

Зарипова Раиля Ирековна

**ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОКСИДА АЗОТА В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ
ГИПОКИНЕЗИИ РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ**

03.03.01 - физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань-2012

Работа выполнена на кафедре анатомии, физиологии и охраны здоровья человека федерального государственного автономного общеобразовательного учреждения высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Научный руководитель - доктор биологических наук, профессор Ситдигов Фарит Габдулхакович

Официальные оппоненты:

Чинкин Абдулахат Сиразетдинович – доктор биологических наук, профессор; ФГБОУ ВПО «Поволжская государственная академия физической культуры, спорта и туризма», заведующий кафедрой естественнонаучных и медико-биологических дисциплин

Нигматуллина Разина Рамазановна – доктор биологических наук, профессор; ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», кафедра нормальной физиологии, профессор

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет фундаментальной медицины

Защита состоится «25» декабря 2012 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 212.081.28 при ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420008, г. Казань, ул. Левобулачная, д. 44.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. Н.И. Лобачевского при ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 35.

Автореферат разослан «__» _____ 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Зефилов Тимур Львович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Гипокинезия (ограничение двигательной активности) является одной из важнейших медико-социальных проблем, вызванной образом жизни, профессиональной деятельностью, длительным постельным режимом и т.д. О разрушительном действии, которое она оказывает практически на все органы и системы организма, свидетельствует обширный, убедительный экспериментальный и клинический материал (Панферова Н.Е., 1977; Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н., 1980; Абзалов Р.А., 1985, 2005; Смирнов К.В., 1990; Гильмутдинова Р.И., 1991; Нигматуллина Р.Р., 1991; Акопян В.П., 1998; Камскова Ю.Г., 2000-2003; Тизул А.Я., 2001; Козловская И.Б. и др., 2003, 2006; Долганова Т.И., 2008, Чиглинцев В.М., 2007, 2008; Пшенникова М.Г., 2011). При гипокинезии происходит уменьшение нагрузки на мышечный аппарат, что приводит к изменениям функциональных и морфологических свойств тканей вплоть до патологических состояний в зависимости от продолжительности и степени гипокинезии (Козловская И.Б., Киренская А.В., 2003).

Продолжительное пребывание в условиях гипокинезии вызывает разнообразные изменения водно-электролитного обмена и механизмов его регуляции: изменяется концентрационная способность почек, развивается отрицательный баланс калия и кальция. Развивается атрофия скелетных мышц с уменьшением мышечной силы параллельно с развитием остеопении (Оганов В.С., 1998; Долганова Т.И., 2008). Отмечается перестройка нейрогуморальных регуляций вегетативно-висцеральных функций, особенно сердечно-сосудистой системы. Длительная гипокинезия приводит к уменьшению энерготрат, снижению биоэнергетики и интенсивности структурного метаболизма в мышцах, ослаблению тонизирующих импульсов из мышц, уменьшению нагрузки на костную систему (Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н., 1980).

Характерные негативные последствия воздействия длительной или кратковременной гипокинезии на растущий организм пока остаются малоизученными.

Одним из значительных достижений последних лет уходящего столетия стало открытие биорегуляторных свойств эндогенного оксида азота (NO). Стало известно о совершенно новом типе передачи информации в организме.

На сегодняшний день значимым направлением физиологических исследований является изучение роли и содержания оксида азота в сердечно-сосудистой, нервной и в других системах организма (Раевский К.С., 1997; Зефилов А.Л. и др., 1999; Гайнутдинов Х.Л. и др., 2004; Ситдикова Г.Ф., Зефилов А.Л., 2006). На данный момент известно действие NO на сердце посредством регуляции внесердечных (Марков Х.М., 1996, 2001) и

коронарных сосудов (Han X. et al., 1998). Является актуальным определение количественного содержания NO – как внутри-, межклеточного, тканевого и межорганного посредника (Гайнутдинов Х.Л. и др., 2006; Юртаева С.В. и др., 2006; Ismailova A.I. et al., 2004, 2005). Показано прямое влияние NO на миоциты и рецепторы сердца (Нигматуллина Р.Р., Насырова А.Г., 2005). Доказано токсическое действие NO на кардиомиоциты при патологических состояниях (Невзорова В.А. и др., 1997).

NO является важным модулятором клеточной активности во многих тканях у позвоночных и беспозвоночных животных (Ванин А.Ф., 2001; Реутов В.П., 1998, 2007). NO способен взаимодействовать с разнообразными веществами – тиолами, белками, сахарами, ионами металлов, гемами протеинов и т.д., локализованными в самых различных тканях и органеллах, что предполагает наличие NO и его комплексов в различных тканях (Граник В.Г., Григорьев Н.Б., 2002; Осипов А.Н. и др., 2007; Тимошин А.А., 2007).

Свойства оксида азота в настоящее время продолжают активно изучаться и появляющиеся сведения берутся на вооружение фармакологами и врачами различных специальностей. Однако становится очевидным, что влияние оксида азота неоднозначно и разнонаправленно. Можно говорить о двух диаметрально противоположных влияниях NO: во-первых - стимулирующее, положительное, а во-вторых, он способен оказывать токсическое, повреждающее действие, приводить к гибели клеток (Godecke A., Schrader J., 2004; Calabrese V. et al., 2009). Исходя из этого не ясно, какие количества NO в различных тканях животных следует считать небольшими, а какие увеличенными. Поэтому является актуальным определение количественного содержания NO – как внутри-, межклеточного, тканевого и межорганного посредника (Гайнутдинов Х.Л. и др., 2006; Юртаева С.В. и др., 2006; Ismailova A.I. et al., 2004, 2005). Однако при любом подходе к решению проблемы регуляции NO необходимо иметь в виду, что NO – активный участник процессов метаболизма и резкое изменение его генерации может привести к нарушению функциональной активности многих биосистем. Таким образом, изучение содержания NO в тканях органов гипокинезированных крыс разных возрастных групп является актуальной задачей и встает вопрос об использовании современного, точного метода количественного определения оксида азота. Полученные результаты помогут понять роль оксида азота в механизмах формирования и протекания различных заболеваний

Цель и задачи исследования

Целью исследования явилось изучение интенсивности образования оксида азота в различных тканях и влияния NO на сократимость миокарда крыс при гипокинезии различной длительности. В соответствии с этой целью были поставлены следующие

задачи:

1. Определить и сравнить интенсивность образования оксида азота в тканях желудочков и предсердий сердца, печени, икроножной мышцы, спинного мозга крыс 28-, 56-, 81-, 110-суточных возрастов, растущих в условиях неограниченной двигательной активности.
2. Определить интенсивность продукции оксида азота в тканях желудочков и предсердий сердца, печени, икроножной мышцы, спинного мозга крыс, растущих в условиях гипокинезии различной продолжительности.
3. Установить эффекты введения неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME на интенсивность продукции оксида азота в органах крыс, растущих в условиях гипокинезии.
4. Изучить эффекты введения неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME на интенсивность продукции оксида азота в органах крыс, растущих в условиях неограниченной двигательной активности.
5. Изучить эффекты введения селективного блокатора индуцибельной NO-синтазы аминугуанидина на интенсивность продукции оксида азота в органах гипокинезированных крыс 110-суточного возраста.
6. Исследовать влияние блокады NO-синтаз при активации β -адренорецепторов на сократимость миокарда при гипокинезии.
7. Изучить влияние различных доз норадреналина в условиях блокады NO-синтаз и β -адренорецепторов на сократимость миокарда крыс при гипокинезии.
8. Определить влияние донора оксида азота – нитропруссид натрия на сократимость миокарда крыс при гипокинезии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Длительная гипокинезия вызывает увеличение содержания NO в органах крыс; при 30-суточной гипокинезии этот сдвиг наиболее выражен.
2. Увеличение образования NO при гипокинезии происходит за счет интенсификации ферментативного пути синтеза NO, где основной вклад вносит индуцибельная NO-синтаза.
3. Гипокинезия усиливает эффект блокады NO-синтаз на сократимость миокарда крыс.

Научная новизна

Экспериментально методом ЭПР спектроскопии показано, что после перехода крысят в режим гипокинезии, начиная с 21-суточного возраста, в сердце, печени и спинном мозге половозрелых крыс происходит увеличение продукции оксида азота.

Полученные результаты свидетельствуют, что при длительной гипокинезии в организме происходит усиление процессов синтеза NO.

Повышение интенсивности образования NO при гипокинезии позволяет сделать вывод о наличии тесных связей уровня NO в организме с режимом двигательной активности. Поскольку рассмотрение данных литературы показывает, что ГК вызывает значительные изменения в сердечно-сосудистой системе, во внутренних органах, в системе кровотока и снабжения организма кислородом, то можно предположить, что часть этих изменений вызвана стационарным увеличением продукции оксида азота в ключевых для деятельности организма тканях.

Применение неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME у гипокинезированных крыс приводило к снижению содержания NO до уровня, значительно ниже его значения у контрольных животных. Полученные результаты показывают, что в повышение интенсивности образования NO при гипокинезии основной вклад вносит ферментативный путь синтеза NO и гипокинезия не увеличивает долю NO, образованного по нитритредуктазному механизму. Введение гипокинезированным крысам амингуанидина вызывало снижение содержания NO в тканях печени, предсердий и желудочков, что позволяет утверждать, что за повышение синтеза NO при гипокинезии ответственна индуцибельная NO-синтаза.

Научно – практическая значимость

Значительная роль NO во многих физиологических и патофизиологических процессах, а также недостаточность сведений об объеме синтеза и функциях NO при гипокинезии растущего организма определяют значимость исследований в данном направлении. Количественное определение содержания NO позволит оценить воздействие стрессовых условий на генерацию оксида азота в растущем организме. Направленное воздействие на систему генерации NO с целью управления адаптационными реакциями организма может найти применение в спортивной и космической медицине, где определение влияния гипокинезии на организм является одной из основных задач. Материал исследований заслуживает внимания со стороны специалистов по возрастной и нормальной физиологии, педиатрической фармакологии и кардиологии.

