

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616-001.36-02:616-005.1:615.38

Ремизова М.И., Гришина Г.В., Гербут К.А., Алексанян Л.Р., Рыбакова Л.П.

Влияние регуляторов синтеза оксида азота на состояние оксидантно-антиоксидантной системы при инфузионной терапии геморрагического шока в эксперименте

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России»,
191024, г. Санкт-Петербург, Россия, ул. 2-я Советская, д.16

При различных видах шока, включая геморрагический шок, развивается оксидативный стресс. Большое значение в отношении исхода тяжелой кровопотери имеет состояние оксидантно-антиоксидантной системы организма. **Цель** работы – изучение в эксперименте состояния кровообращения, кислородного режима организма, а также оксидантно-антиоксидантной системы при геморрагическом шоке и его инфузионной терапии. **Методика.** Эксперименты проведены на кроликах, находящих под тиопенталовым наркозом. Геморрагический шок моделировали кровопусканием с снижением АД до 40–60 мм рт. ст. и последующей гипотензией в течение 30–40 мин, после чего начинали инфузию кровезаменителя. Общий объем кровопотери составлял $18,5 \pm 0,6$ мл/кг массы. Эффективность инфузионной терапии оценивали по показателям системной гемодинамики, микроциркуляции и показателям активности оксидантно-антиоксидантной системы. К инфузионной среде, состоящей из изотонического раствора натрия хлорида и аутокрови, добавляли доноры и стимуляторы синтеза оксида азота – оксаком ($0,7$ мкмоль/кг) и L-аргинин (200 мг/кг). **Результаты.** Кровопотеря вызывала выраженные нарушения системной гемодинамики и микроциркуляции с изменением метаболизма и кислородного режима организма. Содержание продуктов перекисаации в крови нарастало, тем значительнее, чем выраженнее были нарушения кровообращения. Выявлены высокие коррелятивные связи между показателями гемодинамики и величинами малонового диальдегида и церулоплазмينا в крови животных. Показано благоприятное действие на кровообращение и состояние оксидантно-антиоксидантной системы доноров оксида азота – оксакома и L-аргинина, вводимых в составе инфузионной среды. **Заключение.** Применение доноров оксида азота при инфузионной терапии геморрагического шока существенно повышает продолжительность жизни животных. В контроле (изотонический раствор натрия хлорида) выживаемость составляла 42%, при добавлении к инфузионной среде оксакома и L-аргинина, соответственно, 77 % и 59%.

Ключевые слова: геморрагический шок; кровообращение; инфузионная терапия; оксидантно-антиоксидантная система; оксид азота; оксаком; L-аргинин.

Для цитирования: Ремизова М.И., Гришина Г.В., Гербут К.А., Алексанян Л.Р., Рыбакова Л.П. Влияние регуляторов синтеза оксида азота на состояние оксидантно-антиоксидантной системы при инфузионной терапии геморрагического шока в эксперименте. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63 (3): 4–12.

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.4-12

Для корреспонденции: Гришина Галина Викторовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. группы экспериментальной трансфузиологии отдела кровезаменителей и компонентов крови ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии» ФМБА России, e-mail: reger201309@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 05.07.2018

Remizova M.I., Grishina G.V., Gerbout K.A., Aleksanyan L.R., Rybakova L.P.

The oxidation-antioxidation system in hemorrhagic shock and the infusion therapy with regulators of nitric oxide synthesis in experiment

Russian Research Institute of Hematology and Blood Transfusion,
2nd Sovetskaya Str. 16, St. Petersburg 191024

Different types of shock, including hemorrhagic shock, are associated with oxidative stress. The oxidant-antioxidant system plays a major role during severe blood loss. **The aim** of these experiments was to study circulation, oxygen regimen and oxidant-antioxidant systems in hemorrhagic shock and infusion therapy. **Methods.** Experiments were performed on thiopental-anesthetized rabbits. Hemorrhagic shock was induced by blood loss of 18.5 ± 0.6 ml/kg body weight to reduce blood pressure to 40–60 mm Hg for 30–40 min. Then infusion of a volume expander was started. Effectiveness of the infusion therapy was evaluated by indices of systemic hemodynamics, microcirculation, and the oxidant-antioxidant system. The infusion solution consisting of isotonic sodium chloride was supplemented with a nitric oxide (NO) donor, Oxacom® (0.7 μ mol/kg), and a NO precursor, L-arginine (200

mg/kg). **Results.** Blood loss resulted in considerable changes in systemic hemodynamic, microcirculation, metabolism, and oxygen balance. The content of peroxidation products directly depended on the degree of circulatory disorders. Hemodynamic indices were closely correlated with blood levels of malonic dialdehyde and ceruloplasmin. Oxacom® and L-arginine exerted a beneficial effect on circulation and the oxidant-antioxidant system. **Conclusion.** NO-enhanced infusion therapy increased animal survival. In control experiments (infusion of isotonic sodium chloride), the survival rate was 42% while the sodium chloride solution supplemented with Oxacom® and L-arginine increased the survival rate to 77% and 59%, respectively.

Keywords: hemorrhagic shock; blood circulation; infusion therapy; oxidative-antioxidative system; nitric oxide; oxacom; L-arginine.

