

©Зинчук, Фираго

УЧАСТИЕ МЕЛАТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ ВВЕДЕНИЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

В.В. Зинчук, М.Э. Фираго*

Гродненский государственный медицинский университет,
Беларусь, 230009, Гродно, ул. Горького, 80; эл. почта: zinchuk@grsmu.by

Изучен вклад мелатонина в регулирование кислородтранспортной функции крови при окислительном стрессе, индуцированном трёхкратным введением липополисахарида (ЛПС; 5 мг/кг) на фоне действия эритропоэтина и газотрансмиттеров (монооксид азота, сероводород). Животным внутрибрюшинно вводили мелатонин (5 мг/кг), эритропоэтин (1000 Ед/кг), донор сероводорода (NaHS; 5 мг/кг) и L-аргинин (100 мг/кг). Введение как самого мелатонина, так и в сочетании его с эритропоэтином, донором сероводорода или с L-аргиномом приводит к уменьшению продуктов перекисного окисления липидов и повышению антиоксидантной защиты. Мелатонин при введении ЛПС вызывает изменения кислородтранспортной функции крови: увеличение степени насыщения крови кислородом, повышение сродства гемоглобина к кислороду. Регулирующее влияние мелатонина на кислородтранспортную функцию крови в сочетании с эритропоэтином и газотрансмиттерами не превышает его эффект в отдельности.

Ключевые слова: мелатонин, липополисахарид, окислительный стресс, кислород, кровь, эритропоэтин, газотрансмиттеры

DOI: 10.18097/PBMC20176306520

ВВЕДЕНИЕ

Активные формы кислорода необходимы для обеспечения многих жизненно важных процессов: обновление состава липидов биологических мембран, участие в механизмах апоптоза, индукции транскрипции определенных генов и др. [1], однако их чрезмерное образование приводит к развитию окислительного стресса (ОС) [2]. Молекулярные механизмы антиоксидантной системы не всегда способны ограничить окислительные повреждения. Важная роль в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма отводится механизмам транспорта кислорода [3], в частности, сродству гемоглобина к кислороду (СГК), которое является фактором, регулирующим поток кислорода в ткани в соответствии с их потребностью в нём [4].

Местом синтеза мелатонина является эпифиз, клетки APUD-системы пищеварительного тракта, а также другие неэндокринные клетки – тучные, эозинофилы, тромбоциты, эндотелиоциты [5, 6]. Он обладает широким спектром физиологических эффектов. В частности, проявляет своё антиоксидантное действие как путём непосредственного удаления окислительных и нитрозильных свободных радикалов, так и через стимуляцию эндогенных антиоксидантов, таких как глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза, а также супероксиддисмутаза и каталаза [7].

В поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия и регуляции кислородсвязывающих свойств крови важная роль отводится эритропоэтину (ЭПО) и таким газотрансмиттерам, как монооксид азота (NO) и сероводород (H₂S), которые являются газообразными внутриклеточными сигнальными молекулами, выполняющими в клетке специфические

регуляторные функции [8]. Мелатонин оказывает влияние на механизмы транспорта кислорода через регуляцию образования газотрансмиттеров [9], а ЭПО, в свою очередь, реализует свои эффекты при участии NO и H₂S [10]. Однако влияние данных соединений и мелатонина на реализацию кислородсвязывающих свойств крови в условиях развития ОС, индуцированного длительным действием липополисахарида (ЛПС), исследовано недостаточно. В связи с этим, целью нашей работы было изучение вклада мелатонина в регулирование кислородтранспортной функции (КТФ) крови при ОС, индуцированном трёхкратным введением ЛПС на фоне действия ЭПО и газотрансмиттеров.

МЕТОДИКА

Экспериментальное моделирование и коррекция окислительного стресса

Эксперименты были выполнены на 60 лабораторных крысах-самцах массой 200-250 г линии Wistar, которых содержали на стандартном рационе вивария, в условиях свободного доступа к пище и воде, при искусственном освещении: 12 (день) / 12 (ночь) часов. При работе с животными соблюдали правила Европейской конвенции по защите животных, используемых в научных целях. Животные были разделены на 6 экспериментальных групп. Животным 1-ой (контрольной) группы вводили стерильный 0,9% раствор NaCl. Животным 2-6-ой группам моделировали ОС путём введения ЛПС *Escherichia coli* (в дозе 5 мг/кг) в течение трёх суток. Коррекцию ОС в 3-6-ой группах проводили с помощью мелатонина в дозе 5 мг/кг. Животным 4-ой группы дополнительно вводили исходный