Полученные данные расширяют представления о роли оксида азота и NO-синтаз в деятельности внутренних органов крыс, растущих в стрессовых условиях в раннем постнатальном онтогенезе. При гипокинезии не исключается стресс – реакция организма и по сдвигам содержания NO возможно судить о стрессоустойчивости животных и человека и это может стать одним из объективных методов оценки стрессоустойчивости.

Личный вклад диссертанта

Приведенные в работе данные получены при личном участии аспиранта на всех этапах работы, включая составление плана исследования, проведение экспериментов, обработку полученных данных, и оформление публикаций.

Апробация работы

Материалы исследований доложены на итоговых научных конференциях профессорско-преподавательского состава, молодых ученых и специалистов Казанского федерального университета (2009-2012), на XXI Съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова (Калуга, 2010), на X юбилейной Всероссийской научной конференции «Физиологические механизмы адаптации растущего организма» (Казань, 2010); на VII национальной научно-практической конференции «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека» (Смоленск, 2011), на Всероссийской конференции с международным участием «Спектроскопия и томография электронного парамагнитного резонанса в химии и биологии» (Москва, 2012), на V всероссийской школе-конференции по физиологии кровообращения ФФМ МГУ имени М.В. Ломоносова (Москва, 2012), на IV Всероссийской с международным участием конференции по управлению движением (Москва, 2012), на XI Всероссийской научно-теоретической конференции «Физиологические механизмы адаптации растущего организма» (Казань, 2012); на заседаниях кафедры анатомии, физиологии и охраны здоровья человека Казанского федерального университета (Казань, 2009-2012).

Реализация результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе 2 публикации в рецензируемых журналах (из списка ВАК). Полученные данные используются при чтении лекций на кафедре анатомии, физиологии и охраны здоровья человека Казанского (Приволжского) федерального университета.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания организации и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 131 страницах машинописного текста, содержит 44 рисунка. Список литературы включает 220 работ, из них 101 иностранных авторов.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 345 белых лабораторных беспородных крысах стадного разведения, которых разделили на 2 группы: I – контрольная группа, которая содержалась в стандартных условиях вивария при неограниченной двигательной

активности; II – опытная группа, которая содержалась в условиях ограничения двигательной активности (гипокинезии). Исследования проводили на 4 возрастных группах: 28-, 56-, 81-, 110-суточных возрастов, эти возрастные группы также составляют 4 экспериментальные группы в соответствии с продолжительностью гипокинезии: 7-, 30-, 60-, 90- суточная ГК.

В качестве наркоза используется 25% раствор уретана из расчета 1200 мг/кг массы животного, который вводится внутривентриально.

В качестве неселективного ингибитора NO-синтазы в работе применялся L-NAME в дозе 10 мг/кг, которая полностью блокирует синтез NO (Brady и др., 1992; Nickola и др., 2000). L-NAME вводили внутривентриально, предварительно за 60 мин до декапитирования. Для селективной блокады индуцибельной NO-синтазы использовался аминогуанидин (AG) в концентрации 10 мг/кг, который также вводился внутривентриально, предварительно за 60 мин до декапитирования. Все препараты, используемые нами, разводились в физиологическом растворе. Дозы выбраны аналогичные тем, которые используются другими исследователями (Sakai H., 1999; Davis B. J. et al, 2006).

Ограничение двигательной активности растущих крысят добивались помещением их в клетки-пеналы (Абзалов Р.А., 1985). Передвигая перегородку, изменяется объем пенала в соответствии с размерами животного. Гипокинезию начинали с 21-дневного возраста: первые два дня время ГК составляло 1 час, а в дальнейшем увеличивалось на 2 часа через каждые 2 дня. К 25 дню ГК время пребывания животных в клетках-пеналах достигало 23 часов, и в дальнейшем оставалось постоянным до конца эксперимента.

Содержание NO в органах крыс определялось методикой, разработанной в институте химической физики РАН профессором А.Ф. Ваниным и сотрудниками (Ванин А.Ф. и др., 1967), в которой используется так называемый метод спинового захвата. Метод спинового захвата основан на реакции радикала (в данном случае NO) со спиновой ловушкой. Для образования в организме данного комплекса животным вводился водный раствор ДЭТК-Na в дозе 500 мг/кг в 2,5 мл воды внутривентриально и раствор цитрата железа [сульфат железа (II) ($\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, Sigma, USA) в дозе 37,5 мг/кг + цитрат натрия, 187,5 мг/кг] внутримышечно. Комплекс ДЭТК-Fe (II) взаимодействует с NO, в результате чего образуется стабильный радикал $(\text{ДЭТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$.

Количество NO оценивалось по интенсивности характерного сигнала ЭПР, принадлежащего комплексу $(\text{ДЭТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$. Сигналы сравнивали по величине интегральной интенсивности.

Через 40 минут после введения препаратов крыс декапитировали, извлеченные органы быстро просушивали и замораживали в жидком азоте в специальных капиллярах

для измерений. Регистрация спектров ЭПР приготовленных образцов проводилась на спектрометре ЭПР X-диапазона ER-200E-SRC фирмы "Bruker" EMX/plus с температурной приставкой ER 4112HV при 77 К°. Дальнейшая обработка и вывод спектров производилась с помощью программы WINEPR на персональном компьютере ATHLON-2000.

Данная работа проводилась совместно с сотрудниками Казанского физико-технического института КазНИЦ РАН: В.В. Андриановым, Х.Л. Гайнутдиновым, Г.Г. Яфаровой, В.С. Июдиным. Для обработки ЭПР-спектров использовалась компьютерная программа, разработанная к.б.н. В. В. Андриановым.

Сократительную активность миокарда в эксперименте *in vitro* изучали на полосках предсердий и желудочков. Определение реакции сократительной функции миокарда на действие агонистов и блокаторов проводили на установке "PowerLab" ("ADInstruments") с датчиком силы "MLT 050/D" ("ADInstruments"). Запись кривой регистрировали на персональном компьютере при помощи программного обеспечения "Chart 5.5".

Оценивали процент изменения силы изометрического сокращения полосок миокарда предсердий и желудочков на воздействие фармакологических агентов от исходных показателей. Исходные значения сокращения принимали за 100%.

Из правого предсердия и желудочка при помощи специальных ножниц и пинцетов препарировали полоски. Длина полосок составляла 1,5-2 мм, ширина не превышала 1мм. Препарат фиксировали вертикально одним концом к датчику силы, другим — к точке опоры, затем каждый препарат погружали в отдельный резервуар объемом 5 мл, в который подавался рабочий раствор. Состав раствора Кребса (в г/л): NaCl- 8 г; KCl- 0,3г; CaCl₂- 3 мл; MgSO₄ –0,5 мл; NaH₂PO₄- 0,04 г; Глюкоза – 2 г; Trizma HCl- 2.4-3.9 г/л; Trizma base- 0.25 г/л (Sigma). Раствор постоянно аэрировали карбогеном 95% O₂ и 5% CO₂, pH поддерживали в пределах 7,3-7,4.

В экспериментах использовали следующие вещества, которые добавлялись непосредственно в ванночки с помощью микропипетки:

- стойкий агонист β-адренорецепторов – изопротеренол;
- неспецифический блокатор β-адренорецепторов – обзидан;
- агонист α-адренорецепторов – норадреналин;
- донор NO – нитропрусида натрия (SNP).

При статистической обработке получали среднее значение измеряемой величины и стандартную ошибку среднего $M \pm SEM$. Достоверность различий проводили с применением t- критерия Стьюдента и U- критерия Манна-Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Исследование интенсивности образования оксида азота в тканях органов крыс, растущих в условиях гипокинезии и неограниченной двигательной активности*

Интенсивность образования оксида азота в тканях предсердий сердца крыс, растущих в условиях гипокинезии и неограниченной двигательной активности

При сопоставлении спектров ЭПР тканей предсердий сердца крыс разных возрастов было обнаружено, что количество NO у контрольных крыс с 56-ти по 81-суточный возраст существенно не изменяется (табл. 1). У 110-суточных крыс количество NO увеличивалась на 19,1 % ($p < 0,05$; рис. 1).

Анализ спектров ЭПР тканей предсердий сердца показал, что 30-суточная гипокинезия приводит к увеличению содержания NO на 134,0%, 60-суточная – на 27,3%, 90суточная – на 48,3% по сравнению с показателями крыс контрольной группы ($p < 0,05$; рис. 1).

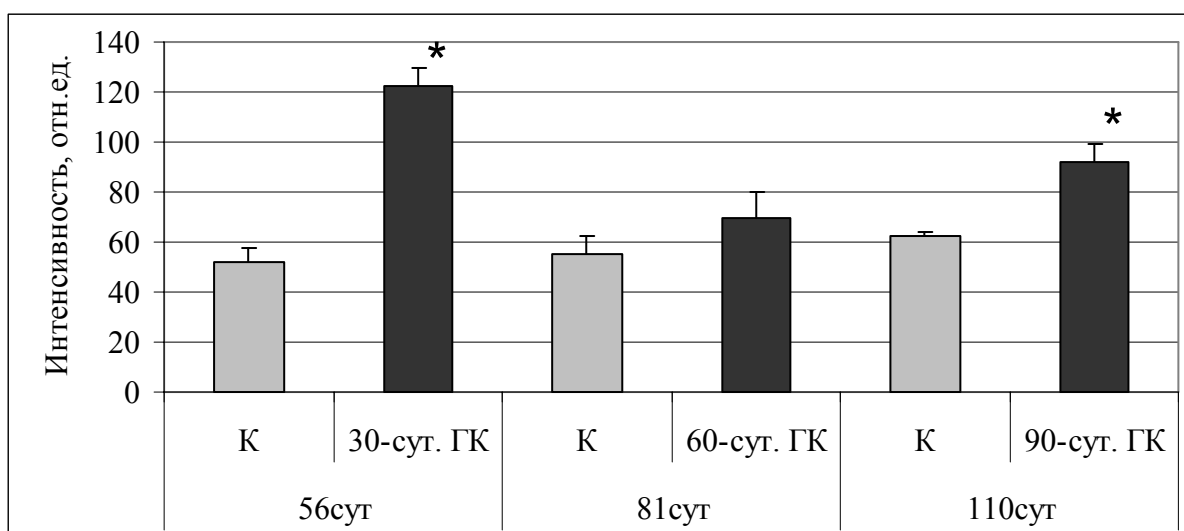


Рис. 1. Изменение количества NO-содержащего парамагнитного комплекса (ДЭТК) $2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$ в тканях предсердий сердца у контрольных (К) и гипокинезированных крыс (ГК). 30-сут.ГК – 30-суточная гипокинезия, 60-сут.ГК – 60-суточная гипокинезия, 90-сут.ГК – 90-суточная гипокинезия. 56сут – 56-суточные крысы, 81сут – 81-суточные крысы, 110сут – 110-суточные крысы. По оси ординат – интегральная интенсивность спектра ЭПР, отн.ед.