For citation: Remizova M.I., Grishina G.V., Gerbout K.A., Aleksanyan L.R., Rybakova L.P. The oxidation-antioxidation system in hemorrhagic shock and infusion therapy with regulators of the synthesis of nitric oxide. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(3): 4-12. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.4-12

For correspondence: Galina V. Grishina, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, «Russian Research Institute of Hematology and Blood Transfusion FMBA of Russia», e-mail: reger201309@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Information about authors:

Remizova M.I. <https://orcid.org/0000-0002-9906-3807>

Grishina G.V. <https://orcid.org/0000-0003-4842-2504>

Gerbout K.A. <https://orcid.org/0000-0001-5518-5522>

Rybakova L.P. <https://orcid.org/0000-0002-9985-879X>

Aleksanyan L.R. <https://orcid.org/0000-0002-8525-2295>

Received 05.07.2018

При тяжелой кровопотере, как и при травмах различного генеза, происходят нарушения функций по существу всех систем организма. Одно из ведущих мест в патогенезе этих изменений занимает гиповолемия. В ответ на уменьшение объема циркулирующей плазмы и эритроцитной массы организм отвечает рядом компенсаторных реакций, которые если не устранена причина, трансформируются в патологические. При активации адаптационных механизмов с изменением системной гемодинамики и периферического кровообращения вследствие централизации кровообращения развивается циркуляторно-гемическая гипоксия органов и тканей [1] и геморрагический шок (ГШ) [2]. Сопутствующая этому кислородная недостаточность способствует усилению процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), которые определяют повреждение клеточных мембран и даже гибель клеток, что приводит к оксидативному стрессу [3, 4]. Дополнительные условия для запуска свободно-радикальных процессов создаются также и в постишемическом периоде, в результате чего формируется супероксиданион-радикал и оксид азота (NO). Инфузионные растворы, введенные в этот период, могут активизировать процессы реоксигенации и генерировать свободные радикалы, т.е. усиливать процессы перекисидации [5, 6]. В ответ на усиление этих процессов в организме млекопитающих возрастает активность системы антиоксидантной (АО) защиты, в которую входят антиокси-

дантные ферменты – супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза (КАТ), а также белки, связывающие ионы металлов переменной валентности, в частности, церулоплазмин (ЦП).

В последние годы установлено, что NO, обеспечивает эндотелийзависимую регуляцию сосудистого тонуса, обладает антиагрегационными и антиадгезивными свойствами. Одним из защитных действий NO является способность повышать активность АО ферментов и экспрессию кодирующих их генов [4]. В условиях избыточной продукции свободных радикалов и при наличии дефектов системы АО защиты, связанной с дефицитом СОД, супероксиданион окисляет NO до пероксинитрита [6], который обладает выраженным окислительным потенциалом и способен разрушать важнейшие структурные клеточные компоненты. Развивается нитрозильный стресс. Предотвращение инактивации NO супероксидом объясняет способность СОД улучшать микроциркуляцию (МЦ) и нормализовать кровоток после вазоспазма, тромбозов и других нарушений кровообращения [7, 8].

Благодаря многофункциональной роли NO инфузионная терапия, включающая введение регуляторов его синтеза, может повлиять на состояние антиоксидантной системы организма.

Цель исследования – изучение кровообращения, кислородного режима организма, состояния оксидантно-антиоксидантной системы при геморрагическом

шоке и его инфузионной терапии в сочетании с донорами оксида азота.

Методика

Работу с животными проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016, и Межгосударственными стандартами ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014 «РУКОВОДСТВО ПО СОДЕРЖАНИЮ И УХОДУ ЗА ЛАБОРАТОРНЫМИ ЖИВОТНЫМИ», соответствующими Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS N 123, Страсбург, 18 марта 1986 г. с приложением от 15.06.2006). Исследования одобрены этическим комитетом ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

Эксперименты выполнены на наркотизированных тиопенталом натрия (15 мг/кг) кроликах самках массой 2500—3500 г. Препаровку сосудов производили под местной анестезией 1% раствором новокаина. Катетеризировали сонную артерию и яремную вену для определения минутного объема кровообращения (МОК) методом термодилуции [9], бедренную артерию — для регистрации артериального давления (АД) и взятия проб артериальной крови, и бедренную вену — для взятия проб смешанной венозной крови. Геморрагический шок моделировали дробным кровопусканием из бедренной артерии в объеме $18,5 \pm 0,6$ мл/кг массы тела животного с последующей гипотензией на уровне 40–50 мм рт. ст. в течение 30—40 мин, после чего начинали инфузию кровезаменителя. Известно, что реинфузия пострадавшему собственной крови является наиболее физиологичным методом восполнения кровопотери, поэтому в состав инфузионного раствора входила аутокровь — 1% от объема вводимого раствора. Такое разведение соответствует содержанию гемоглобина в первом отечественном кровезаменителе на основе модифицированного гемоглобина — геленполе [10].

Тяжесть ГШ и эффективность инфузионной терапии оценивали и по расчетным показателям системной гемодинамики: ударному объему сердца (УО), рабочему индексу левого желудочка (РИЛЖ), общему периферическому сопротивлению кровотока (ОПС).

