

Н.К. Кличханов, Ж.Г. Исмаилова, М.Д. Астаева

**ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В КРОВИ КРЫС ПРИ ГЛУБОКОЙ ГИПОТЕРМИИ И В ХОДЕ САМОСОГРЕВАНИЯ**

ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет», Махачкала, Россия

Изучена интенсивность окислительной модификации липидов (по малоновому диальдегиду) и белков (по карбонильным группам) плазмы крови и мембран эритроцитов, а также активность антиоксидантных ферментов эритроцитов крыс при глубокой гипотермии (20 °C) и в динамике самосогревания. Глубокая гипотермия снижает степень перекисного окисления липидов. Самосогревание крыс приводит к росту количества продуктов окислительной модификации липидов и белков плазмы и мембран эритроцитов.

**Ключевые слова:** крысы, кровь, гипотермия, самосогревание, белки плазмы, малоновый диальдегид, карбонильные группы белков, антиоксидантные ферменты

**INTENSITY OF FREE RADICAL PROCESSES IN RATS' BLOOD WHILE DEEP HYPOTHERMIA AND SELF-WARMING**

N.K. Klichkhanov, Z.G. Ismailova, M.D. Astaeva

Dagestan State University, Makhachkala, Russia

Hypothermic conditions of homoiothermic organisms are characterized by the activation of free-radical processes in tissues. The intensity of these processes occurring at hypothermia is less well understood. The essential increase in heart rate, breathing, blood flow velocity, and metabolic processes during warming must stimulate the generation of reactive oxygen species and oxidative modification of biomolecules. We study the levels of peroxidation markers of lipids (by malondialdehyde) and proteins (by carbonyl groups) in blood plasma and erythrocytes as well as the activity of erythrocyte antioxidant enzymes of rats after deep hypothermia (the temperature in the rectum was 20 °C) and self-warming dynamics. A maximum warming rate (0.016 °C/min) was revealed over the body temperature range of 22–33 °C, below and above these temperatures a warming rate was essentially lower. The warming of rats resulted in a total protein content reduction which negatively correlates ( $r = -0.967$ ;  $p < 0.05$ ) with a middle molecular peptide level. The deep hypothermia decreased the intensity of oxidative modification of lipid and proteins in blood plasma and red blood cell membranes, and the activity of red blood cell superoxide dismutase (SOD). Maximum amount of products of oxidative modification of lipids and proteins in plasma and erythrocytes membranes caused by rats' self-warming was observed at body temperature of 30–35 °C. After a complete rats' warming the intensity of oxidative modification of lipids and proteins in plasma and erythrocyte membranes decreased. The activity of SOD and catalase of erythrocyte substantially increased when body temperature reached 35 °C. The obtained data indicate that during self-warming at the body temperature of 30–35 °C the oxidative stress appears in blood which requires the use of antioxidant defense.

**Key words:** rats, blood, hypothermia, self-warming, plasma proteins, malondialdehyde, protein carbonyl groups, antioxidant enzymes

**ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время для защиты организма от травматических повреждений, восстановления функции органов и тканей (особенно сердца и головного мозга) после ишемии-реперфузии, для коррекции и лечения различных заболеваний животных и человека с успехом применяют гипотермию [15]. Основным показанием к гипотермии является необходимость снижения интенсивности обмена веществ во всем организме или в отдельных органах для предупреждения или при возникновении угрозы гипоксии. В клинической практике используют умеренную (34–30 °C) гипотермию, поскольку глубокая гипотермия способствует возникновению ряда побочных эффектов [15]. При выполнении многих видов профессиональной деятельности человек может подвергаться риску развития эксидентальной (непреднамеренной) гипотермии [12]. При возникновении эксидентальной гипотермии температура тела может снижаться значительно и продолжительное время. Глубокое снижение температуры тела приводит к значительному уменьшению частоты сердечных сокращений,

снижению сердечного выброса, скорости кровотока в органах, потребления кислорода, объема крови, что в совокупности со сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина влево приводит к тканевой гипоксии [10, 14]. Снижение доступности кислорода при гипотермии может привести к накоплению восстановленных эквивалентов в митохондриальных цепях переноса электронов. Это в свою очередь может стимулировать повышенное образование активных форм кислорода, развитие окислительного стресса, окислительные модификации с последующими функциональными нарушениями липидов, белков и нуклеиновых кислот.

