

Т.С. Милош

Прооксидантно-антиоксидантное состояние, кислородтранспортная функция крови у крыс в условиях эндотоксинемии и действия таурина в период беременности

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

В экспериментах на 74 беременных крысах с внутримышечным введением липополисахарида *E. coli* «Sigma» в период плацентации установлен корригирующий эффект таурина в отношении нарушений прооксидантно-антиоксидантного состояния, кислородтранспортной функции крови.

Ключевые слова: беременность, липополисахарид, прооксидантно-антиоксидантное состояние, кислородтранспортная функция крови, таурин. Инфекция во время беременности, определяя уровень мертворождаемости и ранней неонатальной смертности, является одной из самых актуальных проблем современного акушерства. Доля инфекции среди перинатальных потерь занимает 3-е место в Беларуси [1].

В области инфекционной патологии системы «мать-плод» проведены многочисленные исследования. Ранее установлено наличие изменений прооксидантно-антиоксидантного состояния [3], кислородтранспортной функции крови [2] у самок-крыс, получавших ЛПС в период беременности, однако эффективные способы их коррекции не разработаны.

Согласно данным литературы аминокислота таурин содержится в больших количествах в головном мозге и участвует в его развитии и функционировании, обладает осморегуляцией, антиоксидантными, детоксикационными, противовоспалительными, антиапоптотическими свойствами, вызывает элиминацию ЛПС из организма, уменьшает образование NO. [6, 7, 8].

Цель исследований – установить роль нарушений прооксидантно-антиоксидантного состояния, показателей кислородтранспортной функции крови в возникновении нарушений у крыс в условиях эндотоксинемии и действия таурина в период беременности.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 74 беременных крысах массой 200-230 г, разделенных на 3 группы. Животным первой опытной группы (n=24) в период плацентации (11-е сутки беременности) внутримышечно вводили эндотоксин грамотрицательных бактерий – ЛПС *Escherichia coli* «Sigma» в дозе 0,4 мг/кг. Крысам второй опытной группы (n=25) наряду с ЛПС внутримышечно вводили аминокислоту таурин в дозе 10 мг/кг в течение 7 суток ежедневно, начиная с 11-го дня беременности. Крысы контрольной группы (n=25) в аналогичные сроки беременности внутримышечно получали эквивалентное количество изотонического раствора NaCl.

Взятие материала (крови и плацент) для исследований осуществляли в условиях наркоза (внутримышечно тиопентал натрия, 40-60 мг/кг). Кровь забирали из общей сонной артерии с добавлением гепарина (20 ЕД/мл). Плаценту для хранения замораживали в жидком азоте.

У беременных крыс оценивали прооксидантно-антиоксидантное состояние по концентрации продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме крови и плаценте: диеновые конъюгаты (ДК), малоновый диальдегид (МДА), основания Шиффа (ОШ) и показателей антиоксидантной защиты (АОЗ): ретинола и *-токоферола (*-Т) в плазме крови, а в плаценте – ретинола, *-Т и каталазы. Концентрацию ДК оценивали спектрофотометрическим методом по интенсивности УФ-поглощения конъюгированными диеновыми структурами гидроперекисей липидов на спектрофотометре «СФ-46» (Россия) при длине волны 233 нм (Гаврилов В.Б. и др., 1983; Камышников В.С., 2002), содержание МДА – по концентрации его комплексов с тиобарбитуровой кислотой при длине волны 535 нм (Rice-Evans С.А. et al., 1991), уровень ОШ – по интенсивности флуоресценции хлороформного экстракта на спектрофлуориметре F-4010 «Hitachi» (Япония) при длине волн возбуждения 340 нм и эмиссии 440 нм (Fletcher В.Л. et al., 1973). Концентрацию ретинола и *-Т определяли спектрофлуориметрическим методом при длинах волн возбуждения 335 нм и эмиссии 460 нм и 295, 320 нм соответственно (Черняускене Р.Ч. и др., 1984), активность каталазы – путем регистрации количества окрашенного продукта реакции перекиси водорода с молибденовокислым аммонием на спектрофотометре «СФ-46» (Россия) при длине волны 410 нм (Королюк М.А. и др., 1988).

