

Государственное ведущее высшее учебное учреждение  
«Белорусский государственный медицинский университет»

УДК 612.592.:616-001.18): 612.127.2 +616.153.915 -39

**ДОРОХИНА  
ЛЮБОВЬ ВАСИЛЬЕВНА**

**СОСТОЯНИЕ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ  
КРОВИ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ  
ЛИПИДОВ ПРИ ГИПОТЕРМИИ**

03.00.13 – физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Минск 2004

Работа выполнена в Гродненском государственном медицинском университете

Научный руководитель - доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой нормальной  
физиологии Гродненского государственного  
медицинского университета  
**Зинчук Виктор Владимирович**

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор  
кафедры нормальной физиологии Белорусского  
государственного медицинского университета  
**Переверзев Владимир Алексеевич**

доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой нормальной  
физиологии Гомельского государственного  
медицинского университета  
**Питкевич Эдуард Сергеевич**

Оппонирующая организация - Смоленская государственная медицинская  
академия Министерства здравоохранения  
Российской Федерации

Защита состоится «\_\_\_\_\_» июня 2004 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании совета  
по защите диссертаций Д 03.18.08 при Белорусском государственном  
медицинском университете (220116, г. Минск, просп. Дзержинского, 83;  
тел. 272-55-98).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Белорусского  
государственного медицинского университета

Автореферат разослан «\_\_\_\_» мая 2004 года

Ученый секретарь  
совета по защите диссертаций  
доктор медицинских наук, профессор

А.Д. Таганович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы диссертации.** Одной из важнейших задач современной физиологии и медицины является изучение процессов жизнедеятельности и регуляции функций организма в измененных температурных условиях и, в частности, при гипотермии [Гурин В.Н., 1986; Maeng M. et al., 2003]. Соотношение температур окружающей среды и тела человека таковы, что в ряде случаев он находится в потенциальной опасности охлаждения при действии экстремальных климатогеографических факторов и выполнении многих видов профессиональной деятельности [Paton В.С., 1991]. Особенно важно повышение резистентности организма к действию низкой температуры внешней среды, при реанимации жертв эксцидентальной (при несчастных случаях и морских катастрофах) гипотермии [Иванов К.П., 2002; Montero E.F., 2003]. Применение гипотермии в клинической практике при операциях на сердце и реконструктивных операциях на сосудах диктует необходимость комплексного изучения механизмов развития гипотермии и возможности коррекции возникающих нарушений [Ломиворотов В.Н., Караськов А.М., 1999; Караськов А.М. и др., 2001; Иванов С.П. и др., 2002; Knight D.A. et al., 2003; Han P.L. et al., 2003].

Известно, что в организме при многих патологических состояниях образование прооксидантов в тканях не уравнивается активностью внутри- и внеклеточных антиоксидантов, т.е. формируется определенный дисбаланс прооксидантно-антиоксидантного равновесия [Favier A., 1997; Horton J.W., 2003]. Одним из таких состояний является гипотермия, при развитии которой возникает активация перекисного окисления липидов и снижение антиоксидантной защиты организма, выраженность данных изменений зависит от глубины гипотермии [Алимова Е.К. и др., 1973; Василькова Т.В., Кухта В.К., 1988; Князькова Л.Г. и др., 2001]. Кислородзависимая природа образования свободных радикалов предполагает влияние кислородтранспортной функции крови на активность перекисного окисления липидов в биологических системах [Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1999; Zinchuk V.V., 1999]. Среди факторов, обеспечивающих поддержание прооксидантно-антиоксидантного равновесия, важное значение имеет монооксид азота (NO), который является, с одной стороны, важным мессенджером с широким спектром действия в организме [Moncada S., Higgs E.A., 1993; Гурин А.В., 1997; Реутов В.П. и др., 1998], а с другой стороны, как свободнорадикальная молекула, проявляет свойства прооксиданта либо гасителя радикалов [Thomas S.R. et al., 2003]. Прооксидантное действие NO связано с ее способностью образовывать пероксинитрит, являющийся мощным инициатором окисления липопротеидов, а антиоксидант-

ное – в гашении супероксид аниона [Pryor W.A., Squadrito G.L., 1995; Szabo C., 2003]. Известно, что монооксид азота участвует в регуляции обеспечения организма кислородом (регуляция сосудистого тонуса, взаимодействие с гемоглобином) и поддержании температурного баланса [Barros R.C., Branco L. G., 1998; Zinchuk V, Borisiuk M., 1998; Moncada S., 2000]. Наличие широкого разнообразия источников образования свободных радикалов обуславливает необходимость существования различных механизмов антиоксидантной защиты [Urso M.L., Clarkson P.M., 2003]. Повреждающее действие свободных радикалов необходимо анализировать не только в зависимости от количества их образования, но и с учетом активности различных компонентов антиоксидантной системы. Установлено, что при гипотермии отмечается существенное изменение активности L-аргинин-NO системы, наблюдается снижение конечных продуктов элиминации NO и нитрозогемоглобина [Steiner A.A. и др., 1998]. Вклад NO в поддержание прооксидантно-антиоксидантного баланса организма и транспорт O<sub>2</sub> кровью при различных температурных воздействиях требует дальнейшего изучения. Имеют важное значение также особенности взаимодействия гемоглобина с NO для формирования кислородтранспортной функции крови, в частности, сродства гемоглобина к кислороду [Kobayashi M. et al., 1994; Зинчук В.В., 2003; Reinsfelt V. et al., 2003]. Однако вопрос о роли кислородсвязующих свойств крови, L-аргинин-NO системы в механизмах генеза нарушений кислородтранспортной функции крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса организма при развитии гипотермии остается еще не выясненным.

**Связь работы с крупными научными программами.** Диссертация выполнена в рамках научно-исследовательской работы, проводимой на кафедре нормальной физиологии и ЦНИЛа Гродненского государственного медицинского университета, по темам: «Роль кислородсвязующих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма при гипотермии», которые являлись частью программы Фонда фундаментальных исследований РБ, государственный регистрационный № 19982193 и «Изучение патогенетических механизмов развития стресс-реакций, гипоксически-ишемического повреждения головного мозга и возникновения наркотической зависимости», государственный регистрационный № 20021620.

**Цель и задачи исследования.** Цель настоящей работы – оценить нарушения кислородтранспортной функции крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса при гипотермии, выяснить возможность их коррекции путем воздействия на L-аргинин-NO систему и сродство гемоглобина к кислороду.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Изучить характер изменений кислородсвязывающих свойств крови и состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса (содержание диеновых конъюгатов, оснований Шиффа,  $\alpha$ -токоферола, ретинола, активность каталазы) в крови и тканях (печени, почек, легких, миокарде) крыс при гипотермии.
2. Исследовать воздействие веществ, изменяющих состояние L-аргинин-NO системы, на кислородтранспортную функцию крови крыс при гипотермии.
3. Определить эффект препаратов, изменяющих состояние L-аргинин-NO системы, на прооксидантно-антиоксидантный баланс крови и тканей крыс, температуру тела при гипотермии.
4. Оценить влияние длительного предварительного введения карнитина хлорида и L-аргинина, а также их комбинации на состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса организма крыс в условиях гипотермии.
5. Выяснить возможность коррекции нарушений прооксидантно-антиоксидантного баланса и температуры тела крыс при гипотермии препаратами, модифицирующими сродство гемоглобина к кислороду.

**Объект и предмет исследования.** Объект исследования - беспородные белые крысы-самцы (220 - 250 г), кровь (плазма, эритроциты), гомогенаты тканей (печень, почки, легкие, миокард). Предмет исследования – кислородтранспортная функция крови, процессы перекисного окисления липидов, параметры антиоксидантной системы, ректальная температура.

**Гипотеза.** При гипотермии наблюдаются нарушения кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса организма, предварительно целенаправленно воздействуя на L-аргинин-NO систему, кислородтранспортную функцию крови, возможна коррекция нарушений возникающих при ее развитии.

