

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК [612.127:577.125.33:577.352.38:612.59]-092.9

ГЛУТКИН
Сергей Викторович

КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ, ПРООКСИДАНТНО-
АΝТИОКСИДАНТНОЕ РАВНОВЕСИЕ ПРИ ОТОГРЕВАНИИ КРЫС
ПОСЛЕ ГИПОТЕРМИИ

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук
по специальности 03.00.13 – физиология

Минск, 2009

Работа выполнена в УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель:

Зинчук Виктор Владимирович,
доктор медицинских наук, профессор,
проректор по научной работе УО «Гродненский
государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты:

Лобанок Леонид Михайлович
доктор медицинских наук, член-корреспондент
НАН Беларуси, профессор кафедры нормальной
физиологии УО «Белорусский государственный
медицинский университет»

Солтанов Владимир Всееволодович,
доктор биологических наук, профессор, член-
корреспондент НАН Беларуси, заведующий
лабораторией физиологии афферентных систем
ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»

Оппонирующая организация: УО «Гомельский государственный
медицинский университет»

Защита состоится 11 декабря 2009 г. в 14⁰⁰ часов на заседании совета по
защите диссертаций Д 03.18.02 при УО «Белорусский государственный
медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83
(rector@bsmu.by, тел. 272-55-98).

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

Автореферат разослан « 10 » ноября 2009 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент

А.И. Герасимович

ВВЕДЕНИЕ

Одно из центральных мест в термофизиологии занимает проблема изучения восстановления физиологических функций после гипотермии гомойотермного организма [Иванов К.П., 1996; Brauer A. et al., 2006]. Оптимизация функционального состояния и работоспособности человека в условиях холодового воздействия внешней среды остается актуальной задачей гражданского и военного здравоохранения [Зарубина И.В. и др., 2008]. Восстановление физиологических функций охлажденного организма после различного рода несчастных случаев, катастроф, искусственной гипотермии – актуальная задача теоретической и прикладной медицины [Good K.K. et al., 2006; Hohlrieder M. et al., 2007; Seder D.B., Jarrah S., 2008; Gill B.S., Cox C.S., 2008; Kjaergaard B. et al., 2008]. В Беларусь ежегодно за медицинской помощью в связи с отморожением и общим переохлаждением обращаются 1,5-2,5 тысячи пострадавших, в годы с более холодными зимами – в 2-3 раза больше, а инвалидность при глубоких отморожениях колеблется от 15 до 62%, летальность достигает 4-6% [Стаховская С., 2009]. Одной из главных проблем развития гипотермии и последующего отогревания остаётся механизм кислородного обмена в переохлаждённом организме [Abdul-Khalil H. et al., 2001; Li J. et al., 2004]. При длительной гипотермии в организме наблюдаются серьёзные нарушения, возникновение которых связано с системой транспорта кислорода [Чуйкин А.Е., Федорова Т.Е., 1998]. При значительном падении температуры тела происходит дисбаланс между доставкой и потреблением кислорода. Существенная роль в этом принадлежит изменению сродства гемоглобина к кислороду, что приводит к нарушению газообмена, снижению сердечной деятельности, изменению режима деоксигенации гемоглобина в тканях и тем самым способствует уменьшению поступления кислорода в ткани [Чуйкин А.Е., Фёдорова Т.Е., 1992; Иванов К.П., 1996]. Одним из существенных механизмов повышения адаптационных ресурсов организма является адекватное снабжение тканей кислородом в восстановительный период после гипотермии, однако многие аспекты данной проблемы остаются неизученными.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами

Диссертация выполнена в рамках фундаментальной научно-исследовательской работы, проводимой на кафедре нормальной физиологии и в

Центральной научно-исследовательской лаборатории Гродненского государственного медицинского университета по теме: «Оценка нарушений механизмов транспорта кислорода кровью при постгипотермическом состоянии, разработка путей его коррекции» в соответствии с заключенным договором № Б07-023 от “1” апреля 2007 г. с Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (№ государственной регистрации 20072234 от 17.08.2007 г.).

Цель и задачи исследования

Цель – изучить изменения кислородтранспортной функции крови, L-аргинин-НО системы и прооксидантно-антиоксидантного равновесия при отогревании крыс после гипотермии, выявить на основе установленных закономерностей возможности коррекции развивающихся нарушений.

Задачи:

1. Изучить состояние кислородтранспортной функции крови, содержание оснований Шиффа, диеновых конъюгатов, α -токоферола, активность каталазы в тканях (легкие, печень, почки, сердце), уровень нитрат/нитритов в плазме при холодовом воздействии и последующем отогревании крыс.
2. Исследовать влияние веществ, изменяющих функционирование L-аргинин-НО системы (L-аргинин, метиловый эфир N^ω-нитро-L-аргинин, нитропруссид натрия), на кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние тканей при отогревании крыс после предварительной гипотермии.
3. Установить характер изменений кислородтранспортной функции крови, перекисного окисления липидов и факторов антиоксидантной защиты в тканях крыс (лёгкие, печень, почки, сердце) после введения мелатонина в различных дозах при гипотермии/отогревании крыс.
4. Изучить влияние эритропоэтина на механизмы транспорта кислорода кровью, уровень нитрат/нитритов, активность свободнорадикальных процессов в тканях крыс при пониженной температуре тела и последующем её восстановлении.
5. Оценить вклад L-аргинин-НО системы, мелатонина, эритропоэтина в адаптационные механизмы формирования кислородтранспортной функции крови и прооксидантно-антиоксидантного равновесия при отогревании крыс после их предварительного охлаждения.

В качестве объектов исследований использованы лабораторные крысы–самцы, смешанная венозная кровь, гомогенаты тканей (легких, печени, почек, сердца). Предмет исследования – кислородтранспортная функция крови, L-аргинин-НО система (нитрат/нитриты), процессы перекисного окисления

липидов (диеновые конъюгаты, основания Шиффа), факторы антиоксидантной защиты (α -токоферол, активность каталазы), ректальная температура.

Положения, выносимые на защиту

1. При отогревании животных (повышение температуры тела со скоростью $0,6\text{ }^{\circ}\text{C}/10$ минут) после снижения температуры тела до $28,4\pm0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 120 минут происходит активация свободнорадикальных процессов и уменьшение содержания факторов антиоксидантной защиты в тканях (лёгкие, печень, почки, сердце) и наблюдается смещение кривой диссоциации оксигемоглобина вправо относительно животных, подвергнутых холодовому воздействию.
2. Введение L-аргинина приводит к снижению сродства гемоглобина к кислороду при реальных значениях pH, pCO₂ и температуры, способствует уменьшению нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса (снижается содержание диеновых конъюгатов, оснований Шиффа и повышается уровень α -токоферола и активность каталазы в лёгких, печени, почках, сердце) при восстановлении температуры тела после её предварительного снижения.
3. Внутрибрюшинное введение мелатонина до охлаждения крыс обуславливает смещение кривой диссоциации оксигемоглобина вправо при реальных значениях pH, pCO₂ и температуры, а также снижение активности процессов перекисного окисления липидов, повышение содержания факторов антиоксидантного статуса при отогревании животных.
4. Введение эритропоэтина приводит к снижению сродства гемоглобина к кислороду при реальных значениях pH, pCO₂ и температуры, уменьшению нарушения прооксидантно-антиоксидантного равновесия путём уменьшения содержания продуктов перекисного окисления липидов, а также проявляет антиоксидантное действие в условиях отогревания крыс после гипотермии.

Личный вклад соискателя

Автор осуществлял анализ литературы по теме диссертации, разработку модели, непосредственное выполнение экспериментальной части работы, статистический анализ полученных данных, их обобщение и иллюстрирование, написание самой работы. Выполнение диссертационной работы соискатель проводил на базе кафедры нормальной физиологии и исследовательской группы по изучению газотранспортной функции крови Центральной научно-исследовательской лаборатории Гродненского государственного медицинского университета.