О состоянии микроциркуляции судили визуально по характеру микрокровотока в сосудах серозной оболочки тонкого кишечника кролика методом прижизненной контактной микроскопии (люминесцентный микроскоп ЛЮАМ-КФ, ЛМО). Изменения кровотока — количество функционирующих капилляров

(КФК), скорость кровотока и степень агрегации эритроцитов оценивали по балльной шкале выше и ниже исходного уровня [2, 11]. Отсутствие видимых нарушений в приводящих капиллярах и метартериолах принимали условно за «0» баллов. При этом эритроциты в потоке крови были не различимы. С замедлением скорости движения эритроцитов по сосудам и появлением в микрососудах агрегатов клеточных элементов крови величина балла возрастала (2 и 3 балла). Остановка кровотока в микрососудах оценивалась как стаз, величина балла при этом была максимальной и равнялась четырем.

В крови определяли показатели кислородного режима организма на газоанализаторе AVL-800 («Radiometer», Дания) (pO_2 — напряжение кислорода, $HvO_2\%$ — насыщение гемоглобина кислородом и рассчитывали значения системного транспорта кислорода — QO_2 и общего потребления кислорода — VO_2). Состояние оксидантно-антиоксидантной системы (ОС-АОС) в сыворотке крови оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА) [12], активности КАТ (КФ 1.П.1.6) [13] и СОД (КФ 1.15.1.1) [14], содержанию церулоплазмина ЦП (КФ 1.16.3.1) [15]. Для оценки степени дисбаланса функционирования ферментов антиоксидантной защиты рассчитывали интегральный показатель соотношения активности СОД/КАТ.

Во всех сериях животным по окончании кровопускания вводили изотонический раствор натрия хлорида (ФР) в объеме, превышающем в 2 раза эксфузированную кровь. В 1-й серии ($n=12$) вводили только ФР, во 2-й — ($n=9$) ФР сочетали с аутокровью (1%), в 3-й серии ($n=6$) — с L-аргинином («Sigma», 200 мг/кг), в 4-й ($n=8$) — с оксаком (0,7 мкмоль/кг). Оксаком — динитрозильный комплекс железа с глутатионом является первым отечественным препаратом — донором NO, созданным под руководством проф. А.Ф. Ванина в НИИ химической физики РАН (Москва) [16, 17].

Состояние гемодинамики, кислородного режима организма, окислительной и антиокислительной системы оценивали до и после окончания кровопотери, а также через 60 мин после завершения инфузии.

Наличие связи между изучаемыми показателями проводили с применением непараметрического корреляционного анализа. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Результаты обработаны методом вариационной статистики в программе Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение

АД и МОК в результате кровопотери снижались (табл. 1). МОК в некоторых экспериментах уменьшался почти в 2 раза по сравнению с исходным уровнем.

Изменялись и другие показатели системной гемодинамики: существенно падал УО и РИЛЖ (почти в 3 раза). Одновременно с нарушениями системной гемодинамики изменялся и ток крови в микроциркуляторном русле (табл. 2): наполовину уменьшалось КФК, снижалась скорость движения крови в капиллярах (метартериолах), появились агрегаты форменных элементов крови.

Массивная кровопотеря и длительная гипотензия сопровождалась снижением напряжения кислорода в венозной крови. Рост артерио-венозной разницы, как по напряжению кислорода, так и по насыщению гемоглобина кислородом отражал увеличение потребления кислорода организмом (табл. 3).

Нарушения системного кровообращения и МЦ были столь выраженными, что системный транспорт кислорода смог обеспечить только треть или даже половину потребности кислорода организмом. С ухудше-

нием кровообращения уменьшалось поступление кислорода к жизненно важным органам. Недостаточная доставка кислорода к тканям, потребность в котором в организме вследствие стрессорной реакции возрастала, привела к развитию гипоксии.

Изменения гемодинамики сопровождались нарушениями метаболизма: в венозной крови регистрировали выраженный ацидоз – рН снижался с $7,41 \pm 0,01$ до $7,19 \pm 0,04$, уменьшалось содержание стандартного бикарбоната. В артериальной, как и в венозной, крови развивался значительный дефицит буферных оснований (до $-12,8 \pm 2,1$ ммоль/л).

К окончанию кровопотери у животных 1-й и 4-й серий отмечалась тенденция к увеличению содержания в крови МДА – одного из промежуточных продуктов ПОЛ (табл. 4).

Однако у части кроликов (2-я и 3-я серии) содержание МДА к окончанию кровопотери снижалось поч-

Таблица 1

Системная гемодинамика у кроликов при геморрагическом шоке и инфузии кровезаменителей ФР (1-я серия), ФР с аутокровью (2-я серия), ФР с аутокровью и L-аргинином (3-я серия), ФР с аутокровью и оксакомом (4-я серия), (M±m)