У крыс снижение температуры тела до 20 °C вызывает состояние так называемого холодного наркоза с резким угнетением подвижности, интенсивности метаболизма и исчезновением электрической активности головного мозга [9]. Из этого состояния животное способно самостоятельно возвращаться к нормотермии. Подобно тому, что было описано для процесса гипоксии-реоксигенации, возвращение к физиологическим температурам может привести к увеличению образования АФК [10].

Существуют единичные данные, посвящённые исследованию интенсивности свободнорадикальных процессов (СРП) в тканях крыс в динамике согревания. С.Е. Овсянников с соавт. [5] исследовали продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гомогенатах печени, сердца, головного мозга и сыворотке крови крыс в процессе самосогревания (через 2, 3, 4 и 24 ч) после гипотермии 20 °С, достигнутой в течение 6–7 мин. По данным авторов, максимумы повышения уровня ПОЛ во всех исследованных тканях наблюдались в момент выхода организма из состояния гипотермии (через 3 ч) и через 24 ч самосогревания. Изменение уровня содержания восстановленного глутатиона в печени имели направленность, противоположную изменениям уровня ПОЛ. В то же время в данной работе не указана температура тела крыс в исследованные промежутки времени в ходе самосогревания.

**Целью нашего исследования** явилось изучение активности процессов окислительной модификации липидов и белков плазмы крови и эритроцитов, а также ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов крыс при глубокой гипотермии и последующем самосогревании.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на 48 белых крысах-самцах линии Вистар 4-месячного возраста и с массой тела 180–200 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. При выполнении настоящего исследования были соблюдены все нормы и правила выполнения экспериментальных работ с использованием лабораторных животных. Протокол экспериментов в разделах выбора, содержания животных, моделирования гипотермии и выведения их из опыта был выполнен в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, регламентированными «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Приказом МЗ СССР № 742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных». Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Общую гипотермию вызывали наружным охлаждением животных в плексигласовых камерах с рубашкой, через которую циркулировала холодная (5 °С) вода. Температуру тела крыс равномерно (0,28 °С/мин) снижали до 20 °С. Сразу по достижении температуры тела 20 °С крыс прекращали охлаждать и переносили в помещение с температурой 25 °С для самостоятельного согревания. В соответствии с задачами эксперимента животные были разделены на 6 экспериментальных групп (по 8 крыс): 1-я группа – контроль; 2-я группа – гипотермия; 3, 4, 5 и 6-я группы – животные на различных этапах самосогревания с температурой тела 25, 30, 35 и 37 °С соответственно. Измерение ректальной температуры производили цифровым термометром MS6501 через каждые 10 минут.

После декапитации животного собирали кровь в пробирку с гепарином (50 ед./мл). Эритроциты осаждали центрифугированием при 2000 об./мин в течение 10 мин, а затем трижды промывали физиологическим раствором при 4 °С. Отмытые эритроциты гемолизировали в 10 мМ трис-НСl буфере pH = 7.4, содержащем 1,5 мМ ЭДТА. Тени эритроцитов осаждали при 20000 g в течение 20 мин при 4 °С, а затем пятикратно отмывали 10 мМ трис-НСl буфером pH = 8.2. Белые тени эритроцитов хранили при –70 °С до использования.

Общий белок в плазме крови определяли с помощью стандартного набора реагентов фирмы «Vital diagnostic» (Санкт-Петербург) спектрофотометрически. Содержание СМП определяли методом Лоури в безбелковом супернатанте после депротеинизации плазмы крови хлорной кислотой с последующей нейтрализацией 3 М раствором карбоната калия [7].

