

УДК 616 – 089.583.29: 546.21) : 615.272.4

**ЭФФЕКТ КАРНИТИНА И L–АРГИНИНА НА
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ТКАНЕЙ
ПРИ ГЛУБОКОЙ ГИПОТЕРМИИ**

© 2003 г. Л. В. Дорохина, В. В. Зинчук

Цель данной работы изучить показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы тканей крыс в условиях глубокой гипотермии на фоне введения карнитина и L–аргинина, а также оценить эффект их совместного действия. Показано, что длительное предварительное введение карнитина сопровождается наименьшим истощением антиоксидантной защиты и оказывает выраженное ингибирующее действие на ПОЛ при охлаждении организма, совместное применение L–аргинина и карнитина имеет эффект аналогичный изолированному введению карнитина. Хроническое введение L–аргинина не оказывает протекторного действия при глубокой гипотермии.

Свободнорадикальный гомеостаз клеток и тканей обеспечивается согласованием между ферментативными и неферментативными системами генерации активных форм кислорода (АФК), с одной стороны, и системами их элиминации – с другой [7]. Глубокая гипотермия сопровождается смещением баланса в сторону избыточной генерации свободных радикалов и возникновением дефицита антиоксидантов, что, в свою очередь, оказывает существенное влияние на химический состав биологических мембран, их ультраструктурную организацию, проницаемость, активность мембранных ферментов [3]. Коррекция метаболических сдвигов при экстремальных воздействиях является актуальной проблемой. Ранее нами было показано, что введение L–аргинина непосредственно перед охлаждением снижает активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) крови и тканей при гипотермии [2]. Однако представляется значимым поиск других средств повышения холодовой устойчивости. Известно, что карнитин замедляет процессы ПОЛ, активирует утилизацию свободных жирных кислот, осуществляя их транспорт в митохондрии; в физиологических условиях повышает удельный вес окислительных путей ресинтеза АТФ, а при патологии тормозит падение уровня макроэргических фосфатов [4]. Цель данной работы изучить показатели ПОЛ и антиоксидантной системы (АС) тканей крыс в условиях глубокой гипотермии на фоне введения карнитина и L–аргинина, а также оценить эффект их совместного действия.

Материал и методы исследования. В наших исследованиях

гипотермия моделировалась в течение 90 минут путем контактного охлаждения крыс, предварительно наркотизированных нембуталом (50 мг/кг, в/б). Эксперименты выполнены на 58 крысах–самцах массой 200–250 г. 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 L–аргинин в дозе 500 мг/кг (n=9); 6–я – крысы, получавшие L–аргинин 500 мг/кг и подвергнутые глубокой гипотермии (n=8); 7–я – крысы, которым одновременно в/б вводились карнитин (200 мг/кг, 4 недели) и L–аргинин (500 мг/кг, 10 дней) и также подвергавшиеся охлаждению (n=9). Активность процессов липопероксидации в тканях (печень, почки, легкие, миокард) определялась по содержанию диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ). Состояние АС оценивалось по активности каталазы, содержанию α -токоферола в крови и тканях.

Результаты и их обсуждение. В контроле гипотермии ректальная температура снижалась до $23,0 \pm 0,25$ °С. У крыс, которым длительно вводили карнитин, также наблюдалось значительное уменьшение температуры до $23,9 \pm 0,16$ °С, однако это снижение было достоверно меньшим ($p < 0,01$) контроля гипотермии. У животных получавших L–аргинин, ректальная температура на 90–й минуте охлаждения не отличалась от контроля гипотермии. Показатели ПОЛ тканей (печень, почки, легкие, сердце) крыс представлены в таблицах 1 и 2, из которых следует, что развитие гипотермии сопровождается существенным повышением ДК и ОШ во всех исследуемых тканях, что свидетельствует об активации свободнорадикального окисления. В группе «карнитин + гипотермия» повышение ДК в тканях были достоверно наименее выраженные в печени – на 16,9% ($p < 0,01$), в ткани легких – на 15,0% ($p < 0,05$), в миокарде – на 20,8% ($p < 0,001$) относительно гипотермического контроля (табл. 1). Уровень ОШ в этой группе также меньше контроля гипотермии: в ткани печени на 17,1% ($p < 0,001$), в почках – на 15,6% ($p < 0,001$), в ткани легких – на 7,6% ($p < 0,05$), в миокарде – на 10,7% ($p < 0,01$) (табл.2). На основании анализа приведенных данных можно заключить, что введение карнитина угнетает процессы ПОЛ. Предварительное введение L–аргинина при гипотермии существенно не влияло на уровень ДК и ОШ исследуемых тканей по сравнению с контролем гипотермии. Аддитивное введение L–аргинина и карнитина при гипотермии характеризуется динамикой сходной с той, которую наблюдали в группе «карнитин + гипотермия». Глубокая гипотермия (2–я группа) приводит к существенному снижению количества α -токоферола