Апробация результатов диссертации

Результаты выполненных по теме диссертации исследований представлены и обсуждены на конференциях студентов и молодых учёных (Белосток, 2007, 2008; Витебск, 2008); конференциях, посвященных памяти профессора Г.В. Кулаго (Гродно, 2007), профессора В.Ч. Бржеского (Гродно, 2008), профессора Н.И. Аринчина (Гродно, 2009); республиканских и международных конференциях: «Молекулярная медицина и биохимическая фармакология» (Гродно, 2007), «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2007), «Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования» (Витебск, 2008), «Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций» (Минск, 2008), «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» (Москва, 2008); посвященной 50-летию УО «ГрГМУ» (Гродно, 2008), «Медико-биологические проблемы обеспечения спорта высших достижений (зимние виды спорта)» (Минск, 2009), «Фундаментальные и прикладные аспекты физиологии» (Гродно, 2009), а также на 7-м международном симпозиуме гепатологов Беларуси (Витебск, 2008), 16-м симпозиуме Ягеллонского медицинского исследовательского центра (Краков, 2008) и 2-м съезде физиологов СНГ (Кишинев, 2008).

Опубликованность результатов диссертации

Данные диссертации представлены в 11 статьях (4 – в рецензируемых журналах, 7 – в сборниках), 11 тезисах докладов (5 – на республиканских, 6 – на зарубежных конференциях и съездах). Общее количество публикаций – 22. Общий объём научных статей, опубликованных в рецензируемых журналах, составляет 2,2 авторских листа, других публикаций – 1,7 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа включает введение, общую характеристику работы, обзор литературы, главу – материал и методы исследования, три главы собственных исследований, главу, посвящённую анализу и обобщению результатов исследования, заключение, библиографический список, приложения. Общее количество страниц 152, рисунков 18 и таблиц 25. Список использованных источников включает 429 публикаций: 96 – русско- и 333 – англоязычных работ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Опыты проведены на 156 крысах-самцах массой 200-270 г. Животные содержались в условиях вивария с температурным режимом (21-23 °C

температура внешней среды) и контролируемым световым режимом (день 8⁰⁰-20⁰⁰, ночь 20⁰⁰-8⁰⁰). Они получали стандартный гранулированный корм и воду *ad libitum*. Все исследования проводили в первой половине дня и в условиях обезболивания животных.

Для проведения исследований использовали метод искусственной гипотермии с последующим отогреванием. Гипотермию создавали путем помещения животных в бокс в течение 120 минут при температуре воды 19 °С. Отогревание крыс осуществляли на протяжении последующих 120 минут со средней скоростью отогревания 0,6 °С/10 минут. Забор смешанной венозной крови из правого предсердия, а также органов и тканей (легкие, печень, почки, сердце) осуществляли у животных, подвергнутых только охлаждению, в конце холодового воздействия, в остальных группах – в конце периода отогревания. Выполнение манипуляций на животных проводили, руководствуясь положением комитета по биомедицинской этике УО «Гродненский государственный медицинский университет» (приказ ректора от 27.12.2006 г. № 125) по гуманному обращению с экспериментальными животными.

Для модификации L-аргинин-NO системы использовали: 1) донор монооксида оксида азота (NO) – нитропруссид натрия (НПН; Merck), 2) ингибитор NO-синтазы – метиловый эфир N^ω-нитро-L-аргинин (L-NAME; Sigma, St. Louis, MO), 3) субстрат синтеза NO – L-аргинин (Sigma, St. Louis, MO), которые вводили в наружную яремную вену через катетер в течение 60 минут (на 61-й-120-й минутах охлаждения) в объеме 1 мл. Животных разделили на 6 групп: 1-я получала 1 мл 0,9% натрия хлорид (NaCl) (контроль, n=8); 2-я – 0,9% NaCl + гипотермия (n=8); 3-я – 0,9% NaCl + гипотермия/отогревание (n=11); 4-я – НПН (50 мкг/кг) + гипотермия/отогревание (n=9); 5-я – L-NAME (40 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n=10); 6-я – L-аргинин (300 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n=8).

Мелатонин (Sigma), растворённый в 1% растворе этанола, вводили за 30 минут до холодового воздействия внутрибрюшинно в объеме 1 мл. В зависимости от способа введения мелатонина животных разделили на 6 экспериментальных групп: 1-я получала 1% раствор этанола (контроль, n=9); 2-я – 1% раствор этанола и подвергалась гипотермии с последующим отогреванием (n=8); в следующих группах животные также подвергались охлаждению и отогреванию, но предварительно получали мелатонин в дозе 0,1 (3-я, n=7), 1 (4-я, n=8), 10 мг/кг (5-я, n=8) однократно и 1 мг/кг (6-я, n=8) ежедневно в течение 4 суток.

Использовали эпокрин (рекомбинантный человеческий эритропоэтин (ЭПО), ГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепараторов», г. Санкт-Петербург). На протяжении 10 дней 1 раз в день с 7⁰⁰ - 7³⁰ часов утра крысам внутрибрюшинно вводили эпокрин в дозе 100

Ед/кг. Затем животных подвергали холодовому воздействию и последующему отогреванию. Животных разделили на 6 групп: 1-я получала 0,9% NaCl (контроль, n=9); 2-я – 0,9% NaCl + гипотермия (n=8); 3-я – 0,9% NaCl + гипотермия/отогревание (n=9); 4-я – животные, получавшие ЭПО (n=9); 5-я – ЭПО + гипотермия (n=9); 6-я – ЭПО + гипотермия/отогревание (n=10).

На газоанализаторе «Synthesis-15» (Instrumentation Laboratory) определяли парциальное напряжение кислорода (pO_2) и углекислого газа (pCO_2), насыщение крови кислородом (SO_2), количество гемоглобина (Hb) и метгемоглобина (metHb), концентрацию водородных ионов (pH), бикарбонат плазмы (HCO_3^-), общий углекислый газ плазмы (TCO₂), действительный избыток/недостаток оснований (ABE), стандартный избыток/недостаток оснований (SBE), стандартный бикарбонат (SBC). Показатель $p50$ – pO_2 крови, соответствующее 50% насыщению ее O₂, определяли методом «смешивания» [Scheid P., Meyer M., 1978] при стандартных условиях pH = 7,4, pCO_2 = 40 мм рт. ст. и температуры = 37 °C ($p50_{станд}$) и при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры ($p50_{реал}$). Построение кривых диссоциации оксигемоглобина (КДО) осуществляли с использованием уравнения Хилла.

Диеновые конъюгаты (ДК) определяли спектрофотометрически при длине волны 233 нм [Камышников В.С., 2002]. Основания Шиффа (ОШ) измеряли по методу Fletcher B.L. et al. [1973]. Для определения активности каталазы в гомогенатах тканей использовали метод Королюк М.А. и др. [1988]. Определение концентрации а-токоферола проводили спектрофлюорометрическим методом Черняускене Р.Ч. и др. [1984]. Содержание нитрат/нитритов в плазме крови измеряли с помощью реактива Грисса [Moshage H. et al., 1995].

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы «Statistica 6,0» и «Microsoft Excel 2003». Критический уровень значимости принимали $p<0,05$. Данные анализировали методами непараметрической статистики (Н-критерий Краскела-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни).

Основные результаты исследований и их обсуждение

Кислородтранспортная функция крови, прооксидантно-антиоксидантный баланс у крыс при гипотермии и последующем отогревании в условиях модификации L-аргинин-NO системы

У крыс в конце периода гипотермии ректальная температура составляет $28,5\pm0,2$ °C. После введения L-аргинина наблюдается наименьшее снижение ректальной температуры ($29,1\pm0,1$ °C, $p<0,05$), а её наиболее выраженное

падение происходит в группе, получившей НПН ($27,1 \pm 0,2$ °C, $p < 0,01$). В конце периода отогревания ректальная температура составляет $35,4 \pm 0,1$ °C. Наибольшая её величина в конце периода отогревания наблюдается у животных, получивших НПН ($35,8 \pm 0,1$ °C, $p < 0,05$) и L-аргинин ($36,2 \pm 0,1$ °C, $p < 0,001$).