Об интенсивности ПОЛ в крови судили по содержанию малонового диальдегида (МДА) в плазме крови и в эритроцитах, а об интенсивности окислительной модификации белков (ОМБ) плазмы крови и мембран эритроцитов – по накоплению в них карбонильных групп. Содержание МДА определяли по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой, в результате которой образуется окрашенный комплекс с максимумом поглощения при длине волны 532 нм [1]. Об уровне карбонильных производных белков (КПБ) судили по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, которые регистрировали спектрофотометрически при длине волны 370 нм [2]. При определении ОМБ использовались два показателя: исходный уровень КПБ и их накопление *in vitro* в среде Фентона ( $\text{Fe}^{+2} + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{ЭДТА}$ ). В гемолизатах определяли активность ключевых антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Для определения активности СОД использовали спектрофотометрический метод [2], основанный на способности фермента ингибировать процесс восстановления тетразолиевого нитросинего в условиях генерации супероксидного анион-радикала. Активность фермента выражали в усл. ед./мг гемоглобина. Для определения активности каталазы использовали метод М. Королюк [4], основанный на спектрофотометрической регистрации количества окрашенного продукта реакции  $\text{H}_2\text{O}_2$  с молибденово-кислым аммонием, имеющего максимальное светопоглощение при длине волны 410 нм, и рассчитывали в мкмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$  в минуту на 1 мг гемоглобина. Содержание гемоглобина определяли, используя набор реагентов фирмы «Ольвекс Диагностикум», содержание белка в мембранах эритроцитов – методом Лоури.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики. В таблицах результаты представлены в виде средних значений ( $\bar{M}$ )  $\pm$  стандартная ошибка ( $m$ ). Статистическую значимость различий средних величин оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. Различия считали статистиче-

ски значимыми при  $p < 0,05$ . Степень согласованности изменений исследуемых параметров определяли по ранговому коэффициенту корреляции Спирмена  $r$  (выделялись положительные и отрицательные корреляции, свидетельствующие о наличии прямой или обратной связей соответственно; согласованность изменений считалась значимой при  $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наши наблюдения показали (рис. 1), что крысы после гипотермии 20 °С согреваются в среднем за 2,5 ч при температуре окружающей среды 25 °С. Как видно на рисунке 1, после прекращения охлаждения крысы согреваются с разной скоростью. В начале согревания (в интервале 20–21,5 °С) повышение температуры тела происходит со скоростью 0,08 °С/мин. В интервале температур 22–33 °С скорость согревания увеличивается в два раза (0,016 °С/мин). После 33 °С и до полной нормализации температуры тела скорость согревания значительно снижается (0,048 °С/мин). Эти данные свидетельствуют о том, что в интервале температур 22–33 °С линейно возрастает теплообразование в организме за счёт включения сократительного и не-сократительного термогенеза, а также повышения частоты сердечных сокращений и скорости перфузии тканей [14].

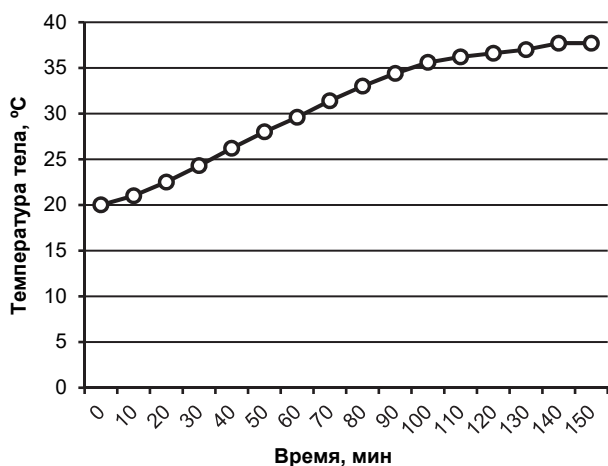


Рис. 1. Динамика восстановления температуры тела крыс, подвергнутых гипотермии 20 °С: по оси абсцисс – время самосогревания в мин; по оси ординат – температура тела животного в °С.