**Методология и методы проведения исследования.** В работе использована экспериментальная модель гипотермии (рац. предложение Дорохиной Л.В., Дремзы И.К. № 1326 от 04.06.1996 г.). Применялись современные физиологические, биохимические, спектрофотометрические, флюориметрические, фармакологические методы исследования. Для модификации L-аргинин-NO системы использовали препараты: метиловый эфир N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина (L-NAME), L-аргинин, нитропруссид натрия, а также антиоксидант карнитина хлорид. Для повышения сродства гемоглобина к кислороду использовали цианат натрия, для уменьшения сродства гемоглобина к кислороду - йодобензоат натрия. Для изучения кислородтранспортной функции крови определяли: сродство гемоглобина к кислороду,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ , pH, бикарбонат плазмы ( $HCO_3^-$ ), общий  $CO_2$  плазмы ( $TCO_2$ ), стандартный дефицит буферных оснований (SBE), концентрацию стандартного бикарбоната (SBC), реальный дефицит или избыток оснований (ABE). Активность процессов перекисного

окисления липидов крови и тканей (печени, почек, легкого, миокарда) оценивали по содержанию в них диеновых конъюгатов, оснований Шиффа. Исследовали факторы антиоксидантной защиты: содержание  $\alpha$ -токоферола, ретинола, каталазную активность.

**Научная новизна и значимость полученных результатов.** Впервые результаты проводимых исследований позволили оценить роль кислородсвязующих свойств крови в нарушении прооксидантно-антиоксидантного баланса теплокровного организма на экспериментальной модели гипотермии. Проанализирована возможность коррекции возникающих нарушений для повышения резистентности организма к действию низкой температуры внешней среды. Предложен новый способ коррекции этих нарушений путем воздействия на кислородзависимые механизмы. Получены новые экспериментальные данные о влиянии препаратов модифицирующих L-аргинин-NO систему на кислородтранспортную функцию крови, сродство гемоглобина к кислороду и прооксидантно-антиоксидантный баланс при гипотермии. Установлено, что однократное внутривенное введение L-аргинина перед охлаждением организма улучшает кислородтранспортную функцию крови, уменьшает кислородную недостаточность и дисбаланс прооксидантно-антиоксидантного состояния, сопровождается достоверно менее значительным падением ректальной температуры. Установлено, что введение ингибитора NO-синтазы (метилового эфира N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина) или донора NO (нитропруссид натрия) не способствует уменьшению активированных при гипотермии процессов перекисидации липидов и повышению сниженных резервов антиоксидантной системы организма. Показано, что длительное предварительное введение L-аргинина оказывается не эффективным при гипотермии в сравнении с инфузией этого препарата непосредственно перед охлаждением организма. Установлен протекторный эффект длительного предварительного введения карнитина хлорида при гипотермии, выражающийся в ограничении процессов активации перекисного окисления липидов и меньшим истощением антиоксидантного потенциала.

Впервые изучено влияние препаратов модифицирующих сродство гемоглобина к кислороду на состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса при гипотермии. Обнаружено, что сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо (предварительным введением йодобензоата натрия) выгоден при глубокой гипотермии и проявляется предупреждением нарушений прооксидантно-антиоксидантного баланса и менее выраженным снижением температуры тела. Повышение сродства гемоглобина к кислороду, вызванное длительным введением цианата натрия, сопровождается большим снижением ректальной температуры и усугубляет прооксидантно-антиоксидантный дисбаланс при развитии гипотермии.

**Практическая значимость полученных результатов.** Полученные данные о роли L-аргинин- NO системы и средства гемоглобина к кислороду при охлаждении гомеотермного организма обосновывают применение препаратов, влияющих на процессы синтеза монооксида азота, положения кривой диссоциации оксигемоглобина с целью нормализации кислородного обеспечения и поддержания прооксидантно-антиоксидантного баланса. Экспериментальные данные могут быть использованы при разработке способов и путей направленной коррекции метаболических нарушений при гипотермии, позволят повысить резистентность организма в условиях действия низкой температуры внешней среды, улучшить качество медикаментозной терапии гипотермических состояний, служить в качестве функциональных тестов степени тяжести гипотермии (рац. предложение N 1345 от 30.12.98). Полученные результаты в перспективе могут быть полезными для решения проблем современной кардиохирургии, использующей гипотермические воздействия на организм, а также при реабилитации пострадавших от переохлаждения.

Основные результаты исследований и выводы, сделанные на их основе, используются в учебном процессе на кафедре нормальной физиологии ГрГМУ, кафедре физиологии человека и животных биологического факультета БГУ, кафедре зоологии и физиологии человека и животных Гродненского университета им. Я. Купалы.

**Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. Гипотермия (снижении температуры тела у крыс до 22,5–23,7 °С) сопровождается нарушением кислородтранспортной функции крови, развитием гипоксии и метаболического ацидоза, значительным повышением средства гемоглобина к кислороду; активацией процессов пероксидации, выражающейся в повышении уровня диеновых конъюгат и оснований Шиффа, уменьшением резервов антиоксидантной системы (снижение содержания  $\alpha$ -токоферола, ретинола и активности каталазы).
2. Изменение активности L-аргинин-NO системы влияет на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние при гипотермии. Однократное внутривенное введение животным L-аргинина перед охлаждением организма сопровождается меньшим снижением ректальной температуры, уменьшением кислородной недостаточности и меньшим сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина влево, выраженным ингибирующим эффектом в отношении свободнорадикального окисления липидов, наименьшим снижением резервов антиоксидантной системы. Введение ингибитора NO-синтазы или нитропруссид натрия не вызывает улучшения кислородтранспортной функции крови и прооксидантно-антиоксидантного состояния при гипотермии.

3. Усиление антиоксидантной системы путем длительного предварительного введения карнитина хлорида крысам при их охлаждении способствует поддержанию прооксидантно-антиоксидантного баланса организма, а именно: оказывает выраженный ингибирующий эффект в отношении перекисного окисления липидов, способствует меньшему снижению уровня  $\alpha$ -токоферола, ретинола, активности каталазы. Совместное введение с L-аргинином не потенцирует данные эффекты карнитина.
4. При гипотермии предварительное смещение кривой диссоциации оксигемоглобина вправо сопровождается меньшим дисбалансом прооксидантно-антиоксидантного состояния, а при сдвиге влево наблюдается активация перекисного окисления липидов и уменьшение резервов антиоксидантной системы. Уменьшение сродства гемоглобина к кислороду является более благоприятным при гипотермии, за счет оптимизации потока кислорода в ткани, уменьшения гипоксии и процессов перекисидации.

**Личный вклад соискателя.** Работа выполнена на кафедре нормальной физиологии и исследовательской группе по изучению кислородтранспортной функции крови ЦНИЛ ГрГМУ. Автор принимал непосредственное участие в выполнении работы по всем разделам диссертации, включая разработку модели гипотермии, организацию и проведение экспериментальных исследований, а также систематизацию и статистическую обработку полученных данных, обобщение и анализ результатов работы.

**Апробация результатов диссертации.** Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на: IX и X съездах Белорусского общества физиологов (Минск, 1996, 2001); VIII международном симпозиуме "Эколого-физиологические проблемы адаптации" (Москва, 1998); Международной конференции, посвященной 40-летию ГГМИ (Гродно, 1998); Международной научно-практической конференции "Роль монооксида азота в процессах жизнедеятельности" (Минск, 1998); III, IV, V Белорусском симпозиуме гепатологов (Гродно, 1998, 2000, 2002); Международной научно-практической конференции "Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности" (Минск, 1999); Международной конференции "Микроциркуляция и гемореология" (Ярославль, 1999); конференции «Биологическая активность и транспорт лекарственных веществ» (Гродно, 1999); II Российском конгрессе по патофизиологии (Москва, 2000); Международной научно-практической конференции молодых учёных «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины – 2000» (Минск, 2000); Научной конференции «Аминокислоты и их производные в биологии и медицине» (Гродно, 2001); II-ой международной научно-практической конференции «Дисфункция эндотелия» (Витебск, 2002); Юбилейной конференции, по-

священной 50-летию со дня основания Института Физиологии НАНБ (Минск, 2003).