субстрат синтеза NO – L-аргинин в дозе 100 мг/кг, животным 5-ой группы – донор H₂S – гидросульфид натрия (NaHS) в дозе 5 мг/кг, животным 6-ой группы – ЭПО в дозе 1000 Ед/кг. Все растворы вводили интраперитонеально болюсно (в объеме 1 мл) с интервалом 24 ч в течение трёх суток. Инъекции корректирующих веществ осуществляли через 15 мин после введения ЛПС. В условиях адекватной анальгезии (50 мг/кг тиопентала натрия интраперитонеально) через 12 ч после последней инъекции ЛПС осуществляли забор крови из правого предсердия. Часть забранной крови использовали для оценки показателей КТФ крови, остальную центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин на центрифуге ЦЛМН-Р-10-01 (“Электрон”, Россия) для разделения плазмы и эритроцитов с последующим определением показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса, содержания H₂S и NO_x.

Оценка оксидативного стресса

Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли в эритроцитарной массе и плазме крови. Содержание диеновых (ДК) и триеновых (ТК) конъюгатов оценивали по поглощению липидным экстрактом монохроматического светового потока в ультрафиолетовой области спектра, характерного для конъюгированных структур гидроперекисей липидов при длине волны 233 нм и 278 нм на спектрофлуориметре “Solar” CM2203 (Беларусь) [11]. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) изучали по интенсивности окраски триметинового комплекса, образованного в реакции с 2'-тиобарбитуровой кислотой при температуре 100°C, на спектрофотометре “Solar” PV1251C (Беларусь) при длине волны 540 нм [11]. Активность каталазы в эритроцитарной массе регистрировали по количеству окрашенного продукта в реакции пероксида водорода с молибденово-кислым аммонием, имеющего наименьшее светопоглощение, при длине волны 410 нм на спектрофотометре “Solar” PV1251C [12]. Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах определяли спектрофотометрически с добавлением реактива Элмана при длине волны 412 нм [13]. Концентрацию в плазме α-токоферола и ретинола оценивали по методу Taylor и соавторов, основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта при длине волны 325-470 нм для α-токоферола и 286-380 нм для ретинола на спектрофлуориметре “Solar” CM2203 [14]. Содержание церулоплазмينا в плазме крови определяли спектрофотометрически при длине волны 530 нм [11].

Определение показателей системы газотрансмисмиттеров

Продукцию NO измеряли спектрофотометрически по суммарному содержанию NO_x в плазме крови с использованием реактива Грисса на спектрофотометре при длине волны 540 нм [15]. Концентрацию H₂S в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции между сульфид-анионом и кислым

раствором *n*-фенилендиамина в присутствии хлорного железа при длине волны 670 нм [16].

Оценка кислородтранспортной функции крови

Изучение показателей КТФ крови и кислотно-основного состояния в исследуемых образцах крови проводили при температуре 37°C на микроанализаторе Syntesis-15 (“Instrumentation Laboratory”, США). Определяли парциальное напряжение кислорода (pO₂), степень оксигенации (SO₂), метгемоглобин (MetHb). Оценивали параметры кислотно-основного состояния: pH крови, парциальное напряжение углекислого газа (pCO₂), концентрацию бикарбоната (HCO₃⁻) и общей углекислоты плазмы (TCO₂), реальный недостаток/избыток буферных оснований (ABE), стандартный бикарбонат (SBC). По показателю p50 (pO₂ крови для 50% насыщения гемоглобина кислородом) определяли СГК при температуре 37°C, pH 7,4, pCO₂ 40 мм рт. ст. (p50_{станд}), а затем по формуле Severinghaus [17] рассчитывали p50 при реальных значениях этих показателей (p50_{реал}). На основании полученных данных по уравнению Хилла определяли положение кривой диссоциации оксигемоглобина.

Статистический анализ

Полученные результаты обрабатывали с применением пакетов прикладных программ MS Excel и Statistica. С учётом малых размеров выборки, а также отсутствия нормального распределения в группах, статистическую значимость результатов оценивали методом непараметрической статистики для независимых выборок – критерий Манна-Уитни. Результаты представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25–75%). Различия считали достоверными при уровне значимости (p<0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Введение ЛПС в течение трёх суток приводило к активации процессов ПОЛ (рис. 1). В эритроцитах и плазме крови отмечено увеличение концентрации МДА на 136,5% (p<0,01) и 53% (p<0,01), повышение уровня ДК на 76,7% (p<0,01) и 159,2% (p<0,01), ТК на 82,8% (p<0,01) и 258,2% (p<0,01) соответственно, в сравнении с контролем. Одновременно с увеличением активности свободнорадикальных процессов происходило снижение активности антиоксидантной защиты (табл. 1). В эритроцитарной массе отмечено уменьшение активности каталазы на 6,9% (p<0,01) и концентрации восстановленного глутатиона на 26,7% (p<0,01), в плазме – уменьшение содержания церулоплазмينا на 39,2% (p<0,01), α-токоферола на 50,8% (p<0,01) и ретинола на 52,4% (p<0,01).

