УДК 612.127.2:612.014.464:616.152.21

КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

Е.В. Шульга, к.м.н.; М.Э. Казак; В.В. Зинчук, д.м.н., профессор
УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Анализируются современные и собственные данные о кислородзависимых процессах организма при введении липополисахарида. Обсуждается возможность коррекции этих процессов с помощью физиологически активных веществ (мелатонин, эритропоэтин, 1-метилникотинамид) при участии L-аргинин-NO системы.

Ключевые слова: *липополисахарид, кислород, монооксид азота, перекисное окисление липидов.*

Modern and our own data concerning oxygen dependant functions during lipopolysaccharide administration were analyzed. Possibility of these processes correction using physiologically active substances (melatonin, erythropoietin, 1-methylnicotinamide) with L-arginine-NO system participation are discussed.

Key words*: oxygen, nitric oxide, lipid peroxidation.*

ЛПС (липополисахарид) является облигатным компонентом клеточной мембраны грамотрицательных бактерий, которые широко распространены в природе. Интерес к данному фактору обусловлен тем, что организм человека постоянно контактирует с достаточно большим количеством этого эндотоксина, что обеспечивает поддержание гомеостаза и адаптацию организма к стрессовым воздействиям. Однако действие больших доз ЛПС приводит к нарушению оксигенации тканей и развитию гипоксии. Влияние ЛПС на кислородзависимые процессы изучено пока недостаточно.

ЛПС является субстанцией, диапазон вызываемых влияний которой характеризуется широтой разнообразных эффектов [19]. При его действии происходит уменьшение альвеолярно-артериального градиента оксигенации в легких, появление цитокинов в кровотоке (фактор некроза опухоли-□ (ФНО-□), ИЛ-1□, ИЛ-6, ИЛ-8), актива- ция ферментов, образующих монооксид азота (NO) и простагландины, в частности, простагландин Е2 [49]. По- вышается продукция свободных радикалов, увеличива- ется фрагментация ДНК, активность каспаз-9 и каспаз-3, развивается апоптоз и митохондриальная транслокация антиапоптозных белков Bcl-2 и Bcl-XL [41].

Известно, что причиной развития окислительного стресса, индуцированного ЛПС, является усиление генерации активных форм кислорода (АФК) и нарушение баланса между свободнорадикальными процессами и факторами АОС (антиоксидантной системы) [32].

Эффекты ЛПС реализуются как путем прямого взаимодействия с липидным компонентом клеточных мембран, так и опосредованно, за счет связывания с мембранными рецепторами и инициирования ряда каскадных реакций. Транспорт данного токсина осуществляется с помощью белка, связывающего ЛПС и доставляющего его к мембранно-связанным или к свободным рецепторам CD14, после чего образовавшийся комплекс взаимодействует с рецепторами Toll-like 4, которые способны осуществлять трансмембранную передачу сигнала, активировать клетки через нуклеарный фактор каппа В (NF-kB) [1], вызывать продукцию провоспалительных цитокинов (ИЛ)-8, фактора роста эндотелия сосудов, молекулы межклеточной адгезии-1, молекулы сосудисто-клеточной адгезии-1, усиливать генерацию свободных радикалов и инициировать развитие окислительного стресса [46].

Введение больших доз ЛПС на протяжении 24 часов приводит к развитию окислительного стресса [55] вследствие нарушения сбалансированности прооксидантной системы и АОС. Этот процесс является универсальным механизмом повреждения клетки и характеризуется увеличением внутриклеточной генерации АФК, которые выступают в роли повреждающего агента и, благодаря высокой реакционной способности на фоне истощения АОС, приводят к окислительным модификациям биомолекул, изменению активности ферментных систем, нарушению структуры биомембран [17]. При этом ухудшаются гемореологические показатели (относительная вязкость крови, динамическая вязкость крови при различных стандартных градиентах сдвига, индекс деформируемости эритроцитов) в микроциркуляторном русле, обусловленные активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ) и угнетением АОС [14]. В условиях окислительного стресса избыточная генерация АФК влияет на митоген-активируемые протеинкиназы JNK и p38, активация которых воздействует на провоспалительные цитокины (ИЛ-1□, ФНО-□), свободные радикалы, регулирует апоптоз путем фосфорилирования и активации фактора транскрипции p53 и проапоптотических белков семейства Bcl-2, а также p38 активирует NF-kB в ответ на стресс [31].

При окислительном стрессе, индуцированном ЛПС, наблюдается увеличение уровня малонового диальдегида (МДА), нитрат/нитритов, а также отмечается снижение активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы (СОД), глутатион (GSH)-пероксидазы, миелопероксидазы (МПО) и каталазы) [52]. Развивающиеся окислительные повреждения при действии ЛПС вызывают уменьшение толщины поверхности эндотелия, обусловливая нарушения структуры гликокаликса сосудистого русла и развитие эндотелиальной дисфункции, которая приводит к ухудшению микроциркуляции и снижению оксигенации тканей. Высказываются различные мнения о развитии сосудистой дисфункции как в результате прямого действия данного фактора на эндотелий, так и вторичного, за счет высвобождающихся цитокинов (ФНО-□, ИЛ-□) [27].