**Опубликованность результатов.** По теме диссертации опубликовано 24 научные работы: из них 5 статей в журналах (2 – в дальнем зарубежье) и 7 статей в сборниках, 12 тезисов докладов на международных и республиканских съездах, конференциях, симпозиумах. В 12 работах соискатель является первым автором, 4 работы выполнены единолично. Общее количество опубликованных материалов составляет 72 страницы.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста. Состоит из введения, общей характеристики работы, основной части, включающей шесть глав (обзор литературы, материал и методы исследования, трех глав собственных исследований, анализ и обсуждение полученных данных), заключения, списка использованных источников, приложения. Работа иллюстрирована 23 рисунками и содержит 26 таблиц. Список литературы включает 343 источника (148 на русском и 195 на иностранном языках).

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материал и методы исследования**

Опыты выполнены на 162 взрослых (массой 220-250 г) крысах-самцах. До постановки эксперимента все животные адаптировались к условиям вивария в течение 4 недель и содержались в стандартных условиях при соблюдении светового и температурного режима [Лоскутова З.Ф., 1980]. С учетом суточных колебаний многих физиологических параметров все эксперименты проводились в 8-12 часов утра. Глубокая гипотермия моделировалась в течение 90 минут путем контактного охлаждения крыс, предварительно наркотизированных нембуталом, 50 мг/кг, внутривенно (в/в). Животных охлаждали в специальном устройстве, которое представляет собой металлический бокс с пятью ячейками, по размерам соответствующими телу крысы, и соединенным с ним прибором Coolnics circulator (СТЕ-22А, «Hitachi»). Циркуляция воды осуществлялась в замкнутом контуре, без контакта с телом животного, заданная температура воды ( $T=17^{\circ}\text{C}$ ) поддерживалась автоматически (рац. предложение Дорохиной Л.В., Дремзы И.К. № 1326 от 04.06.1996 г.).

Для модификации активности L-аргинин-NO системы крысам вводились: метиловый эфир N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина (L-NAME) фирмы "Sigma", L-аргинин фирмы "Sigma", нитропруссид натрия (НПН) фирмы "Merck". Было сформировано 6 экспериментальных групп: 1-я - контрольная, внутривенно (в/в) вводился 1мл 0,9%-ного раствора NaCl (n=10). Животных остальных групп подвергали холодовому воздействию, предварительно им в/в вводили в объеме 1 мл следующие препараты: 2-я группа - 0,9%-ный NaCl (n=11), 3-я -

L-NAME (30 мг/кг, n=12), 4-я - НПН (40 мкг/кг/мин, в течение 10 минут, n=8), 5-ая - последовательно вводили L-аргинин в дозе 300 мг/кг и L-NAME 30 мг/кг (n=10), 6-ая - L-аргинин (300 мг/кг, n=7).

Для изучения эффекта длительного предварительного введения L-аргинина и усиления антиоксидантной защиты было сформировано 7 экспериментальных групп: 1-я – нормотермический контроль, в/б вводился 1 мл 0,9%-ного NaCl в течение 10 дней (n=6); 2-я группа – крысы, получавшие в/б 1 мл 0,9%-ного NaCl 10 дней и подвергнутые охлаждению (гипотермический контроль, n=8); 3-я – крысы, получавшие 4 недели в/б карнитина хлорид 200 мг/кг (n=9); 4-я - крысы, получавшие в/б карнитина хлорид в той же дозе и подвергнутые охлаждению (n=9); 5-я – крысы, получавшие 10 дней в/б L-аргинин в дозе 500 мг/кг (n=9); 6-я - крысы, получавшие в/б L-аргинин 500 мг/кг и подвергнутые гипотермии (n=8); 7-я – крысы, которым совместно в/б вводились карнитин (200 мг/кг, 4 недели) и L-аргинин (500 мг/кг, 10 дней) и также подвергавшиеся охлаждению (n=9).

Для повышения сродства крови к кислороду (СГК) использовался цианат натрия, 0,5 % водный раствор которого добавляли в пищевой рацион животных *ad libitum* в течение 8-ми недель [Woodson R.D. et al., 1973; Baer R.W., 1992], а для уменьшения СГК - в/б вводился йодобензоат натрия в дозе 900,0 мг/кг в течение 3-х недель [Teisseire V.P. et al., 1979]. Было сформировано 6 экспериментальных групп: 1-ая – контрольная, в/б вводился 1мл 0,9%-ного раствора NaCl (n=7); 2-ая – гипотермический контроль (n=8); 3-я - крысы, получавшие цианат натрия (n=7), 4-ая - получавшие цианат натрия и подвергнутые охлаждению (n=11), 5-ая - получавшие йодобензоат натрия (n=5), 6-ая - крысы, получавшие йодобензоат натрия и подвергнутые холодовому воздействию (n=8).

Выполнялись измерения газовых параметров крови и кислотно-основного состояния на микрогазоанализаторе ABL-330 "Radiometer". СГК, оцениваемое по показателю  $p50$  ( $pO_2$  крови, соответствующее 50% насыщению ее кислородом) методом "смешивания" в модификации [Борисюк М.В. и др., 1991].  $p50_{\text{станд}}$  измеряли при стандартных условиях ( $pH = 7,4$ ;  $pCO_2 = 40$  мм рт. ст. и  $T = 37$  °C), а  $p50_{\text{реал}}$  - рассчитывали для реальных значений этих факторов. Измеряли продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) - диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ) и факторы антиоксидантной системы (АС) -  $\alpha$ -токоферол, ретинол, каталаза в крови (плазме и эритроцитах) и тканях (печени, почках, легких, миокарде). Содержание ДК оценивали по интенсивности УФ-поглощения при длине волны 233 нм конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов на спектрофотометре СФ-46 [Костюк В.А. и др., 1984]. Уровень ОШ определяли по интенсивности флуоресценции хлороформного экстракта при длинах волн возбуждения и эмиссии

344 нм и 440 нм соответственно на спектрофлуориметре F-4010 фирмы "Hitachi" [Fletcher B.L. et al., 1973]. Содержание  $\alpha$ -токоферола измеряли по интенсивности флуоресценции гексанового экстракта при длинах волн возбуждения и флуоресценции 294 и 325 нм соответственно [Черняускене Р.Ч. и др., 1984] на спектрофлуориметре F-4010 "Hitachi". Уровень ретинола определяли по интенсивности флуоресценции гексанового экстракта при длинах волн возбуждения и эмиссии 335 и 460 нм соответственно [Черняускене Р.Ч. и др., 1984], на спектрофлуориметре F-4010 "Hitachi". Каталазную активность в биологическом материале оценивали по методу Королюка М.А. и др. [1988], в модификации Корнейчика В.Н. и др. [1992] на спектрофотометре СФ-46. Все полученные данные обработаны общепринятым методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверными считали различия при значениях  $p < 0,05$ .