Инъекции мелатонина уменьшали проявления ОС по сравнению с группой животных, получавшей только эндотоксин: снижение концентрации МДА на 50,9% (p<0,01) в эритроцитах и на 18,3% (p<0,01) в плазме крови. Также происходило уменьшение уровня ДК и ТК в эритроцитах на 38,3% (p<0,01) и 49,2% (p<0,01), а в плазме на 30,5% (p<0,01)

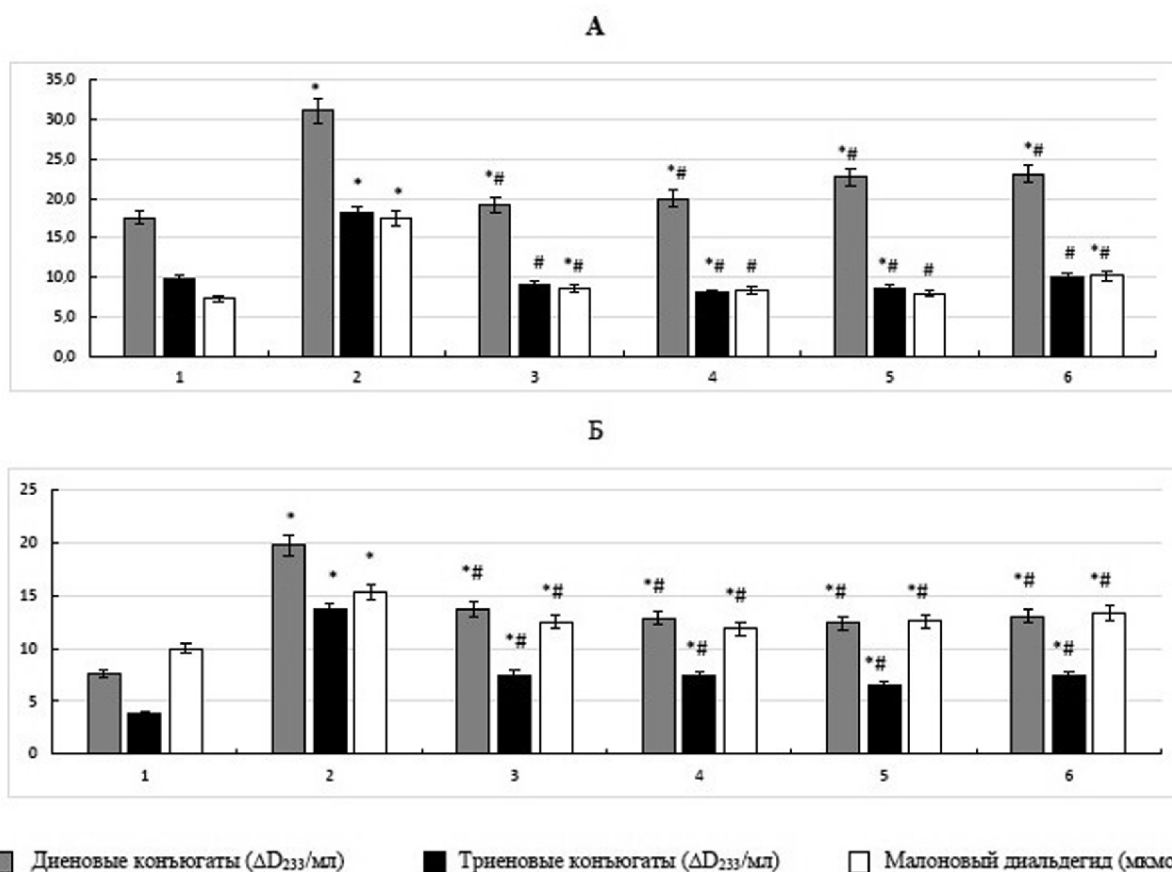


Рисунок 1. Активность процессов перекисного окисления липидов в эритроцитарной массе (А) и плазме крови (Б) при окислительном стрессе, индуцированном липополисахаридом, в условиях введения мелатонина, эритропоэтина и коррекции системы газотрансмиттеров. 1 - контроль, 2 - липополисахарид, 3 - липополисахарид + мелатонин, 4 - липополисахарид + мелатонин + L-аргинин, 5 - липополисахарид + мелатонин + гидросульфид натрия, 6 - липополисахарид + мелатонин + эритропоэтин. Данные значимы по отношению: * - к контрольной группе ($p < 0,05$); # - к группе, получавшей только липополисахарид ($p < 0,05$).

