

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК [612.351.11+612.56]:612.592:599.238

СЕВЕРИНА
Татьяна Геннадьевна

**АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ
И ТЕМПЕРАТУРА ТЕЛА ПРИ ОСТРОЙ
ИММЕРСИОННОЙ ГИПОТЕРМИИ У КРЫС
С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ХОЛОДУ**

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

по специальности 03.03.01 – физиология

Минск 2012

Работа выполнена в УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Научные руководители: **Кубарко Алексей Иванович**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Республики Беларусь, заведующий кафедрой нормальной физиологии УО «Белорусский государственный медицинский университет»
Юсипова Наталья Александровна, доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Кузнецов Владимир Иванович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»
Досин Юрий Михайлович, доктор медицинских наук, профессор кафедры медико-биологических основ физического воспитания УО «Белорусский государственный педагогический университет»

Оппонирующая организация: УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 8 июня 2012 года в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.02 при УО «Белорусский государственный медицинский университет» (220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, тел. 272 55 98, e-mail: rector@bsmu.by).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «4» мая 2012 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат медицинских наук, доцент

 . Герасимович

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время потребность в фундаментальных исследованиях, посвященных молекулярно-клеточным аспектам развития гипотермии, а также в разработке подходов к повышению устойчивости гомойотермных организмов к действию холода, значительно возросла. Это обусловлено широким использованием низких температур в кардио- и нейрохирургии, трансплантологии, клеточной терапии ряда заболеваний. По-прежнему актуальной остается проблема выживания человека в условиях действия низких температур при природных и техногенных катастрофах.

Известно, что скорость развития и исход гипотермии во многом зависит от индивидуальной устойчивости организма к холоду, которая может значительно отличаться [Тимочко М.Ф. и др., 1991; Кубарко А.И. и др., 1996]. Однако механизмы, определяющие индивидуальную устойчивость организма к холоду, до конца не изучены.

Одним из универсальных компонентов ответа клетки на действие различных повреждающих факторов является нарушение стабильности мембран лизосом, которое является одним из этапов каскадного пути, ведущего к клеточной гибели [Boya P., Kroemer G., 2008; Repnik U., Turk B., 2010; Пупышев А.Б., 2011]. Повышение проницаемости мембран лизосом показано при различных видах стресса и повреждения [Коровкин Б.Ф. и др., 1987; Грек О.Р. и др., 2003; Pivtoraiko V. et al., 2009]. Однако особенности изменения проницаемости лизосомных мембран и активности лизосомных ферментов в клетке при гипотермии у животных, имеющих различную устойчивость к холоду, практически не изучены. Не имеется данных о возможной связи между степенью проницаемости лизосом и устойчивостью животных к острой гипотермии.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами

Диссертация выполнена на кафедре нормальной физиологии БГМУ в рамках научной работы по теме: «Нейрофизиологические и биохимические основы изменения функциональной активности мозга и формирования адаптивных реакций организма при действии тепла и холода» (1988–1995 гг.; шифр 1790, № государственной регистрации 01900011162), а также по теме «Нейрофизиологические основы формирования реакций сердечно-сосудистой и зрительной систем на сенсорные сигналы» (2008–2012 гг.; № государственной регистрации 2008358 от 12.03.2008).

Цель и задачи исследования

Цель исследования – выявить особенности изменения активности лизосомных ферментов печени и температуры тела при острой иммерсионной гипотермии у устойчивых и неустойчивых к холоду крыс и установить возможную связь между активностью лизосомных ферментов и устойчивостью животных к острой гипотермии.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности влияния острого иммерсионного охлаждения на скорость снижения температуры тела у устойчивых и неустойчивых к холоду крыс при различной продолжительности охлаждения.

2. Исследовать общую, свободную и относительную свободную активности лизосомных ферментов (кислая фосфатаза, β -галактозидаза, кислые катепсины D и B, ДНК-аза и гиалуронидаза) в печени устойчивых и неустойчивых к холоду крыс при различной глубине гипотермии, вызванной их охлаждением в течение одинаковых периодов времени.

3. Провести сравнительный анализ показателей активности лизосомных ферментов печени у устойчивых и неустойчивых к холоду крыс при одинаковой продолжительности охлаждения, а также при одинаковой глубине гипотермии.

4. Определить общую, свободную и относительную свободную активности тех же лизосомных ферментов печени у предварительно отобранных устойчивых и неустойчивых к холоду крыс в состоянии нормотермии.

5. Выяснить возможность коррекции вызванных гипотермией изменений активности лизосомных ферментов печени и способности животных поддерживать температуру тела при охлаждении путем предварительного введения неустойчивым к холоду крысам ингибитора фосфодиэстеразы кофеин-бензоата натрия.

Объект исследования – 287 белых беспородных крыс-самцов, их печень.

Предмет исследования – температура тела, общая, свободная и относительная свободная активности лизосомных ферментов – кислой фосфатазы, β -галактозидазы, кислых катепсинов D, B, ДНК-азы и гиалуронидазы – в печени крыс.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Устойчивые к холоду крысы при охлаждении характеризуются, по сравнению с неустойчивыми, способностью поддерживать более высокую температуру тела и меньшей проницаемостью лизосомных мембран печени.

2. Для устойчивых к холоду крыс, по сравнению с неустойчивыми, характерна меньшая проницаемость лизосомных мембран печени, как при одинаковой продолжительности охлаждения, так и при одинаковой глубине гипотермии (умеренная гипотермия), а также и при нормотермии.

3. Кофеин-бензоат натрия, при его введении неустойчивым к холоду крысам перед охлаждением, повышает их способность поддерживать температуру тела при охлаждении и снижает проницаемость лизосомных мембран печени.

4. Активация кофеин-бензоатом натрия цАМФ-зависимых механизмов регуляции температурного гомеостаза и проницаемости мембран лизосом может использоваться в качестве одного из подходов к повышению устойчивости организма к холоду.

Личный вклад соискателя

Автор принимала непосредственное участие в формулировании целей и задач исследования. Результаты исследования получены автором самостоятельно, включая организацию и постановку опытов, проведение физиологических и биохимических исследований, статистическую обработку, анализ и обобщение результатов исследования. Экспериментальная часть работы выполнена автором на базе лаборатории биохимических методов исследования ЦНИЛ БГМУ. Опубликование полученных результатов в статьях [1,2, 4-12, 14-19] выполнено автором самостоятельно, в совместных с руководителем публикациях вклад диссертанта составляет: статья [3] – 85%, тезисы доклада [13] – 90%.