### **Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние у крыс при гипотермии в условиях модификации L-аргинин-NO системы**

Результаты проведенных исследований показывают, что гипотермия (снижение температуры на 13,4–16,3°C) сопровождается существенными нарушениями кислородтранспортной функции крови (КТФ) крови. Характер изменений  $pO_2$  и показателей кислотно-основного состояния при холодном воздействии отражают развитие метаболического ацидоза и возникновение гипоксии. В контроле гипотермии происходит значительное снижение рН ( $7,148 \pm 0,012$  против  $7,312 \pm 0,013$  в нормотермическом контроле,  $p < 0,001$ ),  $pO_{2\text{реал}}$  составил  $8,1 \pm 0,3$  мм рт. ст. ( $p < 0,001$ ), значение  $p50_{\text{реал}}$  уменьшается с  $30,0 \pm 0,69$  до  $17,5 \pm 0,6$  мм рт. ст. ( $p < 0,001$ ). Результаты экспериментов свидетельствуют о защитном эффекте L-аргинина при однократном внутривенном введении непосредственно перед охлаждением, связанном с изменениями КТФ крови и ослаблением возникающей гипоксии. В группе «L-аргинин + гипотермия»  $pH_{\text{реал}}$  составил  $7,381 \pm 0,020$ ;  $pO_{2\text{реал}}$  повысился на 18,52% и составил  $9,6 \pm 0,19$  мм рт. ст. ( $p < 0,01$ ); наблюдалось меньшее снижение  $p50_{\text{реал}}$  ( $21,0 \pm 0,35$  мм рт. ст.,  $p < 0,001$ ) относительно группы гипотермии, что сопровождалось менее выраженным сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) влево. Положения реальных КДО при модификации L-аргинин-NO системы представлены на рис. 1.

В условиях модификации L-аргинин-NO системы степень снижения ректальной температуры крыс при их охлаждении была наиболее выражена при ингибировании NO-синтазы ( $21,7 \pm 0,29^\circ\text{C}$ ) и менее - при инфузии L-аргинина ( $24,5 \pm 0,34^\circ\text{C}$ ,  $p < 0,01$ ). У крыс контрольной группы температура снизилась до  $22,5 \pm 0,39^\circ\text{C}$ . Развитие гипотермии сопровождается существен-

ным повышением содержания ДК в эритроцитах и плазме крыс группы «гипотермия», количество ДК достоверно повышалось по сравнению с нормотермическим контролем на 67,6% ( $p<0,001$ ) и 57,4% ( $p<0,001$ ) соответственно. Схожая динамика в этой группе наблюдается при определении уровня ОШ крови. Увеличение ОШ в эритроцитарной массе на 22,7% ( $p<0,001$ ), а в плазме крови на 47,4% ( $p<0,001$ ) по сравнению с нормотермией.

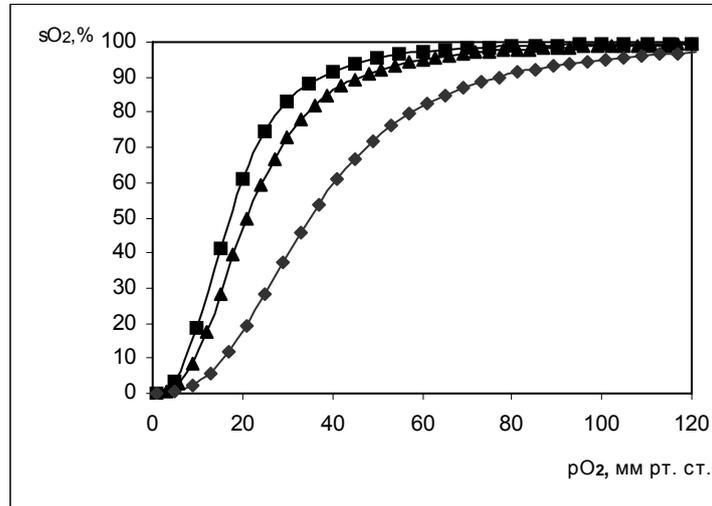


Рис. 1. Кривые диссоциации оксигемоглобина у крыс при реальных значениях рН, рСО<sub>2</sub> и температуры в контроле (◆), 0,9% NaCl + гипотермия (■) и L-аргинин + гипотермия (▲).

В группе «L-аргинин + гипотермия» происходило снижение уровня ДК: в эритроцитах – на 29,8% ( $p<0,001$ ) относительно гипотермического контроля, в плазме это снижение менее выраженное – на 4,7% и не достигает уровня значимости. При инфузии L-аргинина количество ОШ в эритроцитах также ниже гипотермического контроля на 6,9%, в плазме – на 23,1% ( $p<0,01$ ). В то время как предварительное введение ингибитора NO-синтазы L-NAME при охлаждении сопровождается повышением уровня ДК и ОШ в эритроцитах – на 29,0% и 29,2% соответственно ( $p<0,001$ ). В группах «НПН + гипотермия» и «L-аргинин + L-NAME + гипотермия» количество ОШ оставалось на уровне гипотермического контроля. Таким образом, применение L-аргинина при гипотермии снижает процессы ПОЛ крови.

Охлаждение гомойотермного организма сопровождается повышением ДК во всех исследуемых тканях группы «гипотермия»: в печени - на 48,3% ( $p<0,001$ ), в почках - на 36,5% ( $p<0,001$ ), в ткани легких – на 47,3% ( $p<0,001$ ), в миокарде - на 75,8% ( $p<0,001$ ) относительно нормотермического контроля. В группе «L-аргинин+гипотермия» изменения ДК в тканях были наименее выраженные. В гомогенате печени этой группы наблюдалось достоверное его снижение на 19,6% ( $p<0,001$ ), в легочной ткани на 22,8% ( $p<0,01$ ), в миокарде на 26% ( $p<0,05$ ) относительно группы «гипотермия». На основании вышеиз-

ложенного можно заключить, что применение L-аргинина при гипотермии ограничивает повышение ДК в тканях. Содержание ОШ в гомогенатах исследуемых тканей при глубокой гипотермии достоверно возрастает: в печени - на 43,7% ( $p < 0,001$ ); в почках - на 31,2% ( $p < 0,001$ ); в ткани легких - на 24,8% ( $p < 0,001$ ); в миокарде - на 37,3% ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы. Количество ОШ группы «L-аргинин+гипотермия» в ткани печени были ниже группы «гипотермия» на 19,3% ( $p < 0,001$ ), в гомогенате почек - на 16,5% ( $p < 0,001$ ), в ткани легких - на 11,8% ( $p < 0,01$ ), а в миокарде - на 13,9% ( $p < 0,001$ ). Анализ приведенных данных позволяет заключить, что однократное внутривенное введение L-аргинина непосредственно перед холодовым воздействием оказывает выраженный ингибирующий эффект в отношении свободнорадикального окисления липидов крови и исследуемых тканей.

Количество  $\alpha$ -токоферола в эритроцитах и плазме группы «гипотермия» уменьшалось соответственно на 6,8% ( $p < 0,05$ ) и 11,2% ( $p < 0,001$ ), ретинола - на 20,1% ( $p < 0,01$ ) и 18,2% ( $p < 0,001$ ) относительно контрольных животных. В этих условиях активность каталазы эритроцитов снижалась еще более значительно - на 33,7% ( $p < 0,001$ ). Менее выраженное снижение АС крови наблюдается у животных, получавших L-аргинин. В этой группе содержание  $\alpha$ -токоферола в плазме было выше гипотермического контроля на 11,0% ( $p < 0,01$ ), ретинола в эритроцитах и плазме соответственно выше на 10,5% ( $p < 0,05$ ) и 18,5% ( $p < 0,05$ ), а активность каталазы эритроцитов - на 32,3% ( $p < 0,001$ ). Содержание  $\alpha$ -токоферола в печени, почках, легких, миокарде у крыс группы «гипотермия» уменьшалось соответственно на 9,9% ( $p < 0,001$ ), 33,9% ( $p < 0,001$ ), 10,2% ( $p < 0,01$ ), 27,1% ( $p < 0,001$ ) относительно контрольных крыс. При введении L-аргинина наблюдается наименее выраженное снижение количества  $\alpha$ -токоферола.