Таблица 1. Антиоксидантная система крови при окислительном стрессе в условиях введения мелатонина, эритропоэтина и коррекции системы газотрансмиттеров (Ме (25-75%))

| № | Контроль | Липополи-сахарид | Липополи-сахарид + Мелатонин | Липополи-сахарид + Мелатонин + L-аргинин | Липополи-сахарид + Мелатонин + Гидросульфид натрия | Липополи-сахарид + Мелатонин + Эритропоэтин |
|--|---------------------|-----------------------|------------------------------|--|--|---|
| n | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Каталаза, ммоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{мин/г Нв}$ | 15,9 (15,7-16,4) | 14,8 (14,4-15,3) * | 17,2 (16,8-18,3) *# | 17,2 (16,7-18,3) *# | 17,9 (17,0-18,7) *# | 16,7 (16,3-17,6) *# |
| Восстановленный глутатион, мкмоль/г Нв | 62,6 (61,5-63,1) | 45,9 (44,1-47,1) * | 56,2 (54,6-58,2) *# | 53,3 (50,2-54,8) *# | 55,8 (54,1-58,5) *# | 54,9 (54,3-55,9) *# |
| α -токоферол, мкмоль/л | 19,9 (18,0-21,4) | 9,8 (8,7-11,1) * | 13,0 (11,2-13,5) *# | 12,5 (11,9-13,3) *# | 14,6 (13,6-16,2) *# | 13,1 (12,1-13,5) *# |
| Ретинол, мкмоль/л | 2,1 (1,9-2,3) | 1,0 (1,0-1,1) * | 1,2 (1,1-1,3) *# | 1,4 (1,3-1,6) *# | 1,5 (1,3-1,5) *# | 1,4 (1,3-1,5) *# |
| Церулоплазмин, мг/л | 360 (333-384) | 219 (202-257) * | 299 (273-326) *# | 336 (307-341) *# | 300 (289-334) *# | 308 (294-316) *# |

Примечание. * - данные значимы по отношению к контрольной группе; # - к группе, получавшей только липополисахарид.

и 44,9% ($p<0,01$) соответственно. При этом происходило повышение активности каталазы в эритроцитах на 16,2% ($p<0,01$), а содержание восстановленного глутатиона на 22,4% ($p<0,01$). В плазме крови отмечено увеличение концентрации церулоплазмينا на 36,5% ($p<0,01$), α -токоферола на 32,7% ($p<0,01$) и ретинола на 20% ($p<0,01$).

Схожая направленность изменений прооксидантно-антиоксидантного баланса, вызванного введением ЛПС, выявлена при сочетанной инъекции мелатонина с ЭПО, мелатонина с NaHS и мелатонина с L-аргинином, что подтверждается соответствующей динамикой снижения содержания первичных (ДК, ТК) и вторичных (МДА) продуктов ПОЛ, а также повышением факторов антиоксидантной системы (каталаза, восстановленный глутатион, церулоплазмин, α -токоферол, ретинол).

При введении ЛПС происходили изменения КТФ крови (табл. 2): снижение SO_2 на 9,6% ($p<0,01$), pO_2 на 15,6% ($p<0,01$) по сравнению с контрольной группой животных. Введение мелатонина после инъекции ЛПС приводило к меньшим изменениям данных значений: SO_2 с 34,0 (33,7-34,4)

до 35,7 (33,9-36,3) ($p<0,01$), pO_2 с 27,0 (27,0-27,0) до 32,0 (32,0-34,0) мм рт. ст. ($p<0,01$) по сравнению с группой, получавшей только ЛПС. Сочетанное введение мелатонина с ЭПО и с донорами H_2S и NO на фоне введения ЛПС также сопровождалось повышением данных показателей. При этом существенных изменений кислотно-основного состояния крови в экспериментальных группах не наблюдается (табл. 2).

Развитие ОС в данной модели характеризуется снижением $p50_{\text{реал}}$ до 37,8 (37,4-38,1) ($p<0,01$) по сравнению с контрольной группой (39,3 (38,5-39,5) мм рт. ст., $p<0,01$), что свидетельствует об увеличении СГК. Инъекция мелатонина приводила к уменьшению показателя $p50_{\text{реал}}$ (34,7 (34,2-35,0) мм рт. ст., $p<0,01$), что вызывало повышение СГК и, соответственно, сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина в реальных условиях циркуляции влево (рис. 2). В экспериментальных группах при введении мелатонина и ЭПО, мелатонина и NaHS, а также мелатонина и L-аргинина характер изменений $p50_{\text{реал}}$ не отличается от группы животных, получавших только мелатонин.