Примечание: * - достоверность по сравнению с показателями контрольной группы: $p < 0,05$.

*- данная серия экспериментов выполнена в лаборатории спиновой физики и спиновой химии федерального государственного бюджетного учреждения науки «Казанский физико-технический институт» КазНЦ РАН

Интенсивность образования оксида азота в тканях желудочков сердца крыс, растущих в условиях гипокинезии и неограниченной двигательной активности

Количество NO в тканях желудочков сердца у контрольных крыс с 56-ти по 81-суточный возраст, в отличие от предсердий, увеличивается на 30,0% ($p < 0,05$; рис. 2), у 81- и 110-суточных крыс количество NO не отличается (рис. 2).

Анализ спектров ЭПР тканей желудочков сердца показал, что 30-суточная гипокинезия приводит к увеличению содержания NO на 148,8%, 60-суточная – на 56,3%, 90-суточная – на 77,6% по сравнению с показателями крыс контрольной группы ($p < 0,05$; рис. 2).

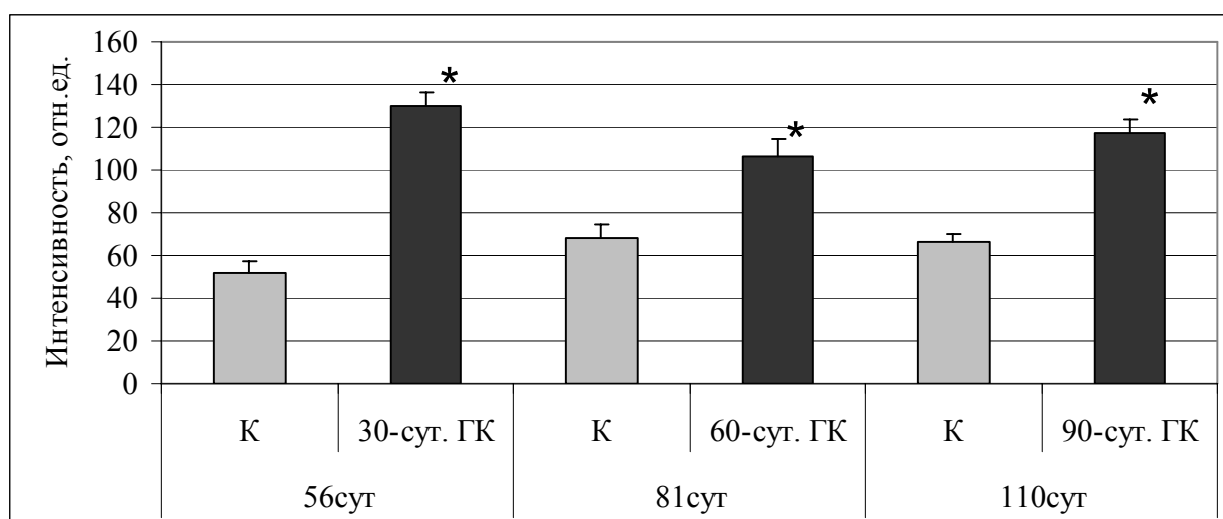


Рис. 2. Изменение количества NO-содержащего парамагнитного комплекса (ДЭТК) $2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$ в тканях желудочков сердца у контрольных (К) и гипокинезированных крыс (ГК). 30-сут.ГК – 30-суточная гипокинезия, 60-сут.ГК – 60-суточная гипокинезия, 90-сут.ГК – 90-суточная гипокинезия. 56сут – 56-суточные крысы, 81сут – 81-суточные крысы, 110сут – 110-суточные крысы, По оси ординат – интегральная интенсивность спектра ЭПР, отн.ед.

Примечание: * - достоверность по сравнению с показателями контрольной группы: $p < 0,05$.

Интенсивность образования оксида азота в тканях сердца крыс, растущих в условиях гипокинезии и неограниченной двигательной активности

Известно, что длительная гипокинезия вызывает существенные изменения в функционировании сердечно-сосудистой системы: снижается сила сердечных сокращений, наблюдается изменение сократительной функции миокарда, уменьшение масса сердца, обнаруживаются дегенеративные изменения: отдельные участки мышечной ткани перерождаются в соединительную ткань.

Измерения показывают, что продукция NO в тканях сердца контрольных крыс равна в среднем 1.5 нМ/(г*час). Обобщая результаты, полученные при анализе спектров ЭПР тканей предсердий и желудочков сердца, следует, что наименьшее количество NO в

тканях сердца образуется у 56-суточных крыс и достоверно повышается к 110-суточному возрасту на 26,4% ($p < 0,05$; рис. 3).

Гипокинезия приводит к увеличению содержания NO в тканях сердца крыс: 30-суточная ГК на 141,4%, 60-суточная на 41,8%, 90-суточная на 63,0% по сравнению с показателями крыс контрольной группы ($p < 0,05$; рис. 3). Таким образом, в процессе гипокинезии происходит значительное увеличение содержания NO в тканях сердца, особенно увеличение выражено в начале пубертатного периода.

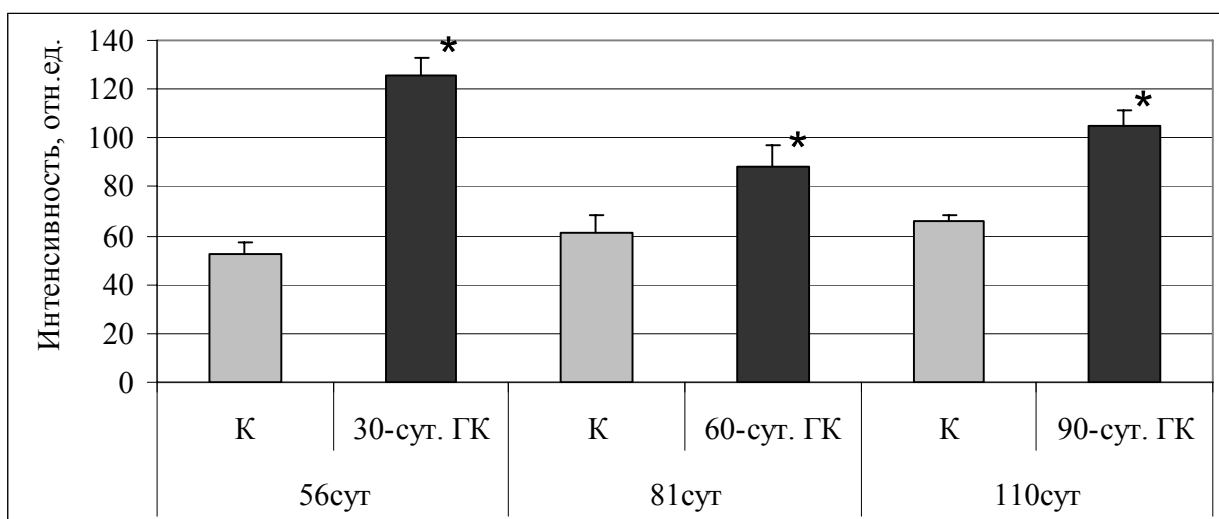


Рис. 3. Изменение количества NO-содержащего парамагнитного комплекса (ДЭТК) $2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$ в тканях сердца у контрольных (К) и гипокинезированных крыс (ГК). 30-сут.ГК – 30-суточная гипокинезия, 60-сут.ГК – 60-суточная гипокинезия, 90-сут.ГК – 90-суточная гипокинезия. 56сут – 56-суточные крысы, 81сут – 81-суточные крысы, 110сут – 110-суточные крысы. По оси ординат – интегральная интенсивность спектра ЭПР, отн.ед.

Примечание: * - достоверность по сравнению с показателями контрольной группы: $p < 0,05$.

Интенсивность образования оксида азота в тканях печени крыс, растущих в условиях гипокинезии и неограниченной двигательной активности

При физиологических исследованиях NO, как правило, изучается содержание этого компонента в печени. Измерения показывают, что продукция NO в тканях печени контрольных крыс равна в среднем 2.5 нМ/(г*час). При сопоставлении спектров ЭПР тканей печени контрольных крыс разных возрастов выявлено, что интенсивность сигналов ЭПР у крыс с 28-ми до 56-суточного возраста увеличивается на 85,1% ($p < 0,05$), к 81-суточному возрасту происходит уменьшение на 29,8%, а к 110-суточному возрасту вновь наблюдаем увеличение сигнала ЭПР на 47,9% (рис. 4).

Печень при гипокинезии играет весьма существенную роль в поддержании энергетических и пластических резервов в организме. Пребывание в условиях гипокинезии приводит к росту нагрузки на печень по «очищению» крови.

Гипокинезия приводит к увеличению содержания NO в тканях печени крыс: 30-

суточная на 90,2%, 60- суточная на 96,3 %, 90- суточная на 90,2 % по сравнению с показателями крыс контрольной группы ($p < 0,05$), при 7- суточной ГК обнаружена обратная картина: содержание NO уменьшилось на 9,1% (не достоверно; рис. 4).

