анализа содержит комплект методик обработки получаемых данных, обучения системы и распознавания многомерных «образов», формируемых в виде композиции индивидуальных значений ЭДС используемых электродов. Результаты статистически обрабатываются, отображаются и сохраняются в виде матриц состояний.

Экспериментальные исследования были направлены на демонстрацию возможности экспериментального получения с помощью созданной установки «образов» диагностируемого испытуемого в различающихся состояниях – нормальное и в период заболевания бронхитом (таблица 1).

Таблица 1 – Значения показателей массива полиселективных электродов у испытуемого до и в период заболевания бронхитом

Исследуемые состояния организма	Интегральные значения ЭДС полиселективных электродных систем в конденсате выдыхаемого воздуха с основным определяемым ионом (n = 4)						
	$H^+ \ldots x_1$	$Na^+ \ldots x_2$	$K^+ \ldots x_3$	$Ca^{++} \ldots x_4$	$F^- \ldots x_5$	$NO_3^- \ldots x_6$	$Cl^- \ldots x_7$
нормальное	-24,9 +3,4	36,6 +1,3	74,1 +3,4	69,3 +10,2	258,5 +28,9	315,8 +5,4	198,8 +7,2
в период бронхита	-34,8 +6,1 +28 %	72,1 +13,3 +97 %	105,3 +16,9 +42 %	44,1 +5,1 -36 %	301,7 +6,6 +17%	282,6 +10,6 -10 %	157,1 +11,8 -21 %

Из приведенных данных (табл. 1) видно, что «образ» нормального состояния (в виде композиции ЭДС от 7 электродных систем) отличается от «образа» в период бронхита, что подтверждено статистически значимыми различиями показаний всех использованных электродных систем в исследованных состояниях человека.

МЕТАБОЛИЗМ ВИТАМИНА В1 В ПЕЧЕНИ И КРОВИ МЫШЕЙ ПРИ ГИПЕРКАПНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Т.В. Клюка, Т.А. Лучко, Е.А. Макар, И.М. Русина, А.Ф. Макарчиков

Гродненский государственный аграрный университет, Гродно, Беларусь

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

Тканевая гипоксия характеризуется развитием комплекса метаболических и функциональных нарушений, являющихся следствием недостатка энергии. Возникающие при этом адаптационные реакции направлены на устранение энергетического дефицита, главным образом, за счет усиленного синтеза АТФ в процессе гликолиза. Хорошо известно, что в регуляции энергетического обмена клетки ключевую роль играют ТДФ-зависимые ферментные системы митохондрий – пируват- и

оксоглутарат-дегидрогеназные комплексы; сравнительно недавно были также получены данные, указывающие на связь метаболизма тиаминтрифосфата (ТТФ) и глюкозы [1]. Исходя из этого, есть основания предполагать, что производные тиамина могут участвовать в молекулярных механизмах краткосрочной адаптации при гипоксии. Наряду с ТДФ и ТТФ в клетках млекопитающих образуются тиаминмонофосфат (ТМФ), аденилированные ТДФ и ТТФ, функции которых в настоящее время неизвестны; все эти соединения вместе с ферментами их биосинтеза и деградации составляют систему метаболизма витамина B_1. Цель настоящей работы заключалась в изучении действия гиперкапнической гипоксии на метаболизм витамина B_1 в печени мышей; в этой же модели нами исследовано содержание тиамина и его фосфорилированных производных в крови.

Эксперимент проводили на белых мышах массой 24-25 г (две группы по 6 животных). Для моделирования гипоксии животные опытной группы сажались на 60-70 мин. в плотно закрытые стеклянные банки объемом 0,45 л. Концентрацию лактата в крови определяли ферментативным методом с помощью лактатдегидрогеназы [2], содержание тиамина и его фосфорилированных производных в печени и крови – методом обращенно-фазовой ион-парной ВЭЖХ [3]. Активность растворимой ТТФазы печени регистрировали при pH 9,0 по скорости образования ТДФ, ТДФазная и ТМФазная активности измерялись, соответственно, при pH 9,0 и 6,5 по образованию неорганического фосфата, количество которого определяли методом Сапру с соавт. [4].

О развитии гипоксии судили по внешнему виду животных и уровню лактата в крови. У контрольных мышей концентрация лактата составляла 2,04 ± 0,12 мкмоль/л. У животных опытной группы к концу эксперимента наблюдались признаки умеренной гипоксии: малоподвижность, вялость, глубокое дыхание; концентрация молочной кислоты в их крови выросла до 3,14 ± 0,20 мкмоль/л ($P < 0,001$).

Результаты исследований показали, что между контрольной и опытной группами нет достоверных различий по содержанию (нмоль/г влажной ткани) в печени тиамина (К = 0,71 ± 0,13, О = 0,99 ± 0,17), ТМФ (К = 4,24 ± 0,73, О = 3,61 ± 0,83), ТДФ (К = 23,65 ± 4,49, О = 26,99 ± 5,69) и ТТФ (К = 0,008 ± 0,002, О = 0,010 ± 0,005). Точно так же не наблюдалось существенных различий в активности ферментов печени, участвующих в метаболизме тиаминфосфатов – растворимой ТТФазы и мембранно-ассоциированных ТДФазы и ТМФазы.