(рис. 1А) и активности каталазы (рис. 1Б) в тканях. Следует отметить, что введение карнитина приводило к меньшему истощению антиоксидантного потенциала на фоне гипотермии, так количество α -токоферола выше контроля гипотермии в почках – на 21,3% ($p<0,001$), в ткани легкого – на 7,3% ($p<0,05$), в миокарде – на 18,5% ($p<0,01$). Каталазная активность в этой группе тоже 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% ($p<0,01$). В группе длительно получавшей L-аргинин такой динамики не наблюдалось.

Защита от повреждения АФК направлена в первую очередь на утилизацию жирнокислотных и липидных гидропероксидов, как продуктов ПОЛ, стимулирующих свободнорадикальное окисление по принципу цепной реакции. Известно, что использование для противоишемической защиты головного мозга и миокарда в условиях искусственного кровообращения и гипотермии ингибиторов свободнорадикальных процессов, в том числе карнитина, оказывало благоприятный эффект [1]; установлено отчетливое преимущество карнитина в устранении проявлений острой сердечной недостаточности [4]; объективное улучшение при длительном применении L-карнитина наблюдалось у собаках с резкой формой дилатационной кардиомиопатии [6]. Отсутствие защитного эффекта при введении L-аргинина, возможно, объясняется быстрым снижением концентрации экзогенного L-аргинина вследствие его ускоренной утилизации, так как образующийся NO, обладает высокой химической активностью, и его свободные молекулы могут перехватываться различными эндогенными ловушками. В печени уровень L-аргинина остается повышенным только 30 минут после введения, а в плазме крови до 180 минут [5]. Результаты наших опытов показывают, что длительное предварительное введение карнитина сопровождается наименьшим истощением антиоксидантной защиты и оказывает выраженное ингибирующее действие на ПОЛ при охлаждении организма, совместное применение L-аргинина и карнитина имеет эффект аналогичный изолированному введению карнитина. Хроническое введение L-аргинина не оказывает протекторного действия при глубокой гипотермии.

Таблица 1

Содержание диеновых конъюгатов в тканях крыс при введении карнитина и L-аргинина в условиях глубокой гипотермии ($M\pm m$)

Группа	n	ДК, $\Delta A_{233}/$ г ткани			
		печень	почки	легкие	миокард
1.контроль	6	9,45 \pm 0,47	7,77 \pm 0,40	5,34 \pm 0,38	6,14 \pm 0,30

2.гипотермия	8	13,13±0,59*	10,19±0,28*	7,91±0,33*	9,27±0,38*
3.карнитин	9	9,79±0,30	8,54±0,22	5,29±0,28	6,67±0,24
4.карнитин+ гипотермия	9	10,91±0,29 *#	9,53±0,28*	6,72±0,43*#	7,34±0,28 *#
5.L–аргинин	9	9,95±0,34	7,98±0,24	5,46±0,19	6,41±0,33
6.L– аргинин+ гипотермия	8	13,02±0,59 *&	10,21±0,30*	7,70±0,43*	9,45±0,40 *&
7.L– аргинин+ карнитин+ гипотермия	9	11,06±0,40 *#Ψ	9,88±0,34*	7,04±0,42*	7,56±0,30 *#Ψ

Примечание: достоверные изменения показателей относительно группы контроля (*); группы гипотермии (#); группы «карнитин + гипотермия» (&); группы «L–аргинин + гипотермия» (Ψ).

