

3. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. М.: Медицина. 1981. 275 с.
4. Mowe G.M., Gershon M.D. Functional heterogeneity in the myenteric plexus: demonstration using cytochrome oxidase as a verified cytochemical probe of the activity of individual enteric neurons // J Comp. Neurol. 1986.V. 249, №3. P. 381-391.
5. Nijssen M.J., Groiset G., Diamant M., et.al. Endogenous corticotropin-releasing hormone inhibits conditioned-fear-induced vagal activation in the rat // Eur J.Pharmacol. 2000. V. 389, №1. P. 89-98.

## **РЕДОКС-СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА, СУПЕРОКСИД АНИОНЫ И МОНООКСИДА АЗОТА В АУТОРЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ И СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ МИОКАРДА**

*А.С. Дорошенко, А.П. Солодков  
Витебск, УО «ВГУ им. П.М. Машерова»*

Традиционно считается, что активные формы кислорода (АФК), в частности супероксид-анионы, обладают выраженным повреждающим действием на внутриклеточные структуры. Однако было установлено, что в отличие от высоких концентрации, малые концентрации АФК участвуют в процессах передачи внутриклеточных сигналов. Их биологическое действие реализуется через механизмы редокс-регуляции. Редокс-регуляция фенотипических свойств клеток обеспечивается посредством изменения функции протеинов и, возможно, других молекул вследствие их окисления/восстановления. Соотношение между тиоловыми и дисульфидными группами белков и пептидов отражает баланс между выраженностью образования и действия АФК и эффективностью функционирования редокс-систем клетки [1, 2]. Установлено, что SH-группы цистеиновых остатков ряда протеинов играют роль “редокс-сенсоров”. К таким молекулам относятся NO-синтаза, факторы транскрипции (AP-1, NF-κB, NIF-1), киназы (JNK, CDK, p 38 MAP киназа), фосфатазы, регуляторы внутриклеточного метаболизма кальция (рианодиновый рецептор и L-тип кальциевых каналов), протеины АТФ-зависимых калиевых каналов, а также молекулы, регулирующие сократительную активность гладкой мышцы коронарных сосудов [1, 2, 3].

Известно также, что от уровня образования супероксид-анионов в клетках кровеносных сосудов зависит не только их редокс-состояние, но и выраженность биологического действия NO. Однако в настоящее время малоизучен характер взаимосвязи между функциональной ролью супероксид-анионов в механизмах регуляции тонуса коронарных сосудов и сократительной активности миокарда и редокс-состоянием клеток кровеносных сосудов и сердца [1].

Целью данного исследования было изучить характер влияния тирона (химической ловушки супероксид-анионов) на регуляцию тонуса коронарных сосудов и сократительную активность миокарда на фоне нормального и измененного редокс-состояния клеток коронарных сосудов и сердца.

**Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 64 крысах-самках линии Вистар массой 240-320 грамм. Коронарный поток и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах изолированного по Лангендорфу сердца. Перфузию сердца осуществляли Кребса-Хензелята (рН -7.3-7.4), обогащенным карбогеном (95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>). Перфузионное давление (ПД) в ходе опыта ступенчато повышали с 40 до 120 мм рт. ст.

Для выявления роли супероксид-анионов, NO и растворимой гуанилатциклазы в регуляции тонуса коронарных сосудов в перфузионный раствор добавляли тирон (4,5-дигидрокси-1,3-бензолдисульфоновая кислота, 10 мМ, Sigma USA), метиловый эфир N-ω-нитро-L-аргинина (L-NAME, 60 мкМ/л, Sigma USA,) L-аргинин (400 мкМ, Sigma USA), метиленовую синь (20мкМ, Sigma USA). Для модификации исходного редокс-состояния клеток коронарных сосудов и миокарда использовали внутрибрюшинное введение низкомолекулярного тиолсодержащего антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина (40 мг/кг, рН раствора 7,3-7,4, Sigma USA) за 1 час до эксперимента, а за 12 часов до эксперимента внутрибрюшинно вводили L-бутионин-[S,R]-сульфоксимин (BSO, 2 ммоль/кг). Содержание общих белковых и небелковых тиоловых групп (глутатион) миокарда и небелковых тиоловых групп в эритроцитах, определяли спектрофотометрическим методом при длине волны равной 412 нм, в реакции с нитротисульфобензоатом [5]. Содержание дисульфидных групп рассчитывали по разнице между концентрацией общих и восстановленных SH-групп.