Анализ плазмы крови показал, что сразу после снижения температуры тела до 20 °С содержание общего белка в ней не изменяется (рис. 2). Однако в ходе самосогревания содержание белка в плазме крови снижается. При этом чем выше температура тела, тем ниже содержание белка в плазме. После окончательного согревания крыс содержание белка в плазме на 19,2 % ниже, чем в контроле. Снижение содержания общего белка в плазме в ходе согревания может происходить по разным причинам. Возможно, в результате изменения проницаемости сосудов часть белков покидает капиллярное русло и поступает в межклеточное пространство тканей [8]. Кроме того, может измениться соотношение процессов выведения (деградации) белков из крови над процессами

поступления их в кровоток, особенно из печени. Об ускорении деградации белков крови в период согревания животных свидетельствуют данные о содержании в плазме крови среднемолекулярных пептидов. При глубокой гипотермии содержание СМП в плазме крови возрастает на 32,2 % относительно контроля (рис. 3). На начальном этапе согревания крыс их количество в плазме снижается на 26,9 % относительно контроля и почти вдвое – относительно их уровня при гипотермии. Однако дальнейшее повышение температуры тела приводит к росту уровня СМП в плазме крови, и после восстановления температуры тела их количество возрастает на 48,1 % относительно контроля.

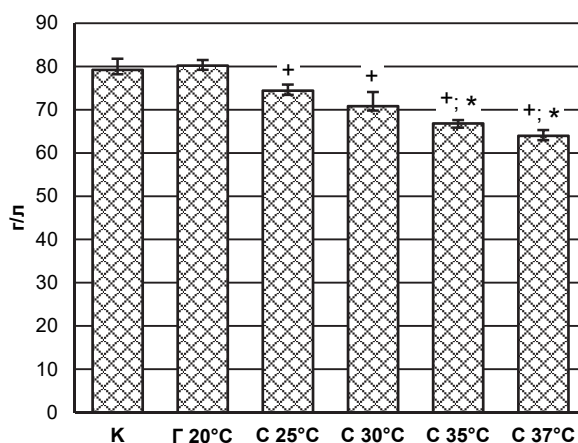


Рис. 2. Содержание белка (г/л) в плазме крови крыс при гипотермии и последующем самосогревании.

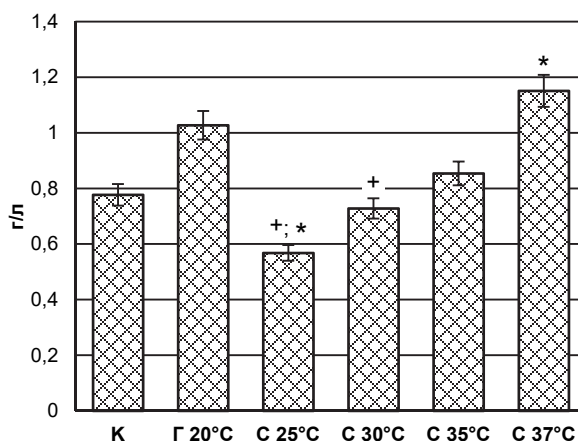


Рис. 3. Содержание СМП (г/л) в плазме крови крыс при гипотермии и последующем самосогревании.

Содержание кислоторастворимых СМП в крови и жидких средах организма возрастает при различных патологических и экстремальных состояниях в результате усиления процессов протеолиза [3]. В ходе самосогревания крыс между уровнем белков в плазме и содержанием СМП обнаружена сильная отрицательная корреляция ( $r = -0,967$ ;  $p < 0,05$ ). Это позволяет предположить, что снижение содержания белков в плазме в ходе самосогревания в определённой мере связано с их протеолизом. Кроме того, при гипотермических состояниях нельзя исключить попадание

СМП в кровь из тканей в результате окислительного повреждения мембран или осмотического лизиса клеток. Учитывая тот факт, что большинство фракций СМП, накапливающихся при стрессе, негативно влияют на биохимические процессы [3], можно предположить, что повышение содержания СМП в крови является дополнительным фактором патогенеза при гипотермии.