Повышение в плазме уровня гомоцистеина (серосодержащей аминокислоты, являющейся промежуточным продуктом метаболизма метионина) усиливает окислительные повреждения, инициирует гиперполяризацию мембран, образование пероксинитрита, повышение уровня общего цистеина и снижение содержания GSH [45]. Высокие уровни данной аминокислоты вызывают повреждение эндотелиальных клеток артерий, ухудшение продукции и уменьшение биодоступности NO, окисление липопротеинов низкой плотности, а также увеличе-

ние генерации АФК, активацию NF-kB, развитие эндотелиальной дисфункции и окислительного стресса [56]. Кроме того, гомоцистеин усиливает эффекты ЛПС в эндотелиальных клетках сосудов пуповины, потенциирует его способность генерировать АФК через активацию NF-kB [28]. При этом уменьшение уровня данной аминокислоты через процессы транссульфурирования наблюдается под действием каталазы, СОД и □-токоферола [47].

Введение ЛПС приводит к потере массы тела, развитию метаболического ацидоза [24]. В сердце, легком и аорте отмечается усиление процессов ПОЛ, а также уменьшение сократимости перфузируемого изолированного сердца, увеличение продукции NO, которое способствует активации апоптоза [48]. Отмечается первоначальное увеличение содержания GSH и повышение активности GSH-пероксидазы в миокарде после введения ЛПС, а через 16 часов – уменьшение, тогда как уровень NO и пероксинитрита увеличивается через 4 часа и остается повышенным через 24 и 48 часов [54]. Однако через 5 суток после введения данного токсина содержание нитрат/нитритов снижается в плазме крови [44]. ЛПС вызывает повреждение ткани легкого и почек, снижение напряжения кислорода (pO_2) в микроциркуляторном русле, повышение уровня МДА, активности МПО, экспрессии внутриклеточных молекул адгезии-1 и индуцибельная изоформа NO-синтазы (иNOC) [50]. Выявлено, что ЛПС *Escherichia coli* (*E. coli)* в дозе 200 мкг/кг приводит к уменьшению pO_2, снижению насыщения крови кислородом и pH крови в капиллярной сети слизистой оболочки тощей кишки, что способствует развитию гипоксических изменений в тканях [25].

Известно, что введение ЛПС в просвет толстого кишечника изменяет тоническую активность его афферентных волокон, следствием чего могут быть нарушения нервно-рефлекторных взаимосвязей в системе пищеварения [16]. Данный фактор также оказывает влияние на активность симпатических пре- и постганглионарных нейронов, на модуляцию висцеро-висцеральных рефлексов, на центральные и периферические звенья интероцептивных рефлексов желудка и кишечника [4].

ЛПС влияет на механизмы нервной и гормональной регуляции организма. Его внутривенное введение в дозе 0,5 мкг/кг у кроликов через 1,5–2,0 часа приводит к повышению содержания адренокортикотропного гормона, кортизола, тиреотропного гормона, тиреоидных гормонов, антидиуретического гормона, активации кожных симпатических нервов, угнетению активности чревного нерва и сердечных ветвей [5]. Введение данного токсина также увеличивает уровень 6-кето-простагландина F1□, вызывает развитие гипералгезии, реализуемое за счет ингибирования продукции простациклина [42].

ЛПС в зависимости от дозы может вызывать различные эффекты со стороны системы терморегуляции. При стандартных температурных условиях внутривенное введение относительно небольших доз (0,5 мкг/кг) данного фактора кроликам приводит к повышению температуры на 0,8–1,2 °С, развитию двухфазовой лихорадки, усилению процессов энергообмена за счет усиления потребления кислорода, повышению содержания глюкозы и свободных жирных кислот [5]. Повышение температуры окружающей среды приводит к усилению лихорадки за счет уменьшения кровотока в «оболочке» и снижения потоотделения. При низкой внешней температуре животные более чувствительны к действию данного токсина [53], что способствует нарастанию температуры тела за счет усиления процессов химической терморегуляции.

Введение больших доз (20 мг/кг и более) ЛПС кроликам при стандартных условиях вызывает эндотоксический шок, который сопровождается снижением температуры тела [2]. Кроме того, введенные предварительно невысокие дозы данного токсина через 24 часа вызывают уменьшение чувствительности к последующей, более высокой дозе, и снижают развитие окислительного стресса [29].

ЛПС вызывает существенные изменения функционирования различных составляющих механизмов транспорта кислорода кровью. Так, в своих исследованиях N. Matsuda et al. [34] показали, что внутривенное введение данного фактора (100 мкг/кг) кроликам вызывает нарушение гемодинамики и в дальнейшем – появление признаков гипоксии в тканях. Установлено, что инъекция ЛПС *E. coli* через 60 и 120 минут способствует значительному снижению pO_2 артериальной крови, уменьшению оксигенации тканей слизистой оболочки тощей кишки и, соответственно, развитию тканевой гипоксии [35]. Введение данного фактора также приводит к повреждению ткани легкого и, как следствие, ухудшению газового обмена (снижение pO_2, увеличение напряжения углекислого газа (pCO_2)) и снижению pH в артериальной крови [51]. При его действии в почках отмечается также ухудшение микроциркуляции за счет снижения кровотока, нарушения доставки кислорода, уменьшения среднего значения pO_2 [36]. В условиях гипоксии отмечается увеличение гематокрита, повышение вязкости крови, увеличение уровня нитрат/нитритов, при этом уменьшается и диаметр артериол, ухудшается кровоток и капиллярное кровообращение [26]. ЛПС, введенный крысам в дозе 10 мг/кг, снижает концентрацию гемоглобина, содержание эритроцитов и стимуляцию эритропоэза, индуцированные дарбепоэтином [38].