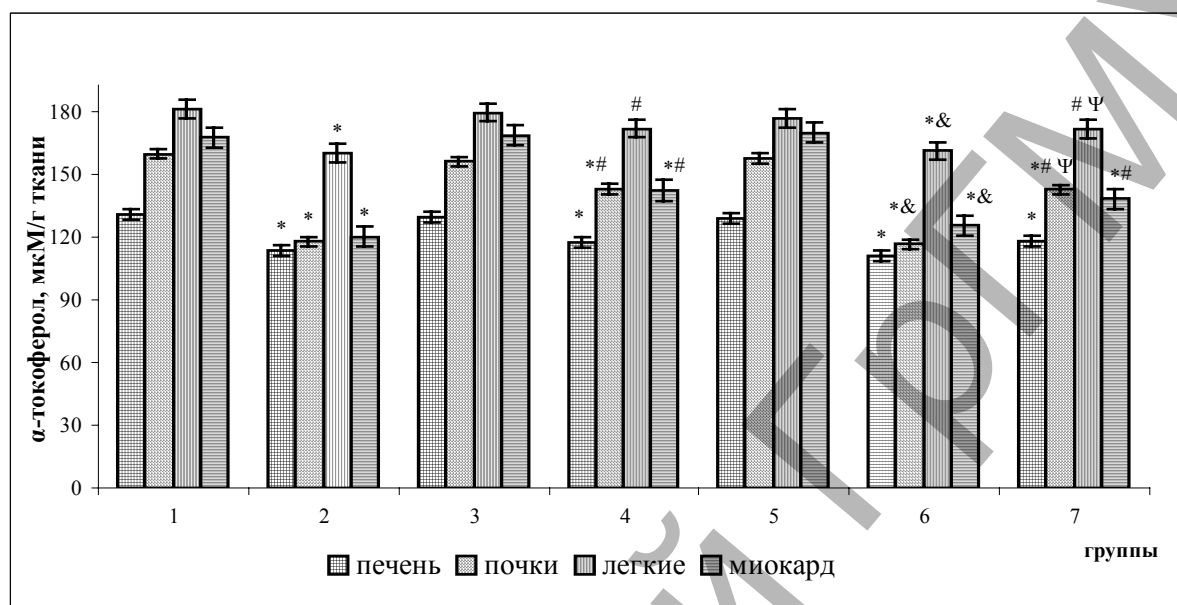
Таблица 2

Содержание оснований Шиффа в тканях крыс при введении карнитина и L–аргинина в условиях глубокой гипотермии (M±m)

Группа	n	ОШ, ед/ г ткани			
		печень	почки	легкие	миокард
1.контроль	6	187,08±5,52	138,17±2,31	213,70±6,49	178,61±5,52
2.гипотермия	8	291,26±3,26*	192,15±2,12*	271,17±4,43*	249,42±4,03*
3.карнитин	9	188,98±3,67	138,01±1,74	216,08±5,29	171,55±3,67
4.карнитин+ гипотермия	9	241,54±8,01*#	162,20±2,82*#	250,67±6,21*#	222,82±6,18*#
5.L–аргинин	9	187,59±3,87	137,66±1,87	212,61±6,06	176,03±4,21
6.L– аргинин+ гипотермия	8	276,19±4,79 *#&	185,81±3,92 *&	273,58±5,77 *&	251,94±3,57 *&
7.L– аргинин+ карнитин+ гипотермия	9	243,78±5,40 *#Ψ	162,48±1,79 *#Ψ	252,44±6,51*#Ψ	230,48±8,03 *Ψ

Примечание: достоверные изменения показателей относительно группы контроля (*); группы гипотермии (#); группы «карнитин + гипотермия» (&); группы «L-аргинин + гипотермия» (Ψ).

