

ГЕМАТОЛОГИЯ

УДК: 616-001. 36-02:616-005.4

ВЛИЯНИЕ НОВОГО АНТИГИПОКСАНТА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И СОДЕРЖАНИЕ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ АЗОТА ПРИ ОСТРОЙ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Шевченко Л.И.¹, Алимов Т.Р.¹, Хужахмедов Ж.Д.², Рахманбердиева Р.К.³, Каримов Х.Я.¹

¹Отдел молекулярной медицины и клеточных технологий РСНПМЦ Гематологии МЗ РУз,

²Молекулярно-генетическая лаборатория «GenoTechnologiya»,

³Институт химии растительных веществ АН РУз

XULOSA

Tadqiqotning maqsadi - polisaxarid va metabolitning yangi murakkab sintetik birikmasining lipid peroksidlanish intensivligiga (LPO), antioksidant tizimning (AOT) holatiga va o'tkir nitrit gipoksiyasida barqaror azot metabolitlarining tarkibiga antigipoksik ta'sirini o'rganish edi.

Materiallar va tadqiqot usullari. O'tkir nitrit gipoksiyasi (NG) modeli qayta ishlab chiqarildi. Eksperimental hayvonlar sifatida kalamushlar tanlangan. O'tkir nitrit gipoksiyasini modellashtirishdan so'ng hayvonlarga infuzion terapiya berildi. Taqqoslash preparati (III guruhda) suksin kislotasining (SK) 0,9% natriy xlorid eritmasidagi («fiziologik» eritma deb ataladigan) eritmasi edi. Asosiy guruhda (IV guruh) hayvonlarga polisaxaridning murakkab sintetik birikmasi va natriy xloridning «fiziologik» eritmasida tabiiy metabolitning preparati berildi.

Tadqiqot natijalari shuni ko'rsatdiki, yangi preparat kiritilgandan so'ng eksperimental hayvonlarning qon zardobida HIF-1a miqdori davolanmagan II guruh hayvonlariga nisbatan 5,9 martaga ($p < 0,05$) kamaydi va III guruhga nisbatan 30,8% ga ($p < 0,05$) past bo'ldi, bu erda kalamushlarga sufisinidiy kislotali eritmasi yuborilgan. Eritropoetin (EPO) darajasi yangi moddani kiritilgandan so'ng boshlang'ich darajaga tiklandi.

IV guruhdagi LPO ko'rsatkichlarining qiymatlari III guruhdagi LPO ko'rsatkichlariga nisbatan pastroq edi. IV guruhdagi yangi birikma eritmasini quyish qondagi azot oksidi (NO) metabolitlari konsentratsiyasini II guruhga nisbatan 1,5 marta yoki suksin kislotasini fiziologik eritmada qo'llash ta'siriga nisbatan 20% ga pasayishiga olib keldi (III guruh).

Xulosa. 1. Nitrit gipoksiya sharoitida sintetik

SUMMARY

The aim of the study was to investigate the antihypoxic effect of a new complex synthetic compound polysaccharide and metabolite on the intensity of lipid peroxidation (LPO), the state of the antioxidant system (AOS) and the content of stable nitrogen metabolites in acute nitrite hypoxia

Materials and methods of the study. A model of acute nitrite hypoxia (NH) was reproduced. Rats were chosen as experimental animals. After modeling of acute NH, the animals were given infusion therapy. The comparison preparation (in group III) was succinic acid (SA) solution in 0.9% sodium chloride solution (so-called “physiologic” solution). In the main group (group IV) animals were administered a preparation of a complex synthetic compound of polysaccharide and natural metabolite in “physiological” sodium chloride solution.

The results of the study showed that after infusion of the new drug there was a 5.9-fold ($p < 0.05$) decrease in the content of HIF-1a in the blood serum of experimental animals compared to group II of untreated animals and it was 30.8% lower ($p < 0.05$) compared to group III, where rats were administered a solution of succinic acid in physiological sodium chloride solution. Erythropoietin (EPO) content was restored to baseline after the use of the new substance.

The values of lipoperoxidation indicators (LPO) in group IV were also lower relative to their values in group III. Infusion of a solution of the new compound in group IV resulted in a 1.5-fold decrease in the blood concentration of nitric oxide (NO) metabolites relative to group II or by 20% compared to the effect of succinic acid in physiological solution (group III).

polisaxaridlar va metabolitlar bilan yangi kompleksning kiritilishi marker gipoksiyani tiklaydi, umumiy antioksidant holatini (UAH) oshiradi va lipid peroksidlanish (LPO) mahsulotlari konsentratsiyasini kamaytiradi.