Таблица 2. Кислородтранспортная функция крови при окислительном стрессе в условиях введения мелатонина, эритропоэтина и коррекции системы газотрансмиттеров (Me (25-75%))

| № | Контроль | Липополи-сахарид | Липополи-сахарид + Мелатонин | Липополи-сахарид + Мелатонин + L-аргинин | Липополи-сахарид + Мелатонин + Гидросульфид натрия | Липополи-сахарид + Мелатонин + Эритропоэтин |
|----------------------------------|---------------------|---------------------|------------------------------|--|--|---|
| n | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| $p50_{\text{реал}}$, мм рт.ст. | 39,3 (38,5-39,5) | 37,8 (37,4-38,1) * | 34,7 (34,2-35,0) ** | 34,6 (34,0-34,9) ** | 35,5 (34,7-35,6) ** | 35,7 (35,3;36,3) ** |
| $p50_{\text{станд}}$, мм рт.ст. | 37,1 (36,7-38,1) | 36,2 (35,3-37,1) ** | 34,6 (34,1-38,0) | 32,6 (31,6-33,4) ** | 33,4 (32,6-33,8) ** | 36,8 (35,0-38,2) |
| SO_2 , % | 37,6 (36,7-38,9) | 34,0 (33,7-34,4) * | 35,7 (34,4-36,3) ** | 36,8 (35,7-37,6) # | 36,5 (35,8-37,8) # | 35,2 (34,2-35,5) ** |
| MetHb, % | 0,4 (0,3-0,5) | 1,1 (1,0-1,2) * | 1,9 (1,8-2,3) ** | 2,3 (2,1-2,7) ** | 2,8 (2,6-2,9) ** | 2,6 (2,4-2,7) ** |
| pO_2 , мм рт.ст. | 32,0 (32,0-33,0) | 27,0 (27,0-27,0) ** | 32,0 (32,0-33,0) # | 32,5 (32,0-34,0) # | 33,0 (32,0-34,0) # | 33,0 (32,0-34,0) # |
| pH, ед. | 7,362 (7,350-7,364) | 7,359 (7,329-7,379) | 7,388 (7,370-7,472) ** | 7,355 (7,328-7,372) | 7,359 (7,336-7,366) | 7,419 (7,389-7,437) ** |
| pCO_2 , мм рт.ст. | 48,7 (47,8-50,1) | 48,0 (46,0-50,3) | 48,1 (45,7-50,2) | 45,5 (44,6-47,6) * | 46,0 (43,4-48,3) * | 45,9 (45,0-47,8) * |
| HCO_3^- , ммоль/л | 22,9 (22,3-23,5) | 26,4 (25,8-26,5) ** | 29,7 (28,9-30,3) ** | 24,2 (22,9-25,9) ** | 24,4 (23,8-25,6) ** | 28,2 (27,5-28,4) ** |
| TCO_2 , ммоль/л | 25,3 (24,6-25,6) | 27,8 (26,9-28,0) ** | 32,1 (31,7-32,2) ** | 25,7 (25,2-27,3) # | 26,2 (25,1-26,6) ** | 29,8 (29,0-30,5) ** |
| ABE, ммоль/л | 2,2 (1,8-2,4) | 0,8 (0,6-0,9) * | 5,2 (5,1-5,3) ** | 1,3 (1,2-1,4) ** | 1,1 (0,8-1,3) ** | 3,4 (3,1-3,8) ** |
| SBC, ммоль/л | 29,3 (28,5-30,2) | 28,1 (26,4-29,4) | 33,8 (32,2-35,5) ** | 30,6 (29,7-31,8) ** | 33,2 (30,9-34,6) ** | 32,4 (30,7-32,5) ** |

Примечание. * - данные значимы по отношению к контрольной группе; # - к группе, получавшей только липополисахарид.