Апробация результатов диссертации

Основные результаты исследований, включенные в диссертацию, представлялись в виде докладов и обсуждены на VII Всероссийском симпозиуме «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Москва, 1994), IX съезде Белорусского общества физиологов (Минск, 1996), 60-й научной сессии сотрудников ВГМУ «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации», посвященной 60-летию Победы в Великой Отечественной войне (Витебск, 2005), Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем», посвященной 80-летию Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, 2005), международной конференции НАН Беларуси «Стресс и висцеральные системы» (Минск, 2005), Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы теоретической и практической медицины», посвященной 15-летию образования ГГМУ (Гомель, 2005), Республиканской конференции «Актуальные вопросы молекулярной эволюции и биохимии», посвященной 75-летию со дня основания кафедры общей

химии БГМУ (Минск, 2006), XI съезде Белорусского общества физиологов (Минск, 2006), V Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2007), научных сессиях БГМУ (Минск, 2006; 2009).

Опубликованность результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ. Из них 6 статей в рецензируемых журналах (общим объемом 2,68 авт. листов), 6 статей в сборниках и 7 тезисов докладов на республиканских и международных конференциях. Без соавторов опубликовано 17 работ. Объем всех опубликованных материалов по теме диссертации составляет 61 страницу или 4,36 авт. листа.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 135 страницах печатного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, описания материала и методов исследования, 3-х глав собственных исследований, заключения, библиографического списка, включающего список использованных источников (состоит из 463 наименований работ, из них 114 – на русском языке, 349 – на иностранных языках) и список публикаций соискателя. Диссертационная работа содержит 4 таблицы и 16 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Опыты выполнены на 287 взрослых беспородных крысах-самцах массой 180-210 г с соблюдением правил проведения работ при использовании экспериментальных животных [Strasbourg, 1986].

В работе были использованы физиологические (термометрия) и биохимические методы (определение свободной и общей активности лизосомных ферментов в печени и сыворотке крови крыс). Для угнетения активности фосфодиэстеразы и повышения внутриклеточной концентрации цАМФ был применен фармакологический подход с внутрибрюшинным введением животным кофеин-бензоата натрия.

Для достижения поставленных целей в работе была применена экспериментальная модель острой иммерсионной гипотермии [Северина Т.Г., 2009], которая приближена к условиям переохлаждения при экстремальных ситуациях, например, при морских катастрофах.

Эксперименты проводили в специально оборудованном помещении – холодильной камере, в которой поддерживалась температура воздуха 5°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). Крыс помещали в емкости с водой, разделенные на отсеки, по

одному животному в отсеке. Уровень воды составлял 4,5 см, температура воды 5°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). Животные стояли в воде, не плавая; подвижность их была ограничена небольшими размерами отсеков.

Влияние охлаждения на температуру тела и активность лизосомных ферментов печени крыс изучали на протяжении нескольких периодов времени. В первой серии опытов длительность охлаждения составляла 1 час 20 минут, во второй – 2 часа, в третьей – 2 часа 30 минут, и в четвертой серии экспериментов охлаждение крыс длилось 2 часа 40 минут. Периоды охлаждения подобраны по средней температуре тела неустойчивых к холоду крыс, которые в первой серии опытов достигали гипотермии около 30°C, во второй – 25°C, в третьей – 20°C и в четвертой – 16°C.

Разделение животных на группы устойчивых и неустойчивых к холоду проводилось на основании различия ректальной температуры крыс после охлаждения в стандартных условиях. В группу крыс, неустойчивых к холоду, в первой серии опытов (охлаждение 1 час 20 минут) отбирали животных, температура тела которых за указанный период снижалась до 31°C и ниже. В группу устойчивых к холоду крыс отбирали животных, которые в тех же условиях охлаждения поддерживали температуру 34-35°C и выше. Крыс с промежуточными значениями температуры тела в опыт не отбирали. В последующих сериях опытов с увеличением продолжительности охлаждения разность температуры тела между устойчивыми и неустойчивыми к холоду животными возрастала.

Для каждой из серий экспериментов в качестве контрольной группы использовали интактных крыс, не подвергавшихся охлаждению. Исходная температура тела животных как контрольной, так и опытных групп до начала охлаждения не отличалась.

Ректальную температуру крыс определяли с помощью электротермометра ТПЭМ-1 на глубине 3,5 см. По окончании периода охлаждения и измерения температуры крыс немедленно производили декапитацию животных и взятие ткани печени для исследования, а в отдельных экспериментах – и крови. Для приготовления гомогенатов производили перфузию печени. Для этого делали надрез в портальной вене, вводили в надрез канюлю, через которую подавался 0,3 М раствор сахарозы с ЭДТА (1 мМ/л), рН 7,4, и перфузировали в течение 30 секунд. Затем брали образец ткани печени массой 1 г, тщательно измельчали и гомогенизировали в течение 90 секунд в растворе сахарозы с помощью гомогенизатора Поттера-Эльвейема с тефлоновым пестиком. Из гомогенизированной ткани печени готовили 10% гомогенаты в растворе сахарозы [Баррет А.Дж., Хит М.Ф., 1980]. Из крови получали сыворотку. Все процедуры проводились в условиях холодильной камеры при 5°C.

В каждой серии экспериментов в печени крыс изучали активность следующих лизосомных ферментов: кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2), β -галактозидазы (КФ 3.2.1.23), кислых катепсинов D, В (КФ 3.4.23.5; КФ 3.4.22.1), ДНК-азы (КФ 3.1.4.6) и гиалуронидазы (КФ 3.2.1.35). В гомогенате печени определяли свободную и общую активности ферментов. Свободная активность ферментов определялась в гомогенате печени, содержащем неразрушенные лизосомы, после инкубации с субстратом при 37°C; общая активность определялась после добавления в гомогенат печени детергента тритон X-100, разрушающего мембраны лизосом, и полного освобождения лизосомных ферментов [Покровский А.А., Тутельян В.А., 1976]. Проницаемость мембран лизосом печени оценивали по относительной свободной активности лизосомных ферментов, которая представляет собой долю свободной активности в общей, выраженную в процентах:

$$\text{Относительная свободная активность} = \frac{\text{Свободная активность}}{\text{Общая активность}} \times 100\%$$

Изучение показателей относительной свободной активности ферментов является одним из общепринятых способов оценки проницаемости/стабильности лизосомных мембран [Панин Л.Е., Маянская Н.Н., 1987]. Повышение свободной и относительной свободной активности лизосомных ферментов свидетельствует об увеличении проницаемости лизосомных мембран [Покровский А.А., Тутельян В.А., 1976].

Для исследования активности лизосомных ферментов использовали методы, основанные на спектрофотометрическом определении количества продукта ферментативной реакции.