В группе «гипотермия» содержание ретинола в печени, почках, легких, миокарде уменьшалось соответственно на 42,1% ( $p < 0,001$ ), 26,6% ( $p < 0,01$ ), 22,3% ( $p < 0,001$ ), 28,2% ( $p < 0,001$ ). В гомогенате печени у группы «L-аргинин+гипотермия» происходило достоверное повышение его уровня относительно гипотермического контроля до  $40,19 \pm 1,03$  мкМ/г ткани ( $p < 0,001$ ), а в группе получавшей блокатор NO-синтазы (L-NAME) снижение до  $20,99 \pm 0,97$  мкМ/г ткани ( $p < 0,001$ ). В почках только у крыс, получавших L-аргинин, происходило повышение количества ретинола на 23,3% ( $p < 0,05$ ). В остальных экспериментальных группах показатель оставался на уровне контроля гипотермии. В легочной ткани инфузия L-аргинина тоже сопровождается достоверным повышением его количества относительно группы «гипотермия» на 11,7% ( $p < 0,05$ ). В сердечной мышце введение препаратов изменяющих активность L-аргинин-NO системы не сказывается на содержании ретинола. Снижение активности каталазы у группы «гипотермия» носило более выраженный ха-

рактар по сравнению с другими системами антиоксидантной защиты: в печени - на 41,5% ( $p < 0,001$ ), в почках - 26,9% ( $p < 0,001$ ), в легких - 31,9% ( $p < 0,001$ ), миокарде - 40,3% ( $p < 0,001$ ) относительно контроля. Следует отметить, что введение L-аргинина сопровождалось менее выраженным снижением показателя в сравнении с другими группами, получавшими препараты влияющие на L-аргинин-NO систему. Таким образом, результаты проведенных нами исследований показывают, что инфузия L-аргинина при гипотермии препятствует истощению АС крови и тканей, в то время как введение ингибитора NO-синтазы L-NAME или донора NO (НПН) не вызывает усиления антиоксидантной защиты. Наблюдаемое в наших экспериментах антиоксидантное действие L-аргинина, может быть обусловлено как меньшим снижением рН и уменьшением ацидоза, так и образуемым в физиологических количествах NO и последующим его взаимодействием с  $O_2^-$  и  $H_2O_2$  в условиях, при которых его главным эффектом является устранение этих радикалов [Gaborouy J. et al., 1993; Hogg N., Kalyanaraman B., 1999]. В то время как введение НПН вызывает образование избыточного количества NO, который при наличии больших количеств супероксиданиона образует мощный окислитель – пероксинитрит [Pryor W.A., Squadrito G.L., 1995; Lee C.I. et al., 2000], что приводит к усилению процессов пероксидации.

### **Влияние длительного предварительного введения L-аргинина и карнитина хлорида на интенсивность свободнорадикального окисления липидов крови и тканей у крыс при гипотермии**

Учитывая происходящие при гипотермии нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса и кислородзависимую природу ПОЛ, представлялся значимым дальнейший поиск путей нормализации происходящих нарушений и средств повышения холодовой устойчивости, так как количество используемых в медицинской практике лекарственных препаратов, оказывающих антиоксидантное действие невелико. Защита от повреждения активными формами кислорода направлена в первую очередь на утилизацию жирнокислотных и липидных гидропероксидов, как продуктов ПОЛ, стимулирующих свободнорадикальное окисление по принципу цепной реакции. Поэтому нами в условиях глубокой гипотермии на фоне длительного предварительного введения L-аргинина и карнитина хлорида изучены изменения температуры тела, показателей ПОЛ и АС крови и тканей крыс. В контроле гипотермии ректальная температура снижалась с  $37,9 \pm 0,05$  °C до  $23,0 \pm 0,25$  °C. При длительном предварительном введении карнитина хлорида у животных при охлаждении также наблюдалось значительное уменьшение температуры до  $23,9 \pm 0,16$  °C ( $\Delta T$  составило  $14,1 \pm 0,16$  °C), однако это снижение было достоверно меньшим ( $p < 0,01$ ) контроля гипотермии, где  $\Delta T$  -  $14,9 \pm 0,24$  °C. У крыс при дли-

тельном предварительном введении L-аргинина, на фоне гипотермии ректальная температура была на уровне  $23,1 \pm 0,16$  °C и не отличалась от контроля гипотермии. Доказано, что длительное предварительное введение карнитина хлорида оказывает выраженное ингибирующее действие на ПОЛ и приводит к наименьшему истощению антиоксидантной защиты при охлаждении организма. Содержание ДК в эритроцитах и плазме при применении карнитина было соответственно ниже на 19,7% ( $p < 0,001$ ) и 12,5% ( $p < 0,05$ ) контроля гипотермии. Количество ДК крови в группе «L-аргинин + гипотермия» достоверно не отличается от контроля гипотермии. Комбинация L-аргинина и карнитина хлорида при гипотермии сопровождается изменениями идентичными изолированному введению карнитина. В группе «карнитин + гипотермия» изменения ДК в исследуемых тканях были наименее выраженные, так в печени – только на 15,4% ( $p < 0,05$ ), в почках - на 22,7% ( $p < 0,01$ ), в ткани легких – на 25,8% ( $p < 0,05$ ), в миокарде - на 19,5% ( $p < 0,05$ ) ниже нормотермического контроля. Схожая, но менее выраженная динамика наблюдается при определении ОШ крови и тканей. Следует отметить, что длительное предварительное введение карнитина хлорида сопровождалось менее выраженным снижением показателей АС крови, в частности, количество  $\alpha$ -токоферола в эритроцитах было достоверно выше контроля гипотермии на 12,3% ( $p < 0,001$ ). Снижение каталазной активности эритроцитов происходило только на 9,0% ( $p < 0,01$ ); в плазме количество  $\alpha$ -токоферола ниже нормотермического контроля на 11,8% ( $p < 0,001$ ). В исследуемых тканях предварительное введение карнитина сопровождалось при охлаждении менее выраженным снижением количества  $\alpha$ -токоферола. Так в этой группе, в гомогенате почек его уровень достоверно выше контроля гипотермии на 21,3% ( $p < 0,001$ ); в ткани легкого на 7,3% ( $p < 0,05$ ); в миокарде – на 18,5% ( $p < 0,01$ ). В группе крыс «карнитин + гипотермия» каталазная активность была выше гипотермического контроля: в печени на 31,1% ( $p < 0,001$ ); в почках - на 8,9% ( $p < 0,001$ ); в гомогенате легких – на 14,5% ( $p < 0,001$ ); миокарде – на 46,9% ( $p < 0,01$ ). Ослабленная АС не способна осуществлять полноценную защиту от свободнорадикальной атаки при гипотермии, поэтому становится очевидной целесообразность усиления антиоксидантного потенциала, который может быть опосредован введением карнитина. Отсутствие защитного эффекта при хроническом введении L-аргинина (10 дней), возможно, объясняется быстрым снижением концентрации экзогенного L-аргинина вследствие его ускоренной утилизации.

### **Прооксидантно-антиоксидантное равновесие организма крыс при модификации сродства гемоглобина к кислороду в условиях гипотермии**

В наших исследованиях мы оценили влияние целенаправленного изменения SGK на прооксидантно-антиоксидантный баланс при гипотермии. Ис-

следование КТФ смешанной венозной крови показывает, что введение экспериментальным крысам цианата натрия приводит к уменьшению показателя  $p50$  и сдвигу КДО влево ( $p50_{\text{станд}}$   $21,6 \pm 0,44$  мм рт. ст.,  $p < 0,001$ ). У крыс, получавших йодобензоат натрия происходит сдвиг КДО вправо и повышение  $p50_{\text{станд}}$  до  $36,6 \pm 0,59$  мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ).  $\Delta p50$  между этими группами составляет  $15,0 \pm 0,15$  мм рт. ст. С учетом изменения  $pH$ ,  $pCO_2$  и температуры определяли  $p50_{\text{реал}}$ . Так в контроле гипотермии  $p50_{\text{реал}}$  равнялся  $20,6 \pm 0,47$  мм рт. ст., в то время как у крыс, получавших цианат натрия при гипотермии  $p50_{\text{реал}}$  составил  $12,7 \pm 0,57$  мм рт. ст. ( $p < 0,001$ ), а у крыс, получавших йодобензоат натрия -  $23,7 \pm 0,59$  мм рт. ст. ( $p < 0,01$ ). Положения реальных КДО при модификации SGK с помощью цианата натрия и йодобензоата натрия приведены на рис. 2.