Показатели	Серии	Исходные	Окончание кровопотери	После инфузии, 60 мин
АД, мм рт. ст.	1	104±5	76±4 ⁺	80±4 ⁺
	2	113±4	71±3 ⁺	88±5 ^{+,#}
	3	115±7	69±2 ⁺	84±4 ^{+,#}
	4	119±5	71±6 ⁺	91±5 ^{+,#}
МОК, мл/мин/кг	1	207±15 (100%)	107±14 ⁺ (52%)	181±35 ^{+,#} (79%)
	2	231±16 (100%)	92±9 ⁺ (40%)	132±16 ^{+,#} (57%)
	3	180±18(100%)	105±7 ⁺ (56%)	107±11 ⁺ (61%)
	4	173±16 (100%)	91±10 ⁺ (53%)	122±11 ^{+,#} (71%)
УО, мл/кг	1	0,74±0,10	0,41±0,04 ⁺	0,64±0,08 ^{+,#}
	2	0,85±0,06	0,32±0,03 ⁺	0,53±0,08 ^{+,#}
	3	0,60±0,06	0,32±0,03 ⁺	0,39±0,04 ⁺
	4	0,68±0,09	0,33±0,04 ⁺	0,45±0,04 ⁺
ОПС, дин·сек·см ⁻³ /кг·10 ⁻⁴	1	3,7±0,3	5,9±0,6	3,4±0,3 [#]
	2	4,1±0,4	6,2±0,7	5,7±0,6
	3	5,3±0,5	5,6±0,6	6,0±0,5
	4	6,2±0,5	6,5±0,5	6,3±0,5
РИЛЖ, кГм/кг·мин	1	281±24	99±12 ⁺	180±39 ^{+,#}
	2	348±23	87±14 ⁺	160±23 ^{+,#}
	3	281±44	99±9 ⁺	137±18 ⁺
	4	288±33	96±19 ⁺	152±20 ^{+,#}

Примечание. Статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходными данными отмечены значком «+», с данными после окончания кровопотери – «#». 1 – инфузии ФР, 1-я серия; 2 – инфузия ФР с аутокровью, 2-я серия; 3 – инфузия ФР с аутокровью и L-аргинином, 3-я серия; 4 – ФР с аутокровью и оксакомом, 4-я серия.

ти на 10-15%. Причем, происходило это при выраженных к концу кровопотери нарушениях гемодинамики. На фоне развивающихся нарушений кровообращения в крови в большинстве экспериментов не изменялось содержание ЦП.

Представленные результаты (табл. 4) свидетельствуют, что динамика свободнорадикального окисления при ГШ сопровождалась усилением активности лишь отдельных звеньев системы антиоксидантной защиты. При нарастании тяжести шока в 1-й, 3-й и 4-й сериях происходил рост активности КАТ на 13-20% в сравнении с исходным уровнем. Активность СОД повышалась незначительно в 1-й и 4-й сериях.

При кровопотере, особенно пролонгированной, как известно, активизируется ренин-ангиотензин-альдостероновая система [1]. Происходит перераспределение кровотока и усиление работы сердца с целью поддержания АД и кровоснабжения в жизненно важных органах. Выявлены корреляционные связи между объемом кровопотери и рабочим индексом сердца (расчет коэффициента корреляции по Спирману, + 0,75, $p \leq 0,05$). Кроме того, обнаружены корреляционные связи между величиной кровопотери при моделировании ГШ и состоянием ОС-АОС системы к моменту начала лечения. Стабильные и высокие корреляции имеют место между уровнем МДА и МОК (+ 0,69, $p \leq 0,05$), а также между МДА и РИЛЖ (+0,77, $p \leq 0,05$).

Система ренин-ангиотензин имеет исключительное значение в регуляции многих сердечно-сосудистых параметров. Выявленные корреляции свидетельствуют, что по мере увеличения объема кровопотери происходит снижение МОК и РИЛЖ, а также активация процессов ПОЛ.

Таким образом, лечение во всех сериях экспериментов начинали на фоне серьезных нарушений системной гемодинамики, микроциркуляции и метаболизма, вызванных массивной потерей крови и гипотензией.

Возмещение кровопотери приводило к улучшению центральной гемодинамики. АД и МОК возрастали после окончания инфузии (табл. 1), но не достигли исходных величин. Через 60 мин после окончания лечения отмечалось увеличение УО. Приближалось к исходным значениям ОПС. РИЛЖ значительно возрастал и превышал данные до кровопотери, не достигая исходных величин. Снижение ОПС, обусловленное вазодилататорным действием доноров оксида азота [2], приводило к улучшению микроциркуляции (табл. 2): увеличивалось количество функционирующих капилляров, возрастала скорость кровотока в капиллярах, уменьшалось количество агрегатов эритроцитов, что свидетельствовало о восстановлении органной перфузии. Слабее всего микрокровоток восстанавливался в контрольной серии. Реинфузия 1% крови, возвращая

Таблица 2

Микроциркуляция у кроликов при геморрагическом шоке и инфузии кровезаменителей (M±m)

Показатели	Серии	Исходные	Окончание кровопотери	После инфузии, 60 мин
КФК в поле зрения, (в % от исходного)	1	100±0	74±6 ⁺	81±5 [#]
	2	100±0	56±4 ⁺	90±3 ^{*,#}
	3	100±0	56±5 ⁺	100±0 ^{#,^}
	4	100±0	60±7	100±0 ^{#,°}
Скорость движения эритроцитов, баллы	1	0,22±0,11	-2,22±0,45 ⁺	-0,88±0,37 ^{*,#}
	2	0,00±0,00	-2,44±0,11 ⁺	-0,33±0,11 ^{*,#}
	3	0,00±0,00	-3,11±0,11 ⁺	-0,57±0,11 ^{*,#,^}
	4	0,00±0,00	-2,50±0,25 ⁺	-0,13±0,12 ^{*,#,°}
Агрегация эритроцитов, баллы	1	0,25±0,11	2,38±0,34 ⁺	1,29±0,50 ^{*,#}
	2	0,00±0,00	2,00±0,00 ⁺	0,44±0,11 ^{*,#}
	3	0,00±0,00	2,11±0,11 ⁺	0,57±0,11 ^{*,#,^}
	4	0,00±0,00	2,13±0,12 ⁺	0,13±0,12 ^{*,#,°}

Примечание. Здесь и в последующих таблицах статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходными данными отмечены значком «+», с данными после окончания кровопотери – #, между данными 1-й и 2-я серий – *, между данными 1-й и 3-й серий – ^, между данными 1-й и 4-й серий – °; 1 – инфузии ФР, 1-я серия; 2 – инфузия ФР с аутокровью, 2-я серия; 3 – инфузия ФР с аутокровью и L-аргинином, 3-я серия; 4 – ФР с аутокровью и оксакомом, 4-я серия.