Активность кислой фосфатазы определяли методом В. Spencer [1959], β -D-галактозидазы – методом J. Conchie et al. [1959], в модификации Н.А. Юсиповой [1978]. Активность кислых катепсинов D, В определяли методом, описанным А.А. Покровским и А.И. Арчаковым [1968], ДНК-азы – методом, описанным А.Дж. Барретом и М.Ф. Хитом [1980], гиалуронидазы – методом И.В. Виха и соавт. [1973].

Спектрофотометрия проводилась на спектрофотометре СФ-46.

При проведении анализа распределения изучаемых показателей с помощью критерия Шапиро-Уилка установлено, что полученные ряды показателей соответствуют закону нормальности распределения. На основании этого результаты экспериментов обработаны методами параметрической статистики [О.Ю. Реброва, 2002]. Результаты исследований представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего арифметического ($X \pm s_x$). Достоверность различий между показателями двух опытных групп оценивали по критерию t Стьюдента

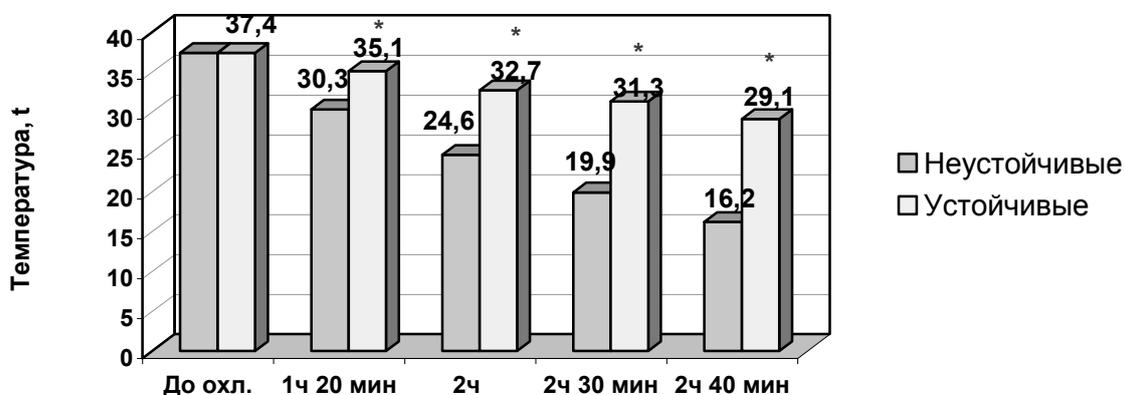
для независимых выборок. При проведении сравнений между тремя экспериментальными группами применяли критерий t Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений [С. Гланц, 1999].

Результаты считали статистически значимыми при значениях $p < 0,05$. Статистическую обработку данных и построение диаграмм выполняли на персональном компьютере с помощью прикладных программ Microsoft Excel, Statistica, а также программы «Биостат».

Результаты собственных исследований

Температура тела устойчивых и неустойчивых к холоду крыс при острой иммерсионной гипотермии

Опыты показали, что у крыс с различной устойчивостью к холоду величина снижения ректальной температуры при охлаждении значительно отличается. По мере возрастания продолжительности охлаждения различие температуры тела устойчивых и неустойчивых к холоду крыс увеличивается. Так, если в первой серии опытов разность средней температуры тела у животных с различной устойчивостью к холоду составила $4,8^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,001$), то в последующих сериях опытов эта разность температур возрастает: $8,1^{\circ}\text{C}$ (2 часа; $p < 0,001$), затем $11,4^{\circ}\text{C}$ (2 часа 30 минут; $p < 0,001$), и наконец, $12,9^{\circ}\text{C}$ (2 часа 40 минут; $p < 0,001$) (рисунок 1).



* – достоверность различий между группами устойчивых и неустойчивых к холоду крыс, везде $p < 0,001$

Рисунок 1 – Ректальная температура устойчивых и неустойчивых к холоду крыс при различной продолжительности охлаждения

Выявлено, что у крыс с различной устойчивостью к холоду при охлаждении значительно отличаются как уровень достигаемой гипотермии, так и скорость снижения ректальной температуры. Так, если у крыс, неустойчивых к холоду, в каждой серии опытов при возрастании

длительности охлаждения скорость охлаждения в град°С/час последовательно составляла 5,25; 6,4; 7,0 и 7,95°С/час, то у устойчивых к холоду крыс скорость охлаждения за те же периоды составляла 1,65; 2,35; 2,44 и 3,15°С/час, что по сравнению с неустойчивыми к холоду животными в 2,5–3,2 раза меньше (везде $p < 0,001$).

Активность лизосомных ферментов печени устойчивых и неустойчивых к холоду крыс при острой иммерсионной гипотермии

Обнаружено, что общая активность лизосомных ферментов печени при охлаждении крыс не изменяется или изменяется незначительно, в то время как свободная и относительная свободная активности ферментов возрастают. Вызванные острой иммерсионной гипотермией изменения активности лизосомных ферментов у устойчивых и неустойчивых к холоду крыс существенно отличаются. Установлено, что неустойчивые к холоду животные отличаются значительно бóльшим возрастанием свободной и относительной свободной активности лизосомных ферментов при различной длительности охлаждения. У устойчивых к холоду крыс по сравнению с неустойчивыми возрастание свободной и относительной свободной активности лизосомных ферментов печени выражено в меньшей степени или отсутствует.

Так, охлаждение неустойчивых к холоду крыс в течение 1 часа 20 минут, приводящее к развитию у них умеренной гипотермии (до $30,3 \pm 0,13^\circ\text{C}$), сопровождается значительным возрастанием относительной свободной активности лизосомных ферментов печени: кислых катепсинов – в 1,4 раза выше ($p < 0,005$), и кислой фосфатазы – в 1,34 раза выше ($p < 0,05$) по сравнению с активностью этих ферментов у интактных контрольных животных. По сравнению с устойчивыми к холоду животными, у крыс, неустойчивых к холоду, относительная свободная активность β -галактозидазы в 1,5 раза выше ($p < 0,02$), кислых катепсинов – в 1,4 раза выше ($p < 0,02$), и ДНК-азы – в 1,33 раза выше ($p < 0,05$). У устойчивых к холоду крыс при той же длительности охлаждения, приводящего к развитию у них легкой гипотермии (до $35,1 \pm 0,13^\circ\text{C}$), показатели как общей, так и свободной и относительной свободной активности лизосомных ферментов печени не отличаются от контроля.

