

8.Sato Y.T. Engineering hybrid exosomes by membrane fusion with liposomes/
Sato Y.T., Umezaki K., Sawada S., Mukai S., Sasaki Y., Harada N., et al.// Sci Rep
- 2020. - №6. – P. 219 - 233.

УДК 577.121.2

**Петров А.В., Марсянова Ю.А.
ИЗМЕНЕНИЕ СТЕПЕНИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ
ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДЕФИЦИТЕ
ОКСИДА АЗОТА**

Кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России
Рязань, Российская Федерация

**Petrov A.V., Marsyanova Y.A.
CHANGE IN THE VALUE OF ENDOGENIC INTOXICATION OF RAT
ERYTHROCYTES IN EXPERIMENTAL NITROGEN OXIDE DEFICIENCY**
Кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО
Ryazan State Medical University
Ryazan, Russian Federation

E-mail: ¹chasedflea089@icloud.com, ²yuliyamarsyanova@yahoo.com

Аннотация. Накопление веществ низкой и средней молекулярной массы служит показателем степени эндогенной интоксикации. Материалом для исследования служила плазма и эритроциты крыс сток Wistar, которые были разделены на 2 группы: получавших в качестве модулятора дефицита оксида азота L-NAME в дозировке 25 мг/кг массы тела и группу контроля. Результаты. Уровень метаболитов NO в плазме животных опытной группы оказался достоверно ниже. Накопление малонового диальдегида в эритроцитах крыс, получавших L-NAME, указывает на индукцию перекисного окисления липидов. Степень эндогенной интоксикации достоверно повысилась у животных экспериментальной группы и оказалась более выраженной в части спектра, отражающей накопление метаболитов пуринового обмена. Выводы. Дефицит NO приводит к индукции ПОЛ мембран эритроцитов и повышению степени эндогенной интоксикации.

Annotation. The accumulation of substances of low and medium molecular weight serves as an indicator of the value of endogenous intoxication. The material for the study was the plasma and erythrocytes of Wistar stock-malerats, which were divided into 2 groups: those who received L-NAME as a modulator of nitric oxide deficiency at a dosage of 25 mg / kg of body weight and a control group. Results. The level of NO metabolites in the plasma of the experimental group was significantly lower. The accumulation of malondialdehyde in the erythrocytes of rats treated with

L-NAME indicates the induction of lipid peroxidation. The value of endogenous intoxication significantly increased in animals from the experimental group and turned out to be more pronounced in the part of the spectrum reflecting the accumulation of purine metabolites. Conclusions. Deficiency of NO leads to the induction of lipid peroxidation of erythrocyte membranes and an increase in the value of endogenous intoxication.

Ключевые слова: оксид азота (NO), L-NAME, эритроциты, малоновый диальдегид, эндогенная интоксикация.

Key words: nitric oxide (NO), L-NAME, erythrocytes, malondialdehyde, endogenous intoxication.

Введение

Эндогенная интоксикация – неспецифический генерализованный ответ организма на воздействие токсического фактора, который сопровождается накоплением в клетках промежуточных и конечных продуктов метаболизма, обладающих, в той или иной мере, свойствами эндотоксинов. В качестве эндотоксинов выступают интермедиаты пуринового и пиримидинового обмена, АЛТ, АСТ, креатинин, активные формы кислорода и азота, продукты перекисного окисления липидов мембран и др. [1]. Повышение степени эндогенной интоксикации наблюдается при нарушении барьерных функций мембран, необходимых для поддержания гомеостаза внутри клеток, в условиях активации деструктивных процессов, а так же нарушении процессов инактивации и выведения токсических продуктов метаболизма, что вносит свой вклад в течение иммунных, эндокринных, психических и других заболеваний[2].

Цель исследования – изучить влияние неселективного ингибитора синтазы оксида азота N-нитро-L-аргинин-метилового эфира (L-NAME) на степень эндогенной интоксикации эритроцитов крыс.

Материалы и методы исследования

В эксперименте участвовали 16 половозрелых самцов крыс сток Wistar массой 200-280 г, которые содержались в условиях вивария на базе РязГМУ им. И.П. Павлова. Работа с животными осуществлялась в соответствии с этическими нормами. Животные были разделены на 2 группы по 8 особей в каждой: группа 1 – животные, которым вводили раствор метилового эфира L-нитроаргинина один раз в день ежедневно в течение 7 дней из расчёта 25 мг/кг массы тела животного; группа 2 – животные, которым вводили 0,9% раствор NaCl по той же схеме. Кровь отбирали из брюшной аорты под наркозом в шприц, содержащий гепарин, затем центрифугировали 10 минут при 1000g для отделения плазмы. Осадок эритроцитов трижды отмывали 0,9% раствором NaCl, затем смешивали аликвоту суспензии эритроцитов с гемолизирующим раствором в соотношении 1:3 и замораживали. После оттаивания пробы инкубировали 30 минут при 75°C и центрифугировали для осаждения гемоглобина. Супернатант использовали для определения веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ) и

количества малонового диальдегида. Плазму использовали для определения метаболитов оксида азота.