Выявлены единичные сведения о состоянии кислородтранспортной функции (КТФ) крови и проокидантно-антиоксидантного баланса организма при развитии лихорадки, вызванной относительно небольшими дозами ЛПС *Salmonella typhi*. Так, внутривенное введение данного фактора кроликам-самцам в дозе 0,6 мкг/кг приводило к повышению ректальной температуры, ухудшению кислородсвязывающих свойств крови, сдвигу кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) вправо и уменьшению индекса деформируемости эритроцитов [7]. Внутримышечная инъекция данного токсина крысам вызывала развитие умеренного метаболического ацидоза, ухудшение кислородного обеспечения, а также увеличение оснований Шиффа (ОШ) совместно со снижением факторов АОС (□-токоферол и каталаза) в эритроцитах крови и тканях (сердце, почки, печень) [9]. При окислительном стрессе, индуцированном внутривенным введением более высоких доз (500 мкг/кг) ЛПС кроликам, к концу 120 и 240 мин. параметр $p50_{реал}$ повышался, что обусловливало снижение сродства гемоглобина к кислороду (СГК) и сдвиг реальных КДО вправо, а также усиление процессов ПОЛ (повышение уровня диеновых конъюгатов (ДК) и ОШ) и уменьшение концентрации □-токоферола и активности каталазы [3].

В нашем исследовании [22] получены результаты, демонстрирующие эффект ЛПС на кислородсвязывающие свойства крови, процессы ПОЛ и АОС на протяжении первых пяти суток. Установлено, что через 12 часов после его введения наблюдаются наиболее существенные нарушения со стороны показателей кислотно-основного состояния и КТФ крови, обусловливающие ухудшение доставки кислорода к различным органам. Но уже через сутки отмечается тенденция улучшения данных

показателей, а через 5 суток – восстановление до величин контрольной группы. Наблюдается уменьшение СГК и, соответственно, смещение КДО вправо при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры через 12 часов после инъекции ЛПС ($p50_{реал}$ возрастает с 33,2±0,70 до 39,2±0,93 мм рт. ст., p<0,008), а через 5 суток после введения данного фактора отмечается смещение её положения к контролю. Данные изменения важны для формирования адаптационных реакций организма на это воздействие с учетом того, что гемоглобин, изменяя свое сродство к кислороду, регулирует доставку O_2 к тканям в соответствии с их потребностями и его использованием для генерации АФК [11].

Известно, что инъекция ЛПС инициирует развитие окислительных повреждений на клеточном уровне, нарушение функционирования различных органов в результате повышения уровня МДА, концентрации перекиси водорода при снижении содержания GSH, соотношения восстановленного/окисленного GSH [32], а также ведет к уменьшению активности ферментативного компонента АОС (СОД, каталаза) [55]. В наших опытах оценена активность процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты в тканях и крови через 12 часов, одни и пять суток после введения ЛПС [22]. Отмечается увеличение уровня ДК, ОШ и снижение концентрации □-токоферола в крови и тканях (аорта, сердце, легкие, печень и почки) через 12 часов после введения ЛПС, что отражает дисбаланс прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону повышения продукции свободных радикалов. При этом наиболее значительные изменения уровня первичных и конечных продуктов ПОЛ наблюдаются в печени и аорте, соответственно. В частности, уровень ДК увеличивается с 2,1 (2,1-2,7) до 3,4 (3,1-4,4) $□D_{233}$/г (p<0,008) в печени. Концентрация □-токоферола наиболее выраженно снижается также в данном органе с 9,0 (8,3-9,6) до 5,6 (4,0-6,0) мкмоль/г (p<0,008). Через 12 часов после введения ЛПС наблюдается уменьшение активности каталазы в тканях (наиболее значительно в легких), в то время как в эритроцитах – повышение показателя (с 24,8±0,70 до 30,9±0,81 ммоль H_2O_2/мин/г гемоглобина, p<0,008), что может рассматриваться как компенсаторная реакция организма на ранних стадиях развития окислительного стресса [18]. В нашем исследовании отмечается также повышение уровня гомоцистеина в плазме крови (с 6,30±0,36 до 10,97±0,89 мкмоль/л, p<0,008) через 12 часов после введения ЛПС. Гипергомоцистеинемия является маркером окислительных повреждений. Следует отметить, что в развитии выявленных окислительных нарушений, обусловленных действием ЛПС, участвуют механизмы транспорта кислорода. В частности, при уменьшении СГК наблюдается усиление оксигенации тканей, приводящее к избытку кислорода и генерации АФК в клетке, так как в результате активации стрессреализующих систем повышается доставка кислорода в ткани, намного превышающая их потребность в нем.