При охлаждении в течение 2 часов 30 минут у неустойчивых к холоду животных обнаружено повышение свободной и относительной свободной активности большинства исследованных ферментов печени. У крыс, устойчивых к холоду, возрастают только показатели относительной свободной активности β -галактозидазы и ДНК-азы,

причем эти изменения выражены в меньшей степени. Так, при данной продолжительности охлаждения у неустойчивых к холоду крыс, по сравнению с устойчивыми, относительная свободная активность β -галактозидазы в 1,15 раза выше ($p < 0,05$), ДНК-азы – в 1,11 раза выше ($p < 0,05$), кислых катепсинов – в 1,15 раза выше ($p < 0,05$).

При продолжительности охлаждения 2 часа 40 минут у крыс, неустойчивых к холоду, повышается относительная свободная активность кислой фосфатазы и кислых катепсинов, как по сравнению с контролем, так и по сравнению с устойчивыми к холоду животными. Так, у неустойчивых к холоду крыс по сравнению с устойчивыми относительная свободная активность кислой фосфатазы в печени в 1,31 раза выше ($p < 0,005$), кислых катепсинов – в 1,24 раза выше ($p < 0,05$). У крыс, устойчивых к холоду, относительная свободная активность лизосомных ферментов печени при данной продолжительности охлаждения не отличается от показателей контрольной группы животных.

Таким образом, при острой иммерсионной гипотермии, вызванной охлаждением в течение различных периодов времени, у крыс, неустойчивых к холоду, выявлено повышение относительной свободной активности лизосомных ферментов печени, в то время как у устойчивых к холоду крыс при той же продолжительности охлаждения эти изменения отсутствуют или выражены в меньшей степени. Возрастание относительной свободной активности лизосомных ферментов обусловлено повышением проницаемости лизосомных мембран [Покровский А.А., Тутельян В.А., 1976; Панин Л.Е., Маянская Н.Н., 1987]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у крыс, неустойчивых к холоду, острая иммерсионная гипотермия приводит к выраженному повышению проницаемости лизосомных мембран печени. Устойчивые к холоду животных при такой же продолжительности охлаждения характеризуются меньшей степенью повышения проницаемости лизосомных мембран печени.

Поскольку при одинаковой продолжительности охлаждения температура тела сравниваемых животных отличалась, можно предположить, что одной из причин меньшей проницаемости мембран лизосом печени у крыс, устойчивых к холоду, является меньшая степень гипотермии. Для проверки этого предположения мы провели сравнение активности лизосомных ферментов печени у устойчивых и неустойчивых к холоду крыс при близкой ректальной температуре: между неустойчивыми к холоду крысами при ректальной температуре $30,3 \pm 0,13^\circ\text{C}$ (после охлаждения в течение 1 часа 20 минут), и устойчивыми к холоду животными при ректальной температуре $29,1 \pm 0,42^\circ\text{C}$ (после

охлаждения в течение 2 часов 40 минут). Сравнение показывает, что и при одинаковом уровне гипотермии между двумя группами животных имеются значительные различия относительной свободной активности лизосомных ферментов печени. Так, у крыс, неустойчивых к холоду, при средней температуре тела около 30°C относительная свободная активность кислой фосфатазы в 1,43 раза выше ($p < 0,01$) по сравнению с устойчивыми к холоду крысами, когда при вдвое большей длительности охлаждения они достигают того же уровня гипотермии (около 29°C). Относительная свободная активность кислых катепсинов при таком же сравнении у неустойчивых к холоду крыс оказывается в 1,4 раза выше ($p < 0,001$), и относительная активность ДНК-азы – в 1,33 раза выше ($p < 0,001$) по сравнению с устойчивыми к холоду животными.

Данное сравнение позволяет сделать вывод, что различия между устойчивыми и неустойчивыми к холоду животными обусловлены не только разной величиной ректальной температуры при одинаковой продолжительности охлаждения. Более низкая относительная свободная активность лизосомных ферментов печени у устойчивых к холоду крыс, по сравнению с неустойчивыми, при одинаковом уровне гипотермии свидетельствует о поддержании более низкой проницаемости мембран лизосом у этой группы животных, независимо от температуры тела.

Таким образом, для устойчивых к холоду крыс при острой иммерсионной гипотермии характерна более низкая проницаемость мембран лизосом печени, как при одинаковой продолжительности охлаждения, так и при одинаковой глубине гипотермии.

Активность лизосомных ферментов печени и сыворотки крови устойчивых и неустойчивых к холоду крыс при нормотермии

С целью разделения крыс на устойчивых и неустойчивых к холоду их предварительно подвергали охлаждению в течение 1 часа 20 минут в тех же условиях, которые применяли в предыдущих сериях опытов. Ректальная температура крыс, отобранных в группу неустойчивых к холоду животных, составила $29,1 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Температура тела крыс, устойчивых к холоду, при охлаждении в тех же условиях составила $34,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ($p < 0,001$). Масса тела, пол и возраст крыс не отличались. Для минимизации последствий холодового стресса после охлаждения отобранные крысы в течение 15 дней содержались в условиях вивария при комнатной температуре.

На момент проведения исследования ректальная температура устойчивых и неустойчивых к холоду крыс не отличалась и составляла соответственно $37,1 \pm 0,1^\circ\text{C}$ и $36,8 \pm 0,2^\circ\text{C}$ ($p < 0,02$). Крыс декапитировали

при комнатной температуре, после чего брали ткань печени, а также кровь, из которой получали сыворотку.

Опыты показали, что при нормотермии общая активность изучаемых ферментов печени у устойчивых и неустойчивых к холоду крыс практически не отличается. В то же время свободная и относительная свободная активности некоторых лизосомных ферментов у устойчивых к холоду крыс оказалась ниже, чем у неустойчивых. Так, установлено, что при нормотермии свободная активность β -галактозидазы в печени устойчивых к холоду крыс по сравнению с неустойчивыми была ниже на 24,4% ($p < 0,05$), свободная активность ДНК-азы – ниже на 13,4% ($p < 0,05$). Показатели относительной свободной активности кислой фосфатазы и β -галактозидазы в печени устойчивых к холоду животных при нормотермии, по сравнению с неустойчивыми, были ниже в 1,2 и в 1,31 раза соответственно ($p < 0,05$).

Установлено, что при нормотермии активность кислой фосфатазы в сыворотке крови устойчивых к холоду крыс на 15% ниже по сравнению с неустойчивыми к холоду животными ($p < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у животных с различной устойчивостью к холоду имеются различия проницаемости мембран лизосом, существующие исходно, без охлаждения. На основании более низкой свободной и относительной свободной активности ряда ферментов печени можно предположить, что устойчивые к холоду крысы характеризуются более низкой проницаемостью лизосомных мембран не только при охлаждении в условиях гипотермии, но и при нормальной температуре тела. О более низкой проницаемости мембран лизосом у устойчивых к холоду крыс свидетельствует и более низкая по сравнению с неустойчивыми к холоду животными активность кислой фосфатазы в сыворотке крови.