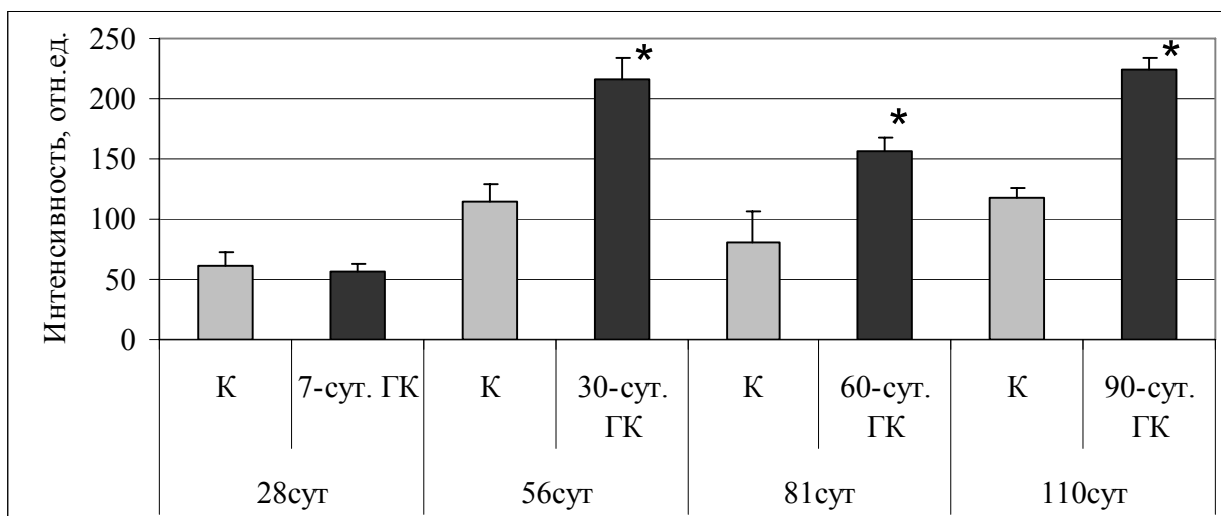


Рис. 4. Изменение количества NO-содержащего парамагнитного комплекса (ДЭТК) $2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$ в тканях печени у контрольных (К) и гипокинезированных крыс (ГК). 7-сут.ГК – 7- суточная гипокинезия, 30-сут.ГК – 30- суточная гипокинезия, 60-сут.ГК – 60- суточная гипокинезия, 90-сут.ГК – 90- суточная гипокинезия. 28сут – 28-суточные крысы, 56сут – 56-суточные крысы, 81сут – 81-суточные крысы, 110сут – 110-суточные крысы, По оси ординат – интегральная интенсивность спектра ЭПР, отн.ед.

Примечание: * - достоверность по сравнению с показателями контрольной группы: $p < 0,05$.

Интенсивность образования оксида азота в тканях спинного мозга крыс, растущих в условиях гипокинезии и неограниченной двигательной активности

При сопоставлении спектров ЭПР тканей спинного мозга контрольных крыс разных возрастов было выявлено, что максимальное количество NO содержится в тканях крыс 56- суточного возраста – $48,0 \pm 4,8$ отн.ед. К 110- суточному возрасту содержание NO в спинном мозге падает, наиболее интенсивно к 81-суточному возрасту (на 30,6%) и составляет $33,3 \pm 4,4$ отн.ед.; ($p < 0,05$; рис. 5).

Гипокинезия приводит к увеличению содержания NO в тканях спинного мозга 56-суточных крыс на 125%, у 81- суточных на 95,2 % ($p < 0,05$), у 110- суточных крыс обнаружена обратная картина: содержание NO уменьшилось на 24,1%, по сравнению с показателями крыс контрольной группы ($p < 0,05$; рис. 5).

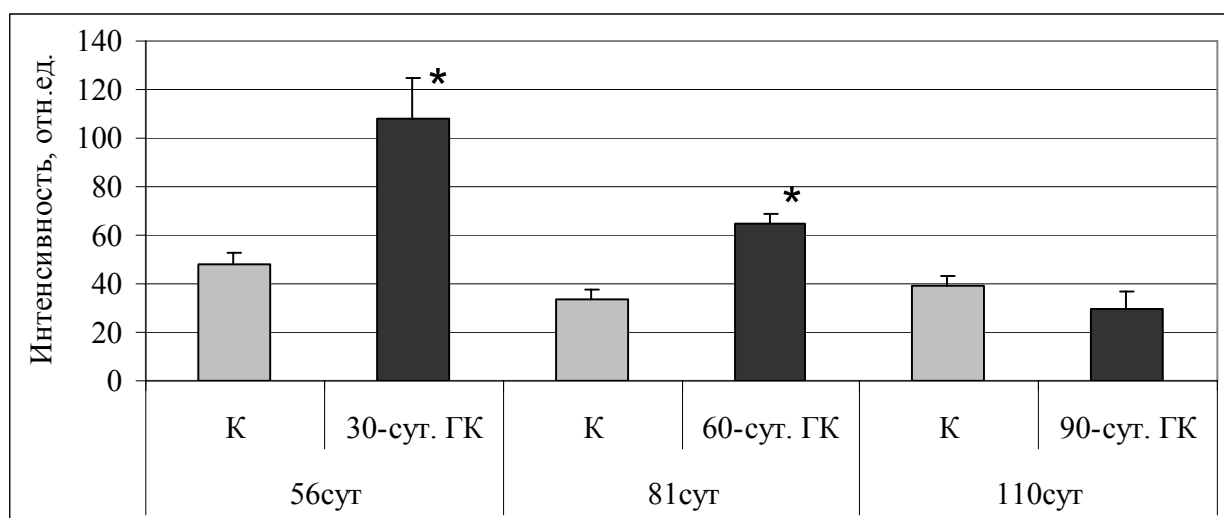


Рис. 5. Изменение количества NO-содержащего парамагнитного комплекса (ДЭТК) $2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$ в тканях спинного мозга у контрольных (К) и гипокинезированных крыс (ГК). 30-сут.ГК – 30-суточная гипокинезия, 60-сут.ГК – 60-суточная гипокинезия, 90-сут.ГК – 90-суточная гипокинезия. 56сут – 56-суточные крысы, 81сут – 81-суточные крысы, 110сут – 110-суточные крысы, По оси ординат – интегральная интенсивность спектра ЭПР, отн.ед.

Примечание: * - достоверность по сравнению с показателями контрольной группы: $p < 0,05$.

Интенсивность образования оксида азота в тканях мышц задних конечностей крыс, растущих в условиях гипокинезии и неограниченной двигательной активности

При сопоставлении спектров ЭПР тканей мышц задних конечностей контрольных крыс разных возрастов было обнаружено, что максимальное количество NO содержится в тканях крыс 56-суточного возраста – $40,1 \pm 3,0$ отн.ед.; у 110-суточных крыс количество NO уменьшается на 29,2% ($p < 0,05$; рис. 6).

Известно, что при гипокинезии задние конечности крыс недостаточно нагружены, и обнаруживаются значительные структурные изменения в мышцах в виде дистрофии (Оганов В.С., 1998). Длительное изменение объема мышечной деятельности приводит к уменьшению энерготрат, снижению биоэнергетики и интенсивности структурного метаболизма в мышцах, ослаблению тонизирующих импульсов из мышц, уменьшению нагрузки на костную систему (Коваленко Е. А., Гуровский Н. Н., 1980). При гипокинезии у собак, создаваемой инактивацией мышц, развивалась функциональная атрофия икроножной и подошвенной мышц, выражавшаяся в уменьшении силы, механической мощности и работоспособности (Козлова В.Т. и др., 1977).

Нами было обнаружено, что количество NO в мышцах задних конечностей крыс, растущих в условиях гипокинезии, остается без изменений (рис. 6).

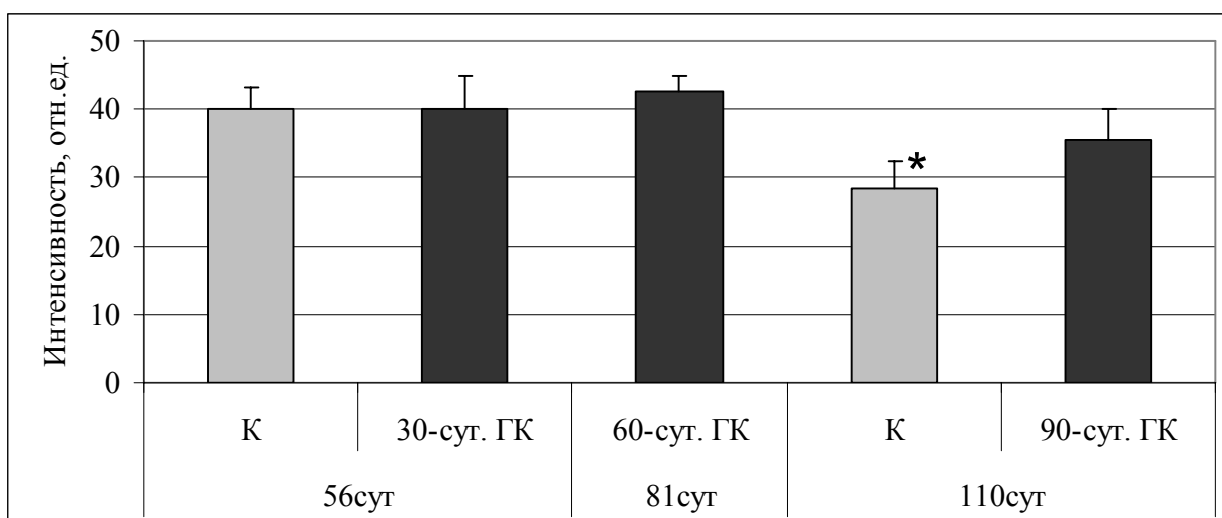


Рис. 6. Изменение количества NO-содержащего парамагнитного комплекса (ДЭТК)₂-Fe²⁺-NO в тканях мышц задних конечностей у контрольных (К) и гипокинезированных крыс (ГК). 30-сут.ГК – 30-суточная гипокинезия, 60-сут.ГК – 60-суточная гипокинезия, 90-сут.ГК – 90-суточная гипокинезия. 56сут – 56-суточные крысы, 81сут – 81-суточные крысы, 110сут – 110-суточные крысы, По оси ординат – интегральная интенсивность спектра ЭПР, отн.ед.