L-аргинин-NO система участвует в формировании кислородсвязывающих свойств крови. Известно, что низкие концентрации NO, продуцируемые эндотелиальной изоформой NO-синтазы в течение нескольких секунд, оказывают цитопротекторное действие, уменьшают продукцию провоспалительных цитокинов, в то время как чрезмерно большое количество NO, генерируемое иNOC под действием ЛПС в течение длительного периода времени, обладает цитотоксическими эффектами [33]. Установлено, что введение селективного ингибитора иNOC (N^6-(1-iminoethyl)-L-lysine hydrochloride) крысам предотвращает нарушения гемодинамических показателей и газового состава крови при септическом шоке, вызванном наложением лигатуры на толстый кишечник [37]. В наших исследованиях [21] показано, что инъекция АГ (аминогуанидин) в дозе 300 мг/кг через 12 часов после введения ЛПС вызывает улучшение показателей КТФ крови, снижение p50 на 6,2% (p<0,05) при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры. Данный селективный ингибитор иNOC уменьшает окислительные нарушения, индуцированные ЛПС, снижая уровень гомоцистеина на 29,8% (p<0,05) и уменьшая дисбаланс прооксидантно-антиоксидантного состояния: отмечается снижение активности свободнорадикальных процессов в крови и тканях (наиболее выражено уменьшение в печени содержания ДК, а в почках – МДА) одновременно с повышением концентрации □-токоферола в аорте, в сердце, в легких, в почках и в плазме, а также увеличение активности каталазы в исследуемых тканях (наиболее значимо в легких) и её снижение в эритроцитах.

Коррекция окислительных повреждений и нарушений КТФ крови, вызванных введением ЛПС, нами проводилась также с помощью мелатонина в дозе 4 мг/кг/сут на протяжении 3 суток [13]. Данный гормон, продуцируемый в основном эпифизом, сетчаткой глаза, клетками эндокринной системы желудочно-кишечного тракта, обладает широким спектром эффектов: антиоксидантных, иммуномодулирующих, антистрессорных и других. В наших исследованиях установлено, что данная субстанция уменьшает нарушения кислотно-основного состояния, возникающие после введения ЛПС, и увеличивает показатели C_VO_2 и pO_2 на 41,2% (p<0,05) и 9,5% (p<0,05), соответственно, а также повышает СГК (уменьшает $p50_{реал}$ на 13,1%, p<0,05) при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры, что влияет на процессы транспорта кислорода кровью.

Данный гормон может действовать как «скавенджер» свободных радикалов, который способен нейтрализовать активные формы кислорода и азота, проявляя, тем самым, прямые антиоксидантные свойства, а также опосредованно стимулировать активность антиоксидантных ферментов (СОД, GSH-Px, глутатионредуктазы) [23]. Установлена способность мелатонина уменьшать окислительные повреждения путем снижения уровня гомоцистеина, стабилизации клеточных мембран, уменьшения активности циклооксигеназы-2, NF-kB и экспрессии иNOC, а также индукции Bax, активности каспаз-3 и развития апоптоза [39]. По нашим данным, после введения мелатонина и ЛПС наблюдается снижение уровня ДК и концентрации МДА одновременно с увеличением уровня факторов антиоксидантной защиты в тканях (аорте, сердце, легких, печени и почках) и крови. Так, в частности, наблюдается снижение содержания ДК в легких и в почках, а также повышение концентрации □-токоферола в легких и в почках. Применение мелатонина также снижает уровень гомоцистеина в плазме крови на 40,9% (p<0,05) после введения ЛПС. Выявленное в нашем исследовании влияние мелатонина на прооксидантно-антиоксидантное состояние организма (снижение прироста свободнорадикальных процессов и повышение антиоксидантной защиты) через 12 часов после введения ЛПС отражает антиоксидантное действие данной субстанции.

В следующей серии исследования [13] для коррекции выявленных нарушений использовался эритропоэтин-□ (ЭПО), который, как известно, обладает способностью повышать количество эритроцитов. В последнее время активно исследуются и неэритропоэтические эффекты

данной субстанции. В нашей работе показано, что введение ЭПО перед инъекцией ЛПС улучшает показатели транспорта кислорода кровью, при этом p50 снижается на 7,2% ($p<0,05$) при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры. Отмечается уменьшение признаков метаболического ацидоза и гипоксии. Как видим, данные изменения способствуют улучшению кислородсвязывающих свойств крови, оптимизации оксигенации тканей еще до активации эритропоэза и последующего увеличения кислородной емкости крови. Наряду с улучшением показателей КТФ крови, ЭПО уменьшает концентрацию гомоцистеина в плазме крови и активность свободнорадикальных процессов (снижает прирост уровня ДК, содержание МДА) в крови и тканях (аорте, сердце, легких, печени и почках). При этом наиболее значительное уменьшение прироста первичных и промежуточных продуктов ПОЛ, возникающее после введения ЭПО, отмечается прежде всего в печени и аорте. Данное соединение способствует также увеличению концентрации □-токоферола в плазме крови и исследуемых тканях (наиболее выражено в печени), тогда как активность каталазы повышается в данных тканях (наиболее значительно в легких) и снижается в эритроцитах. Выявленное уменьшение окислительных повреждений, индуцированных ЛПС, может быть обусловлено ингибированием активности NF-kB, снижением провоспалительных цитокинов (ФНО-□, ИЛ-6) и увеличением продукции ИЛ-10, а также уменьшением апоптоза в легких, печени, тонком кишечнике, тимусе и селезенке, ингибированием активности каспаз-3, генерации NO, образования пероксинитрита и гипоксии ткани. Кроме того, повышение СГК, вызванное применением ЭПО, за счет перестройки внутриэритроцитарной системы регуляции кислородсвязывающих свойств крови, может быть дополнительным механизмом формирования прооксидантно-антиоксидантного равновесия.