Эти различия проницаемости лизосомных мембран печени, менее выраженные при нормотермии, в большей степени проявляются при охлаждении. Можно предположить, что более низкая проницаемость мембран лизосом при нормотермии является одним из факторов, позволяющих устойчивым к холоду животным поддерживать внутриклеточные процессы, лежащие в основе сохранения более высокой температуры тела в процессе охлаждения.

Влияние кофеин-бензоата натрия на активность лизосомных ферментов печени и устойчивость крыс к острой иммерсионной гипотермии

Опыты проводили на предварительно отобранных неустойчивых к холоду крысах. Для этого крыс подвергали охлаждению в описанных

ранее стандартизированных условиях в течение 1 ч 20 мин. Средняя температура отобранных неустойчивых к холоду крыс после охлаждения составила $29,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$. После отбора крысы содержались в виварии при комнатной температуре в течение 20 дней.

Затем отобранные неустойчивые к холоду крысы были разделены случайным образом на 3 группы – контрольную и две опытных, и подвергнуты охлаждению в тех же стандартных условиях. Перед охлаждением животным опытной группы I вводили кофеин-бензоат натрия внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг, животным группы II – в дозе 2,5 мг/кг. Контрольным крысам вводили физиологический раствор. Температуру измеряли через 1 ч 20 мин и через 2 ч 40 мин после начала охлаждения, после чего производили декапитацию и взятие крови и ткани печени крыс.

Температура тела неустойчивых к холоду крыс при охлаждении в условиях действия кофеин-бензоата натрия

Установлено, что предварительное внутрибрюшинное введение кофеин-бензоата натрия повышает способность неустойчивых к холоду крыс поддерживать температуру тела в процессе охлаждения. Животные, которым вводили кофеин-бензоат натрия, поддерживали более высокую температуру тела по сравнению с контрольными крысами, получившими физиологический раствор (таблица).

Таблица – Температура неустойчивых к холоду крыс при охлаждении в условиях действия кофеин-бензоата натрия

Группы животных	t°C до охлаждения	t°C, охлаждение 1 ч 20 мин	t°C, охлаждение 2 ч 40 мин
Контрольная группа (физ. раствор), n = 11	$37,5 \pm 0,1$	$31,7 \pm 0,6$	$27,8 \pm 1,2$
Опытная группа I (кофеин 25 мг/кг), n = 10	$37,5 \pm 0,1$	$34,5 \pm 0,4^*$ p<0,005	$31,2 \pm 0,9^*$ p<0,05
Опытная группа II (кофеин 2,5 мг/кг), n = 11	$37,4 \pm 0,1$	$34,1 \pm 0,4^*$ p<0,005	$33,3 \pm 0,4^*$ p<0,005

Примечание – * достоверное отличие от животных контрольной группы

Таким образом, кофеин-бензоат натрия, в дозах 25 мг/кг и 2,5 мг/кг, повышает устойчивость крыс к холоду, что проявляется в поддержании более высокой температуры тела при охлаждении.

Активность лизосомных ферментов печени неустойчивых к холоду крыс при охлаждении в условиях действия кофеин-бензоата натрия

Опыты показали, что предварительное введение кофеин-бензоата натрия в дозе 2,5 мг/кг оказывает выраженное влияние на свободную и

относительную свободную активность большинства исследованных лизосомных ферментов печени крыс при их охлаждении. Так, по сравнению с контрольными животными, у крыс, получивших кофеин-бензоат натрия в дозе 2,5 мг/кг, свободная активность β -галактозидазы ниже на 39,9% ($p < 0,005$), кислых катепсинов – на 28,3% ($p < 0,02$), ДНК-азы – на 40,9% ($p < 0,005$), гиалуронидазы – на 28,2% ($p < 0,02$). Относительная свободная активность кислой фосфатазы у крыс этой группы по сравнению с контрольными неустойчивыми к холоду животными ниже в 1,31 раза ($p < 0,02$), β -галактозидазы – в 1,4 раза ($p < 0,005$), ДНК-азы – в 1,36 раза ($p < 0,005$), и гиалуронидазы – в 1,27 раза ниже ($p < 0,005$) (рисунки 2).



* - достоверное отличие от контроля; # – достоверное различие между опытными группами I и II

Рисунок 2 – Влияние кофеин-бензоата натрия на относительную свободную активность лизосомных ферментов печени неустойчивых к холоду крыс при охлаждении (по сравнению с относительной свободной активностью тех же ферментов печени контрольных неустойчивых к холоду крыс, принятой за 1)

Введение кофеина в дозе 25 мг/кг приводит к более низкой по сравнению с контролем относительной свободной активности гиалуронидазы (в 1,16 раза, $p < 0,01$). Свободная и относительная свободная активность остальных ферментов в этой группе не отличается от контроля.

При исследовании сыворотки крови установлено, что у крыс, получивших кофеин-бензоат натрия в дозе 25 мг/кг, активность ДНК-азы в сыворотке на 52,9% ниже, в дозе 2,5 мг/кг – на 50,2% ниже по сравнению с контрольными неустойчивыми к холоду крысами.

Результаты экспериментов позволяют сделать вывод о снижении проницаемости мембран лизосом печени крыс при их охлаждении в условиях действия кофеин-бензоата натрия в дозе 2,5 мг/кг. Об этом свидетельствуют более низкие свободная и относительная свободная активности ряда лизосомных ферментов в печени крыс и более низкая активность ДНК-азы в сыворотке крови крыс.

Выявленные эффекты кофеин-бензоата натрия могут реализоваться посредством различных механизмов. С одной стороны, кофеин является ингибитором фосфодиэстеразы и таким путем вызывает повышение внутриклеточной концентрации цАМФ [Горбачевская Л.В., 1983; Катцунг Б., 1998]. Стабилизирующее влияние цАМФ на лизосомные мембраны было показано в ряде работ [Wells W.W., Collins C.A., 1984; Маянская Н.Н. и др., 1985; Иванова Т.Н., 1989, 1990]. Другим, не менее важным механизмом действия кофеин-бензоата натрия является ингибирование аденозиновых рецепторов, в том числе A_1 рецепторов, активация которых ведет к снижению активности аденилатциклазы. Кофеин-бензоат натрия ингибирует A_1 рецепторы [Кулинский В.И., 1988], что так же, как и ингибирование фосфодиэстеразы, приводит к повышению уровня цАМФ в клетке. Под влиянием цАМФ усиливаются процессы гликогенолиза, липолиза, повышается уровень субстратов энергетического обмена, в том числе в клетках тканей и органов, которые вносят вклад в теплопродукцию (печень, сердце, скелетные мышцы). Поддержание энергозависимых процессов позволяет поддерживать и более стабильное состояние мембран, в том числе и мембран лизосом.