На микрогазоанализаторе «Synthesis-15» (Instrumentation Laboratory Company) определяли показатели кислородтранспортной функции крови (КТФК) артериальной и венозной крови: содержание гемоглобина (Hb), кислородную ёмкость крови (КЕ), количество оксигемоглобина (HbO₂), парциальное давление кислорода (pO₂), степень насыщения крови кислородом (SO₂), содержание кислорода (СО₂), содержание карбоксигемоглобина (СОHb), содержание метгемоглобина (MetHb). Срод-ство гемоглобина к кислороду (СГК) определяли по показателю р50 (рO₂ крови при 50 % насыщении ее кислородом) в венозной крови при стандартных условиях рН=7,4, рСО₂=40 мм рт. ст. и температуры =37°С (р50ст.) и при реальных значениях рН, рСО₂ и температуры (р50реал.) [5].

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы «Statistica 6,0» [4]. Данные проверяли на нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка. Рассчитывали медиану, межквартильный интервал (25-й и 75-й процентиля). Различия между группами устанавливали с помощью критерия Краскелла-Уоллиса, а различия между показателями – по методике Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При изучении динамики показателей, характеризующих прооксидантно-антиоксидантное состояние, в организме беременных крыс после действия ЛПС выявлено увеличение активности ПОЛ на фоне уменьшения АОЗ (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), оснований Шиффа (ОШ), ретинола, α -токоферола в плазме крови беременных крыс после введения липополисахарида (ЛПС), а также совместно ЛПС и таурина (Т) в период плацентации

Показатели	Единицы	Объект исследования	Группы животных		
			Контроль	ЛПС	ЛПС + Т
ДК	$\Delta D_{233}/мл$	плазма	1,1 (0,9; 1,5)	2,1 (1,5; 2,3)**	0,8 (0,6; 1,2)**
	$\Delta D_{233}/г$	плацента	7,2 (5,4; 8,0)	12,0 (11,0; 12,7)**	3,6 (3,4; 5,6)*#
МДА	мкмоль/л	плазма	1,8 (1,1; 2,0)	2,8 (2,2; 3,6)**	2,3 (2,0; 2,4)**#
	нмоль/г	плацента	4,2 (2,9; 9,2)	12,8 (12,0; 15,8)*	9,8 (8,4; 10,7)*#
ОШ	ЕД/мл	плазма	137,3 (129,6; 140,9)	148,1 (142,1; 156,7)*	140,8 (125,5; 145,7)#
	ЕД/г	плацента	94,4 (79,9; 106,7)	137,2 (130,0; 142,0)**	117,3 (101,5; 119,3)**#
Ретинол	ммоль/л	плазма	5,2 (3,6; 6,3)	3,7 (3,1; 3,9)*	4,7 (4,4; 5,5)**
	ммоль/г	плацента	82,0 (80,5; 87,7)	50,2 (49,8; 69,5)**	79,2 (66,6; 82,0)#
α -токоферол	мкмоль/л	плазма	24,8 (24,3; 25,4)	23,2 (22,1; 23,8) **	24,8 (23,9; 25,2)**#
	мкмоль/г	плацента	127,0 (125,0; 131,3)	126,0 (122,5; 130,3)	249,9 (167,9; 286,7)*#
Ката-лаза	ммоль $H_2O_2/c^*г$ белка	плацента	0,5 (0,2; 0,6)	1,3 (1,2; 1,4)**	0,6 (0,6; 0,8)#

Примечания:

1 – Данные представлены в виде медианы Me (25-й; 75-й процентиля).

2 – * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – различия статистически значимы между показателями опытной и контрольной групп,

3 – # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – различия статистически значимы между показателями опытных групп

Так, в плазме крови крыс установлено увеличение [ДК] на 91 % ($p < 0,001$), а в плаценте – на 67 % ($p < 0,001$), [МДА] в плазме крови – на 56 % ($p < 0,001$), а плаценте – в 3 раза ($p < 0,05$), [ОШ] в плазме крови – на 7,9 % ($p < 0,05$), а в плаценте – на 45 % ($p < 0,001$).