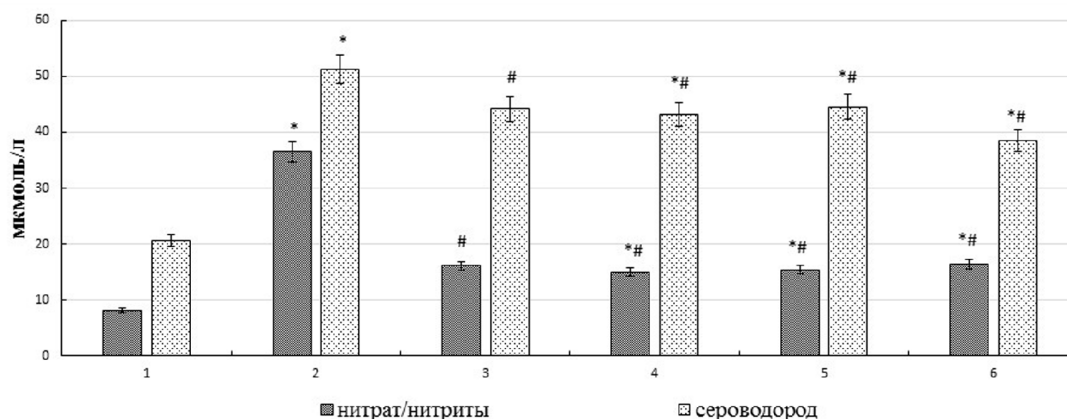


Рисунок 2. Концентрация нитрат/нитритов и сероводорода у крыс при окислительном стрессе, индуцированном липополисахаридом, в условиях введения эритропоэтина и коррекции системы газотрансмиттеров. 1 - контроль, 2 - липополисахарид, 3 - липополисахарид + мелатонин, 4 - липополисахарид + мелатонин + L-аргинин, 5 - липополисахарид + мелатонин + гидросульфид натрия, 6 - липополисахарид + мелатонин + эритропоэтин. Данные значимы по отношению: * - к контрольной группе ($p < 0,05$); # - к группе, получавшей только липополисахарид ($p < 0,05$).

В данной модели ОС отмечается увеличение содержания NO_x на 350,6% ($p < 0,01$) и H_2S на 147,8% ($p < 0,01$), по сравнению с контрольной группой животных (рис. 3). Применение мелатонина, в условиях введения ЛПС, приводило к уменьшению концентрации NO_x и H_2S в плазме на 55,9% ($p < 0,01$) и 13,8% ($p < 0,01$) соответственно, по отношению к животным, получавшим только ЛПС. Инъекция мелатонина в комбинации с ЭПО, с NaHS или с L-аргинином в условиях введения эндотоксина также сопровождается снижением концентрации данных соединений в близком диапазоне.

При окислительном стрессе происходит чрезмерное образование свободных радикалов и неспецифическое повреждение тканей [3]. Важный вклад в сложную иерархию защиты от активированных форм кислорода вносят антиоксиданты, которые проявляют своё действие разнообразным способом: вызывая гашение активных форм кислорода; ингибируя их синтез $\text{SO}_2, \%$

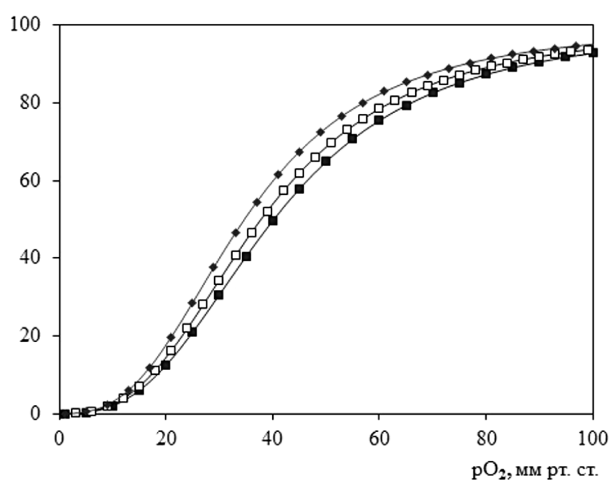


Рисунок 3. Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры в условии развития окислительного стресса, индуцированного липополисахаридом (\square) при введении мелатонина (\blacklozenge), контроль (\blacksquare).

путём связывания с ионами металлов, катализирующих их образование; усиливая образование эндогенных антиоксидантов; сокращая апоптозную гибель клеток путём активации гена Bcl-2 и др. [18].

Как известно, мелатонин, являясь многофункциональным индоламином, участвует в различных физиологических и метаболических процессах как через рецептор-опосредованные, так и через рецептор-независимые механизмы [19]. В нашем исследовании при его введении наблюдается снижение свободнорадикального окисления и повышение антиоксидантного потенциала организма. Защитное действие мелатонина осуществляется благодаря различным механизмам: непосредственного участия в нейтрализации свободных радикалов, образования продуктов метаболизма мелатонина, обладающих антиоксидантной активностью, усиления экспрессии генов антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза) [20]. Кроме того, как следует из наших исследований, мелатонин оказывает влияние на образование газотрансмиттеров и формирование кислородсвязывающих свойств крови. Введение мелатонина характеризуется увеличением степени насыщения крови кислородом, сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина влево. Известно, что сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо способствует росту потока кислорода в ткани в условиях нормоксии или умеренной гипоксии [21], в то же время его смещение влево может иметь благоприятное значение, обладая антиоксидантным эффектом в условиях нарушенной утилизации кислорода тканями [4]. Влияя на различные кислородзависимые процессы и СГК, он обеспечивает оптимизацию процессов тканевой оксигенации, а также снижает участие кислорода в свободнорадикальных процессах [9]. В этом аспекте важно отметить, что действие антиоксидантов может осуществляться посредством различных механизмов, среди которых важным является локальное снижение концентрации кислорода и предотвращение его включения в окисление [3].