В условиях окислительного стресса протеолиз преимущественно подвергаются белки, подвергшиеся окислительной модификации [9]. Анализ интенсивности ОМБ крови выявил снижение содержания КРБ как плазмы, так и мембран эритроцитов при гипотермии (табл. 1). Особенно сильно (на 45,4 %) снижается степень карбонилирования белков мембран эритроцитов. При этом снижается также окисляемость белков в присутствии генерируемых в среде инкубации радикалов кислорода. В начале согревания крыс (25 °С) уровень КРБ плазмы и эритроцитов продолжает снижаться как относительно контроля, так и относительно их содержания при гипотермии. Дальнейшее согревание крыс приводит к росту количества КРБ, максимум которого наблюдается при температуре тела 35 °С. После полного согревания крыс степень окислительной модификации белков плазмы и мембран эритроцитов снижается. В ходе самосогревания примерно также изменяется окисляемость белков плазмы и мембран эритроцитов в условиях *in vitro*.

Между исходным уровнем КРБ плазмы и мембран эритроцитов в ходе самосогревания обнаружена по-

ложительная корреляция ( $r = 0,850$ ;  $p < 0,05$ ). Это позволяет предположить, что повышение уровня КРБ мембран эритроцитов в ходе согревания происходит не только под воздействием образующихся в эритроцитах АФК, но и за счёт поступающих из плазмы.

В ходе самосогревания, помимо активации окислительной модификации белков, также наблюдается увеличение интенсивности процессов ПОЛ, о чём свидетельствует возрастание содержания МДА в плазме и эритроцитах по мере повышения температуры тела (табл. 2). Максимальное повышение уровня МДА в плазме крови и эритроцитах наблюдается при температуре тела 30 °С. Дальнейшее повышение температуры тела приводит к снижению интенсивности ПОЛ в крови. Важно отметить наличие согласованности изменений содержания продуктов ПОЛ в плазме и эритроцитах: установлена прямая корреляция между изменением содержания МДА в плазме и эритроцитах ( $r = 0,915$ ;  $p < 0,05$ ).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в ходе согревания сначала происходит интенсификация процессов окисления белков и липидов плазмы крови и эритроцитов, максимум которой происходит в районе температур тела 30–35 °С, а затем снижается степень окислительных повреждений биологических молекул. Такая динамика окислительных процессов в крови согласуется с изменением скорости самосогревания животных и, вероятно, связана с интенсивностью образования активных форм кислорода (АФК) как в плазме крови, так и в эритроцитах. Важнейшим источником АФК в плазме крови могут

Таблица 1

Содержание карбонильных групп в белках плазмы и мембран эритроцитов крыс при гипотермии и последующем самосогревании,  $M \pm m$  ( $n = 8$ )

Состояние животных	Плазма		Эритроциты	
	исходный уровень	прирост	исходный уровень	прирост
Контроль	1,37 ± 0,06	54,68 ± 1,89	2,84 ± 0,09	11,32 ± 0,63
Гипотермия 20 °С	1,09 ± 0,05*	43,67 ± 1,44*	1,55 ± 0,07*	9,10 ± 0,27*
Самосогревание до 25 °С	0,52 ± 0,02*:#	35,76 ± 1,04*:#	1,32 ± 0,08*	10,76 ± 0,34#
Самосогревание до 30 °С	1,43 ± 0,04#	34,02 ± 1,18*:#	1,68 ± 0,07*	12,02 ± 0,48#
Самосогревание до 35 °С	1,79 ± 0,09*:#	50,55 ± 1,36#	2,39 ± 0,10*:#	14,55 ± 0,36*:#
Самосогревание до 37 °С	1,10 ± 0,07*	46,51 ± 1,65*	1,99 ± 0,09*:#	10,51 ± 0,65

Примечание (здесь и далее): \* – статистическая значимость различий ( $p < 0,05$ ) относительно контроля; # – статистическая значимость различий ( $p < 0,05$ ) относительно гипотермии 20 °С.