собственные клеточные элементы и иммунные тела, являлась наиболее физиологичным восполнением кровопотери. При геморрагическом шоке ее необходимо сочетать с инфузией изотонического солевого раствора и медикаментозной коррекцией системного кровообращения и микроциркуляции, что ведет к ликвидации циркуляторной гипоксии.

В 4-й серии, вероятно, в результате действия регулятора синтеза NO отмечалось значительное улучшение капиллярного кровотока и дезагрегации эритроцитов.

После реинфузии улучшался кислородный режим организма: повышались системный транспорт и общее потребление кислорода в тканях (табл. 3). В то же время снижался дефицит буферных оснований ($s - 12,7 \pm 2,5$ до $-6,7 \pm 2,1$ ммоль/л) и нормализовался рН в крови ($s 7,27 \pm 0,02$ до $7,40 \pm 0,01$).

Через 60 мин после лечения, системный транспорт кислорода оставался еще достаточно высоким, что было следствием нормализации гемодинамики по сравнению с ее состоянием перед инфузией кровезаменителей.

Отрицательная корреляционная взаимосвязь установлена между уровнем МДА и МОК ($-0,49$, $p \leq 0,05$), а также между МДА и РИЛЖ ($-0,49$, $p \leq 0,05$). Через 1 ч после инфузии при тенденции к уменьшению проявления гипоксии (возрастании QO_2 , VO_2 , табл. 3), отмечалось незначительное снижение в крови МДА (кроме 2-й серии, табл. 4). Существенно уменьшалось содержание ЦП в сравнении с исходным уровнем (довольно высокими были коррелятивные связи между уровнем ЦП и РИЛЖ $+0,70$, $p \leq 0,05$), что могло происходить вследствие уменьшения АО защиты. Кроме того, ЦП, возможно, расходовался частично на инактивацию МДА [5] и других продуктов ПОЛ (корреляционная взаимосвязь между ЦП и МДА $+0,47$, $p \leq 0,05$).

После инфузии в крови нарастала активность каталазы, особенно в 3-й и 4-й сериях экспериментов, что можно рассматривать как благоприятное влияние лечения (коррелятивные связи между КАТ и МОК $0,43$, $p \leq 0,05$). В сериях с применением доноров NO отмечалась не только активация КАТ (30–40%), но и сниже-

Таблица 3

Кислородный режим организма у кроликов при геморрагическом шоке и инфузии кровезаменителей (М±m)

Показатели	Серии	Исходные	Окончание кровопотери	После инфузии 60 мин
$p_v O_2$, мм рт. ст.	1	32,3±3,2	24,1±2,4 ⁺	25,7±2,4 [#]
	2	32,4±4,3	19,6±1,6 ⁺	24,6±1,8 ⁺
	3	35,9±2,1	21,8±1,6 ⁺	23,3±1,8 ⁺
	4	35,6±2,5	21,4±2,9 ⁺	28,3±3,2 ^o
$p_a O_2 - p_v O_2$	1	59,8±2,3	81,5±3,0	72,2±4,3
	2	60,8±6,8	90,3±8,1 ⁺	67,6±6,3
	3	54,2±2,3	77,2±6,8 ⁺	74,2±9,0 [#]
	4	53,3±4,5	82,0±5,7 ⁺	75,9±8,4 ⁺
$Hv_a O_2 - Hv_v O_2, \%$	1	38,2±5,6	53,4±7,5 ⁺	62,9±6,9 [#]
	2	43,0±7,1	74,9±3,1 ⁺	62,8±3,8 ⁺
	3	32,3±3,9	66,0±11,2 ⁺	60,6±11,8 ⁺
	4	31,8±7,6	75,3±5,3 ⁺	66,4±7,1 ⁺
$QO_2, \text{мл (мин·кг)}^{-1}$	1	32,8±3,9	16,3±1,8 ⁺	25,2±7,1 [#]
	2	38,6±2,7	13,9±1,6 ⁺	18,6±2,2 ⁺
	3	28,5±4,7	13,4±1,4 ⁺	14,9±2,9 ^{+,#}
	4	28,2±2,7	12,2±1,2 ⁺	16,2±1,7 ^{+,#}
$VO_2, \text{мл (мин·кг)}^{-1}$	1	12,1±2,5	8,1±1,1 ⁺	8,0±0,6 [#]
	2	15,1±3,3	10,6±1,5	12,2±1,4
	3	8,2±1,5	9,2±0,7	9,6±1,8
	4	8,2±1,5	9,3±0,7	10,5±0,9 [#]

Примечание. ФР (1-я серия), ФР с аутокровью (2-я серия), ФР с аутокровью и L-аргинином (3-я серия), ФР с аутокровью и оксакомом (4-я серия), остальные обозначения, как в табл. 2.