В условиях введения ЛПС коррекцию нарушений также проводили с помощью 1-метилникотинамид хлорида (МНА, основного метаболита никотинамида). По некоторым данным, он может влиять на проявления окислительного стресса через изменение содержания ряда витаминов, в частности, $Д_3$ и амидных форм $В_3$, никотинамида [30]. В наших экспериментах [21] МНА улучшает кислородсвязывающие свойства крови и уменьшает проявления прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса в условиях введения ЛПС. Отмечается нормализация кислотно-основного состояния крови и увеличение SO_2 на 14,5% ($p<0,05$) и pO_2 на 14,0% ($p<0,05$), а также повышение СГК (показатель $p50_{реал}$ снижается на 7,9%, $p<0,05$) и, соответственно, отклонение КДО при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры влево. МНА, введенный перед инъекцией ЛПС, уменьшает окислительные повреждения, что проявляется снижением уровня гомоцистеина на 44,3% ($p<0,05$), содержания ДК и МДА в тканях (аорте, сердце, легких, печени и почках) и крови, а также повышением уровня антиоксидантных факторов защиты (наиболее значительно в сердце на 57,2% ($p<0,05$) концентрации □-токоферола и в легких на 104,5% ($p<0,05$) активности каталазы). Однако эффекты данного фактора не связаны с его прямыми антиоксидантными свойствами [40]. Его влияние реализуется через эндотелий-зависимые механизмы (циклооксигеназу-2 и простагландины), а также путем воздействия на продукцию NO, что может быть важным для кислородсвязывающих свойств крови, активности процессов ПОЛ, факторов антиоксидантной защиты.

L-аргинин-NO система влияет на механизмы транспорта кислорода кровью и свободнорадикальные процессы при окислительных нарушениях. Известно, что ЛПС стимулирует экспрессию иNOC, увеличивая избыточную продукцию NO, а также вызывает нарушение активности эндотелиальной изоформы NO-синтазы в различных органах, что в целом обусловливает дисбаланс L-аргинин-NO системы и изменение физиологической роли NO и NO-производных форм гемоглобина (метгемоглобина, нитрозилгемоглобина, S-нитрозогемоглобина) [12]. В нашей работе продукцию NO оценивали по суммарному содержанию нитрат/нитритов. Так, через 12 часов после введения ЛПС данный показатель увеличивается на 7,3 мкмоль/л ($p<0,05$), через одни сутки – на 15,5 мкмоль/л ($p<0,05$), а через пять суток его значение снижается и приближается к величине контрольной группы. После введения ЛПС повышается продукция NO, который при взаимодействии с физиологическими субстратами приводит к увеличению количества S-нитрозогемоглобина, нитрозилгемоглобина в крови, а также, взаимодействуя с супероксид-анионом, образует мощный окислитель пероксинитрит. Данные NO-соединения имеют важное значение для формирования реологических свойств крови и в целом КТФ.

Образование различных NO-соединений гемоглобина оказывает регуляторное влияние как на СГК, так и на прооксидантно-антиоксидантное равновесие при действии ЛПС. Применение АГ в нашем исследовании вызывает уменьшение уровня нитрат/нитритов на 71,5% ($p<0,05$), мелатонина – 50,7% ($p<0,05$), ЭПО – 37,6% ($p<0,05$), МНА – 45,4% ($p<0,05$), что, очевидно, связано с ингибированием иNOC и снижением продукции NO.

Одни и те же молекулы участвуют как в повреждении клеток и тканей, так и в их защите от внешней агрессии, а также в процессах внутри- и межклеточной регуляции, в частности, NO, синтезирующийся эндотелиоцитами в наномолярных концентрациях, служит для физиологической регуляции тонуса сосудов, в то время как синтез этой же молекулы в цитотоксических микромолярных концентрациях активированными макрофагами приводит к отмене данной регуляции и к патологическому неконтролируемому расширению сосудов в очаге воспаления [6].

Развитие окислительного стресса обусловлено нарушением сбалансированности антиоксидантной и прооксидантной систем, однако многие вопросы регуляторной функции АКФ, их взаимодействия с белками, липидами, углеводами и нуклеиновыми кислотами, а также их физиологическая роль остаются спорными [15]. Уменьшение дисбаланса L-аргинин-NO системы, вызванное введением ЛПС в дозе 500 мкг/кг, через 12 часов, с помощью используемых нами средств (АГ, мелатонина, ЭПО и МНА) оказывает влияние на СГК и оптимизирует процессы оксигенации в сосудах малого круга кровообращения и деоксигенации в капиллярах большого круга.