Таблица 2

Содержание МДА (мкмоль/л) в крови и эритроцитах крыс при гипотермии и в ходе самосогревания,  $M \pm m$  ( $n = 8$ )

Состояние животных	Плазма	Эритроциты
Контроль	1,47 ± 0,07	27,05 ± 2,26
Гипотермия 20 °С	0,94 ± 0,04*	21,07 ± 0,86*
Самосогревание до 25 °С	0,81 ± 0,02*:#	16,11 ± 1,90*:#
Самосогревание до 30 °С	1,89 ± 0,09*:#	29,36 ± 1,62#
Самосогревание до 35 °С	1,64 ± 0,04#	24,28 ± 1,43
Самосогревание до 37 °С	1,38 ± 0,07#	22,95 ± 1,67



Таблица 3

Активность СОД и каталазы в эритроцитах крови крыс при глубокой гипотермии и в ходе самосогревания,  $M \pm m$  ( $n = 8$ )

Состояние животных	СОД, усл. ед./мг Нб	Каталаза, мкмоль $H_2O_2$ / мг Нб/мин
Контроль	2,21 $\pm$ 0,08	41,2 $\pm$ 0,8
Гипотермия 20 °С	1,66 $\pm$ 0,06*	39,9 $\pm$ 1,9
Самосогревание до 25 °С	1,22 $\pm$ 0,06*:#	37,3 $\pm$ 2,6
Самосогревание до 30 °С	1,32 $\pm$ 0,05*:#	41,6 $\pm$ 2,1
Самосогревание до 35 °С	1,57 $\pm$ 0,01*	46,9 $\pm$ 3,4
Самосогревание до 37 °С	1,98 $\pm$ 0,04*:#	56,7 $\pm$ 2,4*:#

быть митохондрии эндотелиальных клеток капилляров. Образующиеся в митохондриях этих клеток АФК участвуют в температурозависимой регуляции тонуса сосудов, но могут поступать и в плазму крови [11]. Окислительные повреждения липидов и белков мембран эритроцитов способствуют снижению деформируемости эритроцитов и их пластичности, приводящим к задержке эритроцитов в микрососудистом русле и внутрикапиллярному гемолизу, что и было обнаружено при кратковременной умеренной и глубокой гипотермии [9]. Нарушение стабильности мембран эритроцитов и выход гемоглобина в плазму, а также накопление продуктов его деструкции (гем, гемин,  $Fe^{2+}$ ) приводят к углублению сдвигов метаболизма – вторичной активации ПОЛ и окислительной модификации белков, могут создавать предпосылки для дальнейшего перекисного повреждения мембран клеток крови и ряда других тканей, оказывая дистантные повреждающие эффекты [6].

После нормализации температуры тела происходит снижение интенсивности окислительной модификации липидов и белков крови. Это может быть результатом снижения интенсивности образования АФК, уменьшения субстратов для окисления, повышения скорости деградации окислительно модифицированных молекул, в частности белков, повышения активности антиоксидантной защиты.

Анализ ключевых антиоксидантных ферментов эритроцитов показал, что в условиях гипотермии и на начальных этапах согревания активность СОД эритроцитов существенно снижена относительно контроля (табл. 3). Но после подъема температуры тела до 30 °С и до полного согревания активность фермента заметно возрастает.