ЭПО, наряду с регуляцией эритропоэза, обладает и плеiotропными свойствами: уменьшает окислительные повреждения при ишемии/реперфузии, снижает концентрацию фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-6, а также улучшает процессы оксигенации в лёгких [22]. Данное вещество может непосредственно взаимодействовать со свободными радикалами и нейтрализовать их действие, выступая в качестве “ловушки” [23]. Кроме того, ЭПО активирует внутриклеточные антиоксидантные механизмы, такие как гемоксигеназа-1, глутатионпероксидаза [24]. ЭПО действует на КТФ крови не только через непосредственное влияние на концентрацию гемоглобина, увеличивая кислородную ёмкость, но и через изменение кислородсвязывающих свойств крови [10]. Комбинированное введение ЭПО с мелатонином в условиях развития ОС обладает антиоксидантным эффектом, но не усиливает его.

Как известно, эндотоксин является индуктором индуцибельной изоформы NO-синтазы, что повышает продукцию NO, который при взаимодействии с супероксид-анионом образует пероксинитрит [18]. Мелатонин в условиях введения ЛПС способствует ингибированию экспрессии индуцибельной NO-синтазы, что приводит к снижению избыточной продукции NO, уменьшая образование пероксинитрита, и тем самым защищает от нитрозильных/окислительных повреждений [25]. Уменьшение содержания NO_x, происходящее в наших опытах при инъекции мелатонина в условиях введения ЛПС свидетельствует о снижении синтеза NO и активности свободнорадикального окисления.

При ОС, индуцированном ЛПС, в формировании КТФ крови участвует L-аргинин-NO система. Продукция NO может изменять СГК как через образование NO-соединений с гемоглобином, так и через регуляцию сосудистого тонуса, что имеет большое значение для процессов газообмена [4]. H₂S также вносит вклад в функционирование L-аргинин-NO системы через активацию эндотелиальной и ингибирование индуцибельной изоформы NO-синтазы [26]. Следует также подчеркнуть возможность образования NO и H₂S в эритроцитах, что может иметь значение для модификации кислородсвязывающих свойств непосредственно гемоглобина через внутриэритроцитарные механизмы [27]. Газотрансмиттеры, модулируя функциональные свойства гемоглобина, могут оказывать влияние на активность свободнорадикальных процессов и в целом на антиоксидантный потенциал организма [28]. Мелатонин, уменьшая дисбаланс в функционировании системы газотрансмиттеров, способствует адаптивным изменениям КТФ крови и уменьшению ОС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение мелатонина при ОС, индуцированном трёхкратным введением ЛПС, снижало уровень МДА, ДК и ТК в плазме и эритроцитах и повышало активность каталазы и концентрацию глутатиона,

церулоплазмину, α -токоферола и ретинола в плазме крови. Применение в этих условиях ЭПО, L-аргинина, гидросульфида натрия не усиливало антиоксидантный эффект мелатонина.

При введении мелатонина на фоне нарушений, вызванных ЛПС, происходят изменения КТФ крови: увеличение степени насыщения крови кислородом, повышение СГК, что имеет значение для адекватного кислородного обеспечения организма при развитии ОС.