Примечание: * - достоверность по сравнению с показателем контрольной группы: p<0,05.

Следует отметить, что наибольшее содержание NO обнаруживается в тканях печени крыс; далее по убывающей – в тканях предсердий и желудочков сердца, в спинном мозге, и наименьшее содержание NO в тканях мышц задних конечностей. Возможно, это объясняется тем, что печень - мощный фильтр крови и все вещества, которые циркулируют с кровью, накапливаются в ней.

Наши результаты показывают, что при гипокинезии происходит значительное увеличение содержания NO в тканях всех исследованных нами органов, кроме скелетных мышц, наибольшее увеличение NO произошло в тканях предсердий и желудочков сердца. Таким образом, обнаруженное нами повышение интенсивности образования NO при гипокинезии позволяет сделать вывод о наличии тесных связей уровня NO в организме с режимом двигательной активности.

Исследование содержания NO на фоне неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME в тканях органов крыс, растущих в условиях гипокинезии

В организме существует два основных пути образования NO: ферментативный и неферментативный. Ферментативный синтез NO в клетках осуществляется семейством белков с общим названием «NO-синтаза», которые подразделяются на конститутивную (сNOS) и индуцибельную (iNOS) (Bredt D.S., 1992, Реутов В.П. и др., 2007). Под неферментативным путем понимают восстановление нитритов или нитратов до NO (нитритредуктазному механизму) (Брюне Б., 1988; Осипов А.Н. и др., 2007). Поэтому в следующей серии экспериментов была поставлена задача определения источников

повышения продукции NO при ГК. Для решения этих задач был использован неселективный блокатор NO-синтаз L-NAME. Исследования проводились на половозрелых крысах 110-суточного возраста, которые находились в условиях нарастающей 90-суточной ГК. Непосредственно перед экспериментом крысы были разделены на две группы: I группа – ГК; II группа - ГК с введением L-NAME.

Применение неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME при гипокинезии приводило к снижению содержания NO в тканях предсердий и желудочков сердца крыс на 69,4% и 67,5% соответственно ($p < 0,05$; рис. 7). В тканях печени применение L-NAME приводило к снижению содержания NO на 82,6% ($p < 0,05$; рис. 7).

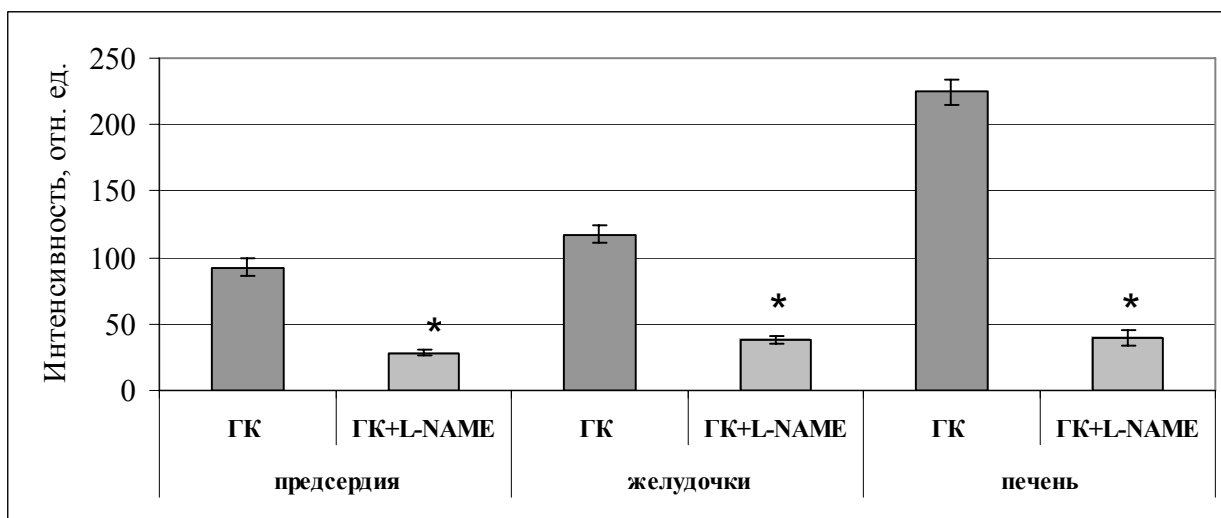


Рис. 7. Изменение количества NO-содержащего парамагнитного комплекса (ДЭТК) $2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$ в тканях печени, предсердий и желудочков сердца при гипокинезии на фоне неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME. По оси ординат – интегральная интенсивность спектра ЭПР, отн.ед.

Примечание: * - достоверность по сравнению с I экспериментальной группой: $p < 0,05$.

Исследование содержания NO на фоне селективного блокатора индуцибельной NO-синтазы аминоксантидина в тканях органов крыс, растущих в условиях гипокинезии

Ферментативный путь синтеза NO заключается в реакции окисления аминокислоты L-аргинина с одновременным синтезом другой аминокислоты L-цитруллина под влиянием ферментов семейства «NO-синтаз». Традиционно NO-синтазы подразделяют на cNOS и iNOS. Оксид азота, синтезируемый cNOS, обеспечивает адекватное кровоснабжение, влияет на активность нейронов, регулирует метаболизм клеток. Индуцибельная NOS (iNOS) появляется в клетках только после индукции их бактериальными эндотоксинами и некоторыми медиаторами воспаления (Марков Х.М., 2001; Рылов А.Д., 2005).

Поэтому в следующей серии экспериментов была поставлена задача определения типа NO-синтаз, которая являлась источником повышения продукции NO при ГК. Для

решения этих задач был использован селективный блокатор iNOS - амингуанидин (AG). Исследования проводились на половозрелых крысах 110- суточного возраста, которые находились в условиях нарастающей 90-суточной ГК. Непосредственно перед экспериментом крысы были разделены на две группы: I группа – ГК; II группа - ГК + AG.

Применение селективного блокатора индуцибельной NO-синтазы амингуанидина при гипокинезии приводило к снижению содержания NO в тканях предсердий и желудочков сердца крыс на 64,5% и 57,3% соответственно ($p < 0,05$; рис. 8). В тканях печени применение амингуанидина приводило к снижению содержания NO на 71,2% ($p < 0,05$; рис. 8). Таким образом, повышение содержания NO при гипокинезии связано с активацией индуцибельной NO-синтазы.

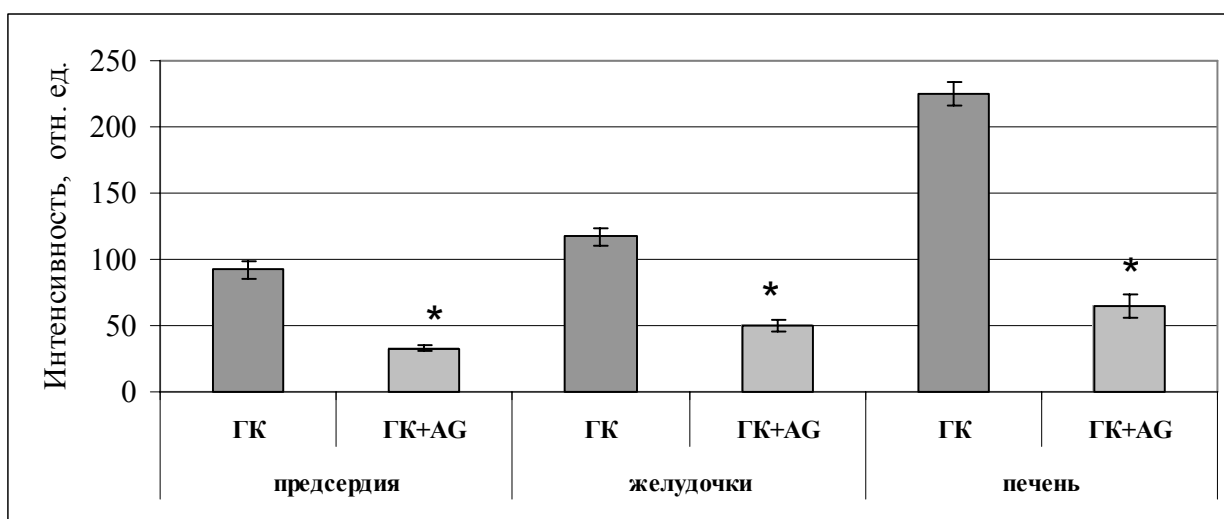


Рис. 8. Изменение количества NO-содержащего парамагнитного комплекса (ДЭТК) 2-Fe^{2+} -NO) в тканях печени, предсердий и желудочков сердца при гипокинезии на фоне амингуанидина. По оси ординат – интегральная интенсивность спектра ЭПР, отн.ед.

Примечание: * - достоверность по сравнению с I экспериментальной группой: $p < 0,05$.

3.5. Исследование влияния NO на сократимость миокарда крыс при гипокинезии

3.5.1. Влияние изопротеренола на показатели сокращения миокарда крыс, растущих в условиях гипокинезии при блокаде NO-синтаз

В наших опытах для исследования влияния различных доз агониста β -адренорецепторов на фоне блокады NO-синтаз добавляли изопротеренола в диапазоне концентраций 10^{-6} - 10^{-8} М и оценивали изменения сокращений полосок миокарда крыс контрольной и опытной групп (90- суточная гипокинезия).