Отсутствие заметного стабилизирующего действия на мембраны лизосом печени при введении кофеин-бензоата в дозе 25 мг/кг, возможно, связано с гиперактивацией липолиза, усилением процессов перекисного окисления липидов и повреждением клеточных мембран [Сергеева Г.И., 2005].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что активируемые кофеин-бензоатом натрия цАМФ-зависимые механизмы регуляции энергетического обмена и температуры тела, а также проницаемости мембран лизосом играют важную роль в повышении устойчивости животных к холоду. На основании данных результатов можно предположить, что кофеин-бензоат натрия и другие вещества, повышающие внутриклеточный уровень цАМФ, могут быть использованы для повышения устойчивости животных к острой гипотермии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Внутрипопуляционные различия крыс по их устойчивости к холоду, выявляемые при остром иммерсионном охлаждении, проявляются способностью устойчивых к холоду животных поддерживать более высокую температуру тела при охлаждении. По мере увеличения продолжительности охлаждения различие температуры тела устойчивых и неустойчивых к холоду животных значительно возрастает. При охлаждении в течение 1 часа 20 минут разность средней температуры тела устойчивых и неустойчивых к холоду животных составляет $4,8^{\circ}\text{C}$, при увеличении продолжительности охлаждения в последующих сериях экспериментов эта разность температур возрастает до $8,1^{\circ}\text{C}$ (2 часа), затем $11,4^{\circ}\text{C}$ (2 часа 30 минут), и при охлаждении в течение 2 часов 40 минут составляет $12,9^{\circ}\text{C}$ (езде $p < 0,001$) [3, 4, 6, 7, 9, 13, 15, 18].

2. Развитие гипотермии у крыс с различной устойчивостью к холоду сопровождается возрастанием проницаемости мембран лизосом печени, которое проявляется повышением свободной и относительной свободной активности большинства исследованных лизосомных ферментов [3, 4, 7, 9, 13, 18].

3. Устойчивые к холоду крысы при охлаждении, наряду с меньшей скоростью развития гипотермии и поддержанием более высокой температуры тела, характеризуются более низкими показателями свободной и относительной свободной активности лизосомных ферментов печени, что свидетельствует о меньшей проницаемости лизосомных мембран. Так, при охлаждении в течение 1 часа 20 минут у устойчивых к холоду крыс по сравнению с неустойчивыми относительная свободная активность β -галактозидазы в 1,5 раза ниже ($p < 0,02$), кислых катепсинов – в 1,4 раза ниже ($p < 0,02$) и ДНК-азы – в 1,33 раза ниже ($p < 0,05$). При охлаждении в течение 2 часов 40 минут у устойчивых к холоду крыс по сравнению с неустойчивыми относительная свободная активность кислой фосфатазы в 1,31 раза ниже ($p < 0,05$), кислых катепсинов – в 1,24 раза ниже ($p < 0,05$) [3, 4, 7, 9, 13, 18].

4. При одинаковой глубине гипотермии устойчивые к холоду крысы (температура тела $29,1 \pm 0,42^{\circ}\text{C}$) отличаются от неустойчивых (температура тела $30,3 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$) более низкой проницаемостью мембран лизосом, что проявляется более низкой относительной свободной активностью кислой фосфатазы (в 1,35 раза ниже, $p < 0,01$), кислых катепсинов D, B (в 1,41 раза ниже, $p < 0,001$) и ДНК-азы (в 1,39 раза ниже, $p < 0,001$) [3, 7, 12, 19].

5. Меньшая проницаемость мембран лизосом печени характерна для устойчивых к холоду крыс не только при охлаждении, но и в состоянии нормотермии. При нормотермии устойчивые к холоду животные по сравнению с неустойчивыми характеризуются более низкой относительной свободной активностью кислой фосфатазы – в 1,2 раза ниже ($p < 0,05$), и β -галактозидазы – в 1,31 раза ниже ($p < 0,05$), а также более низкой активностью кислой фосфатазы в сыворотке крови ($p < 0,05$) [1, 2, 4, 10].

6. Действие ингибитора фосфодиэстеразы кофеин-бензоата натрия при его внутрибрюшинном введении в дозе 2,5 мг/кг неустойчивым к холоду крысам перед охлаждением приводит к повышению устойчивости животных к холоду и снижению проницаемости лизосомных мембран печени крыс. Повышение устойчивости животных к действию холода при охлаждении в течение 2 часов 40 минут проявляется поддержанием более высокой температуры тела ($33,3 \pm 0,4^\circ\text{C}$) по сравнению с крысами контрольной группы, которым вводили физиологический раствор ($27,8 \pm 1,2^\circ\text{C}$) ($p < 0,005$). Уменьшение проницаемости лизосомных мембран печени проявляется более низкими значениями относительной свободной активности кислой фосфатазы (в 1,31 раза ниже, $p < 0,02$), β -галактозидазы (в 1,4 раза ниже, $p < 0,005$), ДНК-азы (в 1,36 раза ниже, $p < 0,005$) и гиалуронидазы (в 1,27 раза ниже, $p < 0,005$) по сравнению с неустойчивыми к холоду крысами контрольной группы [5, 8, 11, 14, 16, 17].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Снижение проницаемости лизосомных мембран печени может служить дополнительным критерием для оценки эффекта биологически активных соединений, используемых для повышения устойчивости организма к холоду.

2. Кофеин-бензоат натрия может быть использован для снижения проницаемости лизосомных мембран клеток печени при гипотермии *in vivo*, а также для поддержания стабильности лизосомных мембран печени при ее пересадке.

3. Введение кофеин-бензоата натрия может использоваться как один из подходов для разработки методов повышения устойчивости к холоду.

Основные результаты и выводы выполненной работы используются при преподавании нормальной физиологии, патологической физиологии, фармакологии, курса экстремальной медицины в БГМУ, патологической физиологии в ГГМУ, а также могут быть использованы в научно-исследовательской работе и учебном процессе других учреждений образования медицинского и биологического профилей. Метод отбора устойчивых и неустойчивых к холоду крыс внедрен в работу лаборатории физиологии питания и спорта института физиологии НАН РБ.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в научных журналах

1. Северина, Т.Г. Активность лизосомных ферментов печени и сыворотки крови крыс, устойчивых к холоду / Т.Г. Северина // Воен. медицина. – 2006. – Т. 1, № 1. – С. 121–123.

2. Северина, Т.Г. Активность лизосомных ферментов печени крыс, имеющих различную устойчивость к холоду / Т.Г. Северина // Мед. журн. – 2007. – Т. 19, № 1. – С. 79–81.