При изучении состояния АОЗ получено снижение содержания ретинола в плазме крови самок-крыс с введением ЛПС на 29 % ($p < 0,05$), в плаценте – на 39 % ($p < 0,001$), [*-Т] в плазме крови – на 6 % ($p < 0,001$) наряду с повышением активности каталазы в плаценте в 3 раза ($p < 0,001$).

Таблица 2 – Показатели кислородтранспортной функции артериальной (а) и венозной (в) крови беременных крыс после введения липополисахарида (ЛПС) и таурина (Т) в период плацентации

Группы животных		КЕ (об %)	СО ₂ (об %)	SO ₂ (%)	pO ₂ (мм рт. ст.)	p ₅₀ реал. (мм рт. ст.)	p ₅₀ ст. (мм рт. ст.)	Hb (г/л)	HbO ₂ (%)
Конт- роль	а (n=9)	16,2 (16,0; 19,6)	18,3 (17,8; 18,5)	99,2 (99,0; 99,6)	100,0 (97,5; 105,0)	-	-	117,0 (116,0; 126,0)	96,6 (94,4; 97,5)
	в (n=8)	-	13,8 (13,0; 14,1)	57,7 (55,9; 59,1)	42,0 (40,9; 43,2)	32,1 (31,4; 33,9)	29,2 (27,4; 31,4)	-	52,6 (46,5; 56,1)
ЛПС	а (n=11)	13,9 (8,5; 14,9)**	14,9 (12,6; 16,0)*	54,7 (45,2; 62,2)**	43,0 (29,3; 58,0)**	-	-	112,0 (107,0; 119,0)	53,8 (44,6; 76,2)**
	в (n=11)	-	8,1 (7,7; 8,5)**	36,5 (33,0; 38,5)**	35,0 (30,0; 39,0)*	44,4 (41,6; 48,8)**	35,5 (33,1; 40,1)**	-	35,3 (32,7; 39,0)*
ЛПС+Т	а (n=9)	16,3 (15,3; 17,4)#	15,5 (15,3; 16,5)**	97,3 (98,3; 99,6)#	96,0 (82,0; 108,0)#	-	-	117,0 (116,0; 122,0)#	95,6 (93,1; 95,8)#
	в (n=7)	-	12,1 (10,3; 12,4)*#	63,0 (59,6; 69,6)#	46,0 (41,0; 49,5)#	35,9 (35,9; 36,0)*#	32,6 (31,9; 33,9)*#	-	48,5 (47,0; 54,4)#

Примечания:

- 1 – Данные представлены в виде медианы Me (25-й; 75-й процентиля).
- 2 –* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – различия статистически значимы между показателями опытной и контрольной групп.
- 3 – # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ – различия статистически значимы между показателями опытных групп.
- 4 – КЕ – кислородная ёмкость крови. 5 – СО₂ – содержание кислорода в крови в объёмных %.
- 6 – SO₂ – степень насыщения крови кислородом.
- 7 – pO₂ – парциальное давление кислорода.
- 8 – p₅₀реал – показатель полунасыщения крови кислородом при реальном рН венозной крови.
- 9 – p₅₀ст. – показатель полунасыщения крови кислородом при стандартном рН венозной крови.
- 10 – Hb – содержание гемоглобина. 11 – HbO₂ – содержание оксигемоглобина.
- 12 – СОHb – содержание карбоксигемоглобина.
- 13 – MetHb – содержание метгемоглобина.

Изучение КТФК у беременных крыс, получавших ЛПС (таблица 2), выявило: снижение КЕ артериальной крови ($p < 0,001$), СО₂ артериальной ($p < 0,05$) и венозной ($p < 0,001$) крови, SO₂ и [HbO₂] ($p < 0,001$), pO₂ артериальной ($p < 0,001$) и венозной ($p < 0,05$) крови, повышение p₅₀реал. на 12,3 мм рт. ст. ($p < 0,001$), а p₅₀ст. – на 6,3 мм рт. ст. ($p < 0,001$), что указывает на сдвиг кривой

диссоциации оксигемоглобина вправо и уменьшение аффинитета гемоглобина к кислороду.

Выявленные изменения показателей КТФК свидетельствуют об ухудшении кислородного снабжения организма беременных при инфицировании в период беременности.