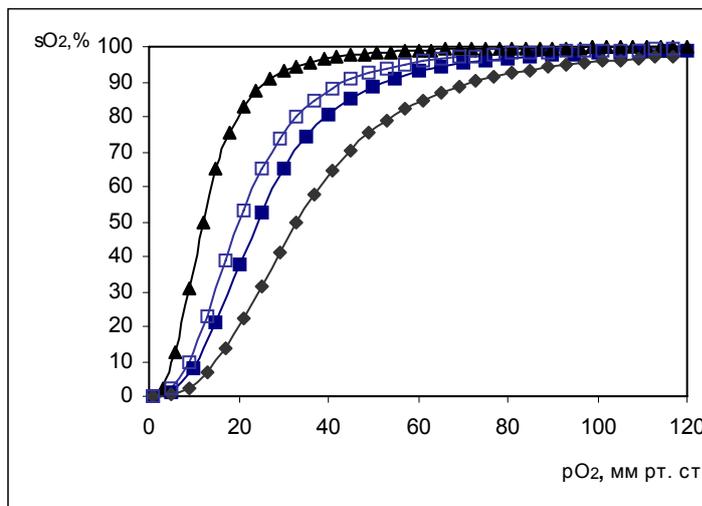


Рис. 2. Кривые диссоциации оксигемоглобина у крыс при реальных значениях  $pH$ ,  $pCO_2$  и температуры в контроле (♦), 0,9% NaCl + гипотермия (□), цианат натрия + гипотермия (▲), йодобензоат натрия + гипотермия (■).

Действие низкой температуры приводило у крыс к развитию метаболического ацидоза на фоне умеренно выраженной гиперкапнии и к значительному уменьшению значений реального и стандартного избытка оснований. Значение  $pH_{\text{реал}}$  у крыс, получавших цианат натрия и подвергнутых гипотермии -  $7,331 \pm 0,005$ , в сравнении с животными, получавшими йодобензоат натрия и подвергнутых охлаждению -  $7,377 \pm 0,008$  ( $p < 0,001$ ). Развитие гипотермии у крыс с повышенным SGK, сопровождалось более выраженным метаболическим ацидозом, а с пониженным SGK – наименьшими нарушениями кислотно-основного состояния. В ходе исследований выявлено, что максимальное снижение ректальной температуры через 90 минут от момента холодового воздействия отмечалось в группе крыс с повышенным SGK  $23,0 \pm 0,13$  °C (в сравнении с контролем гипотермии  $23,7 \pm 0,24$ ,  $p < 0,05$ ), а наименьшее снижение - с пониженным SGK (до  $25,5 \pm 0,25$  °C;  $p < 0,001$ ).

Динамика изменений показателей ПОЛ в крови и тканях (печени, почек, легких, миокарда) экспериментальных групп крыс свидетельствует, что пред-

варительное в/б введение йодобензоата натрия ограничивает процессы пероксидации, активация которых наблюдается при острой глубокой гипотермии. В наших экспериментах содержание первичных (ДК) и конечных (ОШ) продуктов ПОЛ в эритроцитах и тканях группы «йодобензоат натрия+гипотермия» была достоверно ниже контроля гипотермии. Охлаждение животных на фоне введения цианата натрия характеризуется более существенным повышением активности ПОЛ. Следует отметить, что введение цианата натрия или йодобензоата натрия без гипотермии не приводит к изменению содержания продуктов ПОЛ. Наибольшее истощение АС отмечается у животных с повышенным СГК, а его меньшее снижение у крыс с пониженным СГК. Так количество  $\alpha$ -токоферола в эритроцитах, печени, почках, легких, миокарде у животных, получавших цианат натрия, уменьшалось соответственно на 24,8% ( $p < 0,001$ ), 20,96% ( $p < 0,001$ ), 23,12% ( $p < 0,001$ ), 14,1% ( $p < 0,001$ ), 34,9% ( $p < 0,001$ ) относительно контрольных животных. Этот же показатель в эритроцитах и тканях у крыс, получавших йодобензоат натрия, уменьшался соответственно на 8,7% ( $p < 0,05$ ), 9,8% ( $p < 0,05$ ), 9,5% ( $p < 0,01$ ), 10,6% ( $p < 0,01$ ), 28,5% ( $p < 0,001$ ) относительно контроля. Схожая динамика наблюдалась при определении изменений количества ретинола и активности каталазы. В целом в наших экспериментах, в условиях действия холода на организм, при смещении КДО влево наблюдается сдвиг прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону активации ПОЛ и ослабления АС, а при сдвиге вправо – противоположная динамика данных показателей. Проведенные исследования указывают на важную роль СГК в обеспечении устойчивости теплокровных животных к действию низкой температуры внешней среды.

Полученные результаты позволяют уточнить представления о значимости нарушений КТФ крови и свободнорадикальных процессов в крови и тканях при развитии гипотермии. Коррекция этих нарушений, возникающих при гипотермии, может быть достигнута воздействием на L-аргинин-NO систему с помощью однократного введения L-аргинина, модификацией СГК (предварительным сдвигом КДО вправо йодобензоатом натрия), а также длительным предварительным введением карнитина хлорида.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При снижении температуры тела у крыс до 22,5–23,7 °С наблюдаются нарушения кислородсвязующих свойств крови, характеризующиеся развитием метаболического ацидоза, гипоксии, выраженным увеличением сродства гемоглобина к кислороду (величина  $p50_{\text{реал}}$  уменьшалась на 49,4%,  $p < 0,001$ ), а также повышением уровня диеновых конъюгатов и оснований Шиффа, снижением содержания  $\alpha$ -токоферола, ретинола и активности ка-

талазы в крови и гомогенатах исследуемых тканей (печени, почек, легких, миокарда) [3, 13, 14, 17, 21, 24].

2. Однократное внутривенное введение животным L-аргинина непосредственно перед гипотермией уменьшает сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево (значение  $p50_{\text{реал}}$  выше контрольного на 20,0%,  $p < 0,001$ ), нарушения кислотно-основного состояния, понижение температуры тела (на 2,0°C меньше гипотермического контроля,  $p < 0,01$ ). Введение ингибитора NO-синтазы (метилловый эфир N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина) или нитропруссид натрия не влияет на температуру тела и кислородтранспортную функцию крови животных при гипотермии [1, 3, 4, 8, 9, 12, 15, 21, 24].
3. Однократное предварительное введение L-аргинина крысам в условиях гипотермии уменьшает активность процессов свободнорадикального окисления липидов, препятствует снижению уровня  $\alpha$ -токоферола, ретинола и уменьшению активности каталазы крови и тканей (печени, почек, легких, миокарда). Введение ингибитора NO-синтазы или нитропруссид натрия не приводит к улучшению нарушенного прооксидантно-антиоксидантного баланса организма при гипотермии [2, 4, 5, 6, 8, 16, 18, 21, 24].
4. Длительное внутрибрюшинное введение карнитина хлорида (28 дней) ограничивает процессы перекисного окисления липидов и препятствует снижению факторов антиоксидантной системы при гипотермии. Хроническое введение L-аргинина (10 дней) не влияет на прооксидантно-антиоксидантный баланс в условиях охлаждения организма [7, 11, 22, 23].
5. Уменьшение сродства гемоглобина к кислороду путем введения йодобензоата натрия предупреждает при гипотермии увеличение содержания продуктов перекисного окисления липидов в крови и тканях крыс, характеризуется достоверно меньшим понижением ректальной температуры. Предварительное смещение кривой диссоциации оксигемоглобина влево, в результате введения цианата натрия, вызывает сдвиг прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону активации процессов пероксидации и ослабления антиоксидантной защиты при гипотермии крыс [10, 17, 19, 20, 21].
6. Развитие гипотермии у гомойотермного организма сопровождается нарушениями кислородтранспортной функции крови и активацией процессов свободнорадикального окисления липидов в крови и тканях. Предлагаемые методы направленного воздействия на сродство гемоглобина к кислороду, L-аргинин-NO систему и прооксидантно-антиоксидантный баланс (при использовании соответственно йодобензоата натрия, L-аргинина, карнитина хлорида) определяют новые подходы для коррекции выявленных нарушений и повышения резистентности организма к гипотермии [6, 8, 9, 10, 18, 21].