А



Б

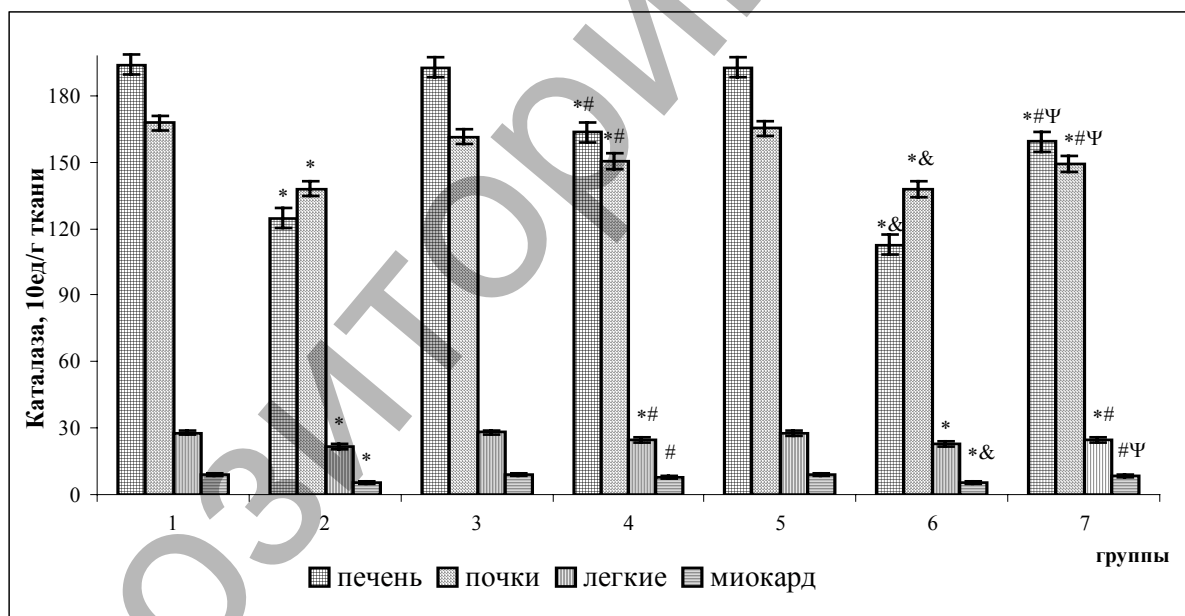


Рис. 1. Изменения показателей антиоксидантной системы (содержание α-токоферола – А и активность каталазы – Б) в тканях крыс при введении карнитина и L-аргинина в условиях глубокой гипотермии. **Примечание.** Группы: 1 – контроль (n=6); 2 – гипотермия (n=8); 3 – карнитин (n=9); 4 – карнитин + гипотермия (n=9); 5 – L-аргинин (n=9); 6 – L-аргинин+гипотермия (n=8); 7 – L-аргинин + карнитин + гипотермия (n=9).

достоверные изменения показателей относительно группы контроля (*); группы гипотермии (#); группы «карнитин + гипотермия» (&); группы «L-

аргинин + гипотермия» (Ψ).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л. А., Лобачева Г. В., Ваничкин А. В. и др. Противоишемическая защита головного мозга и миокарда после радикальной коррекции врожденных пороков сердца синего типа в условиях искусственного кровообращения и гипотермии с использованием ингибиторов свободнорадикальных процессов // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2000. – № 1. – С. 42–45.
2. 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.
3. Львова С. П., Горбунова Т. Ф., Абаева Е. М. Влияние гипотермии и даларгина на перекисное окисление липидов в тканях крыс // Вопр. мед. химии. – 1993. – Т. 39. – С. 21–24.
4. Симоненко В. Б., Тесля А. Н. Применение карнитина и солкосерила в комплексном лечении больных инфарктом миокарда пожилого и старческого возраста // Клиническая медицина. – 1998. – № 1. – С. 42–45.
5. Сныткина И. В., Смирнов В. Ю., Коноваленко О. В. и др. Влияние экзогенного L-аргинина на обмен углеводов и аминокислот // Материалы международной научной конференции «Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза». – 2000. – Ч. II. – С. 207–211.
6. Keene B. W. Pathogenesis of Canine Dilated Cardiomyopathy. Lecture: 4th Annual Congress. September 9–11. 1994, Brussels, Eur. Soc. of Vet. Inter. Med. (EVSIM).
7. Zinchuk V. V., Dorokhina L. V., Maltsev A. N. Prooxidant-antioxidant balance in rats under hypothermia combined with modified hemoglobin-oxygen affinity // J. Thermal Biology – 2002. – Vol. 27. – P. 345–352.

EFFECTS OF CARNITHINE AND L-ARGININE ON THE FREE RADICAL OXIDATION OF TISSUE LIPIDS DURING A DEEP HYPOTHERMIA

L. V. Dorokhina, V. V. Zinchuk

We aimed to study the parameters of lipid peroxidation (LPO) and antioxidant system during a deep hypothermia after the carnithine and L-arginine administration and to evaluate the combined effect of the two drugs. The prolonged previous carnithine administration was shown to be associated with the least exhaustion of antioxidant defense and with a prominent inhibition

of LPO during the body cooling. Combined effect of L-arginine and carnithine was similar to that of carnithine. Chronic L-arginine treatment had not a protective action during a deep hypothermia.

Grodno State Medical University
Republic of Belarus

Гродненский государственный медицинский университет
Республика Беларусь

Поступила в редакцию 28.06.03.

РЕПОЗИТОРИЙ ГРГМУ