В контрольной группе изопротеренон во всех исследуемых концентрациях вызывает повышение силы сокращения полосок миокарда желудочков. Максимальный сократительный эффект наблюдается при действии агониста в концентрации 10^{-6} М –

увеличение силы сокращения на $22,0 \pm 2,01\%$ ($p < 0,05$). Агонист в концентрации 10^{-8}M и 10^{-7}M увеличивают силу сокращения полосок миокарда желудочков на $14,5 \pm 4,78\%$ и $17,0 \pm 2,39\%$ соответственно ($p < 0,05$).

В опытной группе изопроterenол в концентрации 10^{-8}M , в отличие от контрольной группы, вызывает снижение сократимости полосок миокарда предсердий и желудочков на $19,6 \pm 1,8\%$ ($p < 0,05$; рис. 9 (А) и $13,9 \pm 2,3\%$ ($p < 0,05$; рис. 9 (Б). Агонист в концентрации 10^{-7}M увеличивает сократимость полосок миокарда предсердий и желудочков на $4,91 \pm 4,01\%$ и $3,53 \pm 1,36\%$. Концентрация 10^{-6}M вызывает увеличение силы сокращения полосок миокарда предсердий и желудочков на $27 \pm 3,1\%$ ($p < 0,05$; рис. 9 (А) и $30,5 \pm 2,4\%$ ($p < 0,05$; рис. 9 (Б) соответственно, как и в контрольной группе.

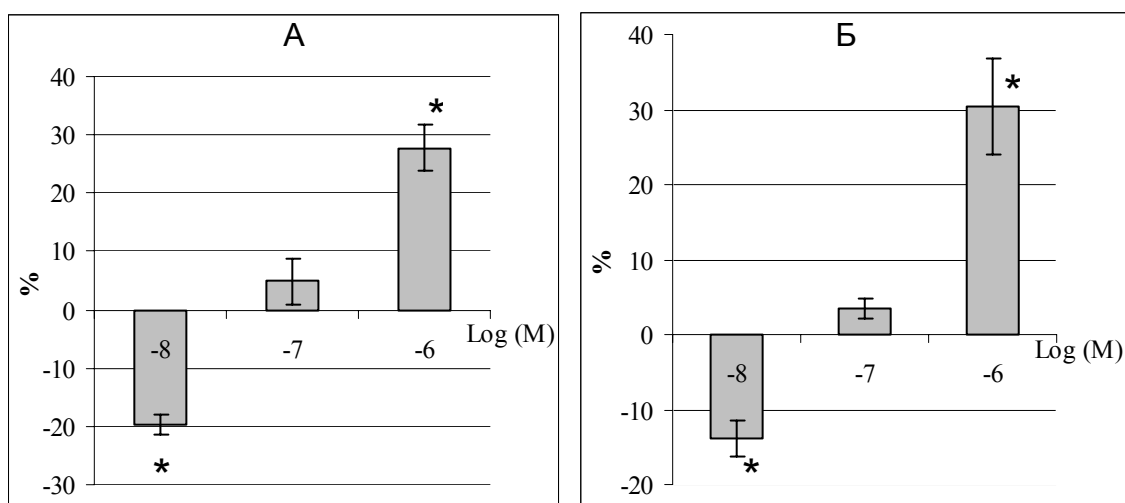


Рис. 9. Влияние изопроterenола на сократимость миокарда предсердий (А) и желудочков (Б) крыс опытной группы. Концентрации, М.

Примечание: * - достоверность по сравнению с исходным значением: $p < 0,05$.

Для определения влияния NO на сократимость миокарда предсердий и желудочков крыс, растущих в условиях гипокинезии, изучали влияние стойкого агониста β -адренорецепторов – изопроterenола в диапазоне концентраций 10^{-6} – 10^{-8}M на фоне действия неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME.

В контрольной группе на фоне блокады NO-синтаз L-NAME изопроterenол в концентрациях 10^{-8}M и 10^{-7}M вызывает незначительное уменьшение силы сокращения миокарда предсердий на $2,7 \pm 0,2\%$ и $2,8 \pm 0,3\%$, концентрация агониста 10^{-6}M снижает силу сокращения на $12,7 \pm 1,5\%$ ($p < 0,05$; рис. 10 (А)). Сила сокращения полосок миокарда желудочков при введении изопроterenола в концентрациях 10^{-8}M и 10^{-6}M оказывает приблизительно одинаковый эффект и уменьшается на $8,2 \pm 0,6\%$ и $7,3 \pm 0,8\%$. Максимальный ингибирующий эффект сократительной активности миокарда желудочков

наблюдается в концентрации агониста 10^{-7} М и составляет $12,3 \pm 1,7\%$ ($p < 0,05$; рис. 10 (Б), т.е. эффект изопротеренола не сохраняется.

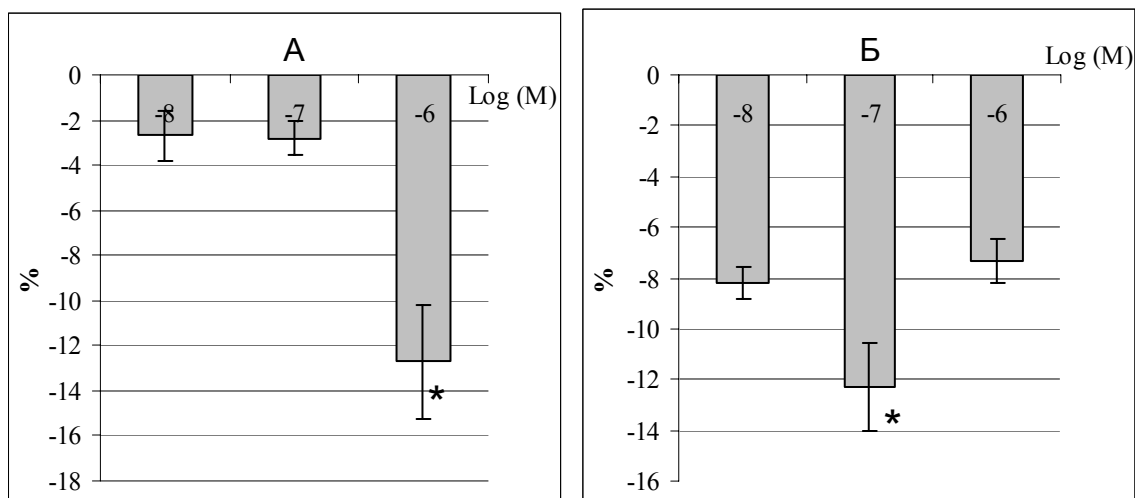


Рис. 10. Влияние изопротеренола на сократимость миокарда предсердий (А) и желудочков (Б) крыс контрольной группы на фоне блокады NO-синтаз L-NAME. Концентрации, М.

Примечание:* - достоверность по сравнению с исходным значением: $p < 0,05$.

В опытной группе на фоне введения ингибитора NO-синтазы L-NAME, малые дозы изопротеренола (10^{-8} М, 10^{-7} М) вызывают также снижение силы сокращения полосок миокарда предсердий на $13,3 \pm 2,3\%$ и $19,5 \pm 2,5\%$ ($p < 0,05$; рис. 11 (А); желудочков на $10,7 \pm 1,7\%$ и $16,7 \pm 1,8\%$ ($p < 0,05$; рис. 11 (Б)) соответственно. А концентрация агониста 10^{-6} М на фоне действия L-NAME привела к повышению силы сокращений миокарда предсердий и желудочков на $8,39 \pm 1,4\%$ и $13,7 \pm 1,6\%$ ($p < 0,05$; рис. 11 (Б), в отличие от контрольной группы.

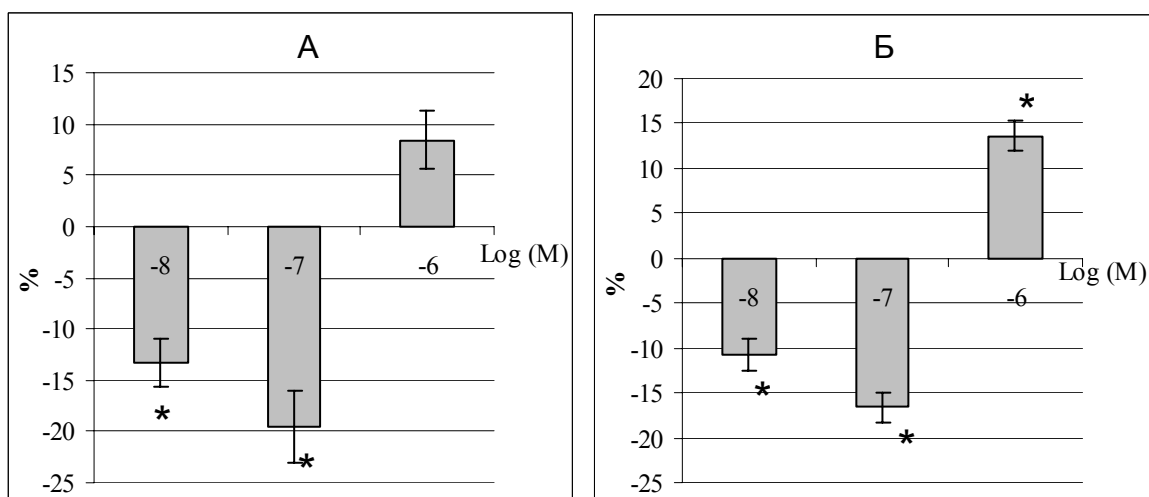


Рис. 11. Влияние изопротеренола на сократимость миокарда предсердий (А) и желудочков (Б) крыс опытной группы на фоне блокады NO-синтаз L-NAME. Концентрации, М.

Примечание:* - достоверность по сравнению с исходным значением: $p < 0,05$.