У крыс 2-й группы (гипотермия) pH снижается до $7,238 \pm 0,01$ с $7,351 \pm 0,01$ ($p < 0,01$) в контроле, а значения АВЕ и СВЕ уменьшаются на 8,4 ($p < 0,001$) и 8,5 ммоль/л ($p < 0,001$), соответственно. По отношению к контролю уровень HCO_3^- , TCO_2 и СВС снижается у животных, подвергнутых холодовому воздействию, на 8,4 ($p < 0,001$), 8,4 ($p < 0,001$) и 6,2 ммоль/л ($p < 0,001$), соответственно. Характер изменения показателей кислотно-основного состояния при отогревании приближается к значениям контрольной группы, но отличается с параметрами 2-й группы. Введение L-аргинина + гипотермия/отогревание приводит к наибольшему увеличению pH до $7,358 \pm 0,01$ ($p < 0,01$), АВЕ – на 7,2 ($p < 0,001$), СВЕ – на 6,9 ($p < 0,001$), HCO_3^- – на 8,2 ($p < 0,001$), TCO_2 – на 7,8 ($p < 0,001$) и СВС – на 6,4 ммоль/л ($p < 0,001$), в сравнении с группой, подвергнутой только холодовому воздействию.

У крыс 2-й группы pO_2 и SO_2 снижается на 12,9 ($p < 0,01$) и 44% ($p < 0,001$), соответственно, в сравнении с контролем. Параметры КТФ крови при отогревании приближаются к исходным значениям, однако отличаются от соответствующих показателей 2-й группы. Введение L-аргинина приводит к повышению pO_2 на 14,4% ($p < 0,01$), а SO_2 на 64% ($p < 0,001$) по отношению к 2-й группе.

У крыс, подвергнутых только холодовому воздействию, p50станд повышается на 7,1% ($p < 0,01$), а p50реал уменьшается на 15,4% ($p < 0,001$) относительно контроля. Гипотермия и последующее отогревание животных повышает p50реал на 22,4% ($p < 0,001$) относительно группы гипотермия. Введение L-NAME во время охлаждения с последующим отогреванием снижает p50реал на 7,9% ($p < 0,01$) и p50станд на 10,6% ($p < 0,001$) относительно группы, подвергнутой гипотермии/отогреванию. Введение L-аргинина во время холодового воздействия и последующего отогревания приводит к повышению p50реал на 8,1% ($p < 0,01$) по отношению к группе гипотермия/отогревание.

Введение НПН и L-аргинина приводит к увеличению уровня нитрат/нитритов на 31,1 ($p < 0,001$) и 10,9% ($p < 0,05$), соответственно, относительно группы гипотермия/отогревание, тогда как инъекция L-NAME уменьшает данный уровень на 21,7% ($p < 0,001$).

В результате гипотермии содержание ДК и ОШ по отношению к контролю возрастает во всех исследуемых тканях: в легком – на 46 ($p < 0,001$) и 18% ($p < 0,001$), печени – на 34 ($p < 0,01$) и 25% ($p < 0,001$), почках – на 33 ($p < 0,001$) и 29% ($p < 0,001$), сердце – на 41 ($p < 0,001$) и 24% ($p < 0,001$),

соответственно. Повышение содержания данных параметров относительно контроля наблюдается в группе гипотермия/отогревание: в легком – на 42 (p<0,001) и 16% (p<0,001), печени – на 26 (p<0,01) и 29% (p<0,001), почках – на 27 (p<0,01) и 21% (p<0,001), сердце – на 32 (p<0,001) и 22% (p<0,001), соответственно. Введение L-аргинина в период гипотермии приводит к снижению содержания ДК и ОШ при отогревании животных во всех тканях относительно группы гипотермия/отогревание: в легких – на 20 (p<0,01) и 8% (p<0,01), печени – на 14 (p<0,01) и 19% (p<0,001), почках – на 10 (p<0,05) и 10% (p<0,01), сердце – на 14 (p<0,01) и 17% (p<0,001), соответственно. Введение НПН сопровождается увеличением уровня ДК в печени – на 12% (p<0,01), почках – на 21% (p<0,01), содержания ОШ в почках на 8% (p<0,01), а L-NAME приводит к повышению ДК в печени на 8% (p<0,01), в сравнении с группой гипотермия/отогревание.

Гипотермия приводит к снижению активности каталазы в тканях в сравнении с контролем: в печени – на 25% (p<0,001), почках – на 19% (p<0,01), сердце – на 27% (p<0,05). Последующее отогревание животных также уменьшает активность фермента: в печени – на 19% (p<0,001), почках – на 12% (p<0,05). Инъекция L-аргинина приводит к повышению активности каталазы в печени – на 18% (p<0,001), почках – на 11% (p<0,05), сердце – на 47% (p<0,05), а введение НПН увеличивает данный параметр в легком – на 49% (p<0,05), сердце – на 47% (p<0,05) в сравнении с животными группы гипотермия/отогревание. В то же время введение L-NAME не приводит к изменению каталазной активности по отношению к 3-й группе (гипотермия/отогревание).

В группах гипотермия и гипотермия/отогревание происходит снижение уровня α-токоферола относительно контроля во всех исследуемых тканях: в легких – на 26 (p<0,001) и 17% (p<0,001), печени – на 17 (p<0,001) и 16% (p<0,001), почках – на 13 (p<0,001) и 11% (p<0,001), сердце – на 16 (p<0,001) и 17% (p<0,001). Введение L-аргинина приводит к увеличению содержания данного антиоксиданта в период отогревания животных относительно группы гипотермия/отогревание: в легких – на 13% (p<0,001), печени – на 32% (p<0,001), почках – на 24% (p<0,001), сердце – на 16% (p<0,001). Введение НПН и L-NAME характеризуется более высокой концентрацией α-токоферола в печени, почках, сердце в сравнении с группой гипотермия/отогревание.

Увеличение уровня ДК и ОШ, уменьшение содержания α-токоферола и активности каталазы в гомогенатах тканей указывает на нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия как после гипотермии, так и после периода отогревания крыс. Отогревание после гипотермии не восстанавливает прооксидантно-антиоксидантное равновесие, что указывает на невозможность организма самостоятельно компенсировать данные изменения.

Внутривенное введение L-аргинина в дозе 300 мг/кг приводит к снижению сродства гемоглобина к кислороду и активности процессов перекисного окисления липидов (снижение содержания ДК и ОШ), а также повышению антиоксидантной защиты за счёт повышения активности каталазы и содержания α -токоферола в легких, печени, почках, сердце.

Кислородтранспортная функция крови, прооксидантно-антиоксидантное равновесие при гипотермии с последующим отогреванием крыс после введения мелатонина

Введение мелатонина с последующей гипотермией и отогреванием сопровождается изменением параметров кислородтранспортной функции крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса.

После введения мелатонина в больших дозах (однократно 1, 10 мг/кг, и в течение 4 дней 1 мг/кг) наблюдается выраженное снижение ректальной температуры ($29,1 \pm 0,2$ ($p < 0,05$), $29,2 \pm 0,2$ ($p < 0,01$), $29,2 \pm 0,2$ °C ($p < 0,05$), соответственно). Наибольшая величина температуры в конце периода отогревания наблюдается у животных, получивших мелатонин в дозе 1 и 10 мг/кг (однократно), и 1 мг/кг (четырёхкратно).