В то же время, в цельной крови мышей с гипоксией выявлен достоверный подъем уровней тиамина (с 153,4±9,2 до 197,0±13,5 нмоль/л, $P<0,05$) и ТМФ (с 222,2±13,8 до 487,0±113,3 нмоль/л, $P<0,05$); концентрация ТДФ при этом оставалась неизменной (833,7±46,2 нмоль/л у контрольных животных, 821,1±54,2 нмоль/л – в опытной группе). Общее содержание витамина В1 (тиамин + ТМФ + ТДФ) в крови мышей опытной группы достоверно увеличилось на 24,5% (с 1,209±0,065 до 1,505±0,141 мкмоль/л, $P<0,05$).

Поскольку тиамин и ТМФ являются транспортными формами витамина B_1 в сыворотке крови, повышение их концентраций на фоне неизменного количества ТДФ, находящегося исключительно в форменных элементах, указывает на мобилизацию витамина B_1 из других органов и тканей. В таком случае физиологическое значение выброса ТМФ и тиамина в кровь может состоять в перераспределении витамина B_1 в организме в ответ на развитие общей гипоксии, т.е. вполне вероятным кажется участие системы метаболизма витамина B_1 в первой стадии стресс-реакции, когда имеет место мобилизация ресурсов в пользу срочной адаптации.

Полученные результаты, на наш взгляд, открывают новые перспективы исследований роли витамина B_1 в координации и регуляции функций различных органов и систем организма. Кроме того, применение тиамина может оказаться полезным для коррекции гипоксических состояний.

Литература:

1. Макарчиков А.Ф. Тиаминтрифосфат: новый взгляд на некоферментную функцию витамина B_1. – Минск: Белорусская наука. – 2008. – 433 с.
2. Практикум по биохимии: учеб. пособие. Под ред.

С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – М.: Изд-во МГУ.– 1989. – 509 с.
3. Bettendorff L. et al. Determination of thiamin and its phosphate esters in cultured neurons and astrocytes using an ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic method // Anal. Biochem. – 1991. – Vol. 198. – P. 52–59.
4. Sapru M.K., Geetha H., Taranath S.K. A single reagent method of phosphate estimation in phosphatase(s) assay // Ind. J. Biochem. Biophys. – 1987. – Vol. 24. – P. 340–343.

ПОТЕНЦИРОВАНИЕ КОРОНАРОРАСШИРЯЮЩЕГО ОТВЕТА НА БРАДИКИНИН ПОД ВЛИЯНИЕМ КСАНТИНОКСИДАЗНОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ИЗОЛИРОВАННОМ СЕРДЦЕ МОРСКОЙ СВИНКИ

В.И. Козловский
Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

Известно, что активные формы кислорода (АФК), в частности, супероксид анион, инактивируют монооксид азота (NO) и способствуют, тем самым, нарушению фукционирования эндотелиальной L-аргинин-NO системы [2]. В то же время недостаточно изучено влияние острых эпизодов окислительного стресса, которые могут иметь место, например, при ишемии-реперфузии, на эндотелий-зависимую вазодилатацию. Для моделирования острого окислительного стресса была использована широко известная модель взаимодействия ксантина и ксантиноксидазы (КО), результатом которого является генерация супероксид аниона [1]. Целью исследования явилось изучение влияния ксантиноксидазного окислительного стресса на эндотелий-зависимую коронарную вазодилатацию в изолированном сердце морской свинки.

Исследования выполнены на изолированном сердце морской свинки, перфузируемом ретроградно через аорту раствором Кребса-Хензелайта под постоянным давлением

60 мм рт. ст. по методу Лангендорфа [3]. Окислительный стресс моделировался инфузией КО (0,01 ЕД/мин, 30 мин.) в сердце, перфузируемое раствором Кребса, содержашим ксантин (5·10-4 М). Эндотелий-зависимая коронарная вазодилатация оценивалась по коронарорасширяющим ответам на ацетилхолин и брадикинин. Указанные соединения, а также эндотелий-независимый вазодилататор S-нитрозопенициллamин (SNAP) вводились болюсно до и после инфузии ксантиноксидазы.

Установлено, что инфузия КО способствовала потенцированию коронарной вазодилатации, вызванной брадикинином, и в то же время уменьшала коронарорасширяющий ответ на ацетилхолин (табл.1).

Таблица 1 – Влияние инфузии КО (0,01 ЕД/мин, 30 мин.) в перфузионный раствор Кребса, содержащий ксантин (5·10-4 М) на коронарорасширяющие ответы в изолированном сердце морской свинки – M±S или Me (25%; 75%)

Соединение	Доза (М)	Прирост коронарного потока (мл/мин)	
		до инфузии КО	после инфузии КО
брадикинин	3·10-13 (n=10)	0,71 (0,62;1,22)	3,03 (1,97;3,60); p=0,0051*
	10-12 (n=9)	3,82±1,79	7,82±2,85; p=0,0077*
	3·10-12 (n=7)	8,01±3,65	10,95±4,13; p=0,0180*
ацетилхолин	10-10 (n=8)	5,01±1,53	4,19±1,44; p=0,0117*
	3·10-10 (n=7)	9,05±2,86	6,51±2,00; p=0,0180*
SNAP	10-10 (n=5)	4,47 (2,50;5,89)	2,68 (2,23;4,97); p=0,0796

Примечание: p – вероятность нулевой гипотезы при сравнении данных, полученных до и после инфузии КО (критерий Вилкоксона), * – статистически достоверное различие между группами (p<0,05)

В условиях ингибирования NO-синтазы метиловым эфиром L-NG-нитроаргинина (L-NAME, 10-4 М) и циклооксигеназы индометацином (5 · 10-6 М) также отмечалось потенцирование коронарной вазодилатации, вызванной брадикинином, причём степень потенцирования была выше в сравнении с экспериментами без ингибиторов (табл. 2). Это свидетельствует о