ние продуктов перекисидации в крови, уменьшение содержания МДА (кроме 2-й серии) и ЦП (10—15%).

Возможно, что некоторое повышение МДА происходило за счет его вымывания в сосудистое русло из тканей ранее ишемизированных в результате кровопотери и пролонгированной гипотензии. Это подтверждается уменьшением ОПС и существенным улучшением МЦ, происходящим под влиянием доноров оксида азота.

Подвижное равновесие между ПОЛ и активностью АО механизмов присуще всем уровням организации живых систем. Оно смещено вправо в состоянии физиологического покоя, обычной жизнедеятельности организма.

Под влиянием чрезвычайных раздражителей (в данном случае кровопотери) процессы биологического окисления, а также ПОЛ заметно усиливаются, создавая предпосылки для смещения равновесия в направлении активации ПОЛ.

Буферная емкость антиоксидантных систем достаточно велика, поэтому смещение равновесия влево вы-

является не сразу, а по мере истощения антиоксидантных резервов, чем можно объяснить обнаруженное в представленных экспериментах усиление лишь отдельных ферментов АО защиты. Существующие методы оценки интенсивности ПОЛ по накоплению вторичных (МДА) и конечных (основания Шиффа) продуктов считаются инерционными и не всегда улавливают быстрых изменений состояния равновесия между активностью ПОЛ и АО. Возможно, именно этим объясняются полученные в нашем исследовании неоднозначные данные о взаимосвязи между содержанием МДА и активностью ферментов АО защиты.

В постинфузионном периоде, судя по представленным результатам, несмотря на улучшение гемодинамики, уменьшение проявлений нарушений кислородного режима организма и ацидоза, АО система продолжала находиться в состоянии напряжения. Активность СОД после кровопотери имела тенденцию к снижению (в контроле максимально), а КАТ к увеличению. Поэтому коэффициент сбалансированности ферментов-ан-

Таблица 4

Показатели оксидантно-антиоксидантной системы при геморрагическом шоке и его инфузионной терапии ФР (1-я серия), ФР с аутокровью (2-я серия), ФР с аутокровью и L-аргинином (3-я серия), ФР с аутокровью и оксакомом (4-я серия), (M±m)

Показатели	Серии	Исходные (100%)	Окончание кровопотери	После инфузии, 60 мин
Содержание церулоплазмينا (г/л)	1	0,47±0,07	0,48±0,08 (102%)	0,46±0,08 (98%)
	2	0,35±0,04	0,33±0,06 (94%)	0,33±0,03 (94%)
	3	0,37±0,08	0,29±0,05 (78%)	0,26±0,12 ⁺ (70%)
	4	0,37±0,04	0,37±0,04 (100%)	0,32±0,04 (86%)
МДА (мкмоль/л)	1	7,3±0,5	7,7±0,7 (105%)	7,6±0,7 (104%)
	2	7,9±0,8	6,5±0,5 ⁺ (82%)	6,7±0,7 (85%)
	3	7,1±0,5	6,5±0,5 (92%)	6,2±0,6 (87%)
	4	5,2±0,4	5,3±0,6 (102%)	4,6±0,4 (89%)
Активность каталазы (усл. ед. акт.)	1	5,3±0,5	6,1±0,3 (115%)	6,4±0,3 (121%)
	2	5,8±0,5	5,3±0,6 (91%)	5,8±0,4 (100%)
	3	4,8±0,4	5,8±0,4 ⁺ (120%)	6,7±0,4 ⁺ (139%)
	4	4,7±0,5	5,3±0,3 (113%)	6,1±0,4 (130%)
СОД (усл. ед. акт.)	1	49±2	51±4 (104%)	43±6 (88%)
	2	37±4	37±3 (100%)	38±4 (103%)
	3	51±6	48±4 (94%)	47±5 (92%)
	4	46±5	48±6 (104%)	49±4 (106%)
Коэффициент СОД/КАТ	1	10,1±0,9	8,7±0,5 (86%)	7,0±0,8 (69%)
	2	7,3±1,7	8,2±1,5 (112%)	7,0±0,9 (96%)
	3	11,8±2,4	9,0±1,4 (76%)	7,2±1,0 ⁺ (61%)
	4	10,0±1,1	9,3±1,2 (93%)	8,2±0,9 (82%)

Примечание. Цифры в скобках – показатель в процентах от исходного.

тиоксидантов СОД/КАТ, который служит важным прогностическим признаком течения шока, также уменьшался, т.е. при кровопотере сопряженное действие рассматриваемой ферментной цепи было нарушено.

Через 60 мин после инфузии во всех экспериментах продолжало снижаться в крови содержание ЦП вследствие потребления его как антиоксиданта в условиях активации процессов ПОЛ. ЦП расходовался частично на инактивацию МДА [5]. Имеются сведения, что ЦП может предотвращать ПОЛ, функционируя в качестве перехватчика супероксидного радикала [4, 5]. Отмечалось нарастание в крови активности каталазы, что можно рассматривать как благоприятное влияние проводимого лечения. Активность СОД незначительно возрастала только во 2-й и 4-й сериях. Выявлена положительная взаимосвязь между уровнем СОД и КАТ (+ 0,87, $p \leq 0,05$).

Таким образом, в состоянии оксидантно-антиоксидантной системы при экспериментальном геморрагическом шоке наблюдался дисбаланс, который удалось в некоторой степени корригировать.