2. Yangi kompleksdan foydalanish qonda azot oksidi (NO) metabolitlari darajasining pasayishig aolib keladi.

Kalit so'zlar: polisaxarid va metabolitning murakkab sintetik birikmasi, suksin kislotasi (SK), o'kir nitrit gipoksiyasi (NG), HIF-1 α , EPO, LPO, OAT, NO metabolitlari.

Одним из основных патологических процессов на уровне клетки при всех критических состояниях является гипоксия, приводящая к нарушению энергетического гомеостаза клетки. При гипоксии энергопотребность клетки не соответствует энергопродукции в системе митохондриального окислительного фосфорилирования [3].

Процесс формирования адаптации к гипоксии вовлекает множество механизмов, к которым относят и метаболизм оксида азота, обладающего антиоксидантным действием. В связи с этим возникают трудности коррекции сложных механизмов нарушений метаболизма, структуры и функции клеток в различных органах и тканях при различных видах гипоксических состояний различного генеза [5]. В рамках договора о научном сотрудничестве между Республиканским специализированным научно-практическим медицинским центром гематологии МЗ РУз и Институтом химии растительных веществ (ИХРВ) АН РУз нам было предоставлено для изучения фармакологической активности соединения комплексного синтетического полисахарида и метаболита.

ЦЕЛЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ является изучение активности нового комплексного соединения син-

Conclusions. 1. Administration of a new drug complex with a synthetic polysaccharide and metabolite compound under nitrite hypoxia conditions restores hypoxia markers, increases total antioxidant status (TAS) and reduces the concentration of lipoperoxidation products (LPO).

2. Use of the new complex leads to a decrease in the level of nitric oxide (NO) metabolites in the blood.

Keywords: Complex synthetic compound polysaccharide and metabolite, succinic acid (SA), acute nitrite hypoxia (NH), HIF-1 α , EPO, LPO, TAS, NO metabolites.

тетического полисахарида и метаболита при экспериментальной острой нитритной гипоксии (НГ), а именно его антигипоксическое действие, влияние на интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), общий антиоксидантный статус (ОАС) и содержание метаболитов оксида азота (NO).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования действия нового препарата при нитритной гипоксии (НГ) проводили на подопытных крысах (n=50). НГ воспроизводили разовым подкожным (в области спины) введением 4% раствора нитрита натрия (НН) в дозировке 90 мг/кг массы тела животного [2]. Через 48 после последнего введения нитрита натрия при моделировании НГ в III и IV группах животным начинали лечение введением в хвостовую вену в течение 5-дневного периода вводили исследуемые препараты в дозировке 5 мл на кг массы тела подопытного животного.

Разделение животных по группам показано на рисунке 1.

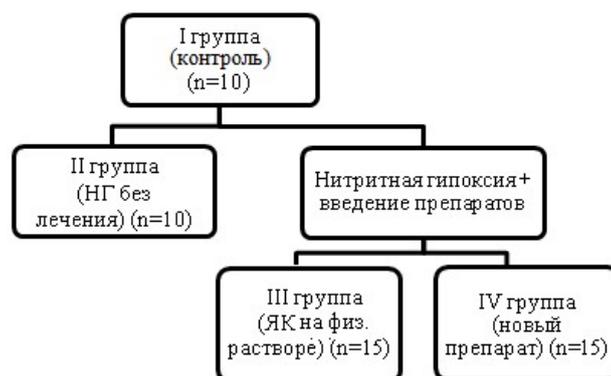


Рис. 1. Дизайн исследования.

В плазме крови подопытных животных была определена концентрация HIF-1 α , ЭПО и общего антиоксидантного статуса (ОАС) иммуноферментным методом. Уровень HIF-1 α исследован иммуноферментным методом (Cloud-Clone corp., США), как и концентрация эритропоэтина (ЭПО) (Эритропоэтин-ИФА-БЕСТ», Россия) и общий антиоксидантный статус (ОАС) (Саuman (USA). Измерение результатов

иммуноферментных исследований проводили на полуавтоматическом иммуноферментном анализаторе MR96 (Mindray, Китай) при длинах волн 405, 450 и 630 нм.

Содержание продуктов ПОЛ исследовали по концентрации в крови (гемолизат эритроцитов) МДА [4]. Результаты исследований измеряли на спектрофотометре UNICO 2800 (США).

Суммарную концентрацию метаболитов оксида азота (нитратов и нитритов) крови определяли колориметрически в реакции диазотирования сульфаниламида, входящего в состав реактива Грисса, нитритом, содержащимся в сыворотке крови [1]. Результаты измеряли в стандартном 96 луночном плоскодонном планшете, как правило, используемом в иммуноферментном исследовании, на фотометре MR96 (Китай).