У крыс, получавших ЛПС и таурин в период плацентации, отмечалось снижение активности окислительного стресса, что выражалось в снижении уровня показателей ПОЛ: ДК в плазме крови на 62 % ($p < 0,001$) и в плаценте – на 70 % ($p < 0,05$), МДА в плазме крови – на 18 % ($p < 0,05$) и плаценте на 23 % ($p < 0,05$), ОШ (в плазме крови на 4,9 %, $p < 0,05$), в плаценте – на 14,5 % ($p < 0,001$) в сравнении с 1-й опытной группой.

Наряду с этим, в группе крыс с введением ЛПС и таурина отмечалось повышение АОЗ, что проявлялось в увеличении концентрации ретинола в плазме крови на 27 % ($p < 0,001$) и в плаценте – на 58 % ($p < 0,05$), [*-Т] в плазме крови – на 6,9 % ($p < 0,001$), в плаценте – на 98 % ($p < 0,05$), а также снижение активности каталазы в плаценте на 54 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями в группе крыс, получавших ЛПС.

Характер изменений показателей ПОЛ и АОЗ в плазме крови и в плаценте свидетельствует о способности таурина уменьшать выраженность нарушений прооксидантного-антиоксидантного состояния, вызванных введением ЛПС.

Использование таурина уменьшило выраженность патогенных эффектов липополисахарида на показатели кислородтранспортной функции крови беременных крыс, одним из проявления которых явилось снижение показателя $rv50_{\text{реал}}$ в венозной крови до 35,9 (35,9; 36,0) мм рт. ст. ($p < 0,05$) и $rv50_{\text{ст}}$ до 32,6 (31,9; 33,9) мм рт. ст. ($p < 0,05$), что отражает сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево и повышение аффинитета гемоглобина к кислороду.

Выводы. 1. Использование таурина в период плацентации оказывает корригирующее действие в отношении прооксидантного-антиоксидантного состояния в условиях действия липополисахарида: уменьшается активность окислительных процессов, отмечается корригирование показателей кислородтранспортной функции крови. 2. Предполагается, что использование таурина в период беременности позволит уменьшить нарушения развития у потомства при инфицировании в период беременности.

Литература

1. Организационное обеспечение безопасного материнства в Республике Беларусь / В. И. Жарко [и др.] // Безопасное материнство в XXI веке: сб. материалов VIII съезда акушеров-генекологов и неонатологов Республики Беларусь, Витебск, 17–18 октября 2007 г. / Мин. здравоохран. РБ, Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: В. И. Жарко [и др.]. Витебск, 2007. С. 3–13.
 2. Милош, Т. С. Кислородтранспортная функция крови в условиях моделируемой инфицированной беременности / Т. С. Милош, Е. Н. Максимович // Лекарственные средства и биологически активные соединения: материалы междунар. науч. конф., Гродно, 11–12 октября 2007 г. / Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродно; редкол.: П.С. Пронько [и др.]. Гродно, 2007. С. 109–111.
 3. Милош, Т. С. Роль оксида азота, окислительного стресса в патогенезе нарушений развития потомства при экспериментальном введении липополисахарида / Т. С. Милош, Н. Е. Максимович, Ю. Г. Куровская // Вестник Витебск. гос. мед. ун-та. 2008. № 1. Т. 7. С. 32–38.
 4. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ, статистика / О. Ю. Реброва. М.: Медиа Сфера, 2002. 312 с.
 5. Scheid, P. Mixing technique for study of oxygenhemoglobin equilibrium: a critical evaluation / P. Scheid, M. Meyer // J. Appl. Physiol. 1978. Vol. 45, № 5. P. 616–622.
 6. Stapleton, P. P. Taurine and inflammation a new approach to an old problem / P. P. Stapleton, H. P. Redmond, D. J. Bouchier-Hayes // J. Leukoc-Biol. 1997. № 61(2). P. 231–232.
 7. Taurine chloramines inhibits the synthesis of nitric oxide and release of tumor necrosis factor in activated RAW 264.7 cells / E. Park [et al.] // J. Leukoc. Biol. 1993. Vol. 54. P. 119–124.
 8. The antioxidant action of taurine in acute hypoxic hypoxia / I. M. Mankovska [et al.] // Fiziologicheski Zurnal. 1998. Vol. 44(5–6). P. 65–72.
- Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ № Б04М-044