Количество метаболитов оксида азота определяли по интенсивности розовой окраски, образующейся в реакции азосочетания нафтилэтилендиамина с диазотированным сульфаниламидом, который образуется в присутствии нитритов, интенсивность окраски зависит от количества нитритов и нитратов, которые восстанавливаются в нитриты с помощью VCl_3 , выражали в мкмоль/л. Количество веществ низкой и средней молекулярной массы определяли как площадь под кривой спектра поглощения ТХУ-неосаждаемых веществ в ультрафиолетовой области спектра (238-298 нм), выражали в у.е./мг белка. В каждой пробе определяли концентрацию общего белка по методу Лоури с помощью набора «ЭКО Сервис КлиниТест-БЛ». Количество малонового диальдегида (МДА) определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой, в результате которой образуется розовый хромоген, носящий название «триметиновый комплекс», интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию МДА, выражали в у.е./липиды. В каждой пробе определяли количество триглицеридов с помощью набора «Триглицериды – Витал».

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ «Microsoft Excel 2013» и StatSoft STATISTICA 12. Нормальность распределения определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для оценки уровня значимости в группах использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Уровень различий считали статистически значимым при вероятности ошибки $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В качестве модулятора дефицита оксида азота использовался L-NAME – неселективный ингибитор NO-синтазы, который ингибирует как эндотелиальную (eNOS) и нейрональную (nNOS), так и индуцируемую NO-синтазу (iNOS). eNOS и nNOS вырабатывают оксид азота в наномолярном диапазоне концентраций, необходимых для осуществления его физиологических функций. Количество метаболитов оксида азота в плазме крови достоверно снижалось в группе животных получавших L-NAME, что подтверждает его действие, как ингибитора (результаты представлены в виде Me [Q1; Q3]: опытная группа – 660 [561; 797] мкмоль/л, контроль – 917 [759; 971] $p < 0,05$).

Оксид азота играет роль вазодилататора, опосредованно через cGMP-PKG-путь, проявляет антиоксидантную активность, терминируя перекисное окисление липидов на этапе развития цепи, а так же регулирует активность белков посредством S-нитрозилирования. iNOS вырабатывает оксид азота в микромолярном диапазоне концентраций, при которых оксид азота проявляет свойства токсина и прооксиданта, выполняя свою роль в иммунном ответе [4]. В условиях дефицита оксида азота нарушается антиоксидантная функция NO. Это сопровождается индукцией перекисного окисления липидов, что демонстрирует накопление малонового диальдегида. По результатам лабораторного исследования уровня малонового диальдегида было выявлено его достоверное

повышение в опытной группе – 142,108 [96,843; 180,666] у.е./липиды по сравнению с группой контроля – 27,691 [24,236; 35,680] ($p < 0,05$).

Накопление МДА свидетельствует о нарушении барьерной функции мембраны, что является одним из факторов повышения степени эндогенной интоксикации. Площадь под кривой спектра поглощения ТХУ-неосаждаемых веществ (рис. 1) в группе контроля составила 40,150 [34,580; 59,904] у.е./мг белка, в группе животных, получавших L-NAME – 112,571 [83,789; 130,138] ($p < 0,05$).