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

## Статьи

1. Дорохина Л.В., Дремза И.К., Зинчук В.В. Кислородтранспортная функция крови при гипотермии в условиях коррекции L-аргинин-NO пути // Мат. междунар. науч. конфер. «Роль монооксида азота в процессах жизнедеятельности». - Минск, 1998. - С. 109-111.
2. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Прооксидантно-антиоксидантное равновесие при глубоком охлаждении в условиях коррекции L-аргинин-NO системы // Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности: сб. ст. / Под общ. ред. В.Н. Гурина и др. - Минск: Полибиг, 1999. - С. 145-146.
3. Зинчук В.В., Дорохина Л.В., Дремза И.К. Кислородтранспортная функция крови при различных температурных воздействиях в условиях коррекции L-аргинин-NO пути // Мат. междунар. конфер. «Микроциркуляция и гемореология». - Ярославль, 1999. - С. 102-104.
4. Зинчук В.В., Дорохина Л.В. Возможные механизмы действия L-аргинин-NO системы // Сб. науч. трудов «Биологическая активность и транспорт лекарственных веществ». - Гродно, 1999. - С.80-85.
5. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Прооксидантно-антиоксидантное равновесие у крыс при гипотермии в условиях коррекции L-аргинин-NO системы // Весці НАН РБ / сер. Біял.нав. - 2000. - № 4. - С. 87-90.
6. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Участие кислородтранспортной функции крови в формировании прооксидантно-антиоксидантного состояния организма в условиях гипотермии // Сб. науч. трудов «Биохимические аспекты жизнедеятельности биологических систем». – Гродно, 2000. – С. 99-102.
7. Дорохина Л.В. Влияние L-аргинина и карнитина на интенсивность свободнорадикального окисления липидов крови при гипотермии // В сб.: «Дисфункция эндотелия»: Мат. II-ой междунар. научно-практ. конфер. – Витебск: ВГМУ, 2002. - С. 90-93.
8. Dorokhina L.V., Zinchuk V.V. Oxygen transport function of blood and free-radical processes during hypothermia // Medico-Biological problems of thermophysiology. / Ed. by V.N. Gourine. - Minsk, 2002. - P. 36-39.
9. Zinchuk V.V., Dorokhina L.V. Blood oxygen transport in rats under hypothermia combined with a modification of L-arginine-NO pathway // Nitric oxide: Biol. and Chemistry. - 2002. - Vol. 6, № 1. - P. 29-34.
10. Zinchuk V.V., Dorokhina L.V., Maltsev A.N. Prooxidant-antioxidant balance in rats under hypothermia combined with modified hemoglobin-oxygen affinity // J. Thermal Biol. - 2002. - Vol. 27. - P. 345-352.

11. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Значение L-аргинин-NO системы в механизмах развития гипотермии // Журн. Гродненского мед. универ. – 2004. - № 1. – С. 6-9.
12. Зинчук В.В., Дорохина Л.В. Роль механизмов транспорта кислорода в генезе нарушений, возникающих при действии низкой температуры // Журн. Гродненского мед. универ. – 2004. - № 2 - С. 8-11.

### Тезисы

13. Дорохина Л.В., Дремза И.К. Моделирование управляемой гипотермии у лабораторных наркотизированных животных // Тез. докл. IX съезда Белорусского общества физиологов. – Минск, 1996. – С. 25.
14. Жмакин И.К., Зинчук В.В., Балбатун О.А., Дремза И.К., Дорохина Л.В. Некоторые аспекты кислородтранспортной функции крови при различных кислородных режимах // Мат. VIII международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М., 1998. – С. 136-137.
15. Дорохина Л.В., Дремза И.К., Ходосовский М.Н. Особенности гемического компонента системы транспорта кислорода у крыс при гипотермии в условиях коррекции L-аргинин-NO пути // Мат. междунар. науч. конфер., посв. 40-летию ГГМИ. - Гродно, 1998. - Ч. 1. - С. 66-67.
16. Дорохина Л.В., Корнейчик В.Н., Зинчук В.В. Эффект оксида азота на показатели прооксидантно-антиоксидантного равновесия в печени крыс при гипотермии // «Актуальные вопросы гепатологии»: мат. III Белорусского симпозиума гепатологов. - Гродно, 1998. - С.28.
17. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Прооксидантно-антиоксидантный баланс печени в условиях коррекции сродства гемоглобина к кислороду при гипотермии // «Актуальные вопросы гепатологии»: мат. IV Белорусского симпозиума гепатологов. - Гродно, 2000. - С. 162.
18. Зинчук В.В., Дорохина Л.В., Жмакин И.К., Дремза И.К., Ходосовский М.Н. Участие кислородтранспортной функции крови в прооксидантно-антиоксидантном равновесии у крыс при гипотермии в условиях коррекции L-аргинин-NO системы // Тез. докл. II Российского конгресса по патофизиол. “Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы”. – М., 2000. - С. 187-188.
19. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Прооксидантно-антиоксидантное состояние организма в условиях разнонаправленных сдвигов кривой диссоциации оксигемоглобина при гипотермии // «Актуальные вопросы медицины и новые технологии медицинского образования»: материалы междунар. научно-практ. конфер., посв. 10-летию образования ГГМИ. – Мозырь, 2000. - Т.1. - С. 175-177.

20. Дорохина Л.В. Эффекты хронических изменений сродства гемоглобина к кислороду у крыс при остром холодном воздействии // Тез. докл. междунар. научно-практической конфер. молодых учёных «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины - 2000» / Под ред. А.Г. Мрочка, Г.Я. Хулупа. БелМАПО. - Минск, 2000. - С. 359.
21. Дорохина Л.В. Возможные механизмы коррекции гипотермических состояний // Тез. докл. X съезда Белорусского общества физиологов. - Минск: Бизнесофсет, 2001. - С. 48.
22. Дорохина Л.В. Влияние экзогенного L-аргинина на свободнорадикальное окисление в тканях крыс при глубокой эксидентальной гипотермии // «Аминокислоты и их производные в биологии и медицине»: Мат. II-й междунар. науч. конфер. / Под ред. Л.И. Нефедова - Гродно, 2001. - С.35 - 36.
23. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Влияние карнитина на свободнорадикальное окисление липидов печени крыс при гипотермии // «Актуальные вопросы гепатологии»: Мат. 5-го международного симпозиума гепатологов Беларуси. - Гродно, 2002. - С. 155-156.
24. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Кислородзависимые механизмы коррекции гипотермических состояний // Тез. докл. юбилейной конфер., посв. 50-летию основания Института Физиологии НАНБ - Минск: Технопринт, 2003. - С. 52.

## РЭЗІЮМЭ

**Дарохіна Любоў Васільеўна**

**Стан кіслародтранспартнай функцыі крыві і свабоднарадыкальнага акіслення ліпідаў пры гіпатэрміі**

**Ключавыя словы:** гіпатэрмія, роднасць гемаглабіну да кіслароду, монааксід азота, перакіснае акісленне ліпідаў, антыаксідантная сістэма, рэктальная тэмпература.

**Аб'ект даследавання:** пацукі-самцы ( $n=162$ ), вязозная кроў (плазма, эрытрацыты), гомагенаты тканак (печані, нырак, легкіх, міякарда).

**Мэта работы:** адзначыць парушэнне кіслародтранспартнай функцыі крыві і прааксідантна-антыаксідантнага балансу пры гіпатэрміі, выявіць магчымасці іх карэкцыі шляхам ўздзеяння на L-аргінін-NO сістэму і роднасць гемаглабіна да кіслароду.