Способность гемоглобина, изменяя СГК, регулировать количество кислорода, поступающего в ткани, рассматривается как один из факторов, участвующий в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма [10]. Рост свободнорадикальных процессов и снижение АОС приводит к нарушению межклеточного взаимодействия, обменных процессов, изменению проницаемости клеточных мембран. В данных условиях эффективность использования кислорода тканями снижается, в то время как усиление оксигенации тканей в результате снижения СГК и увеличения локального кровотока приводит к избытку кислорода в тканях, генерации АФК и активации свободнорадикальных процессов в клетке. Существует необходимость приведения в соответ-

ствие доставки кислорода с возможностями полноценной его утилизации тканями, что является важным звеном механизма регуляции прооксидантно-антиоксидантного состояния организма [10].

Приведение в соответствие доставки кислорода в клетки с потребностью в нем наблюдается в наших исследованиях при использовании АГ, мелатонина, ЭПО и МНА. Механизм протекции связан с регулированием свободнорадикальных процессов путем оптимизации потока кислорода к клеткам. Целенаправленное воздействие на КТФ крови АГ, мелатонина, ЭПО и МНА способствует повышению СГК, уменьшению дисбаланса прооксидантно-антиоксидантного состояния организма. Представляется возможным осуществлять коррекцию окислительных нарушений, индуцированных ЛПС, путём использования данных физиологических факторов. Установленные закономерности демонстрируют, что АГ, мелатонин, ЭПО, МНА оказывают регуляторное действие на КТФ крови и прооксидантно-антиоксидантный баланс при действии ЛПС. Целенаправленное использование таких физиологических факторов, как АГ, мелатонин, ЭПО, МНА обусловливает уменьшение повреждающего действия ЛПС в организме через эффект на кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантный баланс.

При введении ЛПС от *E. coli* Serotype O111:B4 в дозе 5 мг/кг (интраперитонеально, трехкратно с интервалом 24 часов) отмечаются значительные изменения кислородсвязующих свойств крови (величина как стандартного, так и реального p50 уменьшилась, что обуславливает сдвиг КДО влево) [неопубликованные данные].

Различные аспекты действия ЛПС на кислородсвязывающие свойства крови, сродство гемоглобина к кислороду, прооксидантно-антиоксидантный баланс и оценка вклада физиологически активных веществ, вырабатываемых в организме, на механизмы регуляции кислородтранспортной функции крови, свободнорадикальных процессов и антиоксидантной системы имеют сложный характер изменений, что необходимо учитывать для разработки новых способов регуляции кислородзависимых процессов организма в этих условиях.

Литература

1. Викторов, А.В. Связывание липополисахарида и комплексов липополисахарида с сывороточными липопротеинами низкой плотности с макрофагами печени / А.В. Викторов, В.А. Юркив // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 36–43.

2. Висмонт, Ф.И. Эндотоксинемия в физиологии и патологии терморегуляции / Ф.И. Висмонт // Проблемы термофизиологии в биологии и медицине: к 100-летнему юбилею присуждения Нобелевской премии академику И.П. Павлову. – Минск: ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. – С. 61–63.

3. Глебов, А.Н. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантного состояния организма при окислительном стрессе / А.Н. Глебов, В.В. Зинчук // Весці НАН Беларусі. Серыя медыка–біялагічных навук. – 2002. – № 2. – С. 71–74.

4. Гурин, В.Н. Механизмы лихорадки / В.Н. Гурин. – Мн.: Навука і тэхніка, 1993. – 165 с.

5. Гурин, В.Н. Терморегуляция и биологически активные вещества крови / В.Н. Гурин, А.В. Гурин. – Мн.: Бизнесофтсет, 2004. – 216 с.

6. Зенков, Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. – М.: Наука/Интерпериодика, 2001. – 343 с.

7. Зинчук, В.В. Влияние ингибирования NO-синтазы на кислородтранспортную функцию крови при лихорадке у кроликов / В.В. Зинчук, М.В. Борисюк // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 1997. – Т. 83, № 4. – С. 111–116.

8. Зинчук, В.В. Влияние эритропоэтина на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние у кроликов при введении липополисахарида / В.В. Зинчук, Е.В. Шульга, И.Э. Гуляй // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2010. – Т. 96, № 1. – С. 43–49.

9. Зинчук, В.В. Прооксидантно-антиоксидантное состояние организма при введении липополисахарида в условиях коррекции сродства гемоглобина к кислороду и L–аргинин- NO -системы / В.В. Зинчук // Бюллетень экспер. биологии и медицины. – 2001. – Т. 131, № 1. – С. 39–42.

10. Зинчук, В.В. Роль кислородсвязующих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма / В.В. Зинчук, М.В. Борисюк // Успехи физиологических наук. – 1999. – Т. 30, № 3. – С. 38–48.

11. Зинчук, В.В. Роль кислородсвязующих свойств крови в формировании прооксидантно-антиоксидантного состояния организма при гипертермических состояниях различного генеза. Монография / В.В. Зинчук. – Гродно: ГГМУ, 2005.– 168 с.