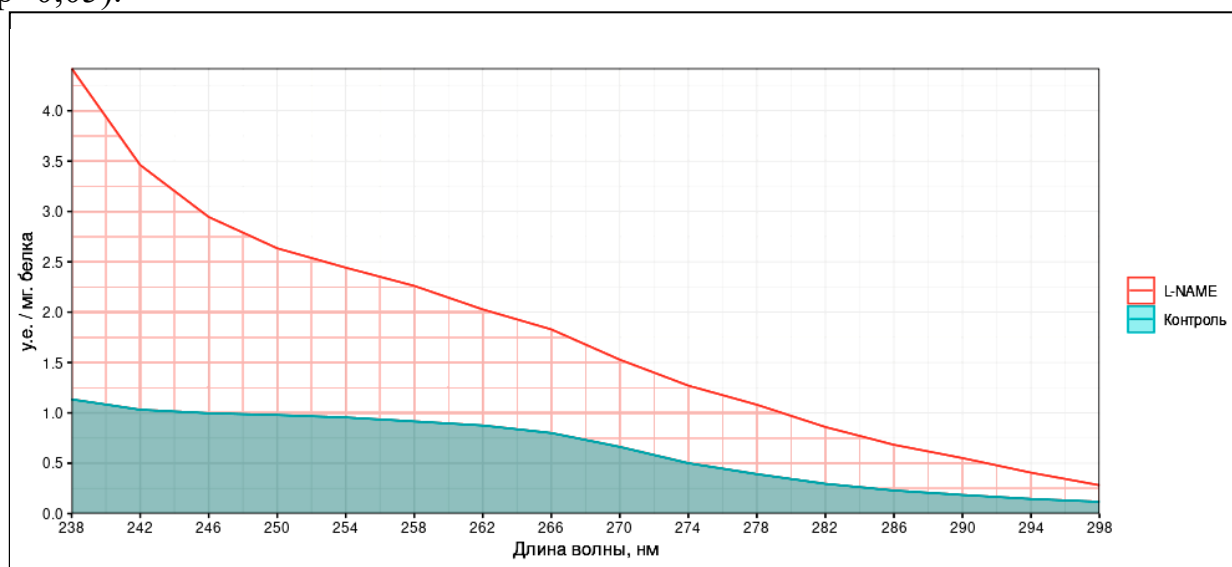


Рис. 1. Количество веществ низкой и средней молекулярной массы

Полученные результаты отражают повышение количества ВНиСММ, что подтверждает теорию о возрастании степени эндогенной интоксикации в условиях дефицита оксида азота. Наибольшее изменение площади под кривой отмечается в части спектра при длинах волн от 238 нм до 262 нм. Продукты метаболизма, имеющие максимумы поглощения в данном диапазоне, как правило, включают метаболиты пуринового обмена: гипоксантин, ксантин, инозин, гуанозин, аденозин и их производные. В тоже время, продукты метаболизма имеющие максимумы поглощения в части спектра от 262 нм до 298 нм в основном являются метаболитами пиримидинового обмена, количество которых так же преобладало над линией контроля, но не было столь значительным.

Помимо индукции ПОЛ и, как следствие, нарушения проницаемости мембран важным фактором, влияющим на степень интоксикации, служит изменение активности систем инактивации и выведения токсических продуктов метаболизма. В условиях дефицита оксида азота наблюдается нарушение процессов S-нитрозилирования цитоплазматических и мембранных белков, что, предположительно, вносит свой вклад в изменение активности белков и неспособности инактивации эндотоксинов и дальнейшего их выведения. В частности, на мембране эритроцитов локализованы нуклеозид-специфические транспортеры – ENT1 и ENT2, эндогенными субстратами которых являются

пуриновые и пиримидиновые нуклеозиды [3, 5]. Предположительно, в условиях дефицита NO может изменяться активность ENT транспортеров, что отражается на увеличении внутриклеточной концентрации субстратов и вносит свой вклад в повышении степени эндогенной интоксикации.

Выводы

Получение L-NAME животными в дозе 25 мг/кг массы тела привело к снижению продукции оксида азота (II). Дефицит NO способствовал накоплению малонового диальдегида в эритроцитах крыс, что свидетельствует о индукции перекисного окисления липидов мембран. Изменение функционирования мембран привело к повышению содержания веществ низкой и средней молекулярной массы, что служит критерием повышения степени эндогенной интоксикации эритроцитов.

Список литературы

1. Кручинский, Н. Г. Клинико-лабораторные проявления синдрома эндогенной интоксикации у высококвалифицированных спортсменов циклических видов спорта / Н. Г. Кручинский, М. П. Королевич, Е. А. Стаценко // Здоровье для всех. – 2015. – № 1. – С. 11-17.
2. Узбеков, М. Г. Эндогенная интоксикация и ее роль в патогенетических механизмах психических расстройств / М. Г. Узбеков // Социальная и клиническая психиатрия. – 2019. – Т. 29. – № 4. – С. 14-20.
3. Baldwin S.A., Beal P.R., Yao S.Y. et al. The equilibrative nucleoside transporter family, SLC29 // Pflugers Arch. – 2004. – Vol. 447(5). – P. 735 – 743.
4. Hummel S. G., Fischer A. J., Martin S. M., Schafer F. Q., Buettner G. R. Nitric oxide as a cellular antioxidant: a little goes a long way. Free Radical Biology and Medicine. 2006;40(3):501–506. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.047
5. Stefan C., Jansen S., Bollen M. Modulation of purinergic signaling by NPP-type ectophosphodiesterases // Purinergic Signalling. – 2006. – No 2. – P. 361–370.

УДК 616-092.9

¹Пономарева Ю.А., ¹Туремуратова Д.Ж., ^{1,2}Маклакова И.Ю. АКТИВАЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С ПОМОЩЬЮ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Кафедра патологической физиологии

¹-Уральский государственный медицинский университет

²-ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Екатеринбург, Российская Федерация

¹Ponomareva Yu.A., ¹Turemuratova D.Zh., ^{1,2}Maklakova I.Yu. ACTIVATION OF LIVER REGENERATION IN CONDITIONS OF TOXIC HEPATITIS USING STEM CELLS

Department of Pathological Physiology