При поиске путей совершенствования лечения ГШ возрастает интерес экспериментаторов и клиницистов к регуляторам синтеза NO. Известно, что оксаком обладает антиоксидантными свойствами и способностью усиливать окислительное фосфорилирование в митохондриях, в частности сердечной мышцы [16–18]. Именно этим свойством оксакома можно объяснить выявленные в представленных экспериментах возрастание МОК и РИЛЖ после лечения. В целом действие оксакома на кровообращение выражено, скорее всего, в способности его обратимо связывать молекулы эндогенного NO, обеспечивая при экстремальных состояниях их сохранность, перемещая их в клетки жизненно важных органов [16]. Можно полагать, что увеличение продукции NO из L-аргинина также повышало уровень NO и поддерживало нормальную перфузию жизненно важных органов. Известно, что аргинин через орнитин может превращаться в глютаминовую кислоту, обладающую антиоксидантной активностью; кроме того, L-аргинин стимулирует выделение гистамина из клеток крови, снижает активность норадреналина и способствует действию эндогенных вазодилататоров [19].

Таким образом, при введении регуляторов синтеза NO наблюдалось повышение лечебного эффекта инфузионной терапии. Большая часть животных полностью выходила из состояния геморрагического шока и жила более 24 ч. Они считались выжившими. В представленных экспериментах в 1 серии выживаемость была самой низкой – 42% животных, во 2-й – 45%, в 3-й – 59%, в 4-й – 77%. Тем не менее, выраженный гемодинамический эффект ФР позволяет использовать его как само-

стоятельную инфузионную среду, а также как раствор для введения различных медикаментозных средств с целью выявления их противошоковых лечебных свойств.

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности сочетанного введения регуляторов NO с кровезаменителями для повышения эффективности инфузионной терапии геморрагического шока. Регуляторы синтеза NO могут явиться дополнительным эффективным средством его лечения.

Литература

1. Ярочкин В.С., Панов В.П., Максимов П.И. *Острая кровопотеря*. М.; Медицинское информационное агентство; 2004.
2. Ремизова М.И., Гербут К.А., Гришина Г.В., Нагорная К.Н. Действие доноров оксида азота на микроциркуляцию при инфузионной терапии геморрагического шока в эксперименте. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2014; 58(4): 91–5.
3. Landmesser U., Harrison D.G., Drexler H. Oxidant stress a major cause of reduced endothelial nitric oxide availability in cardiovascular disease. *European J Clinical Pharmacology*. 2006; 62(13): 13–9.
4. Путилина Ф.Е., Галкина О.В., Ещенко Н.Д., Диге Г.П., Краковская И.Е. Свободнорадикальное окисление. СПб; 2008.
5. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. *Перекисное окисление и стресс*. СПб; Наука; 1991.
6. Ferdinandy P., Schulz R. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *British Journal Pharmacology*. 2003; 138: 532–42.
7. Гришина Г.В., Ремизова М.И., Гербут К.А., Рыбакова Л.П., Алексанян Л.Р. Влияние L-аргинина на систему кровообращения и состояние оксидантно-антиоксидантной системы организма при инфузионной терапии геморрагического шока в эксперименте. *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. 2017; 18(2): 540–50.
8. Киричук В.Ф., Андронов Е.А., Иванов А.Н., Мамонтова Н.В. Оксид азота и микроциркуляторное звено системы гемостаза. *Успехи физиологических наук*. 2008; 39(4): 83–91.
9. Гуревич М.И., Берштейн С.А., Голов Д.А., Повжитков М. М. Определение сердечного выброса методом терморазведения. *Физиологический журнал СССР*. 1967; 53: 350–54.
10. Селиванов Е.А., Пшенкина Н.Н., Мурзина Е.В., Софронов Г.А., Ханевич М.Д., Сарычев В.А. Кровезаменители с газотранспортной функцией на основе гемоглобина. *Medline.ru*. 2011; 12(3): 990–1013.
11. Кочетыгов Н.И., Куликов А.М. Системная гемодинамика и микроциркуляция при лечении ожогового шока кровезамещающими растворами. *Проблемы гематологии и переливания крови*. 1982; 6: 26–30.
12. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекиси липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. *Лабораторное дело*. 1988; 11: 41–3.
13. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988; 1: 16–8.
14. Ravin H., Harvard M. Rapid test for hepatolenticular degeneration. *Lancet*. 1956; 1: 726–27.
15. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы.

- тазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопросы медицинской химии*. 1990; 36(2): 88-91.
16. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с тиолосодержащими лигандами как основа для создания лекарств разнообразного терапевтического действия: физико-химическое и биологическое обоснование этого направления. *Биофизика*. 2017; 62(4): 629-56.
 17. Мартусевич А.К., Ванин А.Ф. Экзогенный оксид азота как модулятор состояния биосистем и основа для создания инновационных медицинских технологий. *Биорадикалы и антиоксиданты*. 2016; 3(3): 206-7.
 18. Гришина Г.В., Алексанян Л.Р., Гербут К.А., Рыбакова Л.П., Ремизова М.И., Капустин С.И. Активность оксидантно-антиоксидантной системы организма при геморрагическом шоке и инфузии солевого раствора в сочетании с донором оксида азота. *Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа*. 2017; 3(4): 930-32.
 19. Silva E.P. Jr, Borges L.S., Mendes-da-Silva C., Hirabara S.M., Lambertucci R.H. L-Arginine supplementation improves rats' antioxidant system and exercise performance. *Free Radic Research*. 2017; 51(3): 281-93.
- state of oxidative-antioxidative system of organism with infusion therapy in experimental hemorrhagic shock. *Medline.ru. Rossiyskiy biomeditsinskiy zhurnal*. 2017; 18(2): 540-50. (in Russian)
8. Kirichuk V.F., Andronov E.A., Ivanov O.M., Mammoth N.V. Nitric oxide and circulatory link haemostatic. *Yspekhi Physiologicheskikh nauk*. 2008; 39 (4): 83-91. (in Russian)
 9. Gurevich M.I., Berstein S.A., Head D.A., Povzhitkov M. M. Determination of cardiac output by the method termorazvedenie. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR*. 1967; 53: 350-54. (in Russian)
 10. Selivanov E.A., Pshenkina N.N., Murzina E.V., Sofronov G.A., Khanevich M.D., Sarychev V.A. Oxygen carrying hemoglobin-based blood substitutes [Krovezameniteli s gazotransportnoy funktsiyey na osnove gemoglobina]. *Medline.ru*. 2011; 12(3): 990-1013. (in Russian)
 11. Kochetygov N.I., Kulikov A.M. Systemic hemodynamic and microcirculation in the treatment of burn shock blood substitute's solutions. *Problems Hematology Blood Transfusiology*. 1982; 6: 26-30. (in Russian)
 12. Andreeva L.I., Kozhemyakin L.A., Kiskun A.A. Modification method for determining lipid peroxide test with thiobarbituric acid. *Laboratornoe Delo*. 1988; 11: 41-3. (in Russian)
 13. Koroljuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokorev V. E. Method of Catalase determination. *Laboratornoe Delo*. 1988; 1: 16-8. (in Russian)
 14. Ravin H., Harvard M. Rapid test for hepatolenticular degeneration. *Lancet*. 1956; 1: 726-27.
 15. Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Kovalev Zh.V. Simple and sensitive method for the determination of superoxide dismutase activity, based on the oxidation of quercetin. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1990; 36(2): 88-91. (in Russian)
 16. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a base for new-generating drugs with diverse therapeutic activities: physico-chemical and biological characteristics of the complexes underlying this field (Review). *Biofizika*. 2017; 62(4): 629-56. (in Russian)
 17. Martousevitch A.K., Vanin A.F. Exogenous nitric oxide as a modulator of Biosystems and state the basis for the creation of innovative medical technologies. *Bioradikaly I Antioksidanty*. 2016; 3(3): 206-7. (in Russian)
 18. Grishina G.V., Aleksanyan L.R., Gerbut K.A., Rybakova L.P., Remizova M.I., Kapustin S.I. The activity of oxidative-antioxidative system of organism with hemorrhagic shock and saline infusion in combination with nitric oxide donor. *Gematologiya. Transfuziologiya. Vostochnaya Evropa*. 2017; 3(4): 930-32. (in Russian)
 19. Silva E.P. Jr, Borges L.S., Mendes-da-Silva C., Hirabara S.M., Lambertucci R.H. L-Arginine supplementation improves rats' antioxidant system and exercise performance. *Free Radic Research*. 2017; 51(3): 281-93.

References

1. Yarochkin V.S., Panov V.P., Maximov P.I. *Acute blood loss [Ostraya krovopoteriya]*. Moscow; *Medical informacionnoe agency*; 2004. (in Russian)
2. Remizova M.I., Gerbut K.A., Grishina G.V., Nagornaya K.N. Influence of nitric oxide donors on the microcirculation in infusion therapy of the experimental hemorrhagic shock. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya [Pathological Physiology and Experimental Therapy]*. 2014; 58 (4): 91-5. (in Russian)
3. Landmesser U., Harrison D.G., Drexler H. Oxidant stress a major cause of reduced endothelial nitric oxide availability in cardiovascular disease. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2006; 62(13): 13-9.
4. Putilina F.E., Galkina O.V., Eschenko, N.D., Dizhe G. P., Krasovskaya I. E. *Free radical oxidation [Svobodnoradikalnoye okisleniye]*. St. Petersburg; 2008. (in Russian)
5. Baraboy V.A., Brehman I.I., Golotin V.G., Kudryashov Y.B. *Perekisnoye okisleniye i stress [Peroxidation and stress]*. St. Petersburg; Nauka; 1992. (in Russian)
6. Ferdinandy P., Schulz R. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *British Journal Pharmacology*. 2003; 138: 532- 42.
7. Grishina G.V., Remizova M.I., Gerbut K.A., Rybakova L.P., Aleksanyan L.R. Effect of L- arginine on blood circulation and the

Сведения об авторах:

Ремизова Марина Иосифовна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр., руководитель группы экспериментальной трансфузиологии отдела кровезаменителей и компонентов крови ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, e-mail: remizova391@mail.ru;

Гришина Галина Викторовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. группы экспериментальной трансфузиологии, e-mail: reger201309@mail.ru;

Гербут Константин Андреевич, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. гр. группы экспериментальной трансфузиологии отдела кровезаменителей и компонентов крови;

Рыбакова Лариса Петровна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. биохимии;

Алексанян Лусинэ Робертовна, канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. биохимии.