12. Зинчук, В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина / В.В. Зинчук // Успехи физиологических наук. – 2003. – Т. 34, № 2. – С. 33–45.

13. Зинчук, В.В. Эффект мелатонина на кислородсвязующие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние после введения липополисахарида / В.В. Зинчук, Е.В. Шульга // Экспер. и клинич. фармакология. – 2010. – Т. 73, № 4. – С. 18–22.

14. Карнозин и антиоксиданты природного происхождения как средства профилактики острого посленагрузочного окислительного стресса / Е.А. Рожкова [и др.] // Экспер. и клинич. фармакология. – 2007. – Т. 70, № 5. – С. 44–46.

15. Митоген активированные протеинкиназы JNK и p38-редокс-зависимые молекулярные мишени нарушения апоптоза при окислительном стрессе / Н.В. Рязанцева [и др.] // Успехи физиологических наук. – 2009. – Т. 40, № 2. – С. 3–11.

16. Морозова, И.Л. Реакция афферентных волокон ободочной кишки на введение в ее просвет липополисахарида Escherichia coli на фоне экспериментального колита / И.Л. Морозова, В.В. Солтанов // Новости медико-биологических наук. – 2005. – № 2. – С. 12–16.

17. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова [и др.]. – М.: Слово, 2006. – 553 с.

18. Роль свободных радикалов азота и кислорода в патогенезе ЛПС-индуцированной эндотоксемии / Т.В. Саникидзе [и др.] // Бюллетень экспер. биологии и медицины. – 2006. – Т. 141, № 2. – С. 172–176.

19. Рябиченко, Е.В. Цитокинстимулирующая активность липополисахарида грамотрицательных бактерий и его роль в противоопухолевом иммунитете / Е.В. Рябиченко, В.М. Бондаренко, Л.Г. Веткова // Журнал микробиологии. – 2005. – № 6. – С. 76–81.

20. Шульга, Е.В. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние организма в условиях коррекции L-аргинин-NO системы / Е.В. Шульга // Журнал ГрГМУ. – 2009. – № 2. – С. 49–51.

21. Шульга, Е.В. Кислородтранспортная функция крови и свободнорадикальные процессы у кроликов после введения липополисахарида / Е.В. Шульга, В.В. Зинчук // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2009. – № 4. – С. 38–43.

22. Шульга, Е.В. Эффект 1-метилникотинамида на кислородтранспортную функцию крови и свободнорадикальные процессы при введении липополисахарида / Е.В. Шульга, В.В. Зинчук // Новости медико-биологических наук. – 2009. – № 3. – С. 17–22.

23. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress / R.J. Reiter [et al.] // J. Biomed. Sci. – 2000. – Vol. 7, № 6. – P. 444–458.

24. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha by fenofibrate prevents myocardial dysfunction during endotoxemia in rats / E. Jozefowicz [et al.] // Crit. Care Med. – 2007. – Vol. 35, № 3. – P. 856–863.

25. Arginine vasopressin does not alter mucosal tissue oxygen tension and oxygen supply in an acute endotoxemic pig model / H.

Knotzer [et al.] // Intensive Care Med. – 2006. – Vol. 32, № 1. – P. 170–174.

26. Bertuglia, S. Intermittent hypoxia modulates nitric oxide-dependent vasodilation and capillary perfusion during ischemia-reperfusion-induced damage / S. Bertuglia // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2008. – Vol. 294, № 4. – P. 1914–1922.

27. Dauphinee, S.M. Lipopolysaccnaride signaling in endothelial cells / S.M. Dauphinee, A. Karsan // Laboratory Investigation. – 2006. – Vol. 86 – P. 9-22.

28. Effects of homocysteine on murine splenic B lymphocyte proliferation and its signal transduction mechanism / Q. Zhang [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2001. – Vol. 52, № 2. – P. 328–336.

29. Effects of low-dose lipopolysaccharide (LPS) pretreatment on LPS-induced intra-uterine fetal death and preterm labor / D.X. Xu [et al.] // Toxicology. – 2007. – Vol. 234, № 3. – P. 167–175.

30. Erythropoietin, forkhead proteins, and oxidative injury: biomarkers and biology / K. Maiese [et al.] // Scientific World Journal. – 2009. – Vol. 2, № 9. – P. 1072–1104.

31. Gallo, K.A. Mixed-lineage kinase control of JNK and p38 MAPK pathways / K.A. Gallo, G.L. Johnson // Nature Reviews Molecular cell Biology. – 2002. – Vol. 3, № 9. – P. 663–672.

32. Goraca, A.H. Effect of alpha-lipoic acid on LPS-induced oxidative stress in the heart / A.H. Goraca, A. Piechota, H. Huk-Kolega // J. Physiol. Pharmacol. – 2009. – Vol. 60, № 1. – P. 61–68.

33. Guzik, T.J. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation / T.J. Guzik, R. Korbut, T. Adamek-Guzik // J. Physiol. Pharmacol. – 2003. – Vol. 54, № 4. – P. 469–487.

34. Hemodynamic significance of histamine synthesis and histamine H1- and H2-receptor gene expression during endotoxemia / N. Matsuda [et al.] // Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol. – 2002. – Vol. 366, № 6. – P. 513–521.