Цифровой материал обработали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы «Statistica 6.0».

**Результаты и обсуждение.** Улавливание супероксид-анионов тироном сопровождалось увеличением ОСКП (объемной скорости коронарного потока), снижением индекса ауторегуляции, падением коронарного расширительного резерва и уменьшением развиваемого внутрижелудочкового давления.

Блокада синтеза монооксида азота или растворимой гуанилатциклазы полностью устраняла, а избыток L-аргинина, вводимого на фоне блокады синтеза монооксида азота, восстанавливал вызываемое тироном увеличение ОСКП, не оказывая воздействия на наблюдающееся при этом уменьшение развиваемого внутрижелудочкового давления. Следовательно, непрерывно образующиеся супероксид-анионы постоянно оказывают влияние на тонус коронарных сосудов и сократительную активность мышцы сердца, и их действие на тонус коронарных сосудов, в отличие от миокарда, зависело от биологического действия монооксида азота.

Острое изменение редокс-состояния клеток сердца посредством введения N-ацетил-L-цистеина (увеличивал концентрацию глутатиона на 16% в миокарде) или L-бутионин-S,R-сульфоксимины (уменьшал концентрацию глутатиона в миокарде на 37% и в 2,2 раза снижал тиол/дисульфидное соотношение в эритроцитах) не влияло на ОСКП, но приводило к снижению индекса ауторегуляции на 32-52%. Это указывает на то, что оба эти веще-

ства, несмотря на разнонаправленное влияние на редокс-состояние клеток, в одинаковой степени нарушали способность сосудов к ауторегуляции.

Связывание супероксид-анионов тироном в изолированных сердцах животных, предварительно получавших N-ацетил-L-цистеин, сопровождалось в среднем на 10% большим увеличением ОСКП, чем в контроле, и на 24% более значительным уменьшением индекса ауторегуляции. Развиваемое внутрижелудочковое давление в группе животных, получавших N-ацетил-L-цистеин, снижалось под влиянием тирона в среднем на 27% меньше, по сравнению с контрольной группой (17%, против 44% в контроле). Развиваемое внутрижелудочковое давление снижалось в той же степени, как и при действии только тирона (на 36-42%). Частота сердечных сокращений увеличивалась на 28-53%.

Внутрикоронарное введение тирона на фоне снижения содержания восстановленного глутатиона, вызываемого L-бутионин-S,R-сульфоксимином, сопровождалось на 18% менее выраженным, чем в контроле увеличением ОСКП.

Таким образом, усиление эффекта тирона, наблюдающееся при увеличении содержания восстановленного глутатиона и ослабление при его уменьшении, свидетельствует о существовании зависимости воздействия монооксида азота, высвобождаемого при связывании супероксид-анионов, на тонус сосудов сердца от содержания восстановленного глутатиона, то есть от редокс-состояния клеток сердца.

**Заключение.** Результаты выполненных исследований демонстрируют важность базального образования активных форм кислорода и редокс-состояния клеток сердца в механизмах ауторегуляции коронарного потока, а также в регуляции сократительной активности миокарда. Влияние супероксид-анионов на тонус сосудов сердца и сократительную функцию миокарда осуществляется при участии монооксида азота, а также находится в прямой зависимости от содержания сульфгидрильных групп белковых молекул в клетках сердца.

#### Список литературы

1. Солодков А.П., Дорошенко А.С., Шебеко В.И., Щербинин И.Ю. Эндотелий, ауторегуляция коронарных сосудов и стресс // Вестник Фонда фундаментальных исследований. – Минск, 2005. -№1. – С.84-99.
2. Шебеко В.И., Редокс-регуляция характера фенотипа эндотелиоцитов: от хаоса к порядку // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2002. – Т.1, №1. – С.30-38.
3. Price D.T., Vita J.A., Keaney J.F.Jr. Redox control of vascular nitric oxide bioavailability // Antioxid. Redox Signal.-2000.-Vol.2, №4.-P.919-935.