

ОБ УЧАСТИИ МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

*Н.А. Степанова, С.А. Жадан
Минск, УО «БГМУ»*

Известно, что оксидативный стресс может выступать в качестве одного из звеньев патогенеза нарушений процессов жизнедеятельности организма при действии бактериальных эндотоксинов. Данные литературы свидетельствуют, что влияние монооксида азота (NO) на многие физиологические и патологические процессы в организме обусловлено его участием в свободнорадикальных реакциях [2]. Известно, также, что в механизмах элиминации бактериальных эндотоксинов важная роль принадлежит детоксикационной функции печени, от которой во многом зависит степень эндогенной интоксикации [1]. Предполагается, что гиперпродукция NO на фоне окислительного стресса может способствовать усугублению повреждения печени при эндотоксемии [3, 4].

Цель – выяснение роли NO в механизмах развития оксидативного стресса при действии в организме бактериальных эндотоксинов.

Материал и методы. Опыты выполнены на ненаркотизированных белых крысах самцах массой 160–220 г. Для моделирования бактериальной эндотоксинемии использовали бактериальный липополисахарид пирогенал (ЛПС, производство НИИ им. Гамалеи, Россия), который вводили крысам однократно внутрибрюшинно в дозе 5,0 мкг/кг. Для выяснения роли NO использовали ингибитор NO-синтазы L-NNA (N^G -нитро-L-аргинин), который вводили крысам внутрибрюшинно однократно в дозе 20 мг/кг. О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию фракции средних молекул (СМ) в плазме крови и степени её токсичности (СТК). О ПНС (гексенал 100 мг/кг внутрибрюшинно) судили по времени нахождения животных в положении на боку. Определение содержания в крови СМ проводили методом кислотного этанольного осаждения, разработанным В. М. Моиным, СТК способом, предложенным О.А. Радьковой. Активность процессов ПОЛ в крови и печени оценивали по содержанию в них малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК), оснований Шиффа (ОШ), а состояние системы антиоксидантной защиты по концентрации α -токоферала (α -ТФ) и активности каталазы (КТ). Концентрацию МДА определяли спектрофотометрически методом M. Mihara, M. Uchiyama. Определение концентрации ДК проводили спектрофотометрически по методу, В.А. Костюка. Для определения уровня ОШ использовали спектрофотометрический метод В.Л. Fletcher. Содержание α -ТФ в крови и ткани печени определяли флуоресцентным методом Р.Ч. Черняускене. Активность КТ определяли колориметрическим методом М.А. Королюка. Все полученные данные обработаны с помощью общепринятых методов вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение. В опытах на крысах установлено, что введение в организм ингибитора NO-синтазы L-NNA приводит к изменени-

ям в процессах ПОЛ. Так, через 120 мин. после внутрибрюшинного введения препарата наблюдалось увеличение содержания основных продуктов ПОЛ в плазме крови. Уровень ДК, МДА и ОШ в плазме крови увеличивался на 115,5% ($p < 0,05$, $n=7$), 53,7% ($p < 0,05$, $n=7$) и 37,1% ($p < 0,05$, $n=7$) соответственно через 120 мин. после введения препарата. Содержание ДК, МДА и ОШ в печени имело тенденцию к увеличению, однако, достоверно не изменялось. Было обнаружено, что действие в организме L-NNA в дозе 20 мг/кг, через 120 минут после внутрибрюшинного введения препарата, не сопровождается достоверными изменениями показателей системы антиоксидантной защиты в печени и плазме крови.

Обнаружено, что действие ЛПС в организме сопровождалось активацией процессов ПОЛ и угнетением системы антиоксидантной защиты в плазме крови и печени. Так, через 180 мин после введения бактериального эндотоксина количество ДК в печени увеличивалось на 38,2% ($p < 0,05$, $n=7$), в плазме крови – на 14,5% ($p < 0,05$, $n=7$), концентрация МДА в печени возрастала на 32,2% ($p < 0,05$, $n=7$), в плазме крови – на 91,5% ($p < 0,05$, $n=6$), уровень ОШ в плазме повышался на 128,1% ($p < 0,05$, $n=6$). Обнаружено, что действие ЛПС в организме у крыс, через 180 мин. приводило к снижению концентрации α -ТФ на 39,2% ($p < 0,05$, $n=7$) и 25,1% ($p < 0,05$, $n=7$) в плазме крови и печени соответственно. Активность КТ через 180 мин. после введения пирогенала снижалась в плазме крови – на 24,8% ($p < 0,05$, $n=7$), в печени – на 19,7% ($p < 0,05$, $n=7$).

Установлено, что при бактериальной эндотоксинемии у крыс, наряду с развитием оксидативного стресса, наблюдается активация детоксикационной функции печени. Введение крысам пирогенала через 180 мин. после инъекции ЛПС вызывало увеличение степени эндогенной интоксикации и активацию детоксикационной функции печени, о чем свидетельствовало повышение в плазме крови уровня СМ на 17% ($p < 0,05$, $n=6$) и снижение ПНС на 25,2% ($p < 0,05$, $n=7$), при этом СТК достоверно не изменялась.

Установлено, что предварительное введение в организм животных ингибитора NO-синтазы L-NNA (20 мг/кг) способствовало усилению эндогенной интоксикации при бактериальной эндотоксинемии и препятствовало активации пирогеналом детоксикационной функции печени. ПНС через 120 мин. после введения пирогенала у крыс ($n=8$), предварительно получавших L-NNA, по сравнению контролем (действие только ЛПС), увеличивалась на 21,7% ($p < 0,05$, $n=7$). Концентрация СМ в плазме крови в этих условиях повышалась на 18,1% ($p < 0,05$), а СТК была выше на 13,9% ($p < 0,05$).

Угнетение синтеза NO способствовало усилению оксидативного стресса в условиях бактериальной эндотоксинемии. Так, через 180 мин. после инъекции ЛПС крысам ($n=7$), наблюдалось более значимое по сравнению с контролем (внутрибрюшинное введение физ. раствора и пирогенала) повышение в плазме крови концентрации ДК – на 139,5% ($p < 0,05$), МДА – на 102,9% ($p < 0,05$), ОШ – на 71,3% ($p < 0,05$) и снижение активности КТ – на 49,1% ($p < 0,05$). В печени в этих условиях содержание ДК возрастало на 32,1% ($p < 0,05$), а активность КТ снижалась на 30,6% ($p < 0,05$).

Заключение. Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют, что активность синтеза NO имеет важное значение для протекания процессов свободно-радикального окисления и детоксикации. Депрессия синтеза NO в организме животных усугубляет эндогенную интоксикацию, а также приводит к интенсификации процессов ПОЛ, снижению резервов системы антиоксидантной защиты и усилению оксидативного стресса. Следовательно, угнетение синтеза NO в условиях бактериальной эндотоксинемии может способствовать повреждению печени активными формами кислорода, и, как следствие нарушению её функционального состояния, угнетению процессов детоксикации, что имеет важное значение в патогенезе эндогенной интоксикации.

Список литературы

1. Висмонт Ф.И., Шуст О.Г. О роли детоксикационной функции печени и α 1-антитрипсина крови в патогенезе эндотоксиновой лихорадки // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2000. – Т. 129, № 7. – С. 39–41.
2. Маеда Х., Акаике Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 1007–1019.
3. Наумова М.В., Корик Е.О., Семак И.В., Кульчицкий В.А. Роль монооксида азота в механизмах повреждения печени (биохимический аспект) // Новости медико-биологических наук. – 2003. – №4. – С.135–139.
4. Тэйлор Б. С., Аларсон Л. Х., Биллиар Т. Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905–923.