Однократное введение мелатонина в дозе 1 и 10 мг/кг приводит к повышению pO_2 (на 3,2 ($p < 0,001$), и 3,0 мм рт. ст. ($p < 0,001$), соответственно) и SO_2 (на 6,0 ($p < 0,001$) и 3,8% ($p < 0,05$), соответственно) по отношению к группе, подвергнутой гипотермии и отогреванию. Мелатонин в дозе 1 мг/кг в течение четырех дней повышает pO_2 на 3,0 мм рт. ст. ($p < 0,001$) относительно группы, подвергнутой и охлаждению, и отогреванию.

Однократное введение мелатонина в дозе 0,1 мг/кг существенно не изменяет величину $p50\text{станд}$ и $p50\text{реал}$, а в дозах 1 и 10 мг/кг увеличивает $p50\text{реал}$ на 2,1 ($p < 0,05$) и 3,3 мм рт. ст. ($p < 0,01$), соответственно. Этот эффект наиболее выражен после длительного введения мелатонина (на протяжении четырех дней): $p50\text{станд}$ увеличивается на 5,4% ($p < 0,05$), а $p50\text{реал}$ – на 12,9% ($p < 0,001$) по отношению к группе гипотермия/отогревание.

После введения мелатонина однократно 1 мг/кг уровень нитрат/нитритов повышается на 15,3% ($p < 0,01$), после четырёхкратной инъекции 1 мг/кг мелатонина – на 29,3% ($p < 0,001$), а наибольшее увеличение – после однократного введения в дозе 10 мг/кг (на 41,3% ($p < 0,001$)) по отношению к группе гипотермия/отогревание.

Введение мелатонина в дозе 0,1 мг/кг снижает содержание ДК в почках на 20,6% ($p < 0,05$), легких – на 22,2% ($p < 0,01$) в сравнении с группой гипотермия/отогревание. Относительно группы гипотермия с последующим отогреванием введение однократно 1 и 10 мг/кг, а также 1 мг/кг мелатонина в

течение четырех дней уменьшает уровень данного показателя во всех исследуемых тканях: печени, почках, легких, сердце (таблица).

Таблица – Содержание диеновых конъюгатов в гомогенатах тканей крыс при гипотермии и последующем отогревании после введения различных доз мелатонина ($\bar{x} \pm S_x$)

Параметры		Контроль	Гипотермия/ отогревание	Мелатонин (0,1 мг/кг) + гипотермия/ отогревание	Мелатонин (1 мг/кг) + гипотермия/ отогревание	Мелатонин (10 мг/кг) + гипотермия/ отогревание	Мелатонин (четырехкратно 1 мг/кг) + гипотермия/ отогревание
Число животных		9	8	7	8	8	8
ДК, Ед/г	печень	8,97 $\pm 0,86$	11,50 $\pm 0,37$ *	10,46 $\pm 0,62$	7,13 $\pm 0,29$ #	6,55 $\pm 0,59$ #	8,46 $\pm 0,67$ #
	почки	7,80 $\pm 0,76$	10,50 $\pm 0,68$ *	8,34 $\pm 0,61$ #	7,20 $\pm 0,56$ #	5,43 $\pm 0,50$ * #	7,08 $\pm 0,73$ #
	легкие	7,29 $\pm 0,69$	10,40 $\pm 0,49$ *	8,09 $\pm 0,55$ #	5,68 $\pm 0,49$ #	4,60 $\pm 0,67$ * #	7,25 $\pm 0,70$ #
	сердце	7,67 $\pm 0,69$	10,53 $\pm 0,69$ *	10,80 $\pm 0,51$ *	7,63 $\pm 0,57$ #	5,23 $\pm 0,57$ * #	7,68 $\pm 0,62$ #

Примечание: * – достоверные изменения относительно группы контроля; # – достоверные изменения относительно группы гипотермия/отогревание.

Мелатонин в дозе 0,1 мг/кг снижает концентрацию ОШ в печени на 6,5% ($p<0,01$), легких – на 5,9% ($p<0,01$), сердце – на 8,3% ($p<0,001$) по отношению к группе гипотермия с последующим отогреванием. Введение мелатонина в дозе 1 мг/кг также уменьшает уровень данного параметра в исследуемых тканях. Наиболее выраженное снижение количества ОШ во всех исследуемых тканях по отношению к группе гипотермия/отогревание происходит после введения 10 мг/кг мелатонина: в печени на 21,3% ($p<0,001$), почках – на 22,4% ($p<0,001$), легких – на 24,8% ($p<0,001$), сердце – на 22,9% ($p<0,001$). Уменьшение их значений наблюдается также и после введения мелатонина (1 мг/кг) в течение 4 дней относительно группы, подвергнутой гипотермии и отогреванию: в печени на 18,1% ($p<0,001$), почках – на 15,2% ($p<0,001$), легких – на 17,2% ($p<0,001$), сердце – на 14,7% ($p<0,001$).

Однократное введение мелатонина 1 мг/кг увеличивает содержание α-токоферола по сравнению с группой гипотермия/отогревание: в легких – на 16,3% ($p<0,001$), сердце – на 7% ($p<0,05$). Инъекция мелатонина в дозе 10 мг/кг

приводит к наиболее выраженному повышению уровня данного фактора антиоксидантной защиты во всех тканях по отношению к животным, подвергнутых холодовому воздействию и последующему отогреванию: в печени – на 12,3% ($p<0,05$), почках – на 19,5% ($p<0,001$), легких – на 13,9% ($p<0,01$), сердце – на 16,1% ($p<0,001$). В то же время введение мелатонина на протяжении 4 дней приводит к снижению концентрации α -токоферола: в легких – на 11,4% ($p<0,01$), сердце – на 10,4% ($p<0,01$) относительно группы гипотермия/отогревание.

По отношению к группе гипотермия/отогревание однократное внутрибрюшинное введение мелатонина в дозе 1 мг/кг приводит к увеличению активности каталазы во всех исследуемых тканях: в печени – на 22,1% ($p<0,001$), почках – на 12,8% ($p<0,05$), легких – на 29,1% ($p<0,01$), сердце – на 14,7% ($p<0,05$), а в дозе 0,1 мг/кг увеличивает её только в печени на 15,6% ($p<0,05$). Введение однократно 10 мг/кг мелатонина повышает ее активность: в почках на 35,5% ($p<0,05$), легких – на 38,4% ($p<0,001$), сердце – на 36,9% ($p<0,001$) относительно группы гипотермия/отогревание. Инъекция мелатонина в течение четырех дней повышает каталазную активность по отношению к животным, подвергнутых холодовому воздействию и последующему отогреванию, в печени на 26,5% ($p<0,001$), почках – на 36,9% ($p<0,001$), легких – на 42,0% ($p<0,001$), сердце – на 43,6% ($p<0,001$).

Введение мелатонина обуславливает смещение КДО вправо, что способствует повышению потока O_2 к тканям. Введение мелатонина благоприятствует более медленному снижению ректальной температуры крыс в период холодового воздействия, улучшению восстановления ее к исходному значению. Его введение приводит к снижению активности процессов перекисного окисления липидов (уровень ДК и ОШ), повышению антиоксидантной защиты организма (содержание α -токоферола, активность каталазы), что отражает способность мелатонина проявлять антиоксидантные свойства.

Кислородтранспортная функция крови, прооксидантно-антиоксидантное состояние крыс при гипотермии с последующим отогреванием после введения эритропоэтина

Наименьшее снижение ректальной температуры при холодовом воздействии наблюдается в группах, получивших ЭПО. В конце периода отогревания в группе гипотермия/отогревание значение ректальной температуры составляет $35,6\pm0,1$ °C, а после введения ЭПО её значение выше на 0,7 °C ($p<0,01$).

Введение ЭПО приводит к увеличению количества Нв во всех группах.