Таким образом, при блокаде NO-синтаз L-NAME положительный сократительный эффект вызванный изопротеренолом в концентрациях 10^{-8} М и 10^{-7} М не сохраняется. Положительный инотропный эффект на изопротеренол на фоне блокады NO-синтаз проявляется в концентрации 10^{-6} М. Следовательно, NO участвует в проявлении инотропного эффекта изопротеренола в зависимости от концентрации катехоламинов.

Влияние блокады β -АР на сократимость миокарда крыс, растущих в условиях гипокинезии при блокаде NO-синтаз

Следующим этапом исследований стало введение норадреналина (НА) в диапазоне концентраций 10^{-5} - 10^{-7} М на фоне блокады β -адренорецепторов и NO-синтаз L-NAME.

В контрольной группе сократимость полосок миокарда предсердий и желудочков при введении НА в концентрации 10^{-7} М на фоне блокады β -адренорецепторов и NO-синтаз L-NAME снижается до $49,3 \pm 5,6\%$ и $37,4 \pm 6,2\%$ ($p < 0,05$; рис. 12 (А и Б)). Дальнейшее повышение концентрации НА (10^{-6} М и 10^{-5} М) вызывает увеличение сократимости полосок миокарда предсердий на $8,1 \pm 1,9\%$ и $8,2 \pm 2,1\%$ (рис. 12 (А)). В желудочках концентрации НА 10^{-6} М и 10^{-5} М снижают сократимость полосок миокарда на $15,8 \pm 1,1\%$ и $10,5 \pm 3,1\%$ ($p < 0,05$; рис. 12 (Б)).

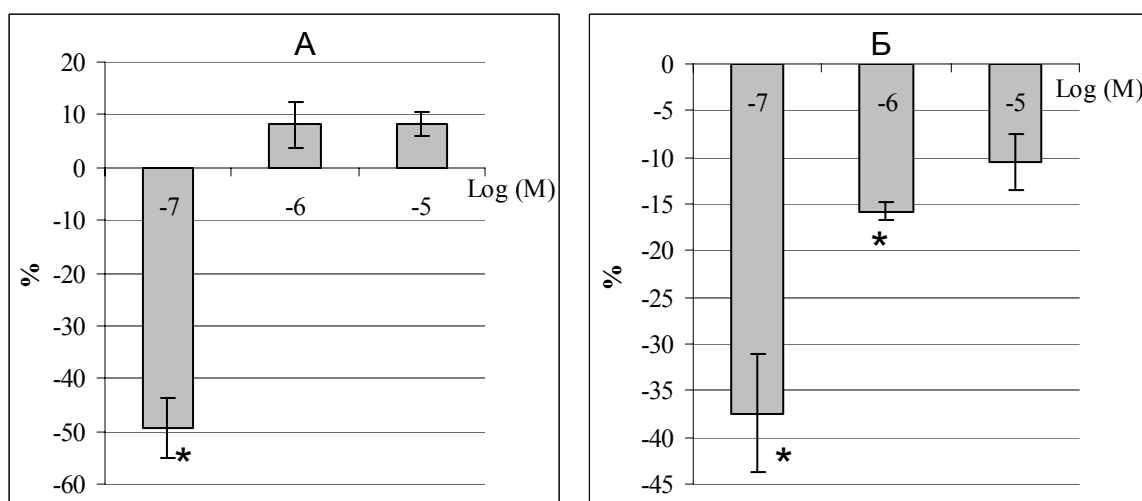


Рис. 12. Влияние на сократимость миокарда предсердий (А) и желудочков (Б) крыс контрольной группы при совместной блокаде NO-синтаз L-NAME и β -адренорецепторов. Концентрации, М.

Примечание:* - достоверность по сравнению с исходным значением: $p < 0,05$.

В опытной группе сократимость полосок миокарда предсердий и желудочков при введении НА в концентрации 10^{-7} М на фоне блокады β -адренорецепторов и NO-синтаз L-NAME снижается до $32,9 \pm 4,9\%$ и $20,5 \pm 6,2\%$ ($p < 0,05$; рис. 13 (А и Б)). Дальнейшее повышение концентрации НА (10^{-6} М) вызывает снижение сократимости полосок миокарда предсердий и желудочков на $27,9 \pm 6,5\%$ и $14,2 \pm 5,1\%$ ($p < 0,05$; рис. 13 (А и Б)). В

предсердиях концентрация изучаемого вещества 10^{-5} М увеличивает сократимость полосок миокарда на $6,1 \pm 0,8\%$ (рис. 13 (А)). Сократимость миокарда желудочков при введении норадреналина в концентрации 10^{-5} М снижается на $34,9 \pm 5,1\%$ ($p < 0,05$; рис. 13 (Б)).

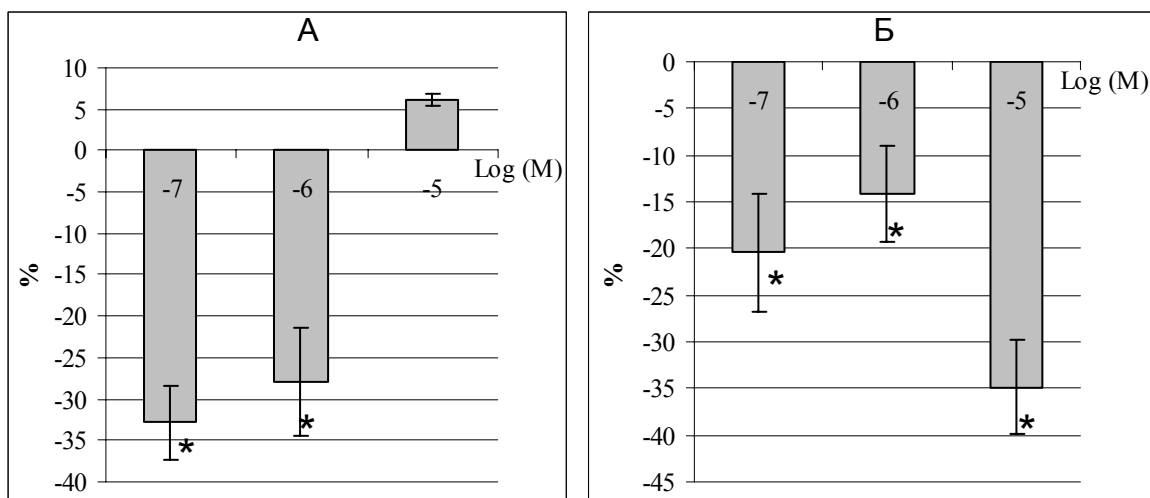


Рис. 13. Влияние норадреналина на сократимость миокарда предсердий (А) и желудочков (Б) крыс опытной группы при совместной блокаде NO-синтаз L-NAME и β -адренорецепторов. Концентрации, М.

Примечание:* - достоверность по сравнению с исходным значением: $p < 0,05$.

3.5.3. Влияние донора NO - нитропруссид натрия на показатели сокращения миокарда крыс, растущих в условиях гипокинезии при блокаде NO-синтаз

В данной серии исследований определяли реакцию сократительной функции миокарда предсердий и желудочков крыс контрольной и опытной групп на действие донора NO - нитропруссид натрия (SNP) в концентрации 10^{-6} М и на фоне действия блокатора NO-синтаз L-NAME.

В контрольной группе при введении SNP наблюдали уменьшение силы сокращения полосок миокарда предсердий на $12 \pm 1,3\%$ ($p < 0,05$; рис. 14 (А)) и увеличение силы сокращения полосок миокарда желудочков на $24,64 \pm 2,1\%$ ($p < 0,05$; рис. 14 (Б)). В опытной группе SNP вызывает снижение силы сокращения полосок предсердий на $10,9 \pm 0,7\%$ ($p < 0,05$; рис. 14 (А)), а сократимость полосок миокарда желудочков увеличилась на $22 \pm 2,3\%$ ($p < 0,05$; рис. 14 (Б)), от исходного. В опытной группе на фоне действия L-NAME сила сокращения полосок миокарда желудочков при добавлении SNP увеличивается на $54,1 \pm 3,5\%$ по сравнению с исходной ($p < 0,05$; рис. 14 (Б)). У крыс контрольной группы на фоне действия L-NAME сила сократимости миокарда желудочков увеличилась на $32,5\%$ ($p < 0,05$; рис. 14(Б)), а предсердий на 4% от исходного (рис. 14 (А)).

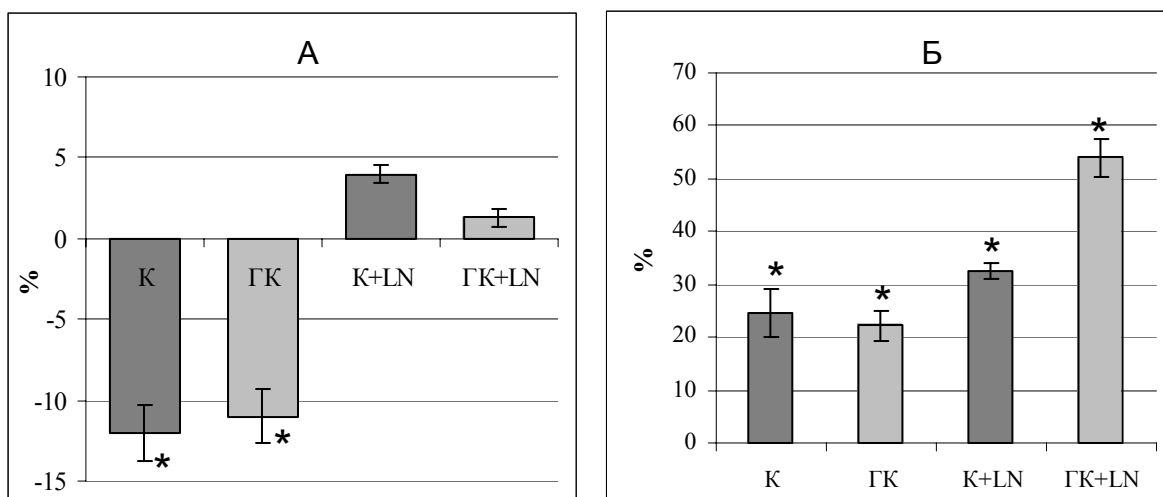


Рис. 14. Влияние SNP на сократимость миокарда предсердий (А) и желудочков (Б) крыс контрольной и опытной групп при блокаде NO-синтаз L-NAME.