Как и в случае СОД, активность каталазы возрастает после подъема температуры тела до 30 °С и после полного согревания активность фермента на 37,6 % превышает контрольные значения. В ходе согревания между изменением активности СОД и каталазы имеется положительная корреляция ( $r = 0,996$ ;  $p < 0,05$ ). Таким образом, повышение активности СОД и каталазы соответствует температуре тела 30 °С, после чего активность ферментов вновь возвращается к исходному уровню. Это соотносится с повышением в этот период активности процессов ОМБ и подтверждается наличием прямой корреляции между изменением активности СОД ( $r = 0,615$ ), каталазы ( $r = 0,642$ ) и

изменением содержания КПБ мембран эритроцитов. В то же время не обнаружена корреляция между изменением активности СОД, каталазы и изменением содержания МДА в плазме и эритроцитах в ходе самосогревания животных. Можно предположить, что регуляция процессов ПОЛ при согревании в большей степени осуществляется за счёт мобилизации ресурсов неферментативной антиоксидантной защиты. Таким образом, снижение интенсивности СРП в крови после полного согревания крыс происходит благодаря повышению антиоксидантной защиты. Поскольку в зрелых эритроцитах крыс нет белоксинтезирующей системы, повышение активности СОД и каталазы на поздних этапах согревания, видимо, связано с их химической регуляцией, например, восстановлением тиоловых групп [13]. Кроме того, возможно, в ходе согревания эритроциты, подвергшиеся окислительным повреждениям, выводятся из кровотока, а из костного мозга в кровоток поступают молодые эритроциты, более защищенные с помощью ферментативных антиоксидантов.

#### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Андреева Л.И., Кожемякин А.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Андреева Л.И., Кожемякин А.А., Кишкун А.А. (1988). Modification of the method for determining lipid peroxides in the test with thiobarbituric acid [Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoy kislotoy]. *Laboratornoe delo*, (11), 41–43.
3. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. Методические рекомендации. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.
4. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. (2000). Methods for assessment of free-radical oxidation and antioxidant system of an organism. Guidelines [Metody otsenki svobodnoradikal'nogo okisleniya i antioksidantnoy sistemy organizma. Metodicheskie rekomendatsii], 104.
5. Ермаков А.В. Диагностические возможности использования метода определения уровня среднемолекулярных соединений в практической медицине // Проблемы экспертизы в медицине. – 2005. – Т. 5, № 17. – С. 27–29.

Ermakov AV (2005). Diagnostic possibilities of using method of determining the level of midmolecule compounds in medical practice [Diagnosticheskie vozmozhnosti ispol'zovaniya metoda opredeleniya urovnya srednemolekulyarnykh soedineniy v prakticheskoy meditsine]. *Problemy ekspertizy v meditsine*, 5 (17), 27-29.

4. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

Korolyuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev VE (1998). Method for determining catalase activity [Metod opredeleniya aktivnosti katalazy]. *Laboratornoe delo*, (1), 16-19.

5. Овсянников С.Е., Никитченко Ю.В., Мазалов В.К., Луговой В.И. Перекисное окисление липидов в динамике самоотогрева после острого охлаждения организма крыс // Проблемы криобиологии. – 1996. – № 1. – С. 37–41.

Ovsyannikov SE, Nikitchenko YV, Mazalov VK, Lugovoy VI (1996). Lipid peroxidation in the self-warming dynamics after acute hypothermia in rats [Perekisnoe okislenie lipidov v dinamike samootogreva posle ostrogo okhlazhdeniya organizma krysa]. *Problemy kriobiologii*, (1), 37-41.

6. Орлов Ю.П. Внутрисосудистый гемолиз эритроцитов в развитии органных дисфункций при критических состояниях // Общая реаниматология. – 2008. – Т. IV, № 2. – С. 88–93.

Orlov YP (2008). Intravascular erythrocyte hemolysis in the development of organ dysfunction in critical conditions [Vnutrisosudistyy gemoliz eritrotsitov v razvitiy organnykh disfunktsiy pri kriticheskikh sostoyaniyakh]. *Obshchaya reanimatologiya*, IV (2), 88-93.