Для построения калибровочной кривой использовали 1М раствор NaNO_2 в воде, который хранили при температуре -20°C ; перед употреблением его разводили в 1000 раз и готовили серию разведений для построения кривой.

Полученные данные обрабатывали статистиче-

ски: в качестве критерия достоверности принимали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во II группе моделирование нитритной гипоксии сопровождалось повышением в крови гипоксия-индуцибельного фактора (HIF-1 α) в 6,6 раза ($p < 0,05$) (табл.). Отмечалось четырёхкратное увеличение содержания ЭПО ($p < 0,05$) в крови.

Установлено, что нитритная гипоксия сопровождалась усилением процессов ПОЛ, что проявлялось повышением уровня МДА в 2,1 раза ($p < 0,05$), диеновых конъюгатов в 2 раза ($p < 0,05$) и диеновых кетонов в – 1,8 раза ($p < 0,05$), которые представлены в таблице.

Содержания HIF-1 α , ЭПО, ПОЛ и АОС при нитритной гипоксии у крыс и после терапии препаратами (M \pm m)

Показатели	I группа (n=10)	II группа (n=10)	III группа (n=15)	IV группа (n=15)
HIF-1 α , нг/мл	0,08 \pm 0,008	0,53 \pm 0,034* $p < 0,001$	0,13 \pm 0,016^ $p < 0,001$; $p < 0,05$	0,09 \pm 0,005^, # $p < 0,0001$; $p < 0,01$
ЕРО, мМЕ/ мл	8,7 \pm 0,16	34,6 \pm 0,2 $p < 0,05$	10,1 \pm 0,12 $p_2 > 0,05$	8,9 \pm 0,13 $p < 0,05$
МДА, Нм/мгНб	0,51 \pm 0,03	1,1 \pm 0,04* $p < 0,05$	0,6 \pm 0,06*^ $p_2 > 0,05$	0,51 \pm 0,06^ $p < 0,05$
D _{клет} отн. ед.	0,19 \pm 0,01	0,34 \pm 0,07* $p < 0,05$	0,21 \pm 0,04 $p_2 > 0,05$	0,18 \pm 0,03 $p < 0,05$
D _{кон} отн. ед.	1,1 \pm 0,06	2,2 \pm 0,2* $p < 0,05$	1,4 \pm 0,07^ $p < 0,05$	1,1 \pm 0,09^ $p < 0,05$
Каталаза, м/мгНб в мин	46,2 \pm 1,7	27,1 \pm 1,7 $p < 0,05$	42,7 \pm 1,8, $p_2 > 0,05$	46,5 \pm 1,9 $p < 0,05$
АОС, усл.ед.	2,0 \pm 0,1	1,1 \pm 0,09	1,8 \pm 0,1	2,1 \pm 0,08

Примечание: * - статистически достоверно ($p < 0,05$) при сравнении с I группой (интактные); ^ - то же ($p < 0,05$) относительно II группы (НГ без лечения); # - то же ($p < 0,05$) относительно III группы (реополлиглюкин).

Также наблюдалось снижение активности каталазы в 1,7 раза ($p < 0,05$) и АОС в 1,8 раз ($p < 0,05$). При нитритной интоксикации происходит увеличение в сыворотке крови содержания стабильных метаболитов оксида азота (NO), концентрация которых повышалась в 1,8 раз, относительно I группы (интактных животных) (рис. 2).

Применение в IV группе нового соединения приводило к снижению уровня HIF-1 α в 5,9 раза ($p < 0,05$)

чем во II группе (НГ без лечения), что, по сравнению с результатом, полученным в III группе, после применения ЯК в 0,9% NaCl, было на 30,8% ниже ($p < 0,05$). Содержание эритропоэтина восстанавливалось после применения нового вещества до исходного уровня, что указывает на его более выраженный антигипоксический эффект, по сравнению результатом от применения ЯК в 0,9% растворе NaCl.

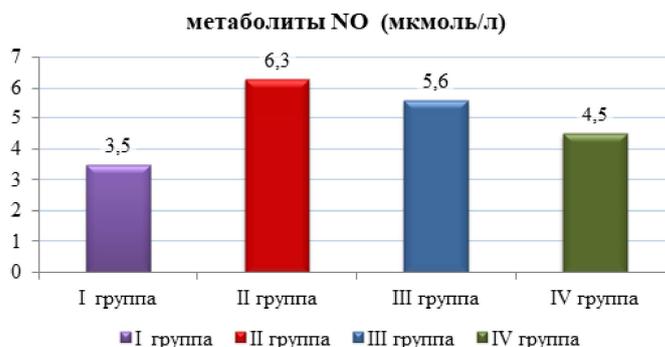


Рис. 2. Влияние нового антигипоксического вещества на содержания метаболитов NO при нитритной гипоксии у крыс.