35. Influence of C1-esterase inhibitor on tissue oxygenation of jejunal mucosa during endotoxemia / W. Schmidt [et al.] // Int. J. Surg. Investig. – 1999. – Vol. 1, № 4. – P. 277–283.

36. Johannes, T. Nonresuscitated endotoxemia induces microcirculatory hypoxic areas in the renal cortex in the rat / T. Johannes, E.G. Mik, C. Ince // Shock. – 2009. – Vol. 31, № 1. – P. 97–103.

37. Kadoi, Y. Selective inducible nitric oxide inhibition can restore hemodynamics, but does not improve neurological dysfunction in experimentally-induced septic shock in rats / Y. Kadoi, F. Goto // Anesth. Analg. – 2004. – Vol. 99, № 1. – P. 212–220.

38. Lipopolysaccharide evokes resistance to erythropoiesis induced by the long-acting erythropoietin analogue darbepoetin alfa in rats / P. Brendt [et al.] // Anesth. Analg. – 2009. – Vol. 109, № 3. – P. 705–711.

39. Melatonin protects against hydrogen peroxide-induced cell death signaling in SH-SY5Y cultured cells: involvement of nuclear factor kappa B, Bax and Bcl-2 / B. Chetsawang [et al.] // J. Pineal. Res. – 2006. – Vol. 41, № 2. – P. 116–123.

40. 1-Methylnicotinamide: a potent anti-inflammatory agent of vitamin origin / J. Gebicki [et al.] // Pol. J. Pharmacol. – 2003. – Vol. 55, № 1. – P. 109–112.

41. Mishra, D.P. Endotoxin induces luteal cell apoptosis through the mitochondrial pathway / D.P. Mishra, A. Dhali // Prostaglandins Other Lipid Mediat. – 2007. – Vol. 83, № 1–2. – P. 75–88.

42. Nitric oxide reverses endotoxin-induced inflammatory hyperalgesia via inhibition of prostacyclin production in mice / B. Tunctan [et al.] // Pharmacol. Res. – 2006. – Vol. 53, № 2. – P. 177–192.

43. Nitrosyl heme production compared in endotoxemic and hemorrhagic shock / N.A. Davies [et al.] // Free. Radic. Biol. Med. – 2005. – Vol. 38, № 1. – P. 41–49.

44. Oxidative stress in mouse plasma and lungs induced by cigarette smoke and lipopolysaccharide / S.S. Valenca [et al.] // Environ. Res. – 2008. – Vol. 108, № 2. – P. 199–204.

45. Plasma cysteine and glutathione are independent markers of postmethionine load endothelial dysfunction / O. Parodi [et al.] // Clin. Biochem. – 2007. – Vol. 40, № 3–4. – P. 188–193.

46. Reactive oxygen and nitrogen species differentially regulate Toll-like receptor 4-mediated activation of NF-B and interleukin-8 expression / K.A. Ryan [et al.] // Infection. Immunity. – 2004. – Vol. 72, № 4. – P. 2123–2130.

47. Redox regulation of homocysteine-dependent glutathione synthesis / V. Vitvitsky [et al.] // Redox Rep. – 2003. – Vol. 8, № 1. – P. 57–63.

48. Role of nitric oxide in the brain during lipopolysaccharide-evoked systemic inflammation / G.A. Czapski [et al.] // J. Neurosci Res. – 2007. – Vol. 85, № 8. – P. 1694–1703.

49. Roth, J. Fever induction pathways: evidence from responses to systemic or local cytokine formation / J. Roth, G.E.P. de Souza // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2001. – Vol. 34, № 3. – P. 301–314.

50. S-nitroso human serum albumin given after LPS challenge reduces acute lung injury and prolongs survival in a rat model of endotoxemia / A. Jakubowski [et al.] // Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. – 2009. – Vol. 379, № 3. – P. 281–290.

51. Species-specific modulation of the nitric oxide pathway after acute experimentally induced endotoxemia / T. Bachetti [et al.] // Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 31, № 5. – P. 1509–1514.

52. The protective effects of N-acetyl-L-cysteine and epigallocatechin-3-gallate on electric field-induced hepatic oxidative stress. / G. Guler [et al.] // Int. J. Radiat. Biol. – 2008. – Vol. 84, № 8. – P. 669–680.

53. Thermoregulatory responses to lipopolysaccharide in the mouse: dependence on the dose and ambient temperature / A.Y. Rudaya [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2005. – Vol. 289, № 5. – P. 1244–1252.

54. Time course of nitric oxide, peroxynitrite, and antioxidants in the endotoxemic heart / M. Iqbal [et al.] // Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 30, № 6. – P. 1291–1296.

55. Victor, V.M. N-acetylcysteine protects mice from lethal endotoxemia by regulating the redox state of immune cells / V.M. Victor, M. Rocha, M. De la Fuente // Free Radic. Res. – 2003. – Vol. 37, № 9. – P. 919–929.

56. Weiss, N. Mechanisms of increased vascular oxidant stress in hyperhomocys-teinemia and its impact on endothelial function / N. Weiss // Curr. Drug. Metab. – 2005. – Vol. 6, № 1. – P. 27–36.

Поступила 12.04.2011