**Метады даследавання:** фізіялагічныя, біяхімічныя, фармакалагічныя, спектрафатаметрычныя, флюарыметрычныя.

**Выкарыстаная апаратура:** ABL-330 "Radiometer", спектрафатаметр СФ-46, спектрафлюарыметр F-4010 "Hitachi", цэнтрыфуга ОПН-3, аўтаматычны дазатар «Lineomat», электратэрмометр ТПЭМ-1, камп'ютэр.

Праведзена комплекснае даследаванне кіслародтранспартнай функцыі крыві і прааксідантна-антыаксідантнага балансу пры гіпатэрміі. Устаноўлена, што пры зніжэнні тэмпературы цела да  $22,5\text{--}23,7\text{ }^{\circ}\text{C}$  назіраецца развіццё метабалічнага ацыдоза, гіпаксіі, павышэнне роднасці гемаглабіну да кіслароду (велічыня  $p50_{\text{реал}}$  зніжалася на  $49,4\%$ ), актывацыя працэсаў свабоднарадыкальнага акіслення ліпідаў і зніжэнне антыаксідантнай аховы. Шляхам мадыфікацыі L-аргінін-NO сістэмы магчыма карэкцыя ўзнікаючых парушэнняў. Інфузія L-аргініна пры гіпатэрміі ў меншай ступені выклікае зрух крывой дысацыяцыі оксігемаглабіну ўлева (значэнне  $p50_{\text{реал}}$  вышэй гіпатэрмічнага кантроля на  $20,0\%$ ), зніжае парушэнне кіслотна-асноўнага стану, суправаджаецца менш выражаным падзеннем рэктальнай тэмпературы, зніжаецца актывнасць працэсаў свабоднарадыкальнага акіслення ліпідаў, супрацьстаіць знясіленню антыаксідантнай аховы. Узмацненне антыаксідантнага патэнцыялу падоўжаным папярэднім увядзеннем карніціна хларыда памяншае працэсы пераксідацыі пры гіпатэрміі. Мэтанакіраванае памяншэнне роднасці гемаглабіну да кіслароду шляхам увядзення ёдабензаата натрыя суправаджаецца пры гіпатэрміі змяншэннем зместу прадуктаў перакіснага акіслення ліпідаў у крыві і тканках пацукоў, характарызуецца менш выражаным зніжэннем рэктальнай тэмпературы. Папярэдняе змяшчэнне крывой дысацыяцыі оксігемаглабіну ўлева, у выніку увядзення цыаната натрыя, выклікае зрух прааксідантна-антыаксідантнага балансу ў бок актывацыі працэсаў пераксідацыі і паслаблення антыаксідантнай аховы.

**Галіна прымянення:** навукова-даследчыя лабараторыі, тэарэтычны курс па фізіялогіі і патфізіялогіі ў ВНУ медыка-біялагічнага профілю.

## РЕЗЮМЕ

**Дорохина Любовь Васильевна**

### **Состояние кислородтранспортной функции крови и свободнорадикального окисления липидов при гипотермии**

**Ключевые слова:** гипотермия, сродство гемоглобина к кислороду, монооксид азота, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, ректальная температура.

**Объект исследования:** крысы-самцы ( $n=162$ ), венозная кровь (плазма, эритроциты), гомогенаты тканей (печени, почек, легких, миокарда).

**Цель работы:** оценить нарушения кислородтранспортной функции крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса при гипотермии, выяснить возможность их коррекции путем воздействия на L-аргинин-NO систему и сродство гемоглобина к кислороду.

**Методы исследования:** физиологические, биохимические, фармакологические, спектрофотометрические, флюориметрические.

**Использованная аппаратура:** ABL-330 "Radiometer", спектофотометр СФ-46, спектрофлуориметр F-4010 "Hitachi", центрифуга ОПН-3, автоматический дозатор «Lineomat», электротермометр ТПЭМ-1, компьютер.

Проведено комплексное исследование кислородтранспортной функции крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса при гипотермии. Установлено, что при снижении температуры тела до 22,5–23,7 °С наблюдается развитие метаболического ацидоза, гипоксии, увеличение сродства гемоглобина к кислороду ( $p50_{\text{реал}}$  уменьшился на 49,4%), активация процессов свободнорадикального окисления липидов и снижение антиоксидантной защиты. Путем модификации L-аргинин-NO системы возможна коррекция возникающих нарушений. Инфузия L-аргинина при гипотермии в меньшей степени вызывает сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево (значение  $p50_{\text{реал}}$  выше гипотермического контроля на 20,0%), уменьшает нарушение кислотно-основного состояния, сопровождается менее выраженным падением ректальной температуры, снижает активность процессов свободнорадикального окисления липидов, препятствует истощению антиоксидантной защиты. Усиление АС длительным предварительным введением карнитина хлорида уменьшает процессы пероксидации при гипотермии. Целенаправленное уменьшение сродства гемоглобина к кислороду путем введения йодобензоата натрия сопровождается при гипотермии уменьшением содержания продуктов перекисного окисления липидов в крови и тканях крыс, характеризуется менее выраженным снижением ректальной температуры. Предварительное смещение кривой диссоциации оксигемоглобина влево, в результате введения цианата натрия, вызывает сдвиг прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону активации процессов пероксидации и ослабления антиоксидантной защиты.

**Область применения:** научно-исследовательские лаборатории, теоретический курс по физиологии и патофизиологии в ВУЗах медико-биологического профиля.

## SUMMARY

**Darokhina Liubov Vasil'evna**

**The state of blood oxygen transport and lipid free radical oxidation during the hypothermia**

**Keywords:** hypothermia, blood oxygen affinity, nitrogen monoxide, lipid peroxidation, antioxidant system, rectal temperature.

**Object of research:** male rats (n = 162), venous blood (plasma, red blood cells), tissue homogenates (liver, kidneys, lungs, myocard).

**Aim of research:** to elucidate the disorders in blood oxygen transport capacity and prooxidant-antioxidant balance during the hypothermia and estimate the possibility to correct these disorders through the changes in L-arginine-NO system and hemoglobin-oxygen affinity.

**Methods:** physiological, biochemical, pharmacological, spectrophotometric and fluorometric tools of investigation.

**Instruments used:** ABL-330 "Radiometer", spectrophotometer SF-46, spectrofluorimeter F-4010 "Hitachi", centrifuge OPN-3, autodozator "Lineomat", electric thermometer TPEN-1, computer.

The complex investigation of blood oxygen transport and prooxidant-antioxidant balance was carried out under hypothermic conditions. The lowering of body temperature to 22,5–23,7 °C was shown to be associated with metabolic acidosis, hypoxia, higher hemoglobin-oxygen affinity ( $p50_{\text{real}}$  decrease by 49,4%), more active lipid peroxidation and weaker antioxidant defense. These disorders might be corrected by modification of L-arginine-NO system. L-arginine infusion during the hypothermia induced the weaker oxyhemoglobin dissociation curve shift leftwards (the value of  $p50_{\text{real}}$  was by 20.0% higher than in hypothermic controls), ameliorated the worsening of acid-base balance, reduced the fall of rectal temperature, decreased the lipid free radical oxidation activity, prevented the antioxidant defense depletion. The rise of antioxidant capacity by a long-term preliminary administration of carnithine chloride weakened the peroxidative processes during the hypothermia. A decrease of hemoglobin-oxygen affinity by sodium iodobenzoate induced the lower lipid peroxidation product content in blood and tissues and inhibited the rectal temperature fall during the hypothermia. The preliminary oxyhemoglobin dissociation curve shift leftwards by sodium cyanate induced a shift of prooxidant-antioxidant balance towards more active lipid peroxidation and weaker antioxidant defense.

**Field of application:** laboratories for scientific investigations, theoretical courses of physiology and pathophysiology in the higher biomedical schools.