Значение рН крови снижается с $7,352 \pm 0,01$ в контроле до $7,243 \pm 0,01$ ($p < 0,001$) в группе гипотермия и до $7,220 \pm 0,01$ ($p < 0,001$) в группе ЭПО + гипотермия. Происходит снижение значения АВЕ в этих же группах (на 7,0 ($p < 0,001$) и 9,0 ммоль/л ($p < 0,001$), соответственно) по отношению к контролю ($4,5 \pm 0,71$ ммоль/л). Уменьшение содержания HCO_3^- на 6,7 ($p < 0,01$), TCO_2 – на 6,8 ($p < 0,01$) и SBC – на 2,4 ммоль/л ($p < 0,05$) наблюдается у животных, подвергнутых холодовому воздействию, относительно контроля.

По отношению к контролю в группе гипотермия pO_2 снижается на 4,4 мм рт. ст. ($p < 0,01$) и уменьшается SO_2 на 19,8% ($p < 0,001$), а после введения ЭПО и последующего охлаждения крыс SO_2 снижается на 16,1% ($p < 0,001$). Отогревание животных приводит к увеличению pO_2 на 3,1 мм рт. ст. ($p < 0,05$) и снижению SO_2 на 15,6% ($p < 0,001$) по отношению к группе гипотермия. Введение ЭПО животным, не подвергнутым температурному влиянию, приводит к уменьшению SO_2 на 8,3% ($p < 0,01$), в сравнении с контролем.

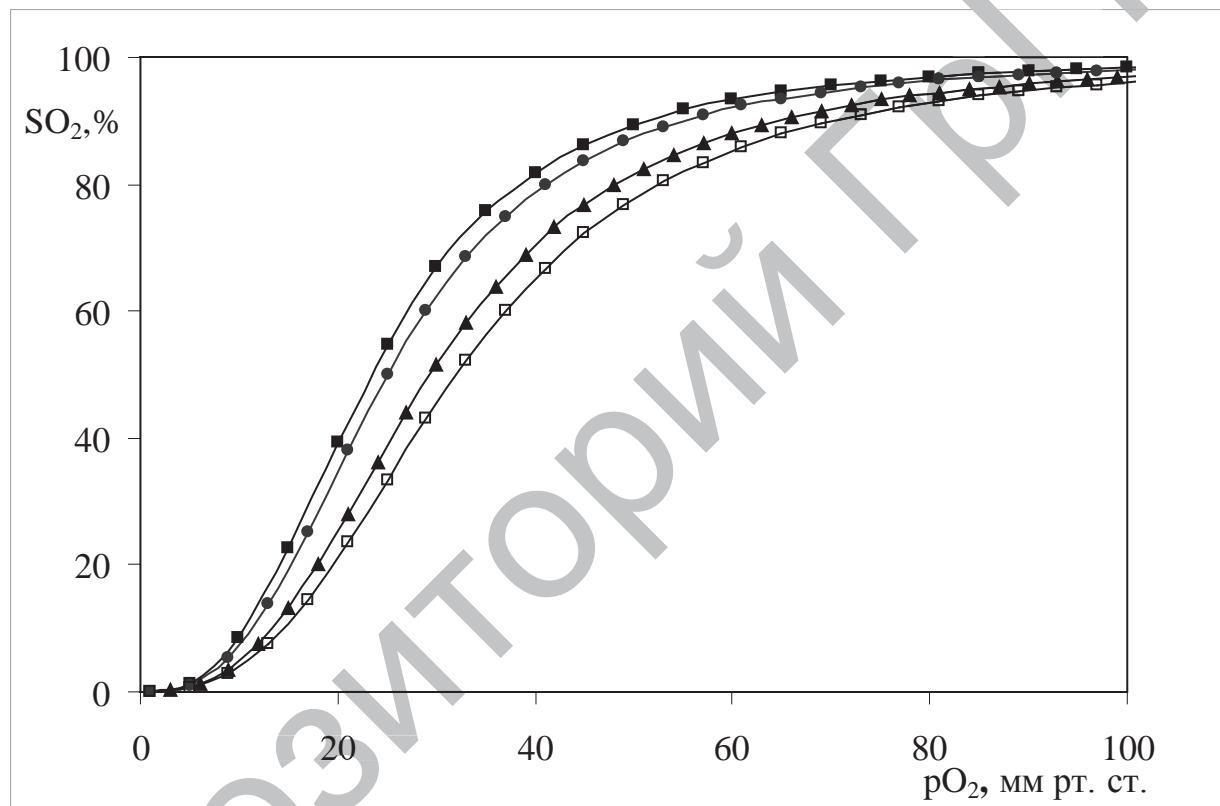
Введение ЭПО группе животных, которые не подвергались температурным воздействиям, сопровождается увеличением p50станд на 3,9 ($p < 0,01$) и p50реал – на 3,8 мм рт. ст. ($p < 0,01$), в сравнении с контролем. В группе гипотермия p50реал снижается на 7,6 мм рт. ст. ($p < 0,001$) относительно контроля. Гипотермия и последующее отогревание крыс повышает p50реал на 6,1 мм рт. ст. ($p < 0,001$) по отношению группе гипотермия, что свидетельствует о сдвиге КДО вправо. Введение ЭПО и последующее охлаждение приводят к повышению значения p50реал на 1,7 мм рт. ст. ($p < 0,05$), в сравнении с группой гипотермия (рисунок). В группе ЭПО + гипотермия/отогревание p50реал увеличивается на 8,7 ($p < 0,001$) относительно второй группы и повышается на 2,6 мм рт. ст. ($p < 0,05$) по отношению к животным, подвергнутых холодовому воздействию и последующему отогреванию, отражая смещение положения КДО вправо (рисунок).

Уровень нитрат/нитритов у животных, получивших ЭПО, увеличивается на 18,8% ($p < 0,05$) в сравнении с контролем. В группе ЭПО + гипотермия данный параметр повышается на 10,3% ($p < 0,05$) по отношению к группе гипотермия. Содержание нитрат/нитритов возрастает с $15,23 \pm 0,33$ в группе гипотермия/отогревание до $22,39 \pm 2,02$ мкмоль/л ($p < 0,01$) у животных, получивших ЭПО и подвергнутых охлаждению и отогреванию.

Инъекции ЭПО снижают содержание ДК как в период холодового воздействия, так и при последующем отогревании: в легких – на 31,5 ($p < 0,05$) и 22,8% ($p < 0,05$), печени – на 42,6 ($p < 0,05$) и 17,0% ($p < 0,05$), почках – на 35,6 ($p < 0,05$) и 40,8% ($p < 0,05$), сердце – на 32,0 ($p < 0,05$) и 25,0% ($p < 0,05$), соответственно. Введение ЭПО животным снижает концентрацию ОШ в гомогенатах после холодового воздействия и после холодового воздействия/отогревания: в легких – на 12,2 ($p < 0,05$) и 10,6% ($p < 0,05$), печени –

на 11,7 ($p<0,05$) и 14,6% ($p<0,05$), почках – на 15,3 ($p<0,05$) и 7,7% ($p<0,05$), сердце – на 12,3 ($p<0,05$) и 7,5% ($p<0,05$), соответственно.

В группе животных, получивших ЭПО и подвергнутых холодовому воздействию, активность каталазы выше, чем у крыс группы гипотермии: в легких – на 29,2% ($p<0,05$), печени – на 23,3% ($p<0,05$), почках – на 20,3% ($p<0,05$), сердце – на 23,1% ($p<0,05$). Активность фермента увеличивается и у животных, получивших ЭПО и подвергнутых гипотермии и отогреванию, в сравнении с группой гипотермия/отогревание: в легких – на 32,2% ($p<0,05$), печени – на 22,6% ($p<0,05$), почках – на 13,7% ($p<0,05$), сердце – на 24,8% ($p<0,05$).



Примечание: гипотермия (■), эритропоэтин + гипотермия (●), гипотермия/отогревание (▲), эритропоэтин + гипотермия/отогревание (□).