3. Северина, Т.Г. Влияние острой иммерсионной гипотермии на температуру тела и активность лизосомных ферментов печени устойчивых и неустойчивых к холоду крыс / Т.Г. Северина, А.И. Кубарко // Мед. журн. – 2009. – Т. 28, № 2. – С. 112–115.

4. Северина, Т.Г. Показатели проницаемости лизосомных мембран печени устойчивых и неустойчивых к холоду крыс при гипо- и нормотермии / Т.Г. Северина // Мед. журн. – 2009. – Т. 28, № 2. – С. 115–119.

5. Северина, Т.Г. Влияние кофеин-бензоата натрия на активность лизосомных ферментов печени и устойчивость крыс к острой иммерсионной гипотермии / Т.Г. Северина // Воен. медицина. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 110–114.

6. Северина, Т.Г. Применение острой иммерсионной гипотермии для определения устойчивости крыс к холоду в условиях их естественной реактивности / Т.Г. Северина // Мед. журн. – 2009. – Т. 29, № 3. – С. 78–82.

Статьи в сборниках научных работ

7. Северина, Т.Г. Активность лизосомных ферментов и стабильность мембран лизосом печени при охлаждении у крыс с различной устойчивостью к холоду / Т.Г. Северина // Сб. трудов молодых ученых Минск. мед. института. – Минск: МГМИ, 1998. – С. 208–214.

8. Северина, Т.Г. Влияние кофеина на активность лизосомных ферментов печени и устойчивость крыс к холоду / Т.Г. Северина // Сб. трудов молодых ученых Минск. мед. института – Минск: МГМИ, 2001. – С. 51–55.

9. Северина, Т.Г. Динамика активности кислой фосфатазы и кислых катепсинов лизосом печени при охлаждении крыс с различной устойчивостью к холоду / Т.Г. Северина // Стресс и висцеральные системы = Stress and Visceral Systems: материалы междунар. конф., НАН Беларуси, Ин-т физиологии, Минск, 13–14 окт. 2005 г., / ред. В.А. Кульчицкий, Л. Навратил, К. Мессленгер. – Минск, 2005. – С. 179–181.

10. **Северина, Т.Г.** Особенности активности лизосомных ферментов у крыс, устойчивых к холоду / **Т.Г. Северина** // Актуальные вопросы теоретической и практической медицины: материалы Респ. науч.-практ. конф., посвящ. 15-летию образования Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 1–2 декабря 2005 г., в 2 т. / сост. С.В.Жаворонок [и др.] – Гомель, 2005. – Т. 2. – С. 70–71.

11. **Северина, Т.Г.** Действие кофеина на температуру тела и активность лизосомных ферментов печени при охлаждении крыс, неустойчивых к холоду / **Т.Г. Северина** // Актуальные вопросы молекулярной эволюции и биохимии: материалы Респ. конф., посвящ. 75-летию со дня основания каф. общей химии БГМУ / под ред. Е.В. Барковского. – Минск, 2006. – С. 126–129.

12. **Северина, Т.Г.** Сравнение активности лизосомных ферментов у крыс с различной устойчивостью к холоду при одинаковой глубине гипотермии / **Т.Г. Северина** // Нейрогуморальные механизмы регуляции функций в норме и при патологии: сб. науч. ст. / отв. ред. В.Н. Гурин, В.Н. Калюнов, Д.М. Попутников. – Минск, 2007. – С. 206–210.

Тезисы докладов

13. **Северина, Т.Г.** Активность лизосомных ферментов у крыс с различной устойчивостью к холоду в динамике общего охлаждения организма / **Т.Г. Северина, А.И. Кубарко** // Эколого-физиологические проблемы адаптации: тез. докл. VII-го Всеросс. симпоз. – Москва, 1994. – С. 273.

14. **Северина, Т.Г.** Влияние кофеина на активность лизосомных ферментов и устойчивость к холоду у крыс в условиях общего охлаждения / **Т.Г. Северина** // IX съезд Белорус. о-ва физиологов: тез. докл., Минск, 5\6 сентября 1996 г. – Минск, 1996. – С. 94.

15. **Северина, Т.Г.** Динамика снижения ректальной температуры в процессе общего охлаждения крыс с различной устойчивостью к холоду / **Т.Г. Северина** // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 60-й науч. сессии сотрудников ун-та, посвящ. 60-летию Победы в Великой Отечественной войне. – Витебск: ВГМУ, 2005. – С. 297–299.

16. **Северина, Т.Г.** Влияние охлаждения на свободную активность лизосомных ферментов печени и температуру тела крыс в условиях действия кофеина / **Т.Г. Северина** // Механизмы функционирования висцеральных систем.: тез. докл. IV Всерос. конф. с междунар. участием, посвящ. 80-летию Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 4–6 окт. 2005 г. – СПб, 2005. – С. 217–218.

17. **Северина, Т.Г.** Влияние различных доз кофеина на температуру тела и активность лизосомных ферментов печени крыс в процессе охлаждения. / **Т.Г. Северина** // XI съезд Белорус. о-ва физиологов: тез. докл., Минск, 21–22 сент. 2006 г. – Минск, 2006. – С. 130.

18. **Северина, Т.Г.** Активность лизосомных ферментов печени и проницаемость мембран лизосом при охлаждении крыс с различной устойчивостью к холоду / **Т.Г. Северина** // Механизмы функционирования висцеральных систем.: тез. докл. V Всерос. конф. с междунар. участием, Санкт-Петербург, 16–19 окт. 2007 г. – СПб, 2007. – С. 285–286.

19. **Северина, Т.Г.** Активность лизосомных ферментов печени у крыс с различной устойчивостью к холоду при одинаковой глубине гипотермии / **Т.Г. Северина** // Механизмы функционирования висцеральных систем.: тез. докл. V Всерос. конф. с междунар. участием, Санкт-Петербург, 16–19 окт. 2007 г. – СПб, 2007. – С. 286–287.

РЭЗІЮМЭ

Северына Таццяна Генадзьеўна Актыўнасць лізасомных ферментаў печані і тэмпература цела пры вострай імерсійнай гіпатэрміі ў пацукоў, якія маюць розную ўстойлівасць да холаду

Ключавыя словы: вострая імерсійная гіпатэрмія, устойлівасць да холаду, актыўнасць лізасомных ферментаў, кафеін-бензаат натрыю.

Мэта работы: выявіць асаблівасці змянення актыўнасці лізасомных ферментаў печані і тэмпературы цела пры вострай імерсійнай гіпатэрміі ў устойлівых і няўстойлівых да холаду пацукоў і вызначыць магчымую сувязь паміж актыўнасцю лізасомных ферментаў і ўстойлівасцю жывёл да вострай гіпатэрміі.