Полученные данные свидетельствуют о регуляторной роли мелатонина по отношению к кислородзависимым механизмам (прооксидантно-антиоксидантный баланс и КТФ крови) при ОС, вызванном введением ЛПС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Du H., Xiao X., Stiles T., Douglas C., Ho D., Shaw P.X. (2016) Open. J. Ophthalmol., **6**(1), 43-50.
2. Poljsak B., Suput D., Milisav I. (2013) Oxid. Med. Cell. Longev., DOI: 10.1155/2013/956792.
3. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006) Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М. Слово.
4. Зинчук В.В., Глуткина Н.В. (2013) Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, **99**(5), 537-554.
5. Перцов С.С., Калинин Л.С., Конлик Е.В., Наглер Л.Г., Алинкина Е.С., Козаченко А.И. (2015) Биомед. химия, **61**, 394-399. DOI: 10.18097/PBMC20156103394.
6. Slominski A., Tobin D.J., Zmijewski M.A., Wortsman J., Paus R. (2008) Trends. Endocrinol. Metab. **19**, 17-24.
7. Reiter R.J., Mayo J.C., Tan D.X., Sainz R.M., Alatorre-Jimenez M., Qin L. (2016) J. Pineal. Res., **61**(3), 253-278.
8. Shen X., Kolluru G.K., Yuan S., Kevil C.G. (2015) Methods Enzymol. **554**, 31-45.
9. Зинчук В.В., Глуткин С.В., Шульга Е.В., Гуляй И.Э. (2013) Экспер. клин. фармакол., **76**(2), 32-36.
10. Зинчук В.В., Глуткин С.В., Шульга Е.В. (2012) Экспер. клин. фармакол., **75**(1), 39-42.
11. Камышников В.С. (2009) Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. МЕДпресс-информ, Москва.
12. Королюк М.А., Иванов Л.И., Масторова И.Г. (1988) Лаб. дело, №1, 16-19.
13. Sedlak J., Lindsay R.H. (1968) Anal. Biochem., **25**, 192-205.
14. Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L. (1976) Lipids, **11**(7), 530-538.
15. Bryan N.S., Grisham M.B. (2007) Free Radic. Biol. Med., **43**(5), 645-657.
16. Norris E.J., Culbertson C.R., Narasimhan S. (2011) Shock, **36**(3), 242-250.
17. Severinghaus J.W. (1966) J. Appl. Physiol., **21**(5), 1108-1116.
18. Wang C.N., Duan G.L., Liu Y.J., Yu Q., Tang X.L., Zhao W., Li X.H., Zhu X.Y., Ni X. (2015) Free Radic. Biol. Med., **83**, 31-40.
19. Klimentova J., Cebova M., Barta A., Matuskova Z., Vrankova S., Rehakova R., Kovacsova M., Pechanova O. (2016) Physiol. Res., **65**, 373-380.
20. Jiang T., Chang Q., Cai J., Fan J., Zhang X., Xu G. (2016) Oxid. Med. Cell. Longev., DOI: 10.1155/2016/3528274.
21. Storz J.F. (2016) J. Exp. Biol., **219**(20), 3190-3203.

22. Grasso G., Tomasello G., Noto M. (2015) Mol. Med., **21**(1), 979-987.
23. Guneli E., Cavdar Z., Islekel H. (2007) Mol. Med., **13**(9-10), 509-517.
24. Katavetin P., Tungsanga K., Eiam-Ong S., Nangaku M. (2007) Kidney Int. Suppl., **107**, 10-15.
25. García J.A., Ortiz F., Miana J., Doerrier C., Fernández-Ortiz M., Rusanova I., Escames G., García J.J., Acuña-Castroviejo D. (2017) J. Physiol. Biochem., DOI: 10.1007/s13105-017-0548-2.
26. King A.L., Polhemu D.J., Bhushan S. (2014) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **111**, 3182-3187.
27. Kolluru G.K., Prasai P.K., Kaskas A.M., Letchuman V., Pattillo C.B. (2016) J. Appl. Physiol., **120**, 263-270.
28. Зинчук В.В., Ленева В.О., Гуляй И.Э. (2016) Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. **102**, 1176-1184.

Поступила: 25. 05. 2017.
Принята к печати: 26. 06. 2017.

PARTICIPATION OF MELATONIN IN REGULATION OF BLOOD OXYGEN-TRANSPORT FUNCTION IN OXIDATIVE STRESS INDUCED BY INJECTION OF LIPOPOLISACCHARIDE

V.V. Zinchuk, M.E. Firago

Grodno State Medical University,
Gorkogo str, 80, Grodno, 230009 Belarus; e-mail: zinchuk@grsmu.by

The contribution of melatonin to the regulation of the blood oxygen transport function was studied during oxidative stress induced by a triple injection of lipopolysaccharide (at a dose of 5 mg/kg) in conditions of erythropoietin and gasotransmitters (nitrogen monoxide, hydrogen sulfide) action. In the experimental groups, intraperitoneal injections of melatonin (5 mg/kg), erythropoietin (1000 U/kg), hydrogen sulfide donor (NaHS 5 mg/kg), and L-arginine (100 mg/kg), were performed. The use of melatonin alone or in combination with erythropoietin, sodium hydrosulfide or L-arginine led to a decrease in lipid peroxidation products and an increase in the antioxidant protection. Melatonin, during lipopolysaccharide administration, caused changes of blood oxygen transport function: blood oxygen saturation increased, hemoglobin oxygen affinity increased. The modifying effect of melatonin on the blood oxygen transport function in combination with erythropoietin and gasotransmitters did not exceed the effect of melatonin alone.

Key words: lipopolysaccharide, oxidative stress, blood, melatonin, erythropoietin, gasotransmitters, nitrogen monoxide, hydrogen sulfide