Рисунок – Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH, pCO₂ и температуры в условиях гипотермии и последующего отогревания крыс после предварительного введения эритропоэтина

Концентрация α-токоферола в тканях крыс, получивших ЭПО и подвергнутых холодовому воздействию, выше, чем у животных группы гипотермии: в легких – на 30,7% ($p<0,001$), печени – на 9,2% ($p<0,05$), почках – на 19,4% ($p<0,01$), сердце – на 26,1% ($p<0,001$). Введение ЭПО крысам с

последующим охлаждением и отогреванием характеризуется более высоким уровнем α -токоферола, в сравнении с группой гипотермия/отогревание: в легких – на 32,0% ($p<0,05$), печени – на 22,3% ($p<0,05$), почках – на 20,8% ($p<0,05$), сердце – на 18,6% ($p<0,05$).

Введение ЭПО животным, не подвергнутым температурным воздействиям, приводит к снижению уровня ДК в легких – на 17,7% ($p<0,05$), печени – на 34,8% ($p<0,05$), увеличению α -токоферола в почках на 6,7% ($p<0,05$).

Полученные данные показывают, что введение ЭПО приводит к увеличению значения $p50$ при реальных значениях рН, pCO_2 и температуры у животных, подвергнутых холодовому воздействию и последующему отогреванию; обуславливает наименьший дисбаланс прооксидантно-антиоксидантного равновесия в период отогревания крыс. ЭПО снижает содержание продуктов перекисного окисления липидов (ДК, ОШ) в тканях (легкие, печень, почки, сердце), оказывает антиоксидантное действие, судя по уровню α -токоферола и активности каталазы, при гипотермии/отогревании.

Изменение кислородтранспортной функции крови, L-аргинин-NO системы и прооксидантно-антиоксидантного равновесия при гипотермии и последующем отогревании в условиях целенаправленной коррекции может быть использовано для повышения адаптационных возможностей организма к действию низкой температуры внешней среды и отогреванию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

Полученные результаты расширяют представления об изменениях кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса в условиях отогревания организма после холодового воздействия, о роли в этих процессах L-аргинин-NO системы, мелатонина и эритропоэтина. Основные экспериментальные данные проведённой работы представлены в следующих выводах:

1. У крыс, подвергнутых холодовому воздействию в течение 120 минут (снижение ректальной температуры до $28,4\pm0,2$ °C) и последующему отогреванию продолжительностью 120 минут (средняя скорость отогревания 0,6 °C/10 минут) происходит изменение кислородтранспортной функции крови, рост концентрации нитрат/нитритов в плазме и нарушение параметров прооксидантно-антиоксидантного равновесия в тканях: легкие, печень, почки, сердце, относительно охлаждённых животных [13, 14, 18].

2. Применение L-аргинина (внутривенно в течение 60 минут в дозе 300 мг/кг от начала гипотермии и последующего повышения температуры тела крыс) приводит к повышению р50 на 8,1% ($p<0,01$) при реальных значениях pH, pCO₂ и температуры, снижению уровня диеновых конъюгатов и оснований Шиффа (наиболее значимо в легких и в печени, соответственно), увеличению активности каталазы и уровня α-токоферола (наиболее выражено в сердце и в печени, соответственно). В то время как коррекция L-аргинин-NO системы донором NO (нитропруссид натрия) и неселективным ингибитором NO-синтазы (метиловый эфир N^ω-нитро-L-аргинин) не оказывает существенного эффекта на кислородтранспортную функцию крови и антиоксидантный статус организма при этом состоянии [5, 6, 12, 13, 16, 17, 19, 20, 21].
3. Внутрибрюшинное введение мелатонина (по 1 и 10 мг/кг однократно и по 1 мг/кг в течение четырех суток) перед холодовым воздействием и последующим отогреванием приводит к улучшению транспорта кислорода в ткани, смещению кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH, pCO₂ и температуры вправо (р50 увеличивается на 7,0 ($p<0,05$), 10,9 ($p<0,01$) и 12,9% ($p<0,001$), соответственно, для указанных доз), а также снижению активности процессов перекисного окисления липидов (судя по уровню диеновых конъюгатов и оснований Шиффа), усилию антиоксидантной защиты (α-токоферол, активность каталазы) [1, 3, 8, 9, 10, 11, 14].
4. Эритропоэтин, вводимый в дозе 100 ЕД/кг в течение 10 суток, у крыс, подвергнутых охлаждению и последующему отогреванию, улучшает процессы транспорта кислорода крови не только через увеличение количества гемоглобина, но и путём снижения его сродства к кислороду (значение р50 повышается при реальных значениях pH, pCO₂ и температуры на 2,6 мм рт. ст., $p<0,05$), а также обуславливает антиоксидантный эффект: снижает содержание диеновых конъюгатов и оснований Шиффа (наиболее выражено в печени и почках, соответственно), увеличивает активность каталазы и содержание α-токоферола (наиболее значительно в легких) [2, 7, 22].
5. Использование L-аргинина, мелатонина и эритропоэтина способствует восстановлению температуры тела после гипотермии, увеличивает концентрацию нитрат/нитритов в плазме крови крыс, что свидетельствует об усилении адаптационных реакций к действию данного холодового воздействия, реализуемых через NO-зависимые механизмы формирования кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса. Направленное воздействие данными средствами на кислородтранспортную функцию крови, L-аргинин-NO систему, факторы

антиоксидантной защиты через взаимосопряжённые процессы уменьшает степень нарушений, возникающих при действии низкой температуры внешней среды и последующем отогревании [1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 21].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Результаты экспериментальных исследований могут быть использованы для разработки методов оценки нарушений, развивающихся в организме при гипотермии и последующем отогревании, а также в кардиохирургии, трансплантологии и реабилитации пострадавших от переохлаждения.

Полученные экспериментальные данные о генезе нарушений, возникающих при отогревании, позволяют обосновать новые способы коррекции этих нарушений, улучшить качество медикаментозной терапии постгипотермических состояний путём применения L-аргинина, мелатонина и эритропоэтина, которые модулируют кислородтранспортную функцию крови, L-аргинин-NO систему и прооксидантно-антиоксидантное состояние (Зинчук В.В, Глуткин С.В., рационализаторские предложения: «Способ повышения резистентности организма к действию холода» № 1508 от 04.12.2008 г., «Способ уменьшения повреждений, вызванных действием низкой температуры» № 1504 от 04.12.2008 г.).

Результаты, полученные в процессе исследований, а также сформулированные на их основе выводы внедрены в учебно-практическую и научную работу на кафедрах нормальной физиологии ГрГМУ и БГМУ, зоологии и физиологии человека и животных ГрГУ им. Янки Купалы, ГУ НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларусь», ГНУ «Институт физиологии НАН Беларусь» (8 актов внедрения).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах

1. Hlutkin, S. Effect of melatonin on the blood oxygen transport during hypothermia and rewarming in rats / S. Hlutkin, V. Zinchuk // Adv. Med. Sci. – 2008. – Vol. 53, № 2. – P. 234-239.
2. Глуткин, С.В. Эффект эпокрина на прооксидантно-антиоксидантное равновесие при гипотермии и отогревании / С.В. Глуткин // Журнал ГрГМУ. – 2008. – № 4. – С. 33-37.
3. Зинчук, В.В. Влияние мелатонина на прооксидантно-антиоксидантное равновесие в условиях холодового воздействия с последующим отогреванием крыс / В.В. Зинчук, С.В. Глуткин // Рос. физiol. журнал им. И.М. Сеченова – 2008. – Том 94, № 12. – С. 1435-1442.
4. Глуткин, С.В. Кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное равновесие при холодовом воздействии в последующем отогревании в условиях коррекции / С.В. Глуткин, В.В. Зинчук // Журнал ГрГМУ. – 2009. – № 2. – С. 24-27.