7. Осипович В.К., Тупикова З.А., Маркелов И.М. Сравнительная оценка экспресс-методов определения средних молекул // Лаб. дело. – 1987. – № 3. – С. 221–223.

Osipovich VK, Tupikova ZA, Markelov IM (1987). Comparative assessment of express-methods for determining middle molecules [Sravnitel'naya otsenka ekspress-metodov opredeleniya srednikh molekul]. *Laboratornoe delo*, (3), 221-223.

8. Ткаченко С.И., Козлова В.Ф., Козлов А.В. Влияние общего охлаждения на некоторые показатели морфофункционального состояния организма // Патологический. аспекты действия холода на организм. – Харьков, 1989. – С. 140–147.

Tkachenko SI, Kozlova VF, Kozlov AV (1989). Effect of hypothermia on some parameters of morphological and functional state of an organism [Vliyaniye obshchego okhlazhdeniya na nekotorye pokazateli morfo-funktional'nogo sostoyaniya organizma]. *Patofiziologicheskie aspekty deystviya kholoda na organizm*, 140-147.

9. Эмирбеков Э.З., Кличханов Н.К. Свободнорадикальные процессы и состояние мембран при гипотермии. – Ростов-на-Дону, 2011. – 200 с.

Emirbekov EZ, Klichkhanov NK (2011). Free-radical processes and state of membranes in hypothermia [Svobodnoradikal'nye protsessy i sostoyanie membran pri gipotermii], 200.

10. Alva N, Palomeque J, Teresa C (2013). Oxidative stress and antioxidant activity in hypothermia and rewarming: can RONS modulate the beneficial effects of therapeutic hypothermia? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/957054>.

11. Bailey SR, Mitra S, Flavahan S, Flavahan NA (2005). Reactive oxygen species from smooth muscle mitochondria initiate cold-induced constriction of cutaneous arteries. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, (289), H243-H250.

12. Brown DJ, Brugger H, Boyd J (2012). Accidental hypothermia. *N. Engl. J. Med.*, (367), 1930-1938.

13. De Beus MD, Chung J, Colon W (2004). Modification of cysteine 111 in Cu/Zn superoxide dismutase in altered spectroscopic and biophysical properties. *Protein Sci.*, (13), 1347-1355.

14. Kondratiev TV, Flemming K, Myhre ESP, Sovershaev MA, Tveita T (2006). Is oxygen supply a limiting factor for survival during rewarming from profound hypothermia? *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, (291), H441-H450.

15. Polderman KH (2009). Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Crit. Care Med.*, 37 (7), S186-S202.

#### Информация об авторах Information about the authors

**Кличханов Нисред Кадилович** – доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биофизики биологического факультета ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет» (367000, г. Махачкала, ул. Дзержинского, 14; тел.: 8 (8722) 68-23-26; e-mail: [klich-khan@mail.ru](mailto:klich-khan@mail.ru))

**Klichkhanov Nisred Kadirovich** – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Biochemistry and Biophysics of the Faculty of Biology of Dagestan State University (367000, Mahachkala, Dzerzhinskiy str., 14; tel.: +7 (8722) 68-23-26; e-mail: [klich-khan@mail.ru](mailto:klich-khan@mail.ru))

**Исмаилова Жамиля Грамидиновна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики биологического факультета ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет» (e-mail: [jamilja@mail.ru](mailto:jamilja@mail.ru))

**Ismailova Zhamilya Gramidinovna** – Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor of the Department of Biochemistry and Biophysics of the Faculty of Biology of Dagestan State University (e-mail: [jamilja@mail.ru](mailto:jamilja@mail.ru))

**Астаева Мария Дмитриевна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики биологического факультета ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет» (e-mail: [mashia@mail.ru](mailto:mashia@mail.ru))

**Astaeva Mariya Dmitrievna** – Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor of the Department of Biochemistry and Biophysics of the Faculty of Biology of Dagestan State University (e-mail: [mashia@mail.ru](mailto:mashia@mail.ru))