Примечание:* - достоверность по сравнению с исходным значением: $p < 0,05$.

Следовательно, у крыс исследованных нами групп в ответ на освобождение NO донором SNP происходит увеличение силы сократимости миокарда желудочков и уменьшение силы сократимости миокарда предсердий. У крыс, растущих в условиях гипокинезии, положительный эффект экзогенного NO усиливается в 2,5 раз после ингибирования эндогенного образования NO.

ВЫВОДЫ

1. Наибольшее содержание NO у крыс раннего возраста (28- и 56- суточные) обнаружено в печени, с последующим убыванием в тканях предсердий и желудочков сердца, спинного мозга и скелетных мышц. Измерения показывают, что продукция NO в тканях сердца контрольных крыс равна в среднем 1.5 нМ/г*час), а для тканей печени – 2.5 нМ/(г*час).
2. Содержание NO до 110- суточного возраста в тканях печени возрастает, в тканях сердца наблюдается тенденция к увеличению, а в тканях спинного мозга и скелетных мышц изменений не обнаружено.
3. У крыс в пубертатный период (56- и 81- суточные возраста) в печени образование NO ниже, чем в остальных возрастных группах.
4. Гипокинезия вызывает увеличение содержания NO в тканях сердца, печени, спинного мозга, скелетных мышц, что наиболее выражено в тканях предсердий и желудочков сердца.
5. Реакция организма крыс на гипокинезию зависит от длительности ограничения двигательной активности. Наиболее выраженное увеличение содержания NO в тканях крыс обнаружено при 30- суточной гипокинезии.

6. Введение неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME при гипокинезии вызывает снижение содержания NO в тканях предсердий и желудочков сердца, печени.
7. Применение селективного блокатора iNOS аминугуанидина при гипокинезии приводило к снижению содержания NO в тканях печени, предсердий и желудочков сердца.
8. Повышение содержания NO, вызванное введением нитропруссид натрия приводит к уменьшению силы сокращений миокарда предсердий и увеличению силы сокращений миокарда желудочков в опытной и контрольной группах животных.
9. Стимуляция β -адренорецепторов на фоне блокады NO-синтаз в низких дозах снижает, а в высоких дозах повышает сократимость миокарда при гипокинезии. В контрольной группе животных изопроterenол во всех используемых дозах уменьшает силу сокращений миокарда предсердий и желудочков.
10. Гипокинезия не оказывает влияния на сократимость миокарда желудочков крыс в ответ на введение норадреналина на фоне блокады NO-синтаз и β -адренорецепторов.
11. Введение нитропруссид натрия на фоне блокады NO-синтаз приводит к усилению сократимости миокарда желудочков у опытных и контрольных животных и не оказывает влияния на инотропию миокарда предсердий.

Список работ опубликованных по теме диссертации

1. **Файзуллина Р.И.**, Гильмутдинова Р.И., Яфарова Г.Г., Андрианов В.В., Ситдииков Ф.Г., Гайнутдинов Х.Л. Изменение содержания оксида азота в разных тканях 56- и 81- суточных крыс, растущих в условиях гипокинезии. Вестник ТГГПУ, 2011, № 3 (25), С. 85-89.
2. Гайнутдинов Х.Л., **Файзуллина Р.И.**, Андрианов В.В., Гильмутдинова Р.И., Июдин В.С., Яфарова Г.Г., Ситдииков Ф.Г. Содержание оксида азота в тканях крыс увеличивается после 30-суточной гипокинезии: исследование методом ЭПР спектроскопии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2012, т.154, № 11, С. 590-592.
3. Гильмутдинова Р.И., Ситдииков Ф. Г., Чиглинцев В.М., **Файзуллина Р.И.** Особенности влияния гипокинезии на регуляцию деятельности сердца растущих крыс // Тез. XXI Съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова. – М. – Калуга, 2010. – С.143.
4. **Файзуллина Р.И.**, Гильмутдинова Р.И. Влияние гипокинезии на сердечно – сосудистую систему растущего организма // Тез. X юбилейной Всероссийской

- научной конференции с международным участием: Физиологические механизмы адаптации растущего организма: Материалы – Казань: ТГГПУ, 2010. – С.188-189.
5. Андрианов В.В., Гильмутдинова Р.И., Ильясов А.В., Июдин В.С., **Файзуллина Р.И.**, Чиглинцев В.М., Яфарова Г.Г., Ситдилов Ф. Г., Гайнутдинов Х.Л. ЭПР-измерения содержания оксида азота в тканях сердца крыс разных возрастов после адаптации к фармакологической десимпатизации и гипокинезии // Тез. Всероссийской конференции с международным участием, посвященная 85-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН: Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды. – Санкт-Петербург, 2010. – С.14.
 6. Гильмутдинова Р.И., Чиглинцев В.М., **Файзуллина Р.И.**, Яфарова Г.Г., Гайнутдинов Х.Л. Содержание оксида азота в тканях сердца крыс, растущих в условиях гипокинезии // Тез. Всероссийской конференции с международным участием, посвященная 85-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН: Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды. – Санкт-Петербург, 2010. – С.66-67.
 7. Gainutdinov Kh.L., Gilmutdinova R.I., **Faizullina R.I.**, Jafarova G.G., Sitdikov F.G., Andrianov V.V., Chiglintcev V.M., Iyudin V.S. Nitric oxide contents in heart and other tissues of rats growing in conditions of hypokinesia. 7-th National scientific practical conference with international participation “Reactive oxygen species, nitric oxide, antioxidants and human health”. September 14-18, 2011, Smolensk. Abstracts, p. 58-59.
 8. Гайнутдинов Х.Л., Ситдилов Ф.Г., Гильмутдинова Р.И., **Файзуллина Р.И.**, Андрианов В.В., Яфарова Г.Г., Июдин В.С., Ильясов А.В., Чиглинцев В.М. ЭПР исследование изменений содержания оксида азота в предсердиях и желудочках сердца и других тканях крыс, растущих в условиях гипокинезии. Всероссийская конференция с международным участием «Спектроскопия и томография электронного парамагнитного резонанса в химии и биологии». 6-10 сентября 2011 года г. Москва. Тезисы докладов. С. 67 (L-33).
 9. Андрианов В.В., Яфарова Г.Г., **Файзуллина Р.И.**, Гильмутдинова Р.И., Июдин В.С., Ситдилов Ф.Г., Гайнутдинов Х.Л. ЭПР исследование продукции оксида азота NO-синтазой в тканях сердца крыс при гипокинезии. Всероссийская конференция с международным участием «Спектроскопия и томография электронного парамагнитного резонанса в химии и биологии». 6-10 сентября 2011 года г. Москва. Тезисы докладов. С. 97 (P-24).

10. **Файзуллина Р.И.**, Гильмутдинова Р.И., Андрианов В. В., Яфарова Г. Г., Гайнутдинов Х.Л., Ситдиков Ф. Г. Влияние 60-суточной гипокинезии на содержание оксида азота в тканях предсердий и желудочков сердца, печени крыс // Материалы IV Всероссийской с международным участием конференции «Управление движением». Москва, 1-3 февраля 2012 г. – М., 2012. – С.182.
11. Гильмутдинова Р.И., **Файзуллина Р.И.**, Ситдиков Ф.Г. Роль оксида азота в регуляции сократимости миокарда крыс, растущих в условиях гипокинезии // Тезисы V Всероссийской с международным участием школы-конференции по физиологии кровообращения. Москва, 31 января – 3 февраля 2012 г.: Сборник тезисов. – М.: МАКС Пресс, 2012. – С.43.
12. **Файзуллина Р.И.**, Андрианов В.В., Яфарова Г.Г., Гильмутдинова Р.И., Июдин В.С., Ситдиков Ф.Г., Гайнутдинов Х.Л. Исследование вклада NO-синтаз в увеличение продукции оксида азота в тканях сердца и печени крыс при гипокинезии // Тезисы V Всероссийской с международным участием школы-конференции по физиологии кровообращения. Москва, 31 января – 3 февраля 2012 г.: Сборник тезисов. – М.: МАКС Пресс, 2012. – С.169.
13. **Файзуллина Р.И.**, Андрианов В.В., Яфарова Г.Г., Гильмутдинова Р.И., Июдин В.С., Ситдиков Ф.Г., Гайнутдинов Х.Л. Изменение содержания оксида азота в предсердиях и желудочках сердца и других тканях крыс, растущих в условиях гипокинезии // Тез. XI Всероссийской научной конференции с международным участием: Физиологические механизмы адаптации растущего организма: Материалы – Казань, 2012. – С. 147.
14. **Файзуллина Р.И.**, Гильмутдинова Р.И., Ситдиков Ф.Г. Влияние изопротеренола на сократимость миокарда гипокинезированных крыс при блокаде NO-синтаз // Тез. XI Всероссийской научной конференции с международным участием: Физиологические механизмы адаптации растущего организма: Материалы – Казань, 2012. – С. 148.
15. **Зарипова Р.И.**, Гильмутдинова Р.И., Андрианов В.В., Гайнутдинов Х.Л., Ситдиков Ф.Г., Яфарова Г.Г. Влияние гипокинезии на содержание оксида азота в тканях крыс // Сборник научных статей Всероссийской научно-практической конференции «Формирование физической культуры и культуры здоровья учащихся в условиях модернизации образования». – Елабуга: Изд-во К(П)ФУ филиал г. Елабуга, 7-8 ноября 2012. – С.96.

Выражаю благодарность
Х.Л. Гайнутдинову, В.В. Андрианову, Г.Г. Яфаровой, В.С. Июдину
за оказанное содействие при выполнении данного исследования