Статьи в сборниках и материалы конференций

5. Глуткин, С.В. Прооксидантно-антиоксидантное равновесие при холодовом воздействии и последующем отогревании крыс в условиях коррекции L-аргинин-НО системы / С.В. Глуткин, В.В. Зинчук, А.В. Глуткин // Молекулярная медицина и биохимическая фармакология: материалы Республиканской научной конференции, Гродно, 28-29 июня 2007 г. / ГУ НПЦ “Инст. фарм. и биох. НАН Беларуси”, редкол.: В.У. Буко [и др.]. – Гродно, 2007. – С. 43-48.
6. Глуткин, С.В. Механизмы транспорта кислорода у крыс при действии холода и последующего отогревания в условиях их коррекции / С.В. Глуткин, В.В. Зинчук // Нейрогуморальные механизмы регуляции функций в норме и патологии: сб. научн. ст./ Инст. Физиол. НАН Беларуси; научн. ред. В.Н. Гурин [и др.]. – Минск, 2007. – С. 63-66.
7. Зинчук, В.В. Сигнальные механизмы регуляций кислородтранспортной функции при холодовом воздействии с последующим отогреванием / В.В. Зинчук, С.В. Глуткин // Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций: сб. науч. ст. / редкол.: В.В. Лысак [и др.]. – Минск: РИВШ, 2007. – С. 98-100.
8. Глуткин, С.В. Эффект мелатонина на окислительное повреждение при холодовом воздействии / С.В. Глуткин, В.В. Зинчук, Л.В. Дорохина //

Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: материалы V международной научно-практической конференции, Витебск, 22-23 мая 2008 г. / Витеб. гос. мед. ун-т; редкол.: Сидоренко Г.И. [и др.]. – Витебск, 2008. – С. 60-63.

9. Зинчук, В.В. Мелатонин и кислородтранспортная функция крови / В.В. Зинчук, С.С. Глуткин, Е.В. Шульга, И.Э. Гуляй // Функциональные системы организма в норме и при патологии: сб. науч. тр. / под ред. В.С. Улащика, А.Г. Чумака. – Минск, 2008. – С. 391-394.

10. Глуткин, А.В. Влияние мелатонина на кислородзависимые процессы в условиях холодового воздействия / А.В. Глуткин, С.В. Глуткин // Студенческая медицинская наука XXI века: материалы VIII Международной научно-практической конференции, Витебск, 13-14 ноября 2008 г. / Витеб. гос. мед. ун-т; редкол.: А.П. Солодков [и др.]. – Витебск, 2008. – С. 126-128.

11. Зинчук, В.В. Механизмы транспорта кислорода кровью в условиях коррекции окислительного стресса и холодового воздействия мелатонином / В.В. Зинчук, С.С. Глуткин, Е.В. Шульга // Медико-биологические проблемы обеспечения спорта высших достижений (зимние виды спорта): материалы Международной научно-практической конференции, Минск, 8-10 апреля 2009 г. / Белорус. гос. ун-т физич. культуры; редкол.: М.Е. Кобринский [и др.]. – Минск, 2009. – С. 192-197.

Тезисы докладов

12. Глуткин, С.В. Температурный гомеостаз у крыс при холодовом воздействии в условиях модификации L-аргинина-НО системы / С.В. Глуткин, Т.А. Хайчынов, А.В. Глуткин // Тезисы докладов конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора Г.В. Кулаго, Гродно, 11-13 апреля 2007 г. / Гродн. гос. мед. ун-т; редкол.: П.В. Гарелик [и др.]. – Гродно, 2007. – С. 128-129.

13. Glutkin, S.V. Thermal homeostasis in rats during and after the cold exposure combined with the modifications of L-arginine/NO system / S.V. Glutkin, T.A. Haichynov, A.V. Glutkin // Third international scientific conference of medical students and young doctors: abstracts, Bialystok, 10-11 may 2007 / Acad. Med. in Bialystok; chairs J. Gorski [et al.]. – Bialystok, 2007 – P. 96-97.

14. Глуткин, С.В. Состояние кислород зависимых механизмов при неиммерсионном охлаждении с последующим отогреванием / С.В. Глуткин, В.В. Зинчук, Л.В. Дорохина // Механизмы функционирования висцеральных систем: материалы V Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения В.Н. Черниговского, Санкт-Петербург, 16-19 октября 2007 г. / Инст. физиол. им. И.М. Павлова, Санкт-

Петербург. гос. ун-т; отв. ред.: Д.П. Дворецкий [и др.] – Санкт-Петербург, 2007. – С. 84.

15. Глуткин, С.В. Температурный гомеостаз у крыс при холодовом воздействии и последующем отогревании в условиях коррекции / С.В. Глуткин, М.В. Буксанов, А.В. Глуткин // Тезисы докладов конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора В.Ч. Бржеского / Гродн. гос. мед. ун-т; редкол.: П.В. Гарелик [и др.]. – Гродно, 2008. – С. 114-115.

16. Hlutkin, S.V. Blood oxygen transport and prooxidant-antioxidant balance in rats under hypothermia and rewarming combined with a modification of L-arginine-NO pathway / S.V. Hlutkin, M.V. Buksanau, A.V. Hlutkin // Fourth international scientific students` conference of medical students and young doctors: abstracts, Bialystok, 15-16 May 2008 / Acad. Med. in Bialystok; chairs J. Gorski [et al.]. – Bialystok, 2008. - P. 53.

17. Zinchuk, V.V. Nitric oxide and blood oxygen transport under hypothermia and rewarming / V.V. Zinchuk, S.V. Hlutkin // 8th Meeting of France – New EU Members 16th JMRC Symposium: abstracts , Krakow, 5-7 June 2008 / Jagiellonian Medical Research Centre, chais: S. Chlopicki, R. Andriantsiohaina. – Krakow, 2008. – P. 50.

18. Глуткин, С.В. Прооксидантно-антиоксидантное состояние в печени крыс при гипотермии и постгипотермическом периоде / С.В. Глуткин, В.В. Зинчук, Л.В. Дорохина // «Актуальные вопросы гепатологии»: материалы. 7-го международного симпозиума гепатологов Беларуси, Международного Евразийского конгресса по инфекционным болезням, Витебск, 5-6 июня 2008 г. / Гродн. гос. мед. ун-т; редкол. В.М. Цыркунов [и др.]. – Гродно, 2008. – С. 47-48.

19. Зинчук, В.В. Участие кислородсвязывающих свойств гемоглобина и NO в развитии гипоксии при холодовом воздействии / В.В. Зинчук, С.В. Глуткин / материалы V Российской конференции «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» с междунар. участием // Патогенез. – 2008. – Т.6, № 3. – С. 63.

20. Глуткин, С.В. Влияние модификаторов L-аргинин-NO системы на интенсивность свободнорадикального окисления липидов при гипотермии и отогревании / С.В. Глуткин, В.В. Зинчук, Л.В. Дорохина // Актуальные вопросы медицины: материалы конференции, посвященной 50-летию УО «ГрГМУ», Гродно, 23-24 октября 2008 г. / Гродн. гос. мед. ун-т; редкол.: П.В. Гарелик [и др.] – Гродно, 2008. – С. 77-78.

21. Зинчук, В.В. NO и механизмы транспорта кислорода кровью / В.В. Зинчук, С.В. Глуткин, Е.В. Шульга, Я.Р. Мацюк // Медицина-Здоровье: научные труды II съезда физиологов СНГ, Кишинев (Молдова), 29-31 октября 2008 / Союз физиол. обществ стран СНГ; редкол.: П.Г. Костюк [и др.]. – Кишинев, 2008. – С. 141.

22. Глуткин, С.В. Активность процессов перекисного окисления липидов при введении эритропоэтина в условиях охлаждения и отогревания крыс / С.В. Глуткин, А.В. Глуткин // Научно-практическая конференция студентов и молодых ученых ГрГМУ, посвященная памяти профессора Н.И. Аринчина: материалы конф., Гродно, 16-17 апреля 2009 г. / Гродн. гос. мед. ун-т; редкол.: П.В. Гарелик [и др.]. – Гродно, 2009. – С. 77-78.