Введение нового вещества при нитритной гипоксии уменьшило концентрацию показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность ферментов системы АОС в крови. Показатели ПОЛ в крови после введения нового вещества снизились. Причем они были ниже, чем после введения янтарной кислоты с физиологическим раствором: МДА – на 15% ($p < 0.05$), Дкет – на 14,3% ($p < 0.05$) и Дкон – на 21,4% ($p < 0.05$), соответственно.

Введение нового комплекса увеличивает активность каталазы, которая была выше на 8,9% ($p < 0.05$) и АОС, который был выше на 16,7% ($p < 0.05$), чем после введения янтарной кислоты с физиологическим раствором (табл.). Применение нового препарата корректирует метаболические нарушения, возникшие при нитритной гипоксии, что приводит к снижению метаболитов NO в 1,5 раза, что, по сравнению со значениями данного показателя после применения ЯК в 0,9% растворе NaCl, было на 20% ниже.

Эффективность гепатопротекторных свойств нового соединения проверяли с помощью гексеналового сна, которая во II группе (НГ без лечения) четырёхкратно возросла ($p < 0.05$), относительно I группы. После применения нового соединения в IV группе время гексеналового сна сократилась трёхкратно ($p < 0.05$) относительно II группы, а в III группе, в которой применяли ЯК в 0,9% растворе NaCl – в 2,5 раза ($p < 0.05$).

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые исследовано действие нового соединения в 0,9% растворе NaCl, обладающего антигипоксическим и антиоксидантным действием при экспериментальной гипоксии, оценена его способность снижать повышенные значения маркеров гипоксии, показателей ПОЛ, восстанавливать состояние антиоксидантной системы и уменьшать уровни метаболитов оксида азота (NO) при нитритной гипоксии в эксперименте.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, при экспериментальной НГ установлено повышение индикаторов гипоксии HIF-1 α и ЭПО, метаболитов оксида азота (NO), активации процессов липопероксидации, снижение значений показателей антиоксидантной защиты, в частности каталазы и ОАС. Инфузия животным нового комплекса с синтетическим соединением полисахарида и метаболита на 0,9% растворе NaCl влияла на значения маркеров гипоксии. Происходило понижение содержания в крови HIF-1 α в 5,9 раза и концентрации ЭПО до исходных значений, что свидетельствует о более выраженном антигипоксическом эффекте нового соединения, по сравнению с применением янтарной

кислоты в физиологическом растворе. Введение нового комплекса корректирует в определенной мере нарушенные показатели свободнорадикального окисления липидов при нитритной гипоксии. Действие нового комплекса восстанавливает нарушения метаболизма, при экспериментальной интоксикации, индуцированной нитритом натрия, что уменьшает выработку метаболитов оксида азота (NO).

Новый биологически активный состав способен поддерживать энергопродукцию в условиях гипоксии и обладает способностью к более быстрому проникновению в клетки по сравнению с использованием янтарной кислоты с физиологическим раствором.

ВЫВОДЫ

1. Введение нового комплекса с синтетическим соединением полисахарида и метаболита в условиях нитритной гипоксии восстанавливает маркеры гипоксии, повышает ОАС и снижает концентрацию продуктов липопероксидации (ПОЛ).

2. Использование нового комплекса приводит к понижению уровня метаболитов оксида азота (NO) в крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочарова Н. В., Новгородцева Т. П. Уровень метаболитов оксида азота в крови пациентов с хроническими заболеваниями органов дыхания // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2017. – №4 (71).
2. Игбаев Р.К. Экспериментальная коррекция прооксидантно-антиоксидантного равновесия в условиях гипоксии и токсической метгемоглобинемии: дис. канд. мед. наук ФГБОУ ВПО «Российский университет Дружбы народов» – Сочинский филиал РУДН. 2006 – 1-165.
3. Ли Л. А. Применение метаболической энерготропной терапии для коррекции дефицита энергообеспечения иммунокомпетентных клеток у детей с внебольничной пневмонией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2015. – №. 57. – С. 35-41.
4. Титеева Г.Р., Коровина Н.Н. Перекисное окисление липидов: норма и патология. Центральное-Азиатский медицинский журнал. 1996; 4: 78-84.
5. Шевченко Л.И., Каримов Х.Я. Функционально-метаболические изменения при экстремальных состояниях и коррекция их кровезаменителями. Ташкент, 2014: 1-175.
6. Lee J.W. et al. Hypoxia signaling in human diseases and therapeutic targets. *Exp Mol Med*. 2019; 51: 1-13.