Метады даследавання: фізіялагічныя, біяхімічныя.

Апаратура: эксперыментальная халадзільная камера, электратэрмометр ТПЭМ-1, гамагенізатар Поттэра-Эльвейема, цэнтрыфугі, спектрафатометр СФ-46, аналітычныя і тарсіённыя весы.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Устаноўлена, што ўстойлівыя да холаду пацукі пры ахаладжэнні, разам з падтрыманнем больш высокай тэмпературы цела, характарызуюцца больш нізкімі ўзроўнямі свабоднай і адноснай свабоднай актыўнасці лізасомных ферментаў печані, што сведчыць аб меншай пранікальнасці лізасомных мембран у параўнанні з пацукамі, няўстойлівымі да холаду. Больш нізкая пранікальнасць лізасомных мембран печані характэрна для ўстойлівых да холаду пацукоў таксама і пры аднолькавай глыбіні гіпатэрміі (тэмпературы цела 29–31°C): яны адрозніваюцца ад няўстойлівых да холаду пацукоў больш нізкай адноснай свабоднай актыўнасцю рада лізасомных ферментаў печані (кіслай фасфатазы, кіслых катэпсінаў D, B і ДНК-азы). У стане норматэрміі ўстойлівыя да холаду пацукі, у параўнанні з няўстойлівымі, характарызуюцца больш нізкай адноснай свабоднай актыўнасцю кіслай фасфатазы і β-галактазідазы ў печані, а таксама больш нізкай актыўнасцю кіслай фасфатазы ў сываратцы крыві.

Увядзенне няўстойлівым да холаду пацукам перад ахаладжэннем інгібітара фосфадыэстэразы кафеін-бензаата натрыю ў дозе 2,5 мг/кг прыводзіць да павышэння ўстойлівасці жывёл да холаду, што праяўляецца ў падтрыманні больш высокай тэмпературы цела пры ахаладжэнні, і да зніжэння пранікальнасці лізасомных мембран печані.

Галіна прымянення: навукова-даследчая дзейнасць, выкладанне нармальнай і паталагічнай фізіялогіі ў вышэйшых медыцынскіх навучальных установах.

РЕЗЮМЕ

Северина Татьяна Геннадьевна

Активность лизосомных ферментов печени и температура тела при острой иммерсионной гипотермии у крыс с различной устойчивостью к холоду

Ключевые слова: острая иммерсионная гипотермия, устойчивость к холоду, активность лизосомных ферментов, кофеин-бензоат натрия.

Цель работы: выявить особенности изменения активности лизосомных ферментов печени и температуры тела при острой иммерсионной гипотермии у устойчивых и неустойчивых к холоду крыс и установить возможную связь между активностью лизосомных ферментов и устойчивостью животного к острой гипотермии.

Методы исследования: физиологические, биохимические.

Аппаратура: экспериментальная холодильная камера, электротермометр ТПЭМ-1, гомогенизатор Поттера-Эльвейема, центрифуги, спектрофотометр СФ-46, аналитические и торсионные весы.

Полученные результаты и их новизна. Установлено, что устойчивые к холоду крысы при охлаждении, наряду с поддержанием более высокой температуры тела, характеризуются более низкими показателями свободной и относительной свободной активности лизосомных ферментов печени, что свидетельствует о меньшей проницаемости лизосомных мембран по сравнению с неустойчивыми к холоду животными. Более низкая проницаемость лизосомных мембран печени характерна для устойчивых к холоду крыс также и при одинаковой глубине гипотермии (температуре тела 29–31°C): они отличаются от неустойчивых к холоду крыс более низкой относительной свободной активностью ряда лизосомных ферментов печени (кислой фосфатазы, кислых катепсинов D, В и ДНК-азы). В состоянии нормотермии устойчивые к холоду животные, по сравнению с неустойчивыми, характеризуются более низкой относительной свободной активностью кислой фосфатазы и β -галактозидазы в печени, а также более низкой активностью кислой фосфатазы в сыворотке крови.

Введение неустойчивым к холоду крысам перед охлаждением ингибитора фосфодиэстеразы кофеин-бензоата натрия в дозе 2,5 мг/кг приводит к повышению устойчивости животных к холоду, что проявляется в поддержании более высокой температуры тела при охлаждении, и к снижению проницаемости лизосомных мембран печени.

Область применения: научно-исследовательская работа, преподавание нормальной и патологической физиологии в высших медицинских учреждениях образования.

SUMMARY

Severina Tatiana Gennadievna

The liver lysosomal enzymes activity and body temperature in cold-resistant and non-resistant rats under acute immersion hypothermia

Key words: acute immersion hypothermia, cold resistance, liver lysosomal enzymes activity, caffeine-sodium benzoate.

Research aim: to reveal the character of changes of liver lysosomal enzymes activities and of body temperature in cold-resistant and non-resistant rats under acute immersion hypothermia, and to find a possible link between lysosomal enzymes activities and the resistance of rats to acute hypothermia.

Research methods: physiological, biochemical.

Equipment: experimental refrigerating chamber, electric thermometer TPEM-1, Potter-Elvehjem homogenizer, centrifuges, spectrophotometer SF-46, analytical and torsion balance.

The received results and their novelty. It has been established that under immersion hypothermia cold-resistant rats are characterized, along with maintaining the higher body temperature, by lower values of free and relative free activity of the liver lysosomal enzymes; this indicates the lower permeability of liver lysosomal membranes as compared to rats non-resistant to cold. The lower permeability of liver lysosomal membranes is characteristic for cold-resistant rats, too, at approximately the same hypothermia level (body temperature 29–31°C): cold-resistant rats differ from non-resistant rats by lower values of relative free activity of a number of enzymes (acid phosphatase, acid cathepsins D, B, and DNA-ase). In the state of normothermia cold-resistant rats, as compared to non-resistant ones, are characterized by lower relative free activity of acid phosphatase and β -galactosidase in the liver, and by lower activity of acid phosphatase in blood serum.

Intraperitoneal injection of caffeine-sodium benzoate in a dose 2.5 mg/kg to rats non-resistant to cold prior the cooling results in increase of rats' cold resistance, which is expressed by maintaining the higher body temperature during cooling, and decreases their liver lysosomal membranes permeability.

Field of application: research scientific work, teaching of normal and pathological physiology in medical high schools.

Подписано в печать 28.04.12. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Zoom».
Печать ризографическая. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,28. Тираж 60 экз. Заказ 259.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».
ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.
ЛП № 02330/0150484 от 25.02.2009.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.