Репозиторий ГрГМУ

РЭЗЮМЭ

Глуткін Сяргей Віктаравіч

Кіслародтранспартная функцыя крыві, прааксідантна-антыхаксідантная
раўнавага пры адаграванні пацукоў пасля гіпатэрмії

Ключавыя слова: L-аргінін, мелатанін, эрытрапаэтын, монааксід азоту, гіпатэрмія, адаграванне, транспорт кіслароду крываю, перакіснае акісленне ліпідаў, антыаксідант.

Мэта даследавання: вывучыць змяненні кіслародтранспартнай функцыі крыві, L-аргінін-NO сістэмы і прааксідантна-антыхаксідантнай раўнавагі пры адаграванні пацукоў пасля гіпатэрмії, выявіць на аснове ўстаноўленых заканамернасцяў магчымасці карэкцыі парушэнняў, якія развіваюцца.

Метады даследавання: фізіялагічныя, біяхімічныя, фармакалагічныя, статыстычныя.

Выкарыстаная апаратура: электратэрмометр ТПЭМ-1., спектрафлюарыметр F-4010 «Hitachi», спектрафатометр СФ-46, фотакаларыметр КФК-2, мікрагазааналізатор «Synthesis-15» (Instrumentation Laboratory)

Атрыманыя вынікі і іх навізна: у пацукоў, падвергнутых холадаваму ўздзеянню на працягу 120 хвілін (паніжэнне рэктальнай тэмпературы цела да $28,4 \pm 0,2$ °C) і далейшаму адаграванню (працягласцю 120 хвілін, сярэдняя хуткасць адагравання 0,6 °C/10 хвілін) адбываецца змяненне кіслародтранспартнай функцыі крыві, рост канцэнтрацыі нітрат/нітрытаў у плазме і парушэнне параметраў прааксідантна-антыхаксідантнай раўнавагі ў тканках (легкіх, печані, нырках, сэрцы) адносна ахалоджаных жывел.

L-аргінін, мелатанін і эрытрапаэтын, змяняючы кіслародтранспартную функцыю крыві (праз уплыў на кіслародзвязываючыя ўласцівасці крыві) і прааксідантна-антыхаксідантную раўнавагу (зніжэнне актыўнасці працэсаў перакіснага акіслення ліпідаў і павышэнне рэурсаў антыаксідантнага статусу), павышаючы адаптацыйныя магчымасці арганізма ва ўмовах гіпатэрмії і далейшага адагравання.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: атрыманыя даныя могуць быць выкарыстаны для распрацоўкі метадаў ацэнкі ступені цяжкасці і карэкцыі парушэнняў, якія развіваюцца ў арганізме пры гіпатэрмії і далейшым адаграванні.

Галіна выкарыстання: навукова-даследчыя лабараторыі, тэарэтычныя заняткі на кафедрах нармальнай і паталагічнай фізіялогіі і фармакалогіі ў ВНУ медыцынскага і біялагічнага профілю, практичнай медыцыне.

РЕЗЮМЕ

Глуткин Сергей Викторович

Кислородтранспортная функция крови, прооксидантно-антиоксидантное равновесие при отогревании крыс после гипотермии

Ключевые слова: L-аргинин, мелатонин, эритропоэтин, монооксид азота, гипотермия, отогревание, транспорт кислорода кровью, перекисное окисление липидов, антиоксидант.

Цель работы: изучить изменения кислородтранспортной функции крови, L-аргинин-NO системы и прооксидантно-антиоксидантного равновесия при отогревании крыс после гипотермии, выявить на основе установленных закономерностей возможности коррекции развивающихся нарушений

Методы исследования: физиологические, биохимические, фармакологические, статистические.

Использованная аппаратура: электротермометр ТПЭМ-1, спектрофлюорометр F-4010 «Hitachi», спектрофотометр СФ-46, фотоколориметр КФК-2, микрогазоанализатор «Synthesis-15» (Instrumentation Laboratory).

Полученные результаты и их новизна: у крыс, подвергнутых холодовому воздействию в течение 120 минут (снижение ректальной температуры до $28,4 \pm 0,2$ °C) и последующему отогреванию (продолжительностью 120 минут, средняя скорость отогревания 0,6 °C/10 минут) происходит изменение кислородтранспортной функции крови, рост концентрации нитрат/нитритов в плазме и нарушение параметров прооксидантно-антиоксидантного равновесия в тканях (легкие, печень, почки, сердце) относительно охлаждённых животных.

L-аргинин, мелатонин и эритропоэтин, изменяя кислородтранспортную функцию крови (через влияние на кислородсвязывающие свойства крови) и прооксидантно-антиоксидантное равновесие (снижение активности процессов перекисного окисления липидов и повышение ресурсов антиоксидантного статуса), повышают адаптационные возможности организма в условиях гипотермии и последующего отогревания.

Рекомендации по использованию: полученные данные могут быть использованы для разработки методов оценки степени тяжести и коррекции нарушений, развивающихся в организме при гипотермии и последующем отогревании.

Область применения: научно-исследовательские лаборатории, теоретические занятия на кафедрах нормальной физиологии, патологической физиологии и фармакологии в ВУЗах медицинского и биологического профиля, практической медицине.

SUMMARY

Hlutkin Sergei Victorovich

Blood oxygen transport, prooxidant-antioxidant balance during rewarming of rats after hypothermia

Key words: L-arginin, melatonin, erythropoietin, nitric oxide, hypothermia, rewarming, blood oxygen transport, lipid peroxidation, antioxidant.

The aim of the work: to investigate changes of blood oxygen transport, L-arginin-NO system and prooxidant-antioxidant balance during rewarming of rats after hypothermia, to determine possibility of correction of developing disturbances on the basis of established regularities.

The methods of investigation: physiological, biochemical, pharmacological, statistic.

Equipment used: electrothermometer TPEM-1, spectrofluorometer F-4010 «Hitachi», spectrophotometer SF-46, photocalorimeter KFK-2, microgasanalyzer «Synthesis-15» (Instrumentation Laboratory).

The obtained results and their novelty: in rats under hypothermic conditions during 120 minutes (decrease of body temperature to $28,4 \pm 0,2$ °C) following rewarming (during 120 minutes, mean rate of rewarming 0,6 °C/10 minutes) changes of blood oxygen transport function, increase of nitrates/nitrites level in plasma and disturbance of prooxidant-antioxidant balance parameters in tissues (lung, liver, kidney, heart) are observed comparing with hypothermic animals.

L-arginine, melatonin and erythropoietin through changes of blood oxygen transport function (via effect on blood oxygen affinity) and prooxidant-antioxidant equilibrium (decrease of lipid peroxydation activity and increase of antioxidant status capacity), increase adaptive capability of organism in conditions of hypothermia following by rewarming.

Recommendations on application: the obtained data can be used for elaboration of methods for estimation of gravity degree and correction of disturbances developing in organism during hypothermia and following rewarming.

The field of application: scientific research laboratories, theoretical lessons of normal physiology, pathophysiology and pharmacology departments in higher educational institutions of medical and biological profile, practical medicine.

Научное издание

**ГЛУТКИН
Сергей Викторович**

**КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ, ПРООКСИДАНТНО-
АΝТИОКСИДАНТНОЕ РАВНОВЕСИЕ ПРИ ОТОГРЕВАНИИ КРЫС
ПОСЛЕ ГИПОТЕРМИИ**

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
по специальности 03.00.13 – физиология**

Подписано в печать 09.11.2009.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Ризография.

Усл. печ. л. **1,39**. Уч.-изд. л. **1,10**. Тираж **80** экз. Заказ **149п**.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования

«Гродненский государственный медицинский университет».
ЛИ № 02330/0548511